

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**ХЕРСОНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**  
**Факультет біології, географії та екології**  
**Кафедра біології людини та імунології**

**ЗВ'ЯЗОК ГРУП КРОВІ ЗА СИСТЕМОЮ**  
**AB0 ІЗ РІВНЕМ ФАКТОРА ВІЛЛЕБРАНДА**

Кваліфікаційна робота (проект)  
на здобуття ступеня вищої освіти «магістр»

Виконала: студентка 2 курсу 211 М групи  
Спеціальності 091 Біологія  
Освітньої програми Біологія  
Горбенко Марина Тарасівна

Керівник: к.б.н., доцент Бесчасний  
Сергій Павлович

Рецензент:  
доктор біологічних наук, професор  
Чернозуб А.А.

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП</b> .....	3
<b>РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМИ АВ0</b> .....	6
1.1. Загальна характеристика групи крові.....	6
1.2. Історія вчення про групи крові.....	12
1.3. Взаємозв'язок між групами крові та захворюваннями.....	17
1.3.1. Інфекційні хвороби та підбір антигенів групи крові АВ0.....	18
1.3.2. Докази вибору фенотипів груп крові, які рідко зустрічаються за межами ендемічних регіонів малярії.....	24
1.4. Значення груп крові.....	30
<b>РОЗДІЛ 2. ЗВ'ЯЗОК ГРУПИ КРОВІ АВ0 ІЗ РІВНЕМ ФАКТОРА ВІЛЛЕБРАНДТА</b> .....	32
2.1. Загальна характеристика фактору Віллебрандта.....	32
2.2. Дослідження впливу груп крові АВ0 на рівні VWF.....	33
<b>РОЗДІЛ 3. РІВНЕНЬ ФАКТОРА ВІЛЛЕБРАНДТА У ДОСЛІДЖУВАНІЙ ГРУП</b> .....	40
3.1. Організація та методика дослідження.....	40
3.2. Методи дослідження.....	40
3.3. Результати дослідження.....	43
<b>ВИСНОВКИ</b> .....	47
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ</b> .....	49

Фактор фон Віллебранда (VWF) — це великий адгезивний глікопротеїн, синтезований ендотеліальними клітинами та мегакаріоцитами, який циркулює в плазмі у вигляді серії гетерогенних мультимерів [50].

VWF виконує дві основні функції в гемостазі. По-перше, це важливо для адгезії тромбоцитів до субендотелію та взаємодії між тромбоцитами, а також для агрегації тромбоцитів у судинах, у яких швидкий кровотік призводить до підвищеного напруження зсуву. По-друге, VWF є специфічним носієм фактора VIII (FVIII) у плазмі та захищає його від протеолітичної деградації, подовжуючи його період напіврозпаду в кровообігу та ефективно локалізуючи його в місці пошкодження судин [61].

У той час як дефіцит VWF відповідає за геморагічний діатез (хвороба фон Віллебранда, VWD), є все більше доказів того, що підвищені рівні VWF представляють важливий фактор тромботичного ризику [16]. Окрім гена VWF, добре встановлено, що інші генні локуси справляють значний кількісний вплив на рівні VWF у плазмі. Було показано, що найважливішим із цих локусів є локус групи крові АВ0 на хромосомі [44].

Численні дослідження показали значний зв'язок між групою крові АВ0 та ризиком серцево-судинних захворювань. Тим не менш, біологічні механізми, через які АВ0 впливає на гемостаз, залишаються недостатньо вивченими. Нещодавні дані дали нове уявлення про те, як ці ефекти АВ0 модулюються, і підкреслили, що група АВ0 значно впливає на формування тромбоцитарної пробки в місцях пошкодження судин (первинний гемостаз). Зокрема, АВ0 впливає на численні аспекти біології фактору фон Віллебранда (VWF). Відповідно до зниженого тромботичного ризику, рівні VWF у плазмі на ~25% нижчі у здорових осіб групи О порівняно зі здоровими особами групи не О. На

додачу, група крові O VWF демонструє підвищену сприйнятливість до протеолізу ADAMTS13. Нарешті, попередні результати показують, що взаємодія VWF групи O з тромбоцитами також може бути знижена. Хоча молекулярні механізми, що лежать в основі цих ефектів ABO на VWF, не були повністю з'ясовані, здається ймовірним, що вони значною мірою опосередковуються вуглеводними структурами ABO(H), які переносяться як на N- і O-зв'язані глікани VWF. Цікаво, що детермінанти ABO(H) також експресуються на кількох різних глікопротеїнових рецепторах поверхні тромбоцитів.

Нещодавні дослідження підтверджують гіпотезу про те, що група ABO не тільки справляє значний кількісний і якісний вплив на VWF, але також впливає на певні аспекти функції тромбоцитів. Враховуючи важку захворюваність і смертність, пов'язану з тромботичними розладами, визначення механізмів, що лежать в основі цих ефектів ABO, має не лише науковий інтерес, але й пряме клінічне значення [61].

**Об'єкт дослідження:** група крові ABO як детермінант у регулюванні взаємодії VWF-тромбоцитів.

**Предмет дослідження:** кількісний та якісний вплив групи крові ABO на фактор фон Віллебранда.

**Методи дослідження:** метод визначення активності тромбоцитів (за допомогою оптичного агрегометра), аналіз літератури, аналіз медичної документації.

**Метою дослідження є:** розгляд загальної характеристики групи крові; встановлення зв'язку між групами крові та захворюваннями; з'ясування значення групи крові; дослідження впливу групи крові на фактор фон Віллебранда; визначення зв'язку груп крові та ризику тромбозу.

Виходячи з мети дослідження, нами були визначені такі **завдання**:

- дати загальну характеристику групам крові системи ABO;

- дослідити зв'язок груп крові та захворювань, а саме малярії та інфекційних захворювань;
- охарактеризувати роль фактору фон Віллебранда в організмі;
- визначити зв'язок між групами крові та активністю фактора Віллебранда;
- визначити ризик виникнення тромбозу у осіб похилого віку із різними групами крові.

**Структура роботи:** дипломна робота складається з трьох розділів, вступу, дев'яти підрозділів, висновку та списку використаної літератури, яка включає в себе сімдесят одне найменування.

## РОЗДІЛ 1

### ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМИ АВО

#### 1.1. Загальна характеристика групи крові

На даний момент існує тридцять три системи груп крові, що представляють понад 300 антигенів, які перераховані Міжнародним товариством переливання крові. Більшість із них клоновано та секвеновано. Гени цих систем груп крові є аутосомними, за винятком ХГ і ХК, які передаються Х і МІС2, які присутні як на Х, так і на У хромосомах. Антигени можуть бути інтегральними білками, де поліморфізм полягає у варіації амінокислотної послідовності, наприклад, резус [Rh], глікопротеїни або гліколіпіди. Деякі з важливих груп згадуються у таблиці 1.1 [30].

*Таблиця 1.1.*

#### Системи груп крові

Назва	Символ	Номер антигену	Назва гену	Хромосома
ABO	ABO	4	ABO	9
MNS	MNS	43	GYPA, GYPB,GYPE	4
P	P1	1	P1	22
Rhesus	Rh	49	<u>RhD, RhCE</u>	1
Lutheran	LU	20	LU	19
<u>Kell</u>	KEL	25	KEL	7
Lewis	LE	6	FUT3	19
Duffy	FY	6	FY	1
Kidd	<u>Jk</u>	3	SLC14A1	8

#### Система АВО

Серед 33 систем АВО залишається найважливішою при переливанні та трансплантації, оскільки будь-яка особа у віці старше 6 місяців має клінічно значущі анти-А та анти-В антитіла в сироватці. Група крові А містить антитіла проти групи крові В у сироватці крові і навпаки, тоді як

група крові О не містить антигенів А/В, але обидва їхні антитіла є в сироватці.

### Н-антиген

Н-антиген є попередником антигенів групи крові АВ0. Він присутній у всіх еритроцитах незалежно від системи АВ0. Особи з рідкісним бомбейським фенотипом є гомозиготними за геном Н (НН) та не експресують антиген на еритроцитах. Тому, що Н-антиген виступає як попередник, його відсутність означає відсутність антигенів А і В. Однак особини виробляють ізоантитіла як до Н-антигену, так і до антигенів А і В.

### Система резус

Резус-система є другою за значенням системою груп крові після АВ0. В даний час Rh-система складається з 50 визначених антигенів груп крові, з яких лише п'ять є важливими. Поверхня еритроцитів людини може мати або не мати резус-фактор або імуногенний D-антиген. Відповідно, статус позначається як Rh-позитивний (присутній D-антиген) або Rh-негативний (D-антиген відсутній). На відміну від системи АВ0, анти-резус-антитіла, як правило, відсутні в крові осіб з D-негативними еритроцитами, за винятком випадків, коли кровносна система цих осіб була піддана впливу D-позитивних еритроцитів. Ці імунні антитіла є імуноглобуліном G (IgG) за своєю природою і, отже, можуть проникати через плаценту. Для вагітних резус-негативних матерів, які народили резус-позитивну дитину, проводиться профілактика проти резус-імунізації анти-D Ig [64].

### Антигенна система MNS

Система антигенів MNS, вперше описана Ландштайнером і Левіном у 1927 році, базується на двох генах: глікофорині А та глікофорині В. Група крові знаходиться під контролем аутосомного локусу в хромосомі 4, а також під контролем пари співдомінантних алелей. Антитіла до М і

N зазвичай мають типи IgM і рідко пов'язані з реакціями на переливання крові.

### Система Lutheran

Лютеранська система складається з чотирьох пар алельних антигенів, що представляють одну амінокислотну заміну в лютеранському глікопротеїні в хромосомі 19. Вони зустрічаються рідко і не вважаються клінічно значущими.

### Система Kell

Ці еритроцитарні антигени є третім за потужністю імуногенним антигеном після системи ABO та Rh і визначаються імунними антитілами, анти-К. Вперше це було помічено в сироватці місис Келлачер. Вона відреагувала на еритроцити новонародженої дитини, що призвело до гемолітичної реакції. З тих пір було відкрито 25 антигенів Kell. Анти-К антитіла спричиняють важку гемолітичну хворобу плода та новонародженого і гемолітичні реакції переливання крові.

### Система Duffy

Даффі-антиген вперше був виділений у пацієнта на ім'я Даффі, який страждав на гемофілію. Він також відомий як глікопротеїн Fy і присутній на поверхні еритроцитів. Це неспецифічний рецептор для кількох хемокінів і діє як рецептор для малярійного паразита людини *Plasmodium vivax*. Антитіла належать до підтипів IgG і можуть викликати ГТР[3].

### Система Kidd

Антиген Кідда (відомий як антиген Jk) є глікопротеїном, присутнім на мембрані еритроцитів і діє як транспортер сечовини в еритроцитах і ендотеліальних клітинах нирок. Антитіла Kidd зустрічаються рідко, але можуть викликати серйозні реакції при переливанні. Ці антигени визначаються реакціями на антитіло, позначене як anti-Jk<sup>a</sup>, виявлене в сироватці крові місис Кідд, яка народила дитину з гемолітичною



хворобою.  $Jk^a$  був першим антигеном, відкритим системою груп крові Кідд, згодом було знайдено два інших антигени  $Jk^b$  і  $Jk3$ .

Agarwal та ін. провели дослідження автоматизованого аналізу груп крові в популяції донорів північної Індії та помітили, що загальними групами крові в порядку частоти були В, О, А та АВ; 94,4% резус-позитивні. У незначних групах крові найчастіше зустрічаються фенотипи  $Le(a-b-)$  для Льюїса,  $Fy(a+b+)$  для Даффі,  $Jk(a+b+)$  для Кідда та  $M+N+$  для системи MNS [3].

### Групи крові та асоціація захворювання

Групи крові АВ0 мають значний вплив на гемостаз. Вони справляють великий кількісний вплив на плазмові рівні фактора фон Віллебранда та фактора VIII. Збільшення асоціації інфаркту міокарда, ішемічного інсульту та венозної тромбоемболії спостерігається з групами крові А та АВ, можливо, через функціональну модуляцію тромбозу глікольтрансфераз АВ0. Повідомлялося про вищий ризик церебрального венозного тромбозу в групах, які не належать до О [59]. Значний зв'язок груп АВ0 з поширеністю прееклампсії, де група АВ була пов'язана з підвищеним ризиком у 2,1 раза. Попередні дослідження показали зв'язок системи АВ0 зі злоякісними пухлинами. Була продемонстрована позитивна кореляція між групою крові А з хронічною інфекцією гепатиту В і раком підшлункової залози, і групою крові В з раком яєчників. Захист від малярії можна досягти з групою О шляхом зменшення утворення розеток. Група крові О підвищує тяжкість інфекції у штамів *Vibrio cholerae* [18].

### Визначення групи крові та перехресне зіставлення

Найфатальнішою з усіх реакцій, пов'язаних з трансфузією, є АВ0-несумісність, що спричиняє опосередкований внутрішньосудинний гемоліз. Таким чином, правильне визначення групи крові та типування, а також перехресна перевірка з формою забору крові є надзвичайно важливими. АВ0-типування проводиться шляхом тестування

еритроцитів на антигени А і В і сироватки крові на антитіла А і В перед трансфузією. Наступним кроком є резус-тип, оскільки лише 15% населення є резус-негативними.

#### Перехресна відповідність

Перехресне зіставлення передбачає змішування еритроцитів донора з сироваткою реципієнта для виявлення смертельних реакцій. Він має три фази, у яких перша фаза (1-5 хв) включає виявлення АВО несумісності та виявлення антитіл проти MN, P та системи Льюїса. Друга фаза (30-45 хв в альбуміні та 10-20 хв у низькоіонному розчині солі) включає інкубацію реагентів першої фази при 37°C для виявлення неповних антитіл системи Rh. Третя фаза складається з додавання антиглобулінових сироваток до інкубованих реагентів другої фази для виявлення неповних антитіл Rh, Kidd, Kell і Duffy. Серед трьох фаз перші дві фази важливіші, оскільки вони виявляють тих, хто причетний до летального генералізованого тривожного стану. Загальний час, витрачений на всі три фази, становить від 45 до 60 хвилин [34].

#### Скринінг антитіл

Комерційно виготовлені еритроцити з усіма антигенами, які керують виробленням антитіл, що викликають гемолітичні реакції, змішують із сироваткою реципієнта, щоб виявити наявність цих самих антитіл. Проводиться також з донорською сироваткою.

Існують суперечки щодо найкращого методу забору крові під час планових та невідкладних ситуацій:

1. Це можна зробити шляхом регулярного групування та перехресного порівняння у планових хірургічних пацієнтів. У багатьох наукових статтях заперечується доцільність передопераційної підготовки крові під час хірургічних втручань, де крововтрата не очікується значною [47].

2. Кров може бути призначена без повного набору досліджень. Лише типкування АВО-Rh забезпечує 99,8% ймовірність сумісного

переливання. Скринінг антитіл збільшує цей запас безпеки до 99,94%, а додатковий перехресний збіг ще більше підвищує сумісність до 99,95%. За відсутності перехресної відповідності існує ймовірність пропуску антигенів на донорських клітинах, але в клінічній практиці вони менш важливі. Отже, слід проводити лише «скринінг і типування». Інші методи включають «тип і часткову перехресну відповідність», яка включає негайну фазу перехресної відповідності; «тип і неперехресний збіг», для тих реципієнтів, яким ніколи раніше не переливали, шанс виявлення антитіл при кожному перехресному збігу становить 1:1000 [34].

#### Сучасні тенденції та майбутні напрямки досліджень

Було запропоновано три основні стратегії модуляції антигену, щоб запобігти імунному розпізнаванню несумісних еритроцитів і уникнути гемолітичних реакцій внаслідок алоімунізації. Перший підхід заснований на ферментативному перетворенні специфічних антигенів групи крові, тобто маніпуляції системою АВО. Голдштейн і Ленні досягли визначної віхи, розробивши технологію під назвою «концепція ферментно перетвореної групи O-RBC», де В-антиген замінюється на О за допомогою галактозидази [46]. Ця обробка залишає менше ніж 2000 антигенних ділянок на еритроцит, не впливаючи на деформованість мембрани, газообмін або експресію систем груп крові RhD, С і Е, MNS, Льюїса, Келла, Даффі та Кідда, оскільки їх антигенність не залежить на кінцевих залишках галактози.

На відміну від антигену В, ферментативне перетворення антигену А було складним через існування двох структур груп крові типу А (А2 і А1). Два нових ферменти, N-ацетилгалактозамінідаза та а-галактозидаза, були ідентифіковані для видалення антигенів А і В відповідно; і протестовано на їхню здатність генерувати O-RBC з донорських одиниць А1, А2, В або АВ [29]. Стратегія перетворення ферменту також була запропонована для вирішення проблем несумісності АВО у сфері

трансплантації органів. Другий підхід полягає в маскуванні антигенів шляхом обробки еритроцитів поліетиленгліколем; також відомий як концепція RBC. Третій підхід включає виробництво *in vitro* еритроцитів із заздалегідь визначеним антигенним профілем із генетично маніпульованих стовбурових клітин [20]. Такі клітини можна використовувати для генерації «універсальних донорських» еритроцитів.

## 1.2. Історія вчення про групи крові

Лише в 1900 році Карл Ландштайнер з Віденського університету виявив, чому одні переливання крові були успішними, а інші могли бути смертельними. Він відкрив систему груп крові АВО, а саме сполучив еритроцити та сироватку кожного зі своїх співробітників. Він продемонстрував, що сироватка крові одних людей аглютинуює еритроцити інших. З цих ранніх експериментів він виділив три типи, названі А, В і С (пізніше С було перейменовано на О для німецького «Ohne», що означає «без», або «нуль» англійською). Четверта менш часта група крові АВ була відкрита через рік. У 1930 році Ландштайнер отримав Нобелівську премію з фізіології та медицини за свою роботу.

Ген, який визначає групу крові людини АВО, розташований на хромосомі 9 і називається АВО глікозилтрансферазою. Локус АВО має три основні алельні форми: А, В і О, як згадувалося вище, і кожна з них відповідає за виробництво свого глікопротеїну. Таким чином, саме комбінація алелів, успадкованих від батьків, визначає, які глікопротеїни (антигени) знаходяться в клітинах крові людей і, отже, їхню групу крові АВО [67].

### Генезис і еволюція.

Як показали дослідження на мавпах (таблиця 1.2.), групи крові людини є дуже давніми генетичними показниками, які еволюціонували протягом кількох мільйонів років. На підставі гіпотези про первинні раси вважалося, що в трьох основних расах людини виникли групи крові

А в Європі, В в Азії і, нарешті, О в Південній Америці, і поступово внаслідок міграції та змішання рас, стала нинішня ситуація. Але ми знаємо, що на кожному континенті можна побачити окремі популяції, які мають абсолютно різні групи крові. Наприклад, відносно висока поширеність групи крові О у жителів Сибіру; також ця група крові дуже поширена в деяких регіонах Швейцарії [53].

*Таблиця 1.2.*

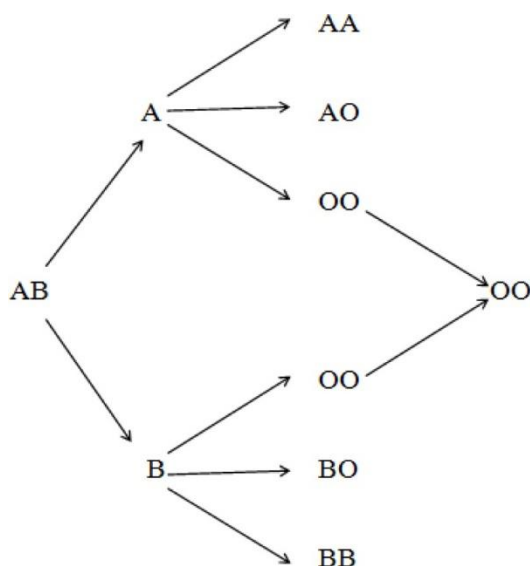
**Відсоток груп крові у мавп**

	N	AB	B	A	O
Шимпанзе	132	-	-	88	12
Горилла	17	-	88	12	-
Орангутан	22	23	45	32	-
Гібон	14	14	72	14	-

Згідно з іншою гіпотезою, поява всіх груп крові А і В та їх підгруп є наслідком послідовних мутацій основної та загальної групи крові, якою є група О, і розгалужувалася протягом мільйонів років.

Виходячи з цієї теорії, старі раси мають групу крові О, наприклад червоні індіанці Південної Америки та ескімоси, що серед них частота групи крові О становить 75–100%. Тоді як у більшості сучасних етнічних груп домінують групи крові А і В.

Згідно з іншою гіпотезою, першою групою крові була група крові АВ, яка поступово та з часом через генетичні мутації призвела до груп крові А та В і, нарешті, О (Рис. 1.1). Виходячи з цієї теорії, можливо, кілька мільйонів років тому всі люди мали лише групу крові О, яка є більш стійкою до багатьох інфекційних захворювань.



**Рис.1.1. Схематичне зображення ймовірних шляхів походження груп крові**

Виникнення та еволюція груп крові у людини досі незрозуміла. Географічне поширення є результатом не лише наведених вище припущень, але й продовжуватиметься поточний процес природного відбору проти факторів середовища, таких як хвороби, клімат, вологість, висота тощо.

Після відкриття перших груп крові людини (ABO) Карлом Ландштайнером у 1901 році, поступово з 1927 року були також відкриті інші групи крові, їх колекція наведена в таблиці 1.3. Важливо відзначити, що Ландштайнер разом зі своїм американським колегою Александром Вінером відкрив резус-групу крові і повідомили вони про це в 1940, 1941 роках.

*Таблиця 1.3.*

**Групи крові, рік відкриття, дослідники**

<u>Групи крові</u>	<u>Рік</u>	<u>Винахідник</u>
System ABO	1901	Landsteiner K
System M/N	1927	Landsteiner K, Levine P
P- <u>system</u>	1927	Landsteiner K, Levine P

## Продовження таблиці 1.3.

Secretor/Non – (ss)	1932	Schiff F, Sasaki H
Factor Q	1935	Imamuras S
Rhesus	1941	Landsteiner K, Wiener A
Lutheran	1945	Callenders S, Race RR, Paykoc
Lewis	1946	Mourant AE
Kell	1946	Coombs RRA, Mourant AE, Race RR
Factor S/s	1947	Walsh Rj, Montgomery C
Duffy	1950	Cutbush M, Mollison PL
Kidd	1951	Race RR et al.
Diago	1954	Levine P et al.
Yt System	1956	Eaton BR et al.
Auberger	1961	Salmon C et al.
Xg	1962	Mann JD et al.
Dombrock	1965	Swanson j et al.

Карл Ландштайнер народився 14 червня 1868 року у Відні, Австрія; він помер 26 червня 1943 року нашої ери у віці 75 років у Сполучених Штатах. Ландштайнер у своїй сімнадцятій науковій статті в 1901 році повідомив про групу крові АВО, яка відображалася на початку літерами АВС. У 1930 році за своє відкриття він отримав Нобелівську премію з медицини.

Крім відомих груп крові, повідомляється про майже двадцять публічних антигенів, а також про шістдесят специфічних антигенів або сімейних антигенів (приватні антигени) [53]. Основні групи крові АВО, які поступово були відкриті та оголошені, найбільш помітні з них:

1. Підгрупи А, включаючи А1, А2, А3, а також рідкісні типи А4, А5, А6, Z, X, End.

2. В підгрупи, включаючи В1, В2, В3 і рідкісні типи w, x, v, m.

3. Підгрупи, включаючи O1, O2, O3 та інші типи, такі як Yu, Nh, Xh.

### Групи крові в Ірані

У підбірці Mourant у 1958 році, посилаючись на обмежену та невелику вибірку з Ірану (Тегеран) А. Аджиром, було видно, але не було систематичного та комплексного дослідження типів і частот груп крові, білків сироватки та ферменти еритроцитів, знайдені в Ірані.

Перший звіт про частоту лютеранської групи крові в Ірані був опублікований у 1979 році. Після тривалого дослідження та цілеспрямованого збору були опубліковані докладні звіти про частоту груп крові АВ0 в різних іранських етнічних групах. В іншому дослідженні повідомлялося про частоту груп крові, сироваткових білків і ферментів еритроцитів у різних популяціях Ірану. Крім того, було повідомлено про цінну та широку співпрацю з Іранською організацією переливання крові, різні типи груп крові в різних популяціях Ірану. Цей звіт включав дослідження частот фенотипу та генотипу груп крові АВ0 та Rh серед 291857 осіб та їхнього географічного поширення в різних провінціях Ірану. У цьому звіті, окрім груп крові АВ0 та Rh, частоти генотипу та фенотипу рідкісних груп крові, включали Келл (n=5522), Даффі (n=3764), Кідд (n=3650), лютеранську (n=3199), Кр (n=1489), Хg (n=3227) групи [67].

Оскільки минуло понад 20–30 років після цього відбору в різних провінціях Ірану, переміщення населення та різноманітні фактори навколишнього середовища, хвороби, імміграція, екзогамні шлюби в різних етнічних групах, то безсумнівно, що провінційна поширеність розподілу груп крові в наш час теж змінилася. Проте з часом були підготовлені та опубліковані звіти про випадки захворювання та місцеві частоти груп крові в різних регіонах Ірану, включаючи звіт про групи крові АВ0 та Rh у населення Ларестана та Ламерда, Фарс [52].



### 1.3. Взаємозв'язок між групами крові та захворюваннями

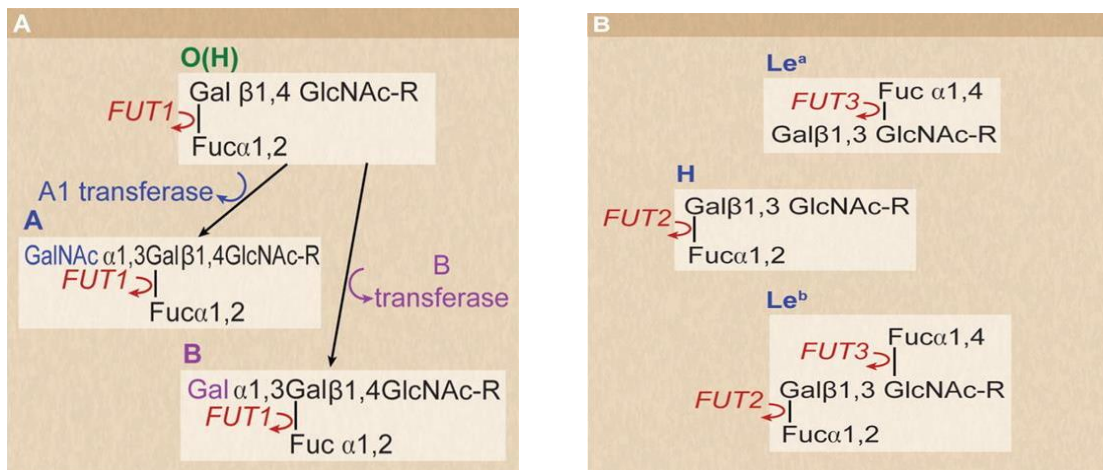
Антигени групи крові людини АВО демонструють альтернативні фенотипи та генетично отримані глікокон'югатні структури, розташовані на поверхні еритроцитів, які відіграють активну роль у фізіології та патології клітин. Зв'язок між групою крові та хворобами вивчався з початку 1900-х років, коли дослідники встановили, що антитіла та антигени передаються у спадок. Однак через відсутність антигенів деяких груп крові виникли деякі суперечливі питання щодо зв'язку між групою крові АВО та вразливістю до певних інфекційних і неінфекційних захворювань [68].

Частоти груп крові відрізняються між популяціями. Досягнення в нашому розумінні моделей міграції ранніх людей з Африки для заселення решти світу, отримані завдяки використанню маркерів Y-хромосоми та мтДНК, значною мірою сприяють цій дискусії. Існують яскраві приклади захисту від інфекційних захворювань через успадкування поліморфізму в генах, що кодують і регулюють експресію АВН і антигенів Льюїса у виділеннях організму, зокрема щодо *Helicobacter pylori*, норовірусної та холерної інфекції. Проте наявні дані свідчать про те, що виживання після малярії є найважливішою селективною силою, що впливає на експресію груп крові.

Еритроцити, у яких відсутні або мають змінені форми активних молекул крові, зазвичай зустрічаються в регіонах світу, де малярія є ендемічною, зокрема фенотип  $Fy(a-b-)$  і фенотип  $Ss-$  в Африці, а також  $Ge-$  і  $SAO$  фенотипи в Південно-Східній Азії. Ефекти Фаундера дають більш переконливе пояснення розподілу фенотипу  $D-$  та виникнення гемолітичної хвороби плода та новонародженого в Європі та Центральній Азії [68].

### 1.3.1. Інфекційні хвороби та підбір антигенів групи крові АВ0

Молекулярна основа системи груп крові АВ0 була з'ясована в 1990 році. Ген кодує глікозилтрансферазу, яка переносить N -ацетил D-галактозамін (група А) або D-галактозу (група В) до невідновлюючих кінців гліканів на глікопротеїнах і гліколіпідах. Фенотип групи О є результатом інактивації гена глікозилтрансферази А1, а невідновлювані кінці відповідних гліканів у суб'єктів групи О експресують антиген групи Н крові ( рис.1.2.). Антигени АВН не обмежуються еритроцитами, а широко експресуються в рідинах і тканинах організму. Біологічне значення трансферази А/В не було чітко продемонстровано, але можна очікувати, що втрата цього функціонального білка у пацієнтів групи О матиме деякі шкідливі наслідки для пацієнтів з цієї групою крові [65].



**Рис. 1.2. Будова антигенів АВ0, Н та Льюїса**

(А) Структура антигенів АВ0 і Н на еритроцитах людини. Н-антиген, утворений під дією FUT1 впливає на ланцюги-попередники олігосахаридів, у яких кінцевий залишок D-галактози з'єднаний з вуглецем 4 передостаннього залишку N -ацетил-D-глюкозаміну (ланцюг II типу).

(В) Структура антигенів групи крові Le у виділеннях організму. Секреторний ген (FUT2) регулює вироблення H-антигену, який може бути перетворений на A або B-антиген, якщо присутня відповідна активна ABO-глікозилтрансфераза. АВН, Le<sup>b</sup> – активні структури, що утворюються на ланцюгах попередників олігосахаридів, у яких кінцевий залишок D-галактози з'єднаний з вуглецем 3 передостаннього N-залишку ацетил D-глюкозаміну (ланцюг типу I). Якщо FUT 2 дефіцитний, то активна структура Le<sup>a</sup> переважає.

Одним із найбільш значущих зв'язків між захворюваннями, описаними для O (суб'єкти груп A, B або AB) проти O суб'єктів, є сприйнятливість до артеріальної та венозної тромбоемболії. Пацієнти, які не належать до групи O, мають більший ризик венозної тромбоемболії, ніж пацієнти групи O, і мають вищі рівні фактору фон Віллебранда (VWF) і фактору VIII [24]. Ризик венозної тромбоемболії, ймовірно, пов'язаний з рівнем VWF і фактором VIII, оскільки пацієнти групи A2 мають нижчі рівні цих білків, ніж A1, B і AB, і мають нижчий ризик венозної тромбоемболії. Антигени груп крові A, B і H експресуються на N-гліканах VWF і впливають на період напіврозпаду білка (10 годин для групи O та 25 годин для осіб, які не належать до O), що пояснює більш високі рівні в пацієнтів без O. Ці спостереження підвищують ймовірність того, що більша схильність до утворення тромбів у пацієнтів без O давала першим людям перевагу у виживанні. Такий аргумент був висунутий на користь виникнення протромботичних мутацій фактору Leiden і протромбіну, які зазвичай зустрічаються у білих людей, датованих 20 000-24 000 років тому в кінці останнього льодовикового періоду. Вважається, що мутації, такі як фактор Leiden, знижують ризик кровотечі та важких інфекцій і, таким чином, ризик смерті під час вагітності. Подібна гіпотеза може пояснити функцію антигенів A і B на VWF [28].

Що ж тоді було стимулом, який спричинив інактивацию цього гена та створення фенотипу групи O, який настільки поширений у всьому світі?

Нещодавно були переглянуті докази, які підтверджують думку про те, що група крові O забезпечує вибіркочу перевагу проти важкої малярії. Аргумент переконливий. Вважається, що група O виникла в Африці до міграції ранніх людей. Важка форма малярії призводить до смерті мільйонів щороку до того, як вони досягнуть дітородного віку, і, отже, вибирає гени виживання. Експериментальна підтримка гіпотези надається Фраєм та ін., повідомляють про зменшення розетування *Plasmodium falciparum* ізолятів малійських дітей групи O порівняно з групами крові не O. Паразитовані еритроцити утворюють розетки з неінфікованими еритроцитами та прилипають до ендотелію судин, викликаючи закупорку судин і важке захворювання [49].

Існують інші приклади інфекційних захворювань, при яких тяжкість інфекції може бути безпосередньо пов'язана з фенотипом ABO. Автори численних досліджень показали, що коли людина інфікується холерою (штам *Vibrio cholerae* O1), група фенотипу O надає більшу ймовірність важких інфекцій, ніж фенотип групи крові без O. Glass та ін. припускають, що низька поширеність групи O та висока поширеність групи B у Бангладеші безпосередньо пов'язані з вибіркочим тиском холери. Майже всі нещодавні пандемії холери походять із цього регіону. Пацієнти групи O були більш сприйнятливими до спалаху шлунково-кишкових інфекцій, викликаних *Escherichia coli* O157 у Шотландії в 1996 році. Загалом 87,5% пацієнтів, які померли, належали до групи O[6].

Однак припущення про те, що віспа відбирає проти A, тим самим пояснюючи високу частоту групи A в Європі, і що низька частота O в стародавніх осередках чуми в Монголії та на Близькому Сході також є відображенням відбору, не підтверджується адекватними даними (

Фогель та інші [1960]). Останні дослідження пов'язують високу частоту мутації стійкості до ВІЛ-1 у Європі із захистом від віспи та чорної смерті. Ця пропозиція також була поставлена під сумнів. Мутації А→О відбулися набагато раніше в еволюції людини, ніж епідемії чуми та віспи середньовіччя. Як обговорювалося раніше, мутація А→О, ймовірно, була викликана малярією в Африці до міграції ранніх людей до Європи, а ВІЛ був описаний у скелетах бронзового віку. Поєднання селекції проти інфекційних захворювань, таких як чума та віспа, а також генетичного дрейфу та ефектів засновників у невеликих популяціях (в результаті моделей міграції ранніх людей) може врешті-решт пояснити частоти алелів, які спостерігаються сьогодні [13].

Експресія антигенів АВН у тканинах і рідинах організму, крім клітин крові, регулюється секреторним геном (FUT2), який кодує альфа-1,2-фукозилтрансферазу, здатну переносити L-фукозу на вуглець 2 галактози (бета, 1-3) глікани, що містять N-ацетил D-глюкозамін. За відсутності активного гена FUT2 (несекреторного) створена структура антигеном Le<sup>a</sup>. Продуктом гена Le є альфа-1,3/4-фукозилтрансфераза (FUT3), яка переносить L-фукозу на вуглець четвертого передостаннього залишку N-ацетил-D-глюкозаміну тих самих гліканів. Структура, утворена в тканинах спільною дією FUT2 і FUT3, є антигеном Le<sup>b</sup>.

Антигени А і В можуть утворюватися лише в тканинах пацієнтів з активним FUT2 під дією альфа-глікозилтрансфераз, здатних переносити N-ацетил D-галактозамін або D-галактозу на вуглець тих самих гліканів. Виділення тканини людини з активним FUT2 (секретор) можуть експресувати антигени А, В, Н та Le<sup>b</sup>, відповідно до успадкованих генів глікозилтрансферази. У європейських і африканських несекреторів часто зустрічається гомозиготне успадкування нонсенс-мутації, що інактивує FUT2 (20% європейців) [25].

На Далекому Сході та в регіонах Тихого океану найпоширеніша мутація у FUT2 викликає зміну однієї амінокислоти у ділянці фукозилтрансферази, що призводить до 5-кратного зниження активного ферменту. Секвенування FUT2 у 732 пацієнтів із 39 популяцій підтвердило широке поширення алеля  $se^{428}$  у Європі, Центральній Азії, Африці та алеля  $se^{385}$  на Далекому Сході та в Тихому океані. Також це відобразило ще 2 алелі  $se$  з більш обмеженим поширенням ( $se^{302}$  і  $se^{571}$ ) до Центральної та Південної Азії та Камбоджі відповідно. Наявність гомозиготності для несекреторного фенотипу має очевидну перевагу виживання при деяких інфекційних захворюваннях [15].

Одним із перших доведених зв'язків між поліморфізмом групи крові та захворюванням був зв'язок між групою O та пептичною виразкою. Зараз відомо, що шлунковий збудник *H. pylori* є збудником пептичної виразки та раку шлунка. *H. pylori* створив колонії в шлунках приблизно половини населення світу. Ранні дослідження показали, що південноамериканський штам *H. pylori* зв'язувався зі структурами групи  $O Le^b$ , але не з  $A Le^b$ , на епітелії шлунка, таким чином надаючи чітке пояснення більшої чутливості секреторів групи O [7].

Більш пізні дослідження штамів *H. pylori* з різних частин світу показали, що не всі штами настільки специфічні для  $O Le^b$ , багато штамів з-за межами Південної Америки мають здатність зв'язувати  $A Le^b$  на додаток до  $O Le^b$ . Тим не менш, ці штами мають більшу спорідненість зв'язування з  $O Le^b$  порівняно з  $A Le^b$  (приблизно в 5 разів більше) [4].

Аналіз послідовності бактеріальної поверхневої молекули, відповідальної за зв'язування з епітелієм шлунка (адгезин, що зв'язує антиген групи крові), з різних штамів *H. pylori* показали, що перуанські штами були тісно пов'язані з іспанськими, але не з азіатськими штамми, створюючи інтригуючу можливість того, що  $O Le^b$ -специфічні штами, виявлені в Південній Америці, могли бути після

європейської колонізації Південної Америки в 16 столітті та являти собою адаптацію до популяції, яка майже повністю має фенотип групи крові O [4].

Сприйнятливість до норовірусної інфекції також тісно пов'язана з експресією антигенів АВН і Le в шлунково-кишковому тракті. Норовіруси є найпоширенішою причиною гострого гастроентериту у людей і, за оцінками, спричиняють від 60% до 85% усіх спалахів гастроентериту в країнах, що розвиваються. Вони передаються під час споживання зараженої їжі, зокрема устриць, які здатні концентрувати вірус, або після контакту з зараженою водою. Основну роль секреторного статусу у визначенні сприйнятливості до норовірусу чітко продемонстрували Thorven та інші, які порівнювали сприйнятливість до гастроентериту у пацієнтів і медичного персоналу, залучених до спалахів лікарняних захворювань у Швеції. Результати показали, що лише несекреторні гомозиготні пацієнти були захищені від інфекції. Larsson та ін. також продемонстрували значно нижчі титри антитіл до норовірусу у несекреторів порівняно з секреторами. Однак існує багато різних штамів норовірусу, і деякі штами зв'язуються з несекреторними структурами Le<sup>a</sup> і викликають симптоматичну інфекцію [55].

Змінна специфічність різних штамів для структур АВН і Le<sup>b</sup>, про які повідомляється, відображає різноманітність, подібну до різноманітності вищезгаданого H. рулогі. Також були представлені докази більшої чутливості секреторів до вірусів грипу, риновірусів, респіраторно-синцитіального вірусу та еховірусів. Знижений ризик інфікування ВІЛ типу 1 було виявлено у сенегальських працівників із несекреторним типом. Про повільне прогресування захворювання ВІЛ-1 у несекреторів також повідомили Kindberg et al [26].

Несекреторні особини більш сприйнятливі до інфекцій, викликаних *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* і *Streptococcus*

pneumoniae , а також до інфекції сечовивідних шляхів, спричиненої *E. coli* .

Мутація у гені трансмембранного регулятора кістозного фіброзу є поширеною у європейських пацієнтів і була присутня в Європі в період палеоліту більше 10 000 років тому. Можливість того, що відмінності в експресії антигенів А, В і Н у слизу дихальних шляхів можуть призводити до відмінностей у зв'язуванні мікробів і сприяти більш серйозним захворюванням легенів, досліджували у 808 пацієнтів, гомозиготних. Жодного зв'язку з генотипом АВО, Se або Le не спостерігалось [57].

### **1.3.2. Докази вибору фенотипів груп крові, які рідко зустрічаються за межами ендемічних регіонів малярії**

Цілком ймовірно, що найбільш руйнівний вплив малярії на популяцію людей збігся зі зміною способу життя від мисливців-збирачів до більш сидячої сільськогосподарської практики приблизно 10 000 років тому. Знищення дерев із лісових масивів створило потенціал для басейнів стоячої води та місць розмноження комарів, які переносять паразитів.

Найяскравіші приклади селекції при малярії відображені в широкому розповсюдженні спадкових анемії, зокрема серповидно-клітинної анемії та альфа-таласемії, а також у появі гемоглобіну С у регіонах світу, де малярія є ендемічною. Мутація, що спричинила серповидно-клітинну анемію, могла виникнути в 3 різних місцях Африки (Атлантична Західна Африка, Центральна Західна Африка, Центральна та Південна Африка) з поширенням мутації у 2000 році [39].

У цьому випадку пацієнти, які успадковують ген HbS від обох батьків, мають серповидно-клітинну анемію, тоді як гетерозиготні пацієнти, які успадковують ген HbS від одного з батьків і нормальний



ген HbA від іншого, мають значний захист від малярії. Подібний захисний ефект для гетерозиготи є ймовірним у Південно-Східній Азії, де HbE дуже поширений, а еритроцити пацієнтів із генотипом HbAE помітно менш сприйнятливі до інвазії малярійних паразитів *in vitro* [10].

Подальшими ілюстраціями різноманітності мутацій, які виникли у відповідь на малярію, є дефіцит глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, яка широко поширена в Середземномор'ї та Індії.

*Plasmodium vivax* і фенотип групи крові Fy(a-b-).

Повна відсутність в еритроцитах молекули, що несе антигени групи крові Даффі, виявлена майже у 100% жителів Західної Африки, і ця відсутність чітко та недвозначно продемонструвала захист від *P. vivax*. Молекулярною основою цього дефіциту Даффі є точкова мутація в місці зв'язування фактора транскрипції GATA-1. GATA-1 є ДНК-зв'язуючим білком, необхідним для еритропоезу, і його неспроможність зв'язуватися з промотором гена Даффі означає, що білок відсутній в еритроцитах уражених суб'єктів. В африканців мутація відбувається на алелі Даффі, який інакше генерував би фенотип Fy(b+). Та сама мутація GATA-1 відбулася вдруге в Південно-Східній Азії, де вона виникла на алелі Даффі, який інакше генерував фенотип Fy(a+) [66].

Інша мутація, що створює слабку експресію Даффі (Fy<sup>x</sup>), також має відношення до малярії, але про відповідні популяційні дослідження не повідомлялося. Нещодавно було отримано докази появи *P. vivax* у Південній Америці та Східній Африці, з'явилися штами, які здатні вражати червоні клітини Fy(a-b-) [51].

Захисний ефект фенотипу Fy(a-b-) проти *P. vivax* очевидний і однозначно встановлений. Незрозумілі згубні наслідки цієї мутації для суб'єктів, які виражають фенотип. Білок Даффі експресується на ендотеліальних клітинах у цих суб'єктів, але не на еритроцитах, тому будь-яка спроба зрозуміти наслідки дефіциту Даффі еритроцитів повинна брати до уваги функціональну роль ендотеліального

білку. Білок Даффі є членом сімейства хемокінових рецепторів, що охоплюють мембрану, але, на відміну від більшості хемокінових рецепторів, не впливає на внутрішньоклітинну передачу сигналів через G-білки [17].

Останні дані свідчать про те, що білок Даффі на ендотеліальних клітинах зв'язує хемокіни та сприяє екстравазації лейкоцитів, сприяючи патогенезу захворювання через запалення. Докази посилення експресії Даффі в ендотелії судин під час інфекції та відторгнення трансплантата підтверджують цю точку зору [54].

Відсутність Даффі на еритроцитах у пацієнтів з  $Fy(a-b-)$  змінює баланс запальних хемокінів в організмі, оскільки відсутня дуже велика здатність зв'язування еритроцитів, але наслідки цієї зміни наразі невідомі. Лі та інші надають докази того, що еритроцити та ендотеліальний білок регулюють кінетику біодоступності хемокінів між кровообігом та екстравакулярними ділянками під час запалення. Очевидно, що це регулювання буде змінено в  $Fy(a-b-)$  суб'єктах. У мишачій моделі запалення, викликане цитидиловою кислотою, значно посилювало алоїмунізацію еритроцитів [22].

Цікаво відзначити, що пацієнти із серповидно-клітинною анемією мають переважно фенотип  $Fy(a-b-)$ , і що утворення кількох алоантитіл до еритроцитів під час переливання (зазвичай з кров'ю білих донорів) є частою та значною проблемою, з якою стикаються працівники центрів переливання крові, які прагнуть забезпечити пацієнтів сумісною кров'ю. Пацієнти із серповидно-клітинною кризою та мишачі моделі СКА людини мають багато показників запальної відповіді. Ці дані свідчать про те, що підвищена схильність до алоїмунізації у пацієнтів із СКА пов'язана із запаленням, а також ставить питання про значення  $Fy(a-b-)$  у цьому процесі [5].

Докази того, що пацієнти з СКА із фенотипом  $Fy(a-b-)$  більш сприйнятливі до хронічного ураження органів і протеїнурії, ніж пацієнти

з СКА із нормальним фенотипом Fy, і узгоджуються з такою гіпотезою. Ймовірно, на інтерпретацію також впливають генетичні відмінності імунної відповіді та генів цитокінів в африканських популяціях порівняно з іншими популяціями світу. Якщо Fy(a-b-) суб'єкти будуть більш сприйнятливими до алоімунізації, тоді потенційне використання протизапальної терапії для лікування хвороби може мати додатковий бонус у вигляді зниження темпів алоімунізації еритроцитів і забезпечити необхідний альтернативний підхід до серйозної проблеми переливання [56].

Подальшим наслідком селекції за фенотипом Fy(a-b-) в Африці може бути зміна кінетики інфекції ВІЛ-1 у людей із цим фенотипом. Декілька штамів ВІЛ-1 зв'язуються з Даффі на нормальних еритроцитах, полегшуючи перенесення ВІЛ-1 до його клітин-мішеней (CD4<sup>+</sup>/CCR5<sup>+</sup> Т-лімфоцити) з більшою ефективністю, ніж Fy(a-b-) еритроцитів. Було підраховано, що пацієнти з фенотипом Fy(a-b-) мають на 40% більшу ймовірність отримати ВІЛ, ніж ті, у кого відсутній фенотип; проте захворювання, якщо воно вже придбане, прогресує повільніше, ніж у інфікованих пацієнтів нормального типу Fy. Можна прийти до висновку, що ці відмінності пов'язані з втратою конкуренції за зв'язування ВІЛ-1 між плазмовим хемокіном і Даффі на еритроцитах у суб'єктів Fy(a-b-) і наступними змінами у запальному стані у інфікованих. Висновки цього дослідження були заперечені Walley та ін., які не виявили зв'язку між генотипом Fy і прогресуванням СНІДу або ризиком зараження ВІЛ. Вони також зазначають, що кількість патентів на ВІЛ, використаних Walley та ін. був набагато меншим (227 проти 814) і припускає, що ця різниця може бути головним фактором, що впливає на аналіз [21].

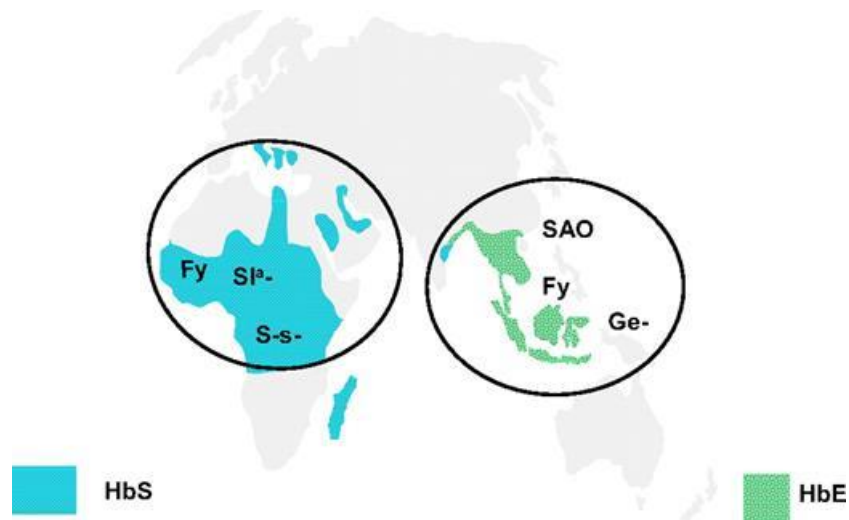
Різні штами *P. falciparum* використовують білки різних груп крові як рецептори. Подвійна доступність систем культивування *in vitro* для вивчення інвазії еритроцитів людини *P. falciparum* і добре

охарактеризовані фенотипи рідкісних груп крові дозволили ідентифікувати рецептори еритроцитів, які використовуються різними штамми паразитів. Ранні дослідження клітин без глікофору А і глікофору В надали докази того, що глікопротеїни поверхні еритроцитів, збагачені сіаловою кислотою, є рецепторами паразитів, і ці спостереження були підтверджені. Глікофори С і D також є рецепторами для деяких штамів *P. falciparum*. Глікофори є основними білками на поверхні еритроцитів. Глікофорин А і основний аніонний транспортний білок є найпоширенішими поверхневими білками еритроцитів, а глікофори В, С і D разом становлять 450 000 копій на еритроцити.

Існує мало експериментальних доказів, які б свідчили про те, що селекція проти експресії GPA мала місце у відповідь на інфекцію *P. falciparum*. Еритроцити пацієнтів, які мають гібридний білок GPA-GPB, який поширений у деяких частинах Африки, протистоять інвазії, і було припущено, що підвищена експресія смуги 3 спостерігається у пацієнтів із GPB-GPA-GPB. Важливість сіалової кислоти для GPA у формуванні рецептора для *P. falciparum* свідчить про те, що еритроцити, які експресують варіанти глікозилювання GPA, зазвичай зустрічаються в африканців, в яких *N*-ацетил-*D*-глюкозамін, присутній у деяких *O*-гліканах. Вони мають сіалову кислоту, на *N*-кінці та можуть мати відношення до сприйнятливості людини до малярії [11].

На відміну від ситуації з GPA, суб'єкти з нестачею глікофору В зустрічаються з високою частотою в Центральній Африці. Пацієнти з еритроцитами без GPC і глікофору зустрічаються дуже рідко, але пацієнти з таким фенотипом мають змінений GPC внаслідок делеції екзону 3 GYPC, поширені у меланезійців, особливо помітно в Папуа-Новій Гвінеї, і отриманий фенотип забезпечує захист від *P. falciparum* (рис. 1.3.) [32]. Очевидно, різні штами *P. falciparum*, а саме їх цільові глікофори, пов'язані з тим чи іншим мембранним комплексом,

забезпечуючи ключові цито-скелетні зв'язки, підтримуючи стабільність мембрани еритроцитів, і відбір, що призводить до втрати або зміни глікофоринів у будь-якій із цих ділянок, дає перевагу виживанню.



**Рис. 1.3. Розподіл фенотипів рідкісних груп крові, виділених малярією в Африці та Південно-Східній Азії**

Розташування фенотипів рідкісних груп крові без глікофорину В ( $Ss^-$ ), зі зміненим глікофориним С ( $Ge^-$ ; негативний по Гербіху),  $Fy$  (Даффі) група крові – нульовий алель ( $Fy$ ),  $Sl(a^-)$  алель рецептора комплементу 1, і мутація, що спричиняє овалоцитоз Південно-Східної Азії, у порівнянні з розподілом алелей  $HbS$  та  $HbE$  [63].

Меланезійці також демонструють інший приклад селекції, що забезпечує захист від церебральної малярії, фенотипу, відомого як овалоцитоз Південно-Східної Азії. Клітини овалоцитозу Південно-Східної Азії, як зрозуміло з назви, мають аномальну форму. Вони також характеризуються ослабленою експресією великої кількості антигенів груп крові, включаючи антигени, виявлені на білках групи 3, GPA та Rh. У цьому випадку відбір надає перевагу гетерозиготі. Гетерозиготи успадковують нормальний ген Band 3 разом із мутантним неактивним геном Band 3, що виникає в результаті делеції та спричиняє втрату 9 амінокислот у точці, в якій цитоплазматичний N-кінцевий домен входить у цитозольну поверхню ліпідного бішару [9].

Гомозиготне успадкування цієї мутації призводить до повного дефіциту діапазону 3. Оскільки смуга 3 необхідна для дихання і для підтримки цілісності мембрани еритроцитів, з точки зору еволюції слід припустити, що таке успадкування несумісне з виживанням. Було описано рідкісні суб'єкти з повним дефіцитним станом діапазону 3, але виживання залежить від обширної медичної підтримки, особливо в період новонародженості [48].

Рецептор комплементу 1 (CR1) переносить антигени системи груп крові Кнопса. Експресія CR1 дуже різна між пацієнтами, і еритроцити, що експресують менше ніж 100 копій CR1 на клітину, демонструють знижену розетку зі штамом *P. falciparum*, як і еритроцити, що експресують фенотип  $S1^a$  – групи крові. Фенотип  $S1^a$  –, який є результатом одонуклеотидного поліморфізму у довгому гомологічному повторі D, зустрічається лише у 1% білого населення, але досягає 70% у малійців [38].

#### 1.4. Значення груп крові

З 33 антигенів системи груп крові, п'ять визначаються їх вуглеводними структурами (ABO, H, P1Pk, I, GLOB); два отримані з плазми. Решта 23 характеризуються білковою послідовністю мембранного білка еритроцитів, п'ять основних білків (DI, Rh, RhAG, MNS, GE та CO) серед них експресуються на вищих рівнях і функціонують як мембранні транспортери, тоді як функціональне значення решти 17 антигенів невідоме. Пропонована функція інших антигенів полягає в основному в передачі сигналів рецепторів/лігандів, ферментативної активності та утворення глікокаліксу [12]. Проте нульовий фенотип системи не показує аномалій імунної системи порівняно з мишами, за винятком притупленої відповіді нейтрофілів на вплив бактеріального ліпополісахариду. Подібним чином, антиген групи

крові Кнопса асоціюється з рецептором комплексу 1 і система Кромера з фактором прискорення розпаду. Тим не менш, клінічна функція нульових фенотипів цих груп крові все ще залишається нез'ясованою (рис. 1.4.) [58].

Blood group system	Protein products	Function	Functional lesion in RBC in null phenotypes	Clinical significance
DI	Band-3	Anion transport	Hereditary spherocytosis	Growth retardation Distal renal tubular acidosis
MNS	Glycophorin A Glycophorin B	Facilitates membrane assembly of band-3	No lesions	
Rh	D polypeptide CE polypeptide	Facilitates band-3/RhAG complex assembly	Hereditary stomatocytosis	Increased permeability to cations
RhAG	Rh associated glycoprotein	Neutral gas transport	Hereditary stomatocytosis	Increased permeability to cations
GE	Glycophorin C Glycophorin D	Maintains red cell shape through interaction with protein 4.1	Hereditary ellipsocytosis	
CO	Aquaporin-1	Water/CO <sub>2</sub> transport	Impaired water transport	
FY	Duffy glycoprotein (DARC)	Chemokine receptor for proinflammatory cytokines	Absence of chemokine binding	
Kell	Kell glycoprotein	Zinc endopeptidase	No lesion	
Jk	Urea transporter	Urea transporter	Reduced urea transport	
Cromer	Decay accelerating factor (CD55)	C3 convertase inhibitor	No lesion	
LU	Lutheran glycoprotein	Ligand for laminin 511/512	No lesion	
XK	Kx glycoprotein	Amino acid transport	Acanthocytosis	McLeod phenotype (CNS abnormalities, muscle weakness, cardiomyopathy)

**Рис. 1.4. Патологія, пов'язана з нульовим фенотипом еритроцитарного антигену**

## РОЗДІЛ 2

### ЗВ'ЯЗОК ГРУПИ КРОВІ АВ0 ІЗ РІВНЕМ ФАКТОРА ВІЛЛЕБРАНДА

#### 2.1. Загальна характеристика фактору Віллебранда

Фактор фон Віллебранда є мультимерним глікопротеїном, необхідним для нормальної зупинки кровотечі після пошкодження тканин (гемостаз). Молекула присутня в крові, як у плазмі, так і всередині тромбоцитів, а також в ендотеліальних клітинах і субендотеліальному матриксі стінки судин. Через численні функціональні домени фактор фон Віллебранда опосередковує прикріплення тромбоцитів до відкритих тканин, де відбувається розрив ендотелію судин, і подальшу агрегацію тромбоцитів, що призводить до утворення тромбоцитарних тромбів [2].

Вирішальна роль фактора фон Віллебранда у функції тромбоцитів особливо очевидна, коли гемодинамічні умови створюють кровотік із високим напруженням зсуву, як у капілярах за фізіологічних умов або в стенозованих і частково закупорених артеріях у хворобливих станах. Участь фактора фон Віллебранда в процесах, що призводять до гострого тромбозу, привернула значний інтерес до молекулярної та функціональної біології білка. Дійсно, розуміння механізмів і структурних основ функції фактора фон Віллебранда може призвести до нових і ефективних підходів до антитромботичних втручань.

Фактор адгезивного білка фон Віллебранда сприяє функціонуванню тромбоцитів, опосередковуючи ініціацію та прогресування утворення тромбу в місцях ушкодження судин. За останні 2 роки було пояснено тривимірну структуру специфічних доменів із демонстрацією чітких конформаційних змін у домені А1, викликаних замінами окремих амінокислот, пов'язаних із посиленням зв'язування з тромбоцитами [2].



Структурно-функціональні властивості взаємодії між доменом фактора фон Віллебранда A1 та глікопротеїном Iba також були з'ясовані більш детально, наближаючи дослідників до розуміння того, як цей адгезивний зв'язок може протистояти ефектам рідинної динаміки швидкоплинної крові, щоб ініціювати утворення тромбу та, водночас, сприяти активації тромбоцитів. Оскільки гемодинамічні сили значною мірою впливають на реакцію тромбоцитів та пошкодження судин у стенозованих і частково закупорених артеріях, детальний опис того, як фактор фон Віллебранда взаємодіє з тканинами та тромбоцитами, може допомогти у розробці більш специфічних терапевтичних інгібіторів артеріального тромбозу. Крім того, було отримано повчальні висновки щодо зв'язку між регуляцією розміру мультимера фактора фон Віллебранда та мікросудинним тромбозом. Цей прогрес у фундаментальних дослідженнях надав важливу інформацію для більш точного визначення ролі фактора фон Віллебранда в судинній біології та патології [40].

## **2.2. Дослідження впливу груп крові АВО на рівні VWF**

Кілька досліджень задокументували вплив груп крові АВО на рівні VWF у плазмі. У великому дослідженні близнюків Орставік та його колеги виявили, що 66 відсотків загальної варіації рівнів VWF у плазмі були генетично визначені, а 30 відсотків цього генетичного компонента пояснювалося групою крові АВО. Інші дослідження постійно повідомляли, що суб'єкти групи О мають нижчі рівні VWF у плазмі крові, ніж люди, які не належать до групи О. Дійсно, у великому дослідженні 1117 здорових людей, проведеному Гіллом та його колегами, рівні VWF у плазмі були найнижчими в групі О (середнє значення антигену фактора фон Віллебранда [VWF:Ag] 75 МО/дл) і

найвищими в суб'єктах групи АВ (середнє значення VWF:Ag 123 МО/дл) [19].

У цьому ж дослідженні також виявилось, що вплив груп крові АВО на рівні VWF у плазмі може ускладнити діагностику хвороби фон Віллебранда 1 типу, оскільки нормальний діапазон для VWF:Ag в осіб групи О сягає нижче 50 МО/дл, що зазвичай вважається нижньою межею норми. Насправді автори, досліджуючи розподіл груп крові АВО у 114 пацієнтів із хворобою фон Віллебранда типу 1, виявили переважання групи крові О з частотою, яка значно відрізняється від загальної популяції (77% група О, 18% група А, 4% група В у пацієнтів із хворобою фон Віллебранда типу 1 проти 45% групи О, 45% групи А, 7% групи В у здорових осіб,  $P < 0,001$ ) [19]. Однак першочергову важливість анамнезу кровотечі в клінічному рішенні діагностувати та лікувати хворобу фон Віллебранда типу 1 було підкреслено Nitu-Whalley та його колегами в ретроспективному дослідженні про повторну класифікацію 246 пацієнтів з раніше діагностованою хворобою типу 1 [41].

На додаток до згаданої вище антигенної варіабельності VWF, Міллер та його колеги описали варіації в активності VWF (кофактор ристоцетину фактора фон Віллебранда, VWF:RCo) у осіб з різними групами АВО з особами групи О, які демонстрували значний рівень VWF:RCo нижчі, ніж у групі не-О.

Міллер і його колеги вивчали вплив групи крові АВО та расової приналежності на рівні VWF у плазмі крові та виявили, що у європеоїдів цей рівень значно нижчий, ніж у афроамериканців. Цікаво, що АВО та раса показали незалежні ефекти, що становлять 19 та 7 відсотків загальної дисперсії рівнів VWF:Ag відповідно [33].

Окрім досліджень фенотипу АВО, інші дослідники вивчали зв'язок між генотипом АВО та рівнями VWF у плазмі. Згідно з попередніми дослідженнями, найнижчі рівні VWF у плазмі були присутні в осіб

генотипу OO . Проте всі групи також виявили, що індивідууми, гетерозиготні за алелем O (генотипи AO , BO ), мали значно нижчі рівні VWF у плазмі, ніж ті, хто не має алеля O (генотипи AA , AB , BB).

Нарешті, інші дослідники вивчали вплив секреторної групи крові, яка характеризується фукозою як термінальним цукром, на рівні VWF у плазмі та виявили значно вищі рівні VWF в осіб, гомозиготних за алелем Se (генотип SeSe ), порівняно з гетерозиготними (генотип Sese ) [42].

### Характер асоціації

Фактор фон Віллебранда є одним з небагатьох нееритроцитарних білків, які експресують антигени ABO. Олігосахаридні структури АВН були ідентифіковані на N-пов'язаних олігосахаридних ланцюгах VWF. Важливість глікозиляції VWF у опосередкуванні впливу групи крові ABO на рівні VWF добре продемонстрована спостереженням, що аномальна ендотеліальна експресія глікозилтрансферази (N-ацетилгалактозамінілтрансферази) призводить до зміненої глікозиляції VWF і підвищеного кліренсу у мишей [59]. О'Доннелл та його колеги виявили прямий зв'язок між генотипом ABO, експресією трансферази A та кількістю антигену A, що експресується на циркулюючому VWF [43].

Подібним чином Мореллі та його колеги продемонстрували алель-специфічний, дозозалежний ефект алелів ABO на рівні VWF і фактору VIII і на ступінь навантаження VWF антигенами A і B. Крім того, антигени A і B, експресовані на VWF, пояснюють приблизно 18 відсотків варіацій рівнів VWF у плазмі [37].

Механізм, за допомогою якого детермінанти АВН на VWF у плазмі впливають на рівні VWF, досі невідомий, і протягом останніх років було висунуто кілька гіпотез. У той час як *in vitro* видалення антигенів A і B з VWF очищеної плазми знижує активність VWF, але не його антигенний рівень або зв'язування з колагеном, виявлення нижчих рівнів усіх трьох у осіб типу O свідчить про те, що антигени ABO *in vivo* впливають на

швидкість синтезу або протеолізу/кліренсу всієї молекули VWF, а не її функції чи мультимерної структури [35].

Гіпотезу про те, що група крові АВО впливає на швидкість біосинтезу/секреції VWF в ендотеліальних клітинах, важко дослідити, оскільки гліканові структури VWF, синтезованого *in vitro*, значно відрізняються від структур VWF плазми. Крім того, дані *in vivo* не підтверджують цю теорію, оскільки загальне збільшення VWF після інфузії десмопресину істотно не відрізнялося між особами групи О та не О [8].

Однак більш вірогідним поясненням зниження рівня VWF у осіб групи крові О є зниження виживання.

Центральна роль глікану VWF у визначенні швидкості печінкового кліренсу була продемонстрована як на моделях тварин, так і на людях. Зміни в структурі глікозилювання VWF у лінії мишей зі зміненою експресією гена N-ацетилгалактозамінілтрансферази призвели до низьких рівнів VWF, можливо, через прискорений кліренс [36]. Інший прямий зв'язок між глікозилюванням і кліренсом VWF випливає з дослідження Елліса та його колег на мишах з відсутністю ферменту ST3Gal-IV, який опосередковує приєднання сіалільних груп до кінцевих залишків галактози. У ST3Gal-IV-дефіцитних мишей період напіврозпаду ендогенного VWF був скорочений у два рази. Подібні результати були отримані Sodetz та його колегами на кроликах. Подібний зв'язок між зниженим ST3Gal-IV-опосередкованим сіалілюванням і зниженим рівнем VWF у плазмі також був виявлений у людей. Ці дані вказують на те, що сіалілювання важливе для запобігання передчасному виведенню через рецептори, які розпізнають несіалільовані кінцеві залишки галактози, такі як рецептор печінкового глікопротеїну. Носсент та його колеги використали математичний підхід і підраховали, що період напіврозпаду ендогенного VWF на дві години довший, ніж у популяції не-О.

Додаткові докази того, що детермінанти групи крові O на VWF пов'язані з підвищеним кліренсом, надаються спостереженнями про те, що інфузійний FVIII (отриманий із плазми або рекомбінантний) зникає швидше в групі крові O, ніж у пацієнтів з гемофілією A, які не належать до групи O [62]. Що стосується механізму, за допомогою якого структури АВН на VWF можуть впливати на швидкість очищення, то спочатку було запропоновано, що очищення VWF опосередковується через H - антиген печінковими рецепторами, специфічними для глікопротеїнів, що експонують фукозу. Однак наступне відкриття показало, що суб'єкти з бомбейським фенотипом, у яких повністю відсутній H -антиген на VWF і не є секреторами (немає H-субстанції в плазмі), мають навіть нижчі рівні VWF, ніж носії групи крові OO [45].

Нещодавні дослідження показали, що детермінанти групи крові ABO можуть мати важливе значення для впливу на сприйнятливість VWF плазми до протеолізу металопротеазою ADAMTS13 (дезінтегрин і металопротеїназа з повторами тромбоспондину типу 1-13). Bowen очистив VWF від осіб з різними групами крові ABO, а потім інкубував з ADAMTS13, отриманим із людської плазми. Мулімерний аналіз і тести на зв'язування колагену показали, що протеоліз був значно швидшим для групи O VWF порівняно з не-O VWF. Таким чином, раніше було показано, що вуглеводна структура захищає VWF від протеолітичної деградації в плазмі [14]. Нещодавні літературні дані показують, що зменшення кількості цукрів в олігосахаридних ланцюгах VWF пов'язане з підвищеною сприйнятливістю до розщеплення ADAMTS13. Дійсно, було виявлено, що бомбейський фенотип асоціюється з підвищеною сприйнятливістю до протеолізу ADAMTS13 [45]. Патогенний механізм, за допомогою якого група крові ABO впливає на сприйнятливість до розщеплення за допомогою ADAMTS13, досі невідомий, але два N-зв'язані потенційні сайти глікозилування (аспарагіни 1515 і 1574) розташовані в безпосередній близькості від сайту розщеплення. Таким

чином, композиція олігосахаридного ланцюга може брати участь у стабілізації конформації цієї області VWF, так що видалення кінцевого цукру дозволяє домену A2 прийняти конформацію, більш сприятливу для розщеплення ADAMTS13.

#### Клінічні наслідки

Ряд досліджень продемонстрував взаємозв'язок між групою крові AB0 і гемостазом. Дійсно, більш високий рівень ускладнень кровотечі описаний у пацієнтів, що належать до групи O, а особи групи крові O постійно перевищують кількість пацієнтів із спадковими розладами кровотечі. Зв'язок між групами крові, відмінними від O, і ризиком артеріальної тромбоемболії, включаючи ішемічну хворобу серця та захворювання периферичних судин, був визнаний кількома дослідженнями [19].

Результати дослідження Hoorn вказали, що група крові не-O була пов'язана з удвічі більшою смертністю від серцево-судинних захворювань порівняно з групою крові O. Також повідомлялося про підвищений ризик венозної тромбоемболії в осіб, які не мають O. Цікаво, що Мореллі та його колеги виявили, що у носіїв алелів не-O удвічі підвищений ризик першого тромбозу глибоких вен і що генотипи не- OO сильно впливають на ризик тромбозу у носіїв Ф5 фактору Лейдена. З іншого боку, як артеріальний, так і венозний тромботичні ризики пов'язані з рівнями VWF . Проте лише кілька досліджень вивчали вплив рівнів VWF на зв'язок між групою крові AB0 та тромбозом [60].

Щоб з'ясувати роль групи крові AB0, VWF і FVIII у процесі тромбозу глибоких вен, Костер і його колеги провели популяційне дослідження пацієнтів-контроль на 301 послідовних пацієнтах і 301 контрольній групі. В однофакторному аналізі автори виявили, що ризик тромбозу зростає зі збільшенням рівнів VWF і FVIII і був вищим у пацієнтів, які не належали до групи O, ніж у суб'єктів групи O. Однак у

багатофакторному аналізі лише FVIII залишався фактором ризику, що свідчить про тісний зв'язок між групою крові та концентрацією VWF [27].

Тірадо та його колеги проаналізували 250 пацієнтів з венозним тромбозом і 250 непов'язаних контрольних груп і виявили вищі рівні VWF у групі, що не є O, що було частіше у пацієнтів. Однак ризик, пов'язаний з VWF, сильно залежав від груп крові, оскільки він зник після коригування груп ABO. Подібні результати були отримані Охіром та його колегами у дослідженні Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology (LITE) [31].

Загалом результати цих досліджень вказують на те, що порівняно з типом O особи, які не належать до O, можуть мати підвищений ризик тромбоутворення через вищі рівні VWF-FVIII. Однак не всі дослідження погоджуються з цими висновками, оскільки деякі автори виявили, що зв'язок між VWF і ризиком серцево-судинної смертності не залежить від групи крові [23].

## РОЗДІЛ 3

### РІВНЕНЬ ФАКТОРА ВІЛЛЕБРАНДА У ДОСЛІДЖУВАНІЙ ГРУПІ

#### 3.1. Організація та методика дослідження

##### Організація експерименту

Даний експеримент проводився на базі медичної лабораторії. В нашому експерименті біло задіяно 150 осіб, середній вік яких складав  $54 \pm 2$  роки . В експерименті участь приймала однакова кількість осіб (відповідно до статі): 75 жінок та 75 чоловіків. Для отримання відомостей про стан загортальної системи крові на умовах повної анонімності досліджували дані з медичної документації діагностичної лабораторії Черкаської районної лікарні осіб, які проходили медичне обстеження (диспансеризацію).

Статистичну достовірність оцінювали з використанням Т-критерію Ст'юдента. Достовірною вважали різницю при  $p \leq 0,05$ .

#### 3.2. Методи дослідження

##### Визначення груп крові за системою АВ0

1. Після взяття венозної крові до пробірки додавали 3,8 % лимоннокислого цитрату натрію у співвідношенні 1:4.
2. Далі кров центрифугували зі швидкістю 1000 об./хв протягом 5 хв.
3. Капілярним способом відбирали плазму крові, поміщали в ємність із температурою  $+4$  °С.

Плазму крові на вміст фактору Віллебранда оцінювали методом, принцип якого базується на здатності фактору Віллебранда спричиняти аглютинацію тромбоцитів у присутності антибіотика ристоцетину (ристоміцину).



Здатність до такої аглютинації зберігається у тромбоцитів після їх фіксації формальдегідом, коли повністю втрачається реакція на інші індуктори агрегації.

Дану методику відтворювали за допомогою набору реагентів «РЕНАМ» на оптичному агрегометрі. Результати досліджень обробляли за допомогою описової статистики [69].

Суб'єкти дослідження були класифіковані як тип О (ОО), тип А (АА або АО), тип В (ВВ або ВО), тип АВ (АВ). З метою виявлення зв'язків із рівнем фактору Віллебрандта надалі буде використовуватися ця групова ознака.

#### Метод визначення активності тромбоцитів на агрегометрі.

Метод заснований на визначенні впливу фактору Віллебранда, який присутній у плазмі, яка досліджується, на ристоцетин-агрегацію фіксованих формаліном тромбоцитів, отриманих від здорових людей. Оброблені розчином формаліну тромбоцити зберігають здатність до ристоцетин-агрегації, але не можуть агрегувати спонтанно, а також під впливом відомих інших індукторів агрегації (АДФ, адреналіну, колагену та ін.).

Визначення можуть бути виконані на фотоелектроколориметрі або на агрегометрі. Мануальні варіанти з оцінкою аглютинації фіксованих тромбоцитів на склі (предметному, у пробірці) малоприматні, оскільки мають низьку точність визначень.

#### Матеріал для дослідження

Цитратна бідна на тромбоцити плазма крові.

Реактиви:

1. 3,8% розчин цитрату натрію.
2. 0,2% розчин динатрієвої солі етилендіамінтетраоцтової кислоти у 0,9% розчині хлористого натрію (рН 6,4).
3. Фіксуєчий розчин: 20 мл свіжоприготовленого 40% розчину формаліну розчиняють у 1000 мл буферу, що містить 0,2 г динатрієвої

солі, 9,0 г хлориду натрію, 0,5 г однозаміщеного фосфорнокислого калію, 1,1 г двозаміщеного натрію фосфорнокислого (рН 6,4).

4. Відмивний розчин: з'єднують один об'єм 3,8% цитрату натрію та п'ять об'ємів 0,9% хлористого натрію (рН 6,4).

5. Суспензуючий розчин готується з тих же компонентів, що і відмивний, але рН доводиться до 7,4.

6. Розчин для зберігання тромбоцитів: 1,1 г оцтовокислого натрію, 0,2 г динатрієвої солі, 9,0 г хлористого натрію розчиняють у 1000 мл дистильованої води (рН 6,4).

7. Розчин ристоміцину: 6 мг ристоміцину (продуцент актиноміцету *Nocardia lurida*) розчиняють у 1 мл 0,9% розчину хлориду натрію (готується безпосередньо перед визначеннями).

#### Приготування фіксованих тромбоцитів.

Кров забирають від здорових людей у посуд з додаванням 3,8% розчину цитрату натрію. Співвідношення обсягів крові та розчину цитрату – 9:1. Потім кров центрифугують при 1500 об/хв (240 д) протягом 6 хв, одержують плазму, багату тромбоцитами.

Плазму витримують за кімнатної температури (+18 ... +25 ° С) протягом 1 години і ще 1 годину при температурі + 37 ° С. Потім її змішують з розчином динатрієвої солі у співвідношенні 9:1 і через 2 хв додають рівний об'єм фіксуючого розчину. Суміш витримують при температурі +2...+8°С протягом 1 години, центрифугують при 1500 об/хв протягом 15 хв, надосадову рідину зливають, а тромбоцити ресуспензують у відмивному розчині в об'ємі, що дорівнює 1/4 об'єму спочатку взятої плазми. Ресуспензовані тромбоцити залишають на 1 годину при температурі +2...+8°С.

Після цього суспензію тромбоцитів центрифугують при 1500 об/хв протягом 15 хв. Рідину, що перебуває над осадом, зливають, а тромбоцити ресуспензують у розчині для зберігання в об'ємі, що дорівнює 1/4 обсягу спочатку взятої плазми. Виготовлену таким чином

суспензію тромбоцитів розливають по 1,0 мл у пробірки і негайно заморожують при температурі  $-16...-20^{\circ}\text{C}$ . При цьому тромбоцити можуть зберігатися тривалий час (1-2 міс) без істотної зміни.

#### Хід визначення

Фіксовані тромбоцити розморожують, центрифугують при 1500 об/хв (240 д) протягом 20 хв, надосадову рідину зливають, тромбоцити ресуспензують в 1,0 мл суспензуючого розчину (до оптичної щільності 1,0).

До 1 мл приготовленої таким чином робочої суспензії тромбоцитів додають 0,6 мл фізіологічного (0,9%) розчину хлориду натрію, 0,2 мл розведеної вдвічі фізіологічним розчином хлориду натрію досліджуваної бідною тромбоцитами плазми і 0,2 мл розчину ристоміцину.

Реєструється оптична щільність, потім суміш переливають до кювету на 5 мл і перемішують протягом 2 хв за допомогою магнітної мішалки. Знов переливають до кювету на 2 мл та повторно вимірюють оптичну щільність. Оптичну густина вимірюють на агрегометрі.

Для визначення активності фактору Віллебранда будують калібрувальний графік. Числові показники отримують із використанням калібрувального графіку [1].

### **3.3. Результати дослідження**

Фактор Віллебранда, на відмінно від інших факторів згортання, приймає участь безпосередньо в утворенні тромбу. Тому значне підвищення активності фактору Віллебранда у плазмі спостерігається при гострих тромбозах, тромбофілії, ураженнях судинної стінки і свідчить про посилений вихід фактору з ендотелію в кров [70].

Серед станів, які підвищують рівень фактору  $\epsilon$ : гостре та хронічне запалення; діабет; травма; фізичне навантаження; онкологія, стрес; психологічне напруження; похилий [71].

Основним проявом захворювання є кровотеча різного ступеня. В більшості випадків тяжкі кровотечі виникають при травмах або інвазійних процедурах. Таким чином підтверджується важливість визначення цього фактору з метою попередження порушень гемостазу.

Отримані результати дослідження було згруповано у вигляді таблиці 3.1.

Таблиця 3.1.

**Середнє значення рівня фактору Віллебранда (%) у групах крові АВО**

	О (ОО)	А (АА або АО)	В (ВВ або ВО)	АВ (АВ)
Усі (не залежно від статі)	92.2 ± 4,61	124.6 ± 6,23	137 ± 6,85	132.3 ± 6,61
Жінки	91.8 ± 4,59	124.3 ± 6,21	137.9 ± 6,9	132.7 ± 6,63
Чоловіки	92.7 ± 4,63	124.9 ± 6,2	136.0 ± 6,8	131.8 ± 6,59

В таблиці 3.1. ми бачимо, що не залежно від статі найвищий ризик тромбозу спостерігається у осіб з третьою групою крові, наступною є четверта. Отримані результати вказують на те, що дійсно існує зв'язок між генетично обумовленою групою крові та рівнем фактора Віллебрандта у крові.

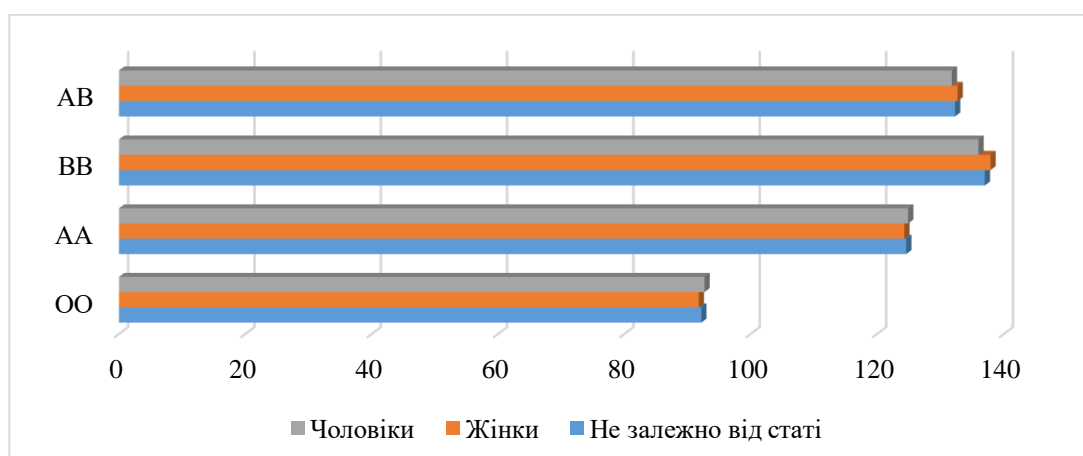
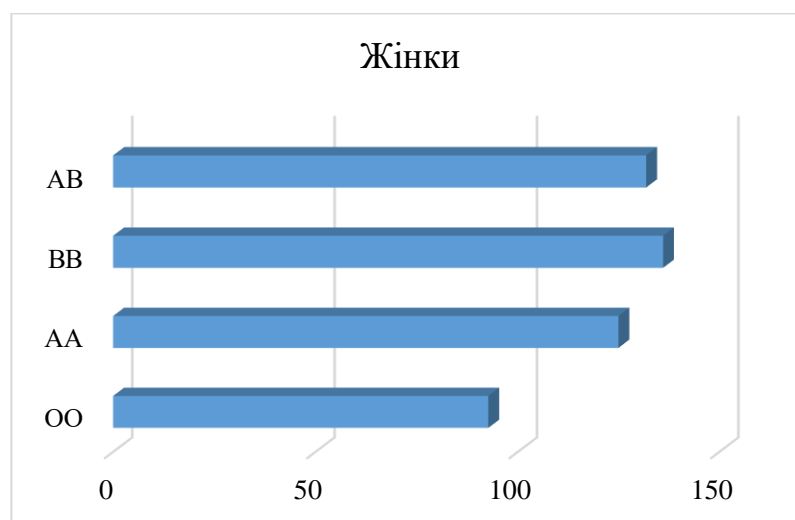


Рис. 3.1. Рівень фактору Віллебранда в осіб із різними групами крові

Цікавими виявилися порівняння результатів, які було отримано між обома статями. У групах АВ та ВВ у жінок спостерігалось незначне перевищення досліджуваного фактору. При цьому, у осіб із групою АА та 0 спостерігалось протилежне – трошки більшим був цей фактор у чоловіків, ніж у жінок.

Всередині досліджуваних груп спостерігалася тенденція, виявлена при порівнянні показників між групами не залежно від статі (рис. 3.2 та 3.3)



**Рис. 3.2. Порівняння значень фактору Віллебранда у різних групах крові в жінок**

Як видно з рисунку 3.2. найбільша загроза виникнення тромбозу через те що є більш активним фактор Віллебрандта спостерігається у жінок із третьою групою крові. Найменша – із першою.



### **Рис. 3.3. Порівняння значень фактору Віллебранда у різних групах крові в чоловіків**

Подібна ситуація спостерігалася у групі чоловіків. Також є вищим ризик виникнення ускладнень гемостазу у осіб які є носіями третьої групи крові (рис 3.3).

В результаті отриманих даних, можна дійти висновку, що фактор Віллебранда значно зростає саме в третій та четвертій групах крові, друга група також має значення вище норми у цієї вікової групи. Перша група крові має нижчий рівень фактору, тому можна сказати що дана група є стійкішою до захворювань, обумовлених підвищеною загортальною функцією крові, порівняно з іншими.

Крім того, провівши дослідження було виявлено, що жінки з III та IV групою крові мають вищий ризик захворювання, ніж чоловіки, якщо ж говорити про 2 та I групу крові, то тут ризик є вищим у чоловіків. Отже, ризик тромбозу є найвищим у осіб з групою крові АВ та ВВ, а найнижчим у О групі.

## ВИСНОВКИ

1. Система груп крові ABO класифікує групи крові відповідно до різних типів антигенів у еритроцитах і антитіл у плазмі. Вони використовують систему ABO разом із статусом антигену Rh, щоб визначити, яка група або типи крові підходять для безпечного переливання еритроцитів. За системою ABO розрізняють 4 групи крові: група A (поверхня еритроцитів містить антиген A, а плазма містить антитіла проти B), група B (поверхня еритроцитів містить антиген B, а плазма містить антитіла проти A), група AB (еритроцити містять антигени A і B, але плазма не містить анти-A або анти-B антитіл), група O (плазма містить як анти-A, так і анти-B антитіла, але поверхня еритроцитів не містить антигенів A або B).

2. Відмінності в експресії антигену групи крові можуть збільшити або зменшити сприйнятливість організму до багатьох інфекцій. Групи крові можуть відігравати безпосередню роль в зараженні, слугуючи рецепторами та корецепторами для мікроорганізмів, паразитів і вірусів. Крім того, багато антигенів груп крові сприяють внутрішньоклітинному поглинанню, передачі сигналу або адгезії через організацію мембранних мікродоменів. Кілька груп крові можуть змінювати вроджену імунну відповідь на інфекцію. Різні фенотипи, пов'язані із підвищеною стійкістю хазяїна до малярії, надмірно представлені в популяціях, які живуть в районах, де малярія є ендемічною (в результаті т.зв. «еволюційного тиску»). Мікроорганізми також можуть стимулювати антитіла проти антигенів групи крові.

3. Фактор Віллебранда (VWF) - це мультимерний глікопротеїн, який виконує подвійну роль: опосередковує адгезію та агрегацію тромбоцитів на тромбогенних поверхнях і функціонує як носій у плазмі білка-прокоагулянту фактора VIII. Нове розуміння природи кількох функціональних доменів VWF призвело до ідентифікації ділянок

молекули, які взаємодіють з фактором VIII, гепарином, глікопротеїном Ib тромбоцитів і колагеном. Зміни VWF є причиною хвороби фон Віллебранда, вродженого розладу згортання крові. У більшості пацієнтів плазмові рівні VWF знижуються, але не спостерігається видимих структурних або функціональних змін білка.

4. Група крові ABO впливає на рівень VWF у плазмі крові. Недавні дослідження, вказують на змінену сприйнятливості до розщеплення молекули ADAMTS13 як важливий механізм, за допомогою якого група ABO може впливати на швидкість катаболізму VWF. Проте з'ясування фізіології гліканових структур VWF допоможе зрозуміти механізми, за допомогою яких група крові сприяє ризику тромбозу.

5. Проведений аналіз лабораторних даних дозволяє стверджувати, що у осіб похилого віку ризик тромбозу має вищу ймовірність у AB та BB групі крові. Особи з OO групою крові мають більш низький ризик захворювання. Крім того, жінки мають менший ризик тромбозу, ніж чоловіки.



## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Баркаган З. С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М. : Ньюдиамед. – 2008. – 292 с.
2. Колосков А.В. Болезнь Виллебранда. Здоровье. – 2017. – С. 43–48.
3. Agarwal N, Thapliyal RM, Chatterjee K. Blood group phenotype frequencies in blood donors from a tertiary care hospital in northern India. *Blood Res.* – 2013.– 48:51–4.
4. Aspholm-Hurtig M, Dailide G, Lahmann M, et al. Functional adaptation of BabA, the *H. pylori* ABO blood group antigen binding adhesin. *Science.* 2004. Vol. 305 5683. P 519-522.
5. Belcher JD, Bryant CJ, Nguyen J, et al. Transgenic sickle mice have vascular inflammation. *Blood.* 2003. Vol. 101 10. P. 3953-3959.
6. Blackwell CC, Dundas S, James VS, et al. Blood group and susceptibility to disease caused by *Escherichia coli* O157. *J Infect Dis.* 2002. Vol. 185 3. P. 393-396.
7. Borén T, Falk P, Roth KA, et al. Attachment of *Helicobacter pylori* to human gastric epithelium mediated by blood group antigens. *Science.* 1993. Vol. 262 5141. P. 1892.
8. Brown SA, Eldridge A, Collins PW, Bowen DJ. Increased clearance of von Willebrand factor antigen post-DDAVP in Type 1 von Willebrand disease: is it a potential pathogenic process? *J Thromb Haemost.* –2003. – P.1714-1717.
9. Bruce LJ. Red cell membrane transport abnormalities. *Curr Opin Hematol.* 2008. Vol. 15 3. P. 184-190.
10. Chotivanich K, Udomsangpetch R, Pattanapanyasat K, et al. Hemoglobin E: a balanced polymorphism protective against high parasitemias and this severe *P falciparum* malaria. *Blood.* 2002. Vol. 100 4. P. 1172-1176.
11. Dahr W, Knuppertz G, Beyreuther K, et al. Studies on the structures of the Tm, Sj, M1, Can Sext and Hu blood group antigens. *Biol Chem Hoppe Seyler.* 1991. Vol. 372 8. P. 573-584.
12. Denomme G.A. Structure and functions of molecules that carry antigens of human erythrocytes and platelets. *Transfus Med Rev.* – 2004. – P. 31.
13. Duncan SR, Scott S, Duncan CJ. Reappraisal of the historical selective pressures for the CCR5-delta32 mutation. *J Med Genet.* 2005. Vol. 42 3. P. 205-208.
14. Federici AB, Elder JH, De Marco L, Ruggeri ZM, Zimmerman TS. Carbohydrate moiety of von Willebrand factor is not necessary for maintaining multimeric structure and ristocetin cofactor activity but protects from proteolytic degradation. *J Clin Invest.* – 1984. – P. 2049-2055.

15. Ferrer-Admetlla A, Sikora M, Laayouni H, et al. A natural history of FUT2 polymorphism in humans. *Mol Biol Evol.* 2009. Vol. 26 9. P. 1993-2003.
16. Franchini M, Lippi G. Von Willebrand factor and thrombosis. *Ann Hematol.* – 2006. – P. 415-423.
17. Gardner L, Patterson AM, Ashton BA, et al. The human Duffy antigen binds selected inflammatory but not homeostatic chemokines. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004. Vol. 321 2. P. 306-312.
18. Gates MA, Wolpin BM, Cramer DW, Hankinson SE, Tworoger SS. ABO blood group and incidence of epithelial ovarian cancer. *Int J Cancer.* 2011.128:482–6.
19. Gill JC, Endres-Brooks J, Bauer PJ, Marks WJ Jr, Montgomery RR. The effect of ABO blood group on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood.* – 1987. – P.1691-1695.
20. Hashemi-Najafabadi S, Vasheghani-Farahani E, Shojaosadati SA, Rasaee MJ, Armstrong JK, Moin M, et al. A method to optimize PEG-coating of red blood cells. *Bioconjug Chem.* – 2006. – 1288 p.
21. He W, Marconi VC, Castiblanco J, et al. Response: association of Duffy antigen genotypes with HIV-AIDs susceptibility. *Cell Host Microbe.* 2009. Vol. 5 5.P. 418-419.
22. Hendrickson JE, Chadwick TE, Roback JD, et al. Inflammation enhances consumption and presentation of transfused RBC antigens by dendritic cells. *Blood.* 2007. Vol. 110 7. P. 2736-2743.
23. Jager A, van Hinsbergh VW, Kostense PJ, Emeis JJ, Yudkin JS, Nijpels G, Dekker JM, Heine RJ, Bouter LM, Stehouwer CD. Von Willebrand factor, C-reactive protein, and 5-year mortality in diabetic and nondiabetic subjects: the Hoorn Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 1999. – P. 3071-3078.
24. Jenkins PV, O'Donnell JS. ABO blood group determines plasma von Willebrand factor levels: a biologic function after all? *Transfusion.* 2006. Vol. 46 10. P. 1836-1844.
25. Kelly RJ, Rouquier S, Giorgi D, et al. Sequence and expression of a candidate for the human secretor blood group alpha (1,2) fucosyltransferase gene (FUT2): homozygosity for an enzyme-inactivating nonsense mutation commonly correlates with the non-secretor phenotype. *J Biol Chem.* 1995. Vol. 270 9. P. 4640-4649.
26. Kindberg E, Hejdeman B, Bratt G, et al. A nonsense mutation (428G-A) in the fucosyltransferase FUT2 gene affects the progression of HIV-1 infection. *AIDS.* 2006. Vol. 20 5. P. 685-689.
27. Koster T, Blann AD, Briet E, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis. *Lancet.* –1995. – P. 152-155.

28. Lindqvist PG, Dahlback B. Carriership of factor V Leiden and evolutionary selection advantage. *Curr Med Chem*. 2008. Vol. 15 15. P. 1541-1544.
29. Liu QP, Sulzenbacher G, Yuan H, Bennett EP, Pietz G, Saunders K, et al. Bacterial glycosidases for the production of universal red blood cells. *Nat Biotechnol*. – 2007. – 454 p.
30. Lögberg L, Reid ME, Lamont RE, Zelinski T. Human blood group genes. Chromosomal locations and cloning strategies. *Transfus Med Rev*. – 2005. – P. 45–57.
31. Meade TW, Cooper JA, Stirling Y, Howarth DJ, Ruddock V, Miller GJ. Factor VIII, ABO blood group and the incidence of ischaemic heart disease. *Br J Haematol*. –1994. – P. 601-607.
32. Maier AG, Duraisingh MT, Reeder JC, et al. *Plasmodium falciparum* erythrocyte invasion through glycophorin C and selection for Gerbich negativity in human populations. *Nat Med*. 2003. Vol. 9 1. P 87-92.
33. Miller CH, Haff E, Platt SJ, Rawlins P, Drews CD, Dilley AB, Evatt B. Measurement of von Willebrand factor activity: relative effects of ABO blood type and race. *J Thromb Haemost*. – 2003. – P. 2191-2197.
34. Miller RD. Transfusion therapy. In: Miller RD, Ericksson LI, Fleischer LA, Weiner-Kronish JP, Young LA, editors. *Miller's Anesthesia*. 7th ed. Philadelphia. Churchill Livingstone Elsevier. – 2010. – P. 1739–66.
35. Moeller A, Weippert-Kretschmer M, Prinz H, Kretschmer V. Influence of ABO blood groups on primary hemostasis. *Transfusion*. – 2001. – P. 56-60.
36. Mohlke KL, Purkayastha AA, Westrick RJ, Smith PL, Petryniak B, Lowe JB, Ginsburg D. Mvwf, a dominant modifier of murine von Willebrand factor, results from altered lineage-specific expression of a glycosyltransferase. *Cell*. – 1999. – P. 111-120.
37. Morelli VM, de Visser MC, van Tilburg NH, Vos HL, Eikenboom JC, Rosendaal FR, Bertina RM. ABO blood group genotypes, plasma von Willebrand factor levels and loading of von Willebrand factor with A and B antigens. *Thromb Haemost*. – 2007. – P. 534-541.
38. Moulds JM, Zimmerman PA, Doumbo OK. Molecular identification of Knops blood group polymorphisms found in long homologous region D of complement receptor 1. *Blood*. 2001. Vol. 97 9. P. 2879-2885.
39. Nagel RL, Steinberg MH. Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Nagel RL. Genetics of the beta S gene: origins, epidemiology, and epistasis., *Disorders of Hemoglobin: Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management*. MA Cambridge University Press. – 2001. – P. 711-755.

40. Ng C, Motto D, Paola J. Diagnostic approach to von Willebrand disease. *Blood*. – 2015. – P. 2029-2037.
41. Nitu-Whalley IC, Lee CA, Griffioen A, Jenkins PV, Pasi KJ. Type 1 von Willebrand disease – a clinical retrospective study of the diagnosis, the influence of the ABO blood group and the role of the bleeding history. *Br J Haematol*. – 2000. – P.259-264.
42. O'Donnell J, Boulton FE, Manning RA, Laffan MA. Genotype at the secretor blood group locus is a determinant of plasma von Willebrand factor level. *Br J Haematol*. – 2002. – P. 350-356.
43. O'Donnell J, Boulton FE, Manning RA, Laffan MA. The amount of antigen H expressed on circulating von Willebrand factor is modified by the genotype of the ABO blood group and is the main determinant of the level of von Willebrand factor antigen in plasma. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2002. – P. 335-341.
44. O'Donnell JS, Laffan MA. The relationship between ABO histo-blood group, factor VIII and von Willebrand factor. *Transfus Med*. – 2001. – P. 343-351.
45. O'Donnell JS, McKinnon TA, Crawley JT, Lane DA, Laffan MA. Bombay phenotype is associated with reduced plasma-VWF levels and an increased susceptibility to ADAMTS13 proteolysis. *Blood*. – 2005. – P. 1988-1991.
46. Oldstein J, Siviglia G, Hurst R, Lenny L, Reich L. Group B erythrocytes enzymatically converted to group O survive normally in A, B, and O individuals. *Science*. – 1982. – 168 p.
47. Onotai L, Lilly-Tariah OD. Adenoid and tonsil surgeries in children: How relevant is pre-operative blood grouping and cross-matching? *Afr J Paediatr Surg*. – 2013. – 4 p.
48. Ribeiro ML, Alloisio N, Almeida H, et al. Severe hereditary spherocytosis and distal renal tubular acidosis associated with total absence of band 3. *Blood*. 2000. Vol. 96 4. P. 1602-1604.
49. Rowe JA, Opi DH, Williams TN. Blood groups and malaria: fresh insights into pathogenesis and identification of targets for intervention. *Curr Opin Hematol*. 2009. Vol. 16 6. P. 480-487.
50. Ruggeri ZM, Zimmerman TS. The complex multimeric composition of factor VIII/vWF. *Blood*. 1981. Vol. 57. P. 1140-1143.
51. Ryan JR, Stoute JA, Amon J, et al. Evidence for transmission of *Plasmodium vivax* among a Duffy antigen negative population in western Kenya. *Am J Trop Med Hyg*. 2006. Vol. 75 4. P. 575-581.
52. Saadat M, Amirshahi P, Farhud DD. Distribution of ABO and Rh blood groups in the population of Larestan and Lamerd, Fars Province. *Iranian J Publ Health*. Iran. – 1996. – P. 21–26.

53. Schwartz F., Helmbold V. Blut gruppen. In: Becker, editor. Human genetics. Georg Thieme Verlag; Stuttgart: 1968.
54. Segerer S, Regele H, Mack M, et al. The Duffy antigen receptor for chemokines is up-regulated during acute renal transplant rejection and crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int.* 2000. Vol. 58 4. P. 1546-1556.
55. Shirato H, Ogawa S, Ito H, et al. Noroviruses distinguish between type 1 and type 2 histo-blood group antigens for binding. *J Virol.* 2008. Vol. 82 21. P. 10756-10767.
56. Solovey AA, Solovey AN, Harkness J, et al. Modulation of endothelial cell activation in sickle cell disease: a pilot study. *Blood.* 2001. Vol. 97 7. P. 1937-1941.
57. Taylor-Cousar JL, Zariwala MA, Burch LH, et al. Histo-blood group gene polymorphisms as potential genetic modifiers of infection and cystic fibrosis lung disease severity. *PloS One.* 2009. Vol. 4 1. P. 270
58. Thelen MJ, Hall SE, Green AM, Molds JJ, Ross WF. Identification of human erythrocyte blood group antigens by decay-accelerating factor (DAF) and the negative phenotype of erythrocytes in relation to DAF. *J Exp Med.* – 1988. – 167.
59. Tufano A, Coppola A, Nardo A, Bonfanti C, Crestani S, Cerbone AM, et al. Non-O blood group as a risk factor for cerebral vein thrombosis. *Thromb Haemost.* – 2013. – P. 197.
60. Vischer UM: Von Willebrand factor, endothelial dysfunction, and cardiovascular disease. *J Thromb Haemost.* – 2006. – P. 1186-1193.
61. Vlot AJ, Koppelman SJ, Bouma BN, Sixma JJ. Factor VIII and von Willebrand factor. *Thromb Haemost.* – 1998. – P. 456-465.
62. Vlot AJ, Mauser-Bunschoten EP, Zarkova AG, Haan E, Kruitwagen CL, Sixma JJ, van den Berg HM. The half-life of infused factor VIII is shorter in hemophiliac patients with blood group O than in those with blood group A. *Thromb Haemost.* – 2000. – P. 65-69.
63. Weatherall DJ. Genetic variation and susceptibility to infection: the red cell and malaria. *Br J Haematol.* 2008. Vol. 141 3. P. 276-286.
64. Westhoff S.M. Review of the Rhesus blood group system: a new face for the next decade. *Transfusion.* – 2004. – P.73.
65. Yamamoto F, Clausen H, White T, et al. Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. *Nature (Lond).* 1990. Vol. 345 6272. P. 229-233.
66. Zimmerman PA, Woolley I, Masinde GL, et al. Emergence of FY\*A(null) in a Plasmodium vivax endemic region of Papua New Guinea. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999. Vol. 96 24. P. 13973-13977.

## **ЕЛЕКТРОННИ РЕСУРСИ:**

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7850852/> ( дата звернення: 14.10.2022).

67. Групи крові людини АВО та їх асоціації з різними захворюваннями URL:

68. Історія груп крові людини URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3595629/> ( дата звернення: 14.10.2022).

69. Фактор Віллебранда URL: <https://www.invitro.ru/analizes/for-doctors/171/58492/> (дата звернення: 23.10.2022).

70. Фактор згортання крові URL: <https://www.msmanuals.com/uk-ua/professional/hematology-and-oncology/hemostasis/overview-of-hemostasis> (дата звернення 07.11.2022).

71. Хвороба Віллебранда URL: <https://madagaskar.kiev.ua/xvoroba-villebranda/> (дата звернення 07.11.2022).

**КОДЕКС АКАДЕМІЧНОЇ ДОБРОЧЕСНОСТІ  
ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ ХЕРСОНЬСЬКОГО  
ДЕРЖАВНОГО УНІВЕРСИТЕТУ**

Я, Горбенко Марина Тарасівна, учасниця освітнього процесу Херсонського державного університету, **УСВІДОМЛЮЮ**, що академічна доброчесність – це фундаментальна етична цінність усієї академічної спільноти світу.

**ЗАЯВЛЯЮ**, що у своїй освітній і науковій діяльності **ЗОБОВ'ЯЗУЮСЯ**:

– дотримуватися:

- вимог законодавства України та внутрішніх нормативних документів університету, зокрема Статуту Університету;
- принципів та правил академічної доброчесності;
- нульової толерантності до академічного плагіату;
- моральних норм та правил етичної поведінки;
- толерантного ставлення до інших;
- дотримуватися високого рівня культури спілкування;
  - надавати згоду на:
- безпосередню перевірку курсових, кваліфікаційних робіт тощо на ознаки наявності академічного плагіату за допомогою спеціалізованих програмних продуктів;
- оброблення, збереження й розміщення кваліфікаційних робіт у відкритому доступі в інституційному репозитарії;
- використання робіт для перевірки на ознаки наявності академічного плагіату в інших роботах виключно з метою виявлення можливих ознак академічного плагіату;
  - самостійно виконувати навчальні завдання, завдання поточного й підсумкового контролю результатів навчання;
  - надавати достовірну інформацію щодо результатів власної навчальної (наукової, творчої) діяльності, використаних методик досліджень та джерел інформації;
  - не використовувати результати досліджень інших авторів без використання покликань на їхню роботу;
  - своєю діяльністю сприяти збереженню та примноженню традицій університету, формуванню його позитивного іміджу;
  - не чинити правопорушень і не сприяти їхньому скоєнню іншими особами;
  - підтримувати атмосферу довіри, взаємної відповідальності та співпраці в освітньому середовищі;
  - поважати честь, гідність та особисту недоторканність особи, незважаючи на її стать, вік, матеріальний стан, соціальне становище, расову належність, релігійні й політичні переконання;
  - не дискримінувати людей на підставі академічного статусу, а також за національною, расовою, статевою чи іншою належністю;
  - відповідально ставитися до своїх обов'язків, вчасно та сумлінно виконувати необхідні навчальні та науково-дослідницькі завдання;
  - запобігати виникненню у своїй діяльності конфлікту інтересів, зокрема не використовувати службових і родинних зв'язків з метою отримання нечесної переваги в навчальній, науковій і трудовій діяльності;
  - не брати участі в будь-якій діяльності, пов'язаній із обманом, нечесністю, списуванням, фабрикацією;
  - не підроблювати документи;
  - не поширювати неправдиву та компрометуючу інформацію про інших здобувачів вищої освіти, викладачів і співробітників;
  - не отримувати і не пропонувати винагород за несправедливе отримання будь-яких переваг або здійснення впливу на зміну отриманої академічної оцінки;
  - не залякувати й не проявляти агресії та насильства проти інших, сексуальні домагання;
  - не завдавати шкоди матеріальним цінностям, матеріально-технічній базі університету та особистій власності інших студентів та/або працівників;
  - не використовувати без дозволу ректорату (деканату) символіки університету в заходах, не пов'язаних з діяльністю університету;
  - не здійснювати і не заохочувати будь-яких спроб, спрямованих на те, щоб за допомогою нечесних і негідних методів досягати власних корисних цілей;
  - не завдавати загрози власному здоров'ю або безпеці іншим студентам та/або працівникам.

**УСВІДОМЛЮЮ**, що відповідно до чинного законодавства у разі недотримання Кодексу академічної доброчесності буду нести академічну та/або інші види відповідальності й до мене можуть бути застосовані заходи дисциплінарного характеру за порушення принципів академічної доброчесності.

27.09.2021

(дата)



(підпис)

Марина Горбенко

(ім'я, прізвище)