11.12.2019 Gem-4_web.pdf

https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-504-515

CC BY 4.0

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОДГРУПП A_1 И A_2 АНТИГЕНА А СИСТЕМЫ АВ0: БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОСНОВА И СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ СТРАТЕГИЯ

Головкина Л. Л., Каландаров Р. С., Стремоухова А. Г., Калмыкова О. С., Пушкина Т. Д., Сурин В. Л., Пшеничникова О. С., Николаева Т. Л., Оловникова Н. И.*

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия
Лаборатория трансфузиологической иммуногематологии
Лаборатория безопасности гемотрансфузий
Лаборатория генной инженерии
Лаборатория физиологии кроветворения

РЕЗЮМЕ

Введение. Определение слабых вариантов антигена А и их дифференциация необходимы для правильного подбора эритроцитсодержащих сред при гемотрансфузиях. Для этого в сочетании с реактивами анти-А, которые одинаково реагируют с антигенами A_1 и A_2, применяются селективные реактивы анти-A_1, реагирующие только с антигеном A_1. Поскольку внутри самих подгрупп наблюдается вариабельность экспрессии антигена А, а установленного стандарта для реагентов и методик не существует, трактовка полученных результатов зачастую вызывает затруднения.

Цель: создать стратегию определения вариантов антигена А с применением доступных реагентов в реакции агглютинации.

Методы. Сравнение эффективности четырех анти-A_1- и двух анти-Н-реагентов проведено на 23 образцах крови с группой A_2 и A_2B и контрольных образцах A_1 и A_1B. Использовались два типа анти-A_1-реагентов: лектин *Dolychos biflorus* и моноклональные антитела. Все реагенты предназначались для реакции прямой агглютинации. Принадлежность эритроцитов к подгруппе A_2 была подтверждена генетическим анализом.

Результаты. Показано, что анти-A_1-реагенты не взаимодействовали с эритроцитами A_2B, но часто реагировали с эритроцитами A_2. Сила реакции с эритроцитами A_2 сильно варьировала и была слабее, чем с A_1-эритроцитами, однако вызывала затруднения в установлении подгруппы. Одновременное тестирование с реагентом анти-Н позволяло сделать однозначный вывод о принадлежности крови к подгруппе: сильная реакция указывала на A_2, отрицательная или слабая — на A_1. У двух доноров было отмечено расхождение результатов серологических и молекулярных методов исследования: серологически была определена подгруппа A_3, генотипирование выявило аллель *AB0**A_1. В обоих случаях прямое секвенирование показало комбинацию мутантных аллелей, которая дает фенотип A_3. При использовании коммерческих наборов для генотипирования методом полимеразной цепной реакции следует учитывать, что праймеры подобраны к наиболее часто встречающимся вариантам и не могут выявить все мутации гена *AB0*.

Заключение. Надежная диагностика подгруппы A_2 серологическими методами возможна с использованием лектина или моноклональных антител анти-A_1 в сочетании с анти-Н моноклональным реагентом.

Ключевые слова: антиген А, подгруппы А1 и А2, лектин анти-А1, моноклональные антитела анти-А1, моноклональные антитела анти-Н

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Головкина Л.Л., Каландаров Р.С., Стремоухова А.Г., Калмыкова О.С., Пушкина Т.Д., Сурин В.Л., Пшеничникова О.С., Николаева Т.Л., Оловникова Н.И. Дифференциация подгрупп А1 и А2 антигена А системы АВ0: биологическая основа и серологическая стратегия. *Гематология и трансфузиология.* 2019; 64(4): 504–515. https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-504-515

https://docviewer.yandex.by/view/22558586/?page=9&*=cOsSemrVHu7m63GpMnA0OSMDhVB7InVybCI6InlhLW1haWw6Ly8xNzA4NTUzM… 132/146

11.12.2019 Gem-4_web.pdf

DIFFERENTIATION OF THE A_1 AND A_2 SUBGROUPS OF THE AB0 SYSTEM: BIOLOGICAL BACKGROUND AND SEROLOGICAL STRATEGY

Golovkina L. L., Kalandarov R. S., Stremoukhova A. G., Kalmykova O. S., Pushkina T. D., Surin V. L., Pshenichnikova O. S., Nikolaeva T. L., Olovnikova N. I.*

National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation
Laboratory for Transfusion Immunohematology
Laboratory for Blood Transfusion Safety
Laboratory for Genetic Engineering
Laboratory for Physiology of Hematopoiesis

ABSTRACT

Introduction. The identification of weak variants of the A antigen, as well as their differentiation, is necessary for the proper selection of erythrocyte-containing media for blood transfusions. To this end, selective anti-A_1 reagents that react only with the A_1 antigen are used in combination with anti-A reagents reacting equally with the A_1 and A_2 antigens. Given that the expression of the A antigen varies within the subgroups and there is no established standard for reagents and procedures, the interpretation of the obtained results presents difficulties.
Aim. To develop a strategy for identifying the variants of the A antigen using available reagents in an agglutination reaction.
Methods. We compared the effectiveness of four anti-A_1 and two anti-H reagents using 23 blood samples (groups A_2 and A_2B) and control samples (groups A_1 and A_1B). Two types of anti-A_1 reagents were employed: *Dolychos biflorus* lectin and monoclonal antibodies. All of the reagents were designed for direct agglutination reactions. Belonging of the erythrocytes to the A_2 subgroup was confirmed using genetic analysis.
Results. It is shown that anti-A_1 reagents did not interact with A_2B red blood cells and often reacted with A_2 red blood cells. The strength of the reaction with A_2 red blood cells varied greatly and was weaker than with A_1 red blood cells; however, it hindered the subgroup identification. Simultaneous tests conducted using an anti-H reagent allowed the authors to draw an unambiguous conclusion about blood belonging to a subgroup: a strong reaction indicated the A_2 subgroup, whereas a negative or weak reaction indicated the A_1 subgroup. A discrepancy was noted between the results obtained for two donors using serological and molecular methods: the A_3 subgroup was identified serologically, whereas genotyping revealed the *AB0**A_1 allele. In both cases, direct sequencing showed a combination of mutant alleles giving the A_3 phenotype. When using commercial kits to perform genotyping analysis through a polymerase chain reaction, it should be taken into consideration that primers are matched to the most common variants and cannot detect all mutations of the *AB0* gene.
Conclusion. Reliable identification of the A_2 subgroup through serological methods is possible when using lectin or monoclonal anti-A_1 antibodies in combination with a monoclonal anti-H reagent.

Keywords: A antigen, A_1 and A_2 subgroups, anti-A_1 lectin, monoclonal anti-A_1 antibodies, monoclonal anti-H antibodies
Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.
Financial disclosure: the study had no sponsorship.
For citation: Golovkina L.L., Kalandarov R.S., Stremoukhova A.G., Kalmykova O.S., Pushkina T.D., Surin V.L., Pshenichnikova O.S., Nikolaeva T.L., Olovnikova N.I. Differentiation of the A_1 and A_2 subgroups of the AB0 system: Biological background and serological strategy. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2019; 64(4):504–515 (in Russian). https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-504-515

https://docviewer.yandex.by/view/22558586/?page=9&*=cOsSemrVHu7m63GpMnA0OSMDhVB7InVybCI6InlhLW1haWw6Ly8xNzA4NTUzM… 133/146

11.12.2019 Gem-4_web.pdf

Введение

Современная концепция безопасности предполагает, что лицам со слабыми вариантами антигена А (A_2, A_3 и др.), нуждающимся в частых трансфузиях эритроцитсодержащих компонентов, следует переливать донорские эритроциты, не содержащие антиген A_1. Подобный подход обусловлен тем, что при трансфузии эритроцитов A_1 больным с антигеном A_2 или другими слабыми вариантами возможно образование аллоиммунных анти-A_1-антител, а если такие антитела уже присутствуют, то существует риск развития посттрансфузионных реакций и осложнений [1–3]. У лиц с ослабленной экспрессией антигена А в крови могут присутствовать природные анти-A_1-антитела (экстраагглютинины). Анти-A_1-экстраагглютинины имеют 1–2 % лиц с подгруппой A_2 и 25 % лиц с подгруппой A_2B [4]. Иногда анти-A_1 можно обнаружить в сыворотке лиц с другими слабыми подгруппами антигена А. Экстраагглютинины анти-A_1 могут вызывать расхождения в результатах АВ0 тестирования и пробы на индивидуальную совместимость. Реципиентам с иррегулярными анти-A_1-антителами рекомендуется переливать эритроциты, не несущие антиген A_1 [5]. На практике это правило часто распространяют на всех реципиентов с подгруппой A_2, особенно нуждающихся в частых трансфузиях эритроцитсодержащих компонентов. Экстраагглютинины анти-A_1 имеют, как правило, низкие титр и авидность, поэтому их не всегда можно обнаружить при исследовании сыворотки со стандартными эритроцитами в процессе перекрестного АВ0-тестирования. В связи с этим проблема своевременного выявления больных со слабыми вариантами антигена А остается актуальной.

Антиген А характеризуется высоким полиморфизмом, т.е. представлен различными вариантами (подгруппами), которые кодируются разными аллелями гена *AB0*A*. Генетические основы системы АВ0, а также молекулярно-генетические события, приводящие к формированию разнообразных аллельных вариантов гена *AB0*A*, подробно освещены в обзорах [6–10]. Две основные подгруппы антигена А — это A_1 и A_2. Частота встречаемости подгрупп A_1 и A_2 различна в разных популяциях. У лиц европеоидной расы среди групп А и АВ около 80–88 % принадлежат к A_1 или A_1B, а остальные 12–20 % — к A_2 или A_2B [11, 12]. Частота встречаемости антигена A_2 среди лиц группы А составляет 14,7–17,8 %; частота фенотипа A_2B среди лиц группы АВ составляет 23,5–26,2 % [13]. Выраженный дисбаланс существует и в других популяциях [14]. Одной из причин такого дисбаланса может быть разное фенотипическое проявление аллеля A(R101) в группах А и АВ: гетерозиготный генотип A(R101)/0 экспрессируется как A_1-фенотип, а гетерозиготный генотип A(R101)/B — как A_2B-фенотип, что приводит к возрастанию частоты A_2B по сравнению с A_2 [15].

Важнейшим различием между A_1 и A_2 фенотипами является существенная разница в количестве экспрессируемых на эритроците эпитопов антигена А. На эритроцитах A_1 их около 10^6, что примерно в четыре раза больше, чем на эритроцитах A_2 [16]. Подгруппы слабее A_2 (A_3, Ax, Am, Ael) встречаются редко и характеризуются дальнейшим уменьшением числа сайтов антигена А на эритроцитах. Подгруппы часто обнаруживают либо по очень слабой агглютинации, либо по расхождению между результатами прямого и обратного тестирования эритроцитов при перекрестном определении группы АВ0.

Помимо количественных, у эритроцитов A_1 и A_2 есть качественные различия. У лиц с группами крови A_2 или A_2B могут вырабатываться анти-A_1-антитела, однако никогда не бывает наоборот. Это означает, что эритроциты A_2 отличаются от A_1 отсутствием какой-то структуры. Серологическое разделение было подтверждено генетически, когда было показано существование двух различных ферментов [17]. Фермент A_2-гликозилтрансфераза обладает более низкой активностью и имеет более узкую субстратную специфичность по сравнению с ферментом A_1-гликозилтрансферазой.

Эритроциты A_1 и A_2 одинаково сильно реагируют с современными реагентами анти-А в методе прямой агглютинации. Различие между A_1- и A_2-эритроцитами может быть установлено путем тестирования с анти-A_1-лектином и моноклональными антителами анти-A_1. Эти реагенты вызывают агглютинацию эритроцитов A_1 и A_1B, не реагируют с эритроцитами A_2B, но могут вызывать слабую агглютинацию эритроцитов A_2. Установленного стандарта для реагентов и метода не существует, поэтому нередки несоответствия в результатах, полученных с применением различных реагентов и в разных лабораториях [20].

Целью настоящей работы было создать стратегию определения вариантов антигена А с применением доступных реагентов в реакции агглютинации.

Материалы и методы

В исследовании использовали образцы крови доноров, полученные в отделении заготовки крови ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ после получения информированного согласия; все тесты проводили после завершения иммуносерологического тестирования и исследования на патогены. Материалом исследований были образцы крови 23 человек со слабым вариантом антигена А, из которых у 16 человек была группа крови A_2, у 5 — группа A_2B, у 2 — серологически была определена группа A_3, а также 12 образцов крови с антигеном A_1 в качестве контроля (из них у 6 человек была группа крови А и у 6 — группа АВ).

Применяли следующие методы.

Перекрестное определение группы крови системы АВ0 в реакции агглютинации на плоскости с ис-

https://docviewer.yandex.by/view/22558586/?page=9&*=cOsSemrVHu7m63GpMnA0OSMDhVB7InVybCI6InlhLW1haWw6Ly8xNzA4NTUzM… 134/146

11.12.2019 Gem-4_web.pdf

пользованием Эритротест Цоликлонов анти-А (сер. 423R и 433F) и анти-В (сер 424R) (ООО «Гематолог», Москва) и стандартных эритроцитов групп А1, В, 0 (BioRad, США). Активными компонентами Цоликлонов являются моноклональные антитела класса IgM мыши: клоны А-90/16 и Birma (Цоликлон анти-А вариант R), клоны А-90/16, А-86/3 и 9113D10 (Цоликлон анти-А вариант F), клон В-85/2-В8 (Цоликлон анти-В вариант R).

Определение подгруппы антигена А в реакции агглютинации на плоскости с использованием моноклонального реагента Цоликлона анти-A_1 (сер. 261) (клоны 1E3 и 5E6), Эритротест анти-A_1 лектина (сер. 259), Цоликлона анти-Нкра (сер. 735) (клон Н-89/8) (ООО «Гематолог», Москва); анти-А1 лектина (сер. 020317В), анти-Н (А2) (сер. 080517С) (клон 10934С11) (ImuMed Antitoxin, Германия); анти-A_1-лектина (сер. 118100201) (Bio-Rad, США). Силу реакции оценивали по 4-крестовой системе через 5 мин после смешивания эритроцитов с реагентом в соответствии с таблицей 1.

ДНК-анализ гена *AB0*A* выполняли двумя методами: полимеразной цепной реакцией (ПЦР) и прямым секвенированием. Геномную ДНК выделяли с помощью реактивов фирмы BAG (Германия) по методике производителя и по стандартной методике депротеинизации фенолом после лизиса с протеиназой К. Концентрацию и чистоту ДНК определяли на спектрофотометре. Одна оптическая единица (OD) соответствовала концентрации ДНК 50 нг/мкл. Чистота ДНК, определяемая по отношению показателей при 260 и 280 нм (OD 260/280), составляла 1,6–1,8, концентрация конечной ДНК — 50–100 нг/мкл.

ПЦР проводили с помощью праймеров для выявления вариантов генов системы AB0 (AB0-variant kit) фирмы BAG (Германия). Детекцию полученных результатов осуществляли посредством электрофореза продуктов амплификации в 2%-ном агарозном геле, содержащем бромистый этидий (1мкг/мл) в TBE-буфере. Результаты визуализировали в ультрафиолетовом свете (λ = 310 нм) при помощи транс-иллюминатора в виде полос ярко-оранжевого цвета. Наличие полос амплификации внутреннего положительного контроля свидетельствовало о корректности проведенной ПЦР. Прямое секвенирование проводили по методу Сэнгера с помощью набора реактивов ABIPRISM®BigDyeTMT erminatorv.3.1. У всех образцов секвенировали экзоны 6 и 7 гена *AB0*A*.

Результаты

В работе представлены результаты исследования образцов эритроцитов со слабыми вариантами антигена А с помощью различных реагентов — анти-A_1-лектина, анти-A_1-моноклональных антител и дополнительного реагента — анти-Н-моноклональных антител для демонстрации возможности дифференцирования подгрупп антигена А серологическими методами. Принадлежность эритроцитов к той или иной подгруппе была подтверждена генетическим тестированием.

Детальные результаты исследований показаны в таблице 2. Результаты реакции с Цоликлонами анти-А и анти-В приведены для демонстрации групповой принадлежности (столбцы 1–3). Группу AB0 подтверждали перекрестным тестированием, то есть реакцией сыворотки со стандартными эритроцитами А, В, 0 (данные не приведены). Цоликлоны анти-А с индексами R и F отличались по составу и содержали продукты различных клонов. Оба реагента одинаково активно реагировали с подгруппами A_1, A_2 и A_3 (столбцы 1–2), что соответствовало требованиям к реагентам для рутинного тестирования.

В таблице 2 приведено сравнение четырех различных анти-A_1-реагентов, три из которых представляли собой раствор лектина *Dolichos biflorus* (столбцы 5–7) и один реагент, Цоликлон анти-A_1, был смесью двух моноклональных антител (столбец 4). Результаты эксперимента и лабораторная практика показали, что все анти-A_1-реагенты не взаимодействовали

Таблица 1. Оценка силы реакции гемагглютинации
Table 1. *Strength of haemagglutination reaction*

Сила реакции *Strength of agglutination*	Вид агглютинации *Agglutination type*
4+	**Полная агглютинация, т.е. один плотный агглютинат** *Complete agglutination, i.e. one solid agglutinate*
3+	**Смесь нескольких крупных и средних агглютинатов** *Several large and medium agglutinates*
2+	**Смесь средних и мелких агглютинатов** *A mixture of medium-sized and small agglutinates*
1+	**Мелкие агглютинаты** *Small agglutinates*
+/–	**Очень мелкая агглютинация на фоне свободных эритроцитов (смешанная агглютинация)** *Weak granularity in the red cell suspension (mixed-field)*
–	**Отсутствие агглютинации** *No agglutination*

https://docviewer.yandex.by/view/22558586/?page=9&*=cOsSemrVHu7m63GpMnA0OSMDhVB7InVybCI6InlhLW1haWw6Ly8xNzA4NTUzM… 135/146

Таблица 2. Результаты серологического и генетического определения подгруппы антигена А; сравнение эффективности и специфичности анти-А1 реагентов
Table 2. *The results of the serological and genetic determination of the subgroup of antigen A; comparison of the efficacy and specificity of anti-A1 reagents*

Эритроциты донора/ больного *Red blood cells of donor/patient (№)*	Результаты анализа (сила агглютинации) Test results (agglutination strength)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
	Эритротест Цоликлон анти-А (R) *Erythrotest Zoliclone Anti-A (R)*	Эритротест Цоликлон анти-А (F) *Erythrotest Zoliclone Anti-A (F)*	Эритротест Цоликлон анти-В *Erythrotest Zoliclone Anti-B*	Эритротест Цоликлон анти-А1 моно *Erythrotest Zoliclone Anti-A 1 mono*	Эритротест анти-А1 лектин *Erythrotest Anti-A1 lectin*	Bio-Rad Anti-A1 Lectin	ImuMed Anti-A1 Lectin	Эритротест Цоликлон анти-Нкра *Erythrotest Zoliclone Anti-H)*	ImuMed Anti-H	ДНК-анализ генов АВ0 *DNA analysis of AB0 genes*	АВ0-группа *AB0 blood group*
110742	4+	4+	–	1+	3+	2+	2+	4+	4+	A^2O^2	A_2
110812	4+	4+	–	–	–	2+	2+	4+	4+	A^2O^1	A_2
111338	4+	4+	–	–	1-2+	1+	1+	4+	4+	A^2O^1	A_2
111271	4+	4+	–	1+	2+	3+	3+	4+	4+	A^2O^1	A_2
111293	4+	4+	–	–	±	2+	2+	4+	4+	A^2O^1	A_2
111655	4+	4+	–	–	–	1+	1+	4+	4+	A^2O^1	A_2
111675	4+	4+	–	±	–	2+	2+	4+	4+	A^2O^1	A_2
111564	4+	4+	–	±	2+	3+	3+	4+	4+	A^2O^1	A_2
111370	4+	4+	–	–	±	2–3+	2–3+	4+	4+	A^2O^{lv}	A_2
111349	4+	4+	–	–	±	2–3+	2–3+	4+	4+	A^2O^{lv}	A_2
111372	4+	4+	–	±	±	3+	2+	4+	4+	A^2O^{lv}	A_2
111620	4+	4+	–	±	±	2+	2+	4+	4+	A^2O^{lv}	A_2
111912	4+	4+	–	–	±	1–2+	1–2+	4+	4+	A^2O^{lv}	A_2
111878	4+	4+	–	–	1+	2+	2+	4+	4+	A^2O^{lv}	A_2
112155	4+	4+	–	±	1+	1–2+	1–2+	4+	4+	A^2O^{lv}	A_2
112126	4+	4+	–	–	1+	1-2+	1–2+	4+	4+	A^2O^{lv}	A_2
110718	4+	4+	4+	–	–	–	–	1+	1+	A^2B^1	A_2B
110828	4+	4+	4+	–	–	–	–	1+	1+	A^2B^1	A_2B
111625	3+	3+	4+	–	–	–	–	±	–	A^2B^1	A_2B
111378	4+ медленно	4+ медленно	4+	–	–	–	–	1+	–	A^2B^1	A_2B
111595	4+	4+	4+	–	–	1+	–	±	±	нд пр	A_2B
112067	+2	+2	–	–	–	–	–	4+	4+	A^1O^1	A_3
111800	+2	+2	–	–	–	–	–	4+	4+	A^1O^1	A_3

Эритроциты донора/ больного *Red blood cells of donor/patient (№)*	Результаты анализа (сила агглютинации) Test results (agglutination strength)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
	Эритротест Цоликлон анти-А (R) *Erythrotest Zoliclone Anti-A (R)*	Эритротест Цоликлон анти-А (F) *Erythrotest Zoliclone Anti-A (F)*	Эритротест Цоликлон анти-В *Erythrotest Zoliclone Anti-B*	Эритротест Цоликлон анти-А1 моно *Erythrotest Zoliclone Anti-A 1 mono*	Эритротест анти-А1 лектин *Erythrotest Anti-A1 lectin*	Bio-Rad Anti-A1 Lectin	ImuMed Anti-A1 Lectin	Эритротест Цоликлон анти-Нкра *Erythrotest Zoliclone Anti-H)*	ImuMed Anti-H	ДНК-анализ генов *AB0* *DNA analysis of AB0 genes*	*AB0*-группа *AB0 blood group*
111668	4+	4+	–	3+	4+	4+	4+	±	–	нд *np*	A_1
111617	4+	4+	–	3+	4+	4+	4+	±	–	нд *np*	A_1
111607	4+	4+	–	3+	4+	4+	4+	±	–	нд *np*	A_1
111667	4+	4+	–	3+	4+	4+	4+	1+	–	нд *np*	A_1
111586	4+	4+	–	3+	4+	4+	4+	1+	–	нд *np*	A_1
111616	4+	4+	–	3+	4+	4+	4+	1+	–	нд *np*	A_1
112033	4+	4+	4+	2+	3+	4+	4+	–	–	нд *np*	A_1B
112164	4+	4+	4+	2+	3+	4+	4+	–	–	нд *np*	A_1B
112117	4+	4+	4+	3+	3+	4+	4+	–	–	нд *np*	A_1B
111649	4+	4+	4+	2+	3+	4+	4+	±	–	нд *np*	A_1B
111659	4+	4+	4+	2+	3+	4+	4+	±	–	нд *np*	A_1B
111350	4+	4+	4+	3+	3+	4+	4+	–	–	A^1B^1	A_1B

Примечание: нд — генотипирование не проводили; O^1, O^{1v}, O^2 — аллельные варианты гена O.
Note: np — genotyping not performed; O^1, O^{1v}, O^2 — allelic variants of the O gene.

11.12.2019 Gem-4_web.pdf

с эритроцитами A_2B, но часто реагировали с эритроцитами A_2. Лектины анти-A_1 производства фирм BioRad и ImuMed (Antitoxin) вызывали крупную агглютинацию A_1- и A_1B-эритроцитов, но также явно реагировали (на 1+ — 2+) с большинством образцов эритроцитов A_2. Эта реакция была существенно слабее, чем с A_1-эритроцитами, однако могла ввести в заблуждение, особенно при отсутствии положительных (A_1) и отрицательных (A_2) контрольных образцов (эритроцитов A_2 нет в доступных панелях стандартных эритроцитов). Моноклональный реагент анти-A_1 реагировал с A_2-эритроцитами более избирательно: сила реакции с эритроцитами A_2 было слабой (на 1+), но он менее активно реагировал и с эритроцитами A_1 и A_1B — агглютинация начинала формироваться позднее, и сила реакции была не выше 3+.

Реакция с двумя анти-H-моноклональными реагентами разных производителей была идентичной (столбцы 8–9): отрицательной или слабой с эритроцитами A_1 и ярко выраженной со всеми образцами A_2.

На рисунке 3 показано на примере четырех образцов эритроцитов A_1, A_2, A_1B и A_2B, как выглядит реакция на плоскости с набором реагентов, необходимых для установления подгруппы антигена А.

В серологическое исследование были включены образцы крови доноров, которым был проведен AB0 (столбец 10) ДНК-анализ с использованием праймеров фирмы BAG для выявления вариантных антигенов А, который подтвердил наличие аллеля *AB0*A_2* у 21 донора эритроцитов. В двух случаях серологически была определена подгруппа A_3 (на плоскости наблюдалась замедленная агглютинация на 2+ на фоне свободных эритроцитов, в гелевом методе отмечали расслоение эритроцитов в пробирке), однако генотипирование выявило аллель *AB0*A_1*. Прямым секвенированием ДНК доноров этих образцов эритроцитов были идентифицированы аллели *AB0*A2.05* и *AB0*A2.06*.

Обсуждение

Антигены групп крови систем AB0 являются углеводами (карбогидратами), то есть структурами, которые формируются в результате биохимических процессов с участием гликозилтрансфераз. Гены всех углеводных антигенов, в том числе А и В, кодируют гликозилтрансферазы — ферменты, которые переносят конкретные сахара на углеводную цепь-предшественник и формируют соответствующий антиген [21]. Предшественником для синтеза антигенов А и В является антиген Н, к которому А-гликозилтрансфераза присоединяет N-ацетилгалактозамин (GalNAc), а В-гликозилтрансфераза присоединяет галактозу (Gal) (рис. 1). На эритроцитах группы 0 присутствует большое количество антигена Н, неконвертированного в А- и/или В-антигены. Синтез А- и/или В-антигенов

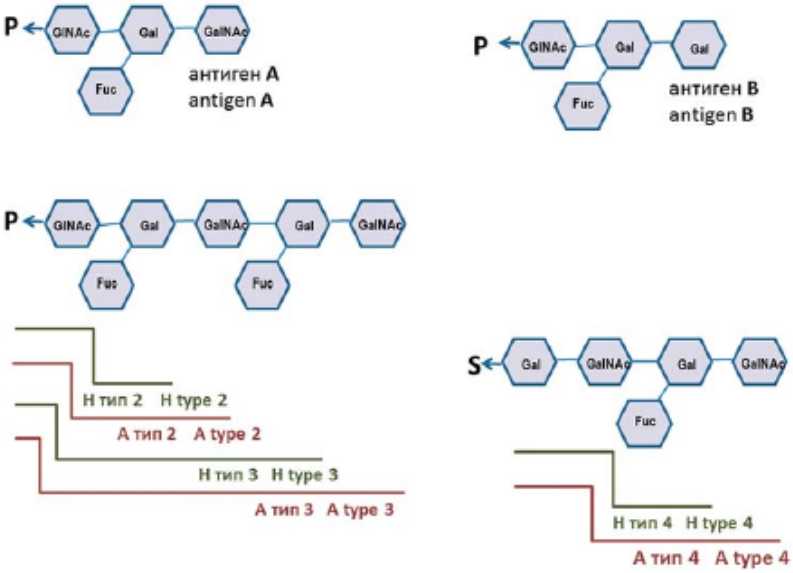

Рисунок 1. Структура антигенов А и В, типы олигосахаридных Н-цепей предшественников. GlNAc — N-ацетилглюкозамин; Gal — галактоза; Fuc — фукоза; GalNAc — N-ацетилгалактозамин. Типы цепей 2–4 являются эндогенными, тип 1 (не показан) может адсорбироваться на эритроциты из плазмы. Типы цепей различаются не только составом, но и положением гликозидной связи между сахарами (α или β; 1–3, 1–4). Полисахаридные цепи соединены с протеинами (P) или сфинголипидами (S) мембраны эритроцита

Figure 1. *Structure of the A and B antigens; types of oligosaccharide precursor H-chains/ GlNAc — N-acetylglucosamine; Gal — galactose; Fuc — fucose; GalNAc — N-acetylgalactosamine. Chain types 2–4 are endogenous, type 1 (not shown) can be adsorbed onto red blood cells from plasma. The types of chains differ in composition, as well as in the position of the glycosidic bond between sugars (α or β; 1–3, 1–4). Polysaccharide chains are linked to the proteins (P) or sphingolipids (S) of the erythrocyte membrane*

https://docviewer.yandex.by/view/22558586/?page=9&*=cOsSemrVHu7m63GpMnA0OSMDhVB7InVybCI6InlhLW1haWw6Ly8xNzA4NTUzM… 138/146

11.12.2019 Gem-4_web.pdf

приводит к снижению количество антигена Н на поверхности эритроцита. Таким образом, экспрессия антигенов А и/или В и экспрессия антигена Н обратно пропорциональны.

Углеводные Н-цепи имеют различное биохимическое строение. На эритроцитах могут присутствовать четыре типа Н-цепей, на которых формируются соответственно 4 типа антигена А [22–24] (рис. 1). Нумерация подгрупп антигена А (A_1, A_2, A_3) и цифровые обозначения типов углеводной цепи (типы 1, 2, 3, 4) не связаны между собой. Тип 1 Н-цепей синтезируется эпителиальными клетками и является предшественником растворимых антигенов, которые обнаруживаются в слюне или плазме у лиц-«секреторов». На эритроциты такие антигены адсорбируются из плазмы. Эндогенные эритроцитарные типы Н-цепей — это типы 2, 3 и 4. На эритроцитах A_1 экспрессируются все типы антигена А. На A_2- и A_2B-эритроцитах присутствует антиген А, представленный на Н-цепях типа 2. Показано, что ключевым отличием фенотипов A_1 и A_2 является различная экспрессия антигена А типов 3 и 4: тип 3 отсутствует на эритроцитах A_2B и слабо выражен на эритроцитах A_2, тип 4 полностью отсутствует на эритроцитах A_2 и A_2B [25] (рис 2). Эти отличия связаны с тем, что активная A_1-гликозилтрансфераза эффективно конвертирует Н вещество в А антиген и переносит GalNAc на Н-цепь любого типа, в то время как A_2-гликозилтрансфераза имеет субстратные ограничения и не способна прикреплять иммунодоминантные сахара на Н-цепи типа 3 и 4.

Основным реагентом, используемым для дифференциации подгрупп, является анти-A_1-лектин. Он представляет собой экстракт из семян бобового растения *Dolichos biflorus*. Экстракт реагирует с обеими подгруппами А эритроцитов, но при нужном разведении проявляет преимущественно анти-A_1-активность. Другой анти-A_1-диагностикум, Цоликлон анти-A_1, представляет собой комбинацию двух моноклональных анти-A_1-антител. Как показывают данные, представленные в таблице 2, и лектины, и моноклональные антитела могут вызывать агглютинацию некоторых образцов эритроцитов A_2, причем сила агглютинации варьирует. Было установлено, что анти-A_1-моноклональные антитела, входящие в состав Цоликлона, реагируют с антигеном А, экспрессированном на Н-цепях типа 3 и 4 [25]. Эти структуры присутствуют на эритроцитах A_1, а на эритроцитах A_2 их либо очень мало, либо они не обнаруживаются вообще (рис. 2). Зная эпитопную специфичность анти-A_1-моноклональных антител, можно предполагать, что Цоликлон анти-A_1 выявляет на эритроцитах A_2 слабо экспрессированные детерминанты антигена А типа 3, создавая видимость неспецифической реакции. Такая проблема не возникает при тестировании эритроцитов группы A_2B, поскольку сильная В-трансфераза конкурирует со слабой A_2-трансферазой и утилизирует общие Н-предшественники.

Полезным реагентом для подтверждения подгруппы является анти-Н-реагент. Активная A_1-гликозилтрансфераза превращает в антиген А существен-

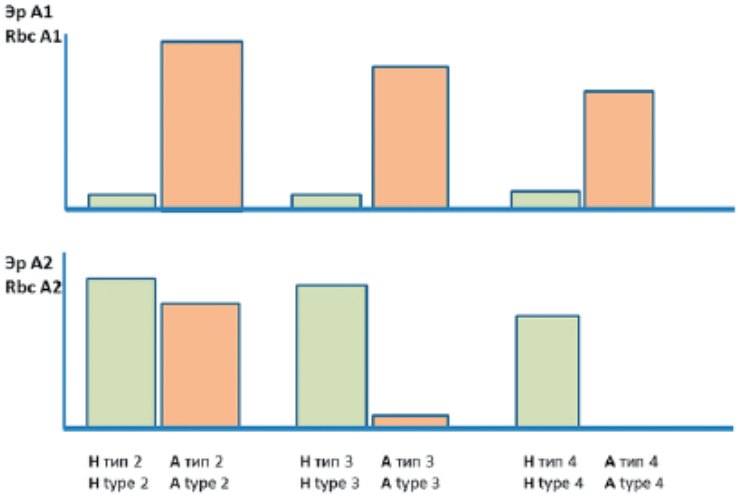

Рисунок 2. Количественные и качественные различия A_1- и A_2-эритроцитов.
Высота столбцов демонстрирует относительное количество Н- и А-антигенных детерминант на мембранах эритроцитов. Сильная A_1-трансфераза активно утилизирует молекулы Н-антигена (верхняя панель), превращая их в антиген А, в то время как трансфераза A_2 оставляет существенное количество антигена Н, не конвертированного в антиген А (нижняя панель). Эр — эритроциты

Figure 2. *Quantitative and qualitative differences between A_1 and A_2 red blood cells. The height of the columns denotes the relative amount of H and A antigenic determinants on the membranes of red blood cells. The strong A_1 transferase actively utilizes the molecules of the H antigen (upper panel) turning them into the A antigen, while the A_2 transferase leaves a significant amount of the H antigen not converted to the A antigen (bottom panel). RBCs — red blood cells*

https://docviewer.yandex.by/view/22558586/?page=9&*=cOsSemrVHu7m63GpMnA0OSMDhVB7InVybCI6InlhLW1haWw6Ly8xNzA4NTUzM… 139/146

11.12.2019 Gem-4_web.pdf

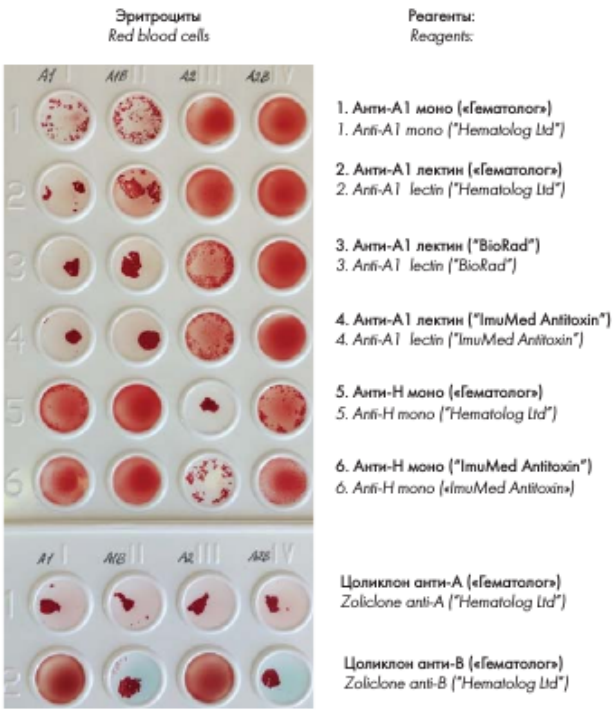

Рисунок 3. Реакция агглютинации на плоскости эритроцитов A_1, A_1B, A_2 и A_2B с реагентами анти-А, анти-В, анти-A_1 и анти-Н (фото). В рядах 1–4 показана реакция агглютинации эритроцитов с различными анти-A_1 реагентами. Отчетливо видно, что анти-A_1 лектины агглютинируют эритроциты A_2, однако сила агглютинации заметно слабее, чем с эритроцитами A_1. Ряды 5–6 демонстрируют, что анти-Н реагенты сильно реагируют с эритроцитами A_2 и практически не реагируют с эритроцитами A_1. Ряды 7–8, агглютинация с цоликлонами анти-А и анти-В, приведена для подтверждения группы крови

Figure 3. *Slide agglutination of A_1, A_1B, A_2 and A_2B red blood cells using anti-A, anti-B, anti-A_1 and anti-H reagents (photo). Rows 1–4 show the agglutination of red blood cells using various anti-A_1 reagents. The figure clearly shows that anti-A_1 lectins agglutinate A_2 red blood cells; however, the strength of agglutination is noticeably weaker than with A_1 red blood cells. Rows 5–6 demonstrate that anti-H reagents strongly react with A_2 red blood cells and practically do not react with A_1 red blood cells. In rows 7–8, the agglutination reaction using anti-A and anti-B Zoliclons is given to confirm the blood group*

но больше молекул Н, чем A_2-гликозилтрансфераза. Таким образом, содержание антигена Н на эритроцитах A_1 ниже, чем на эритроцитах A_2, и поэтому анти-Н-реагенты практически не агглютинируют A_1-эритроциты, но дают сильную реакцию с A_2-эритроцитами. В таблице 2 и на рисунке 3 видно, как четко различают подгруппы антигена А все анти-Н-реагенты. Реагент компании ImuMed называется анти-Н (А2), однако мишенью антител является антиген Н, а дополнительная подпись в скобках (А2) — это скорее указание к применению. В настоящей работе были использованы только моноклональные анти-Н-реагенты. Экстракт из *Ulex europaeus* также выявляет антиген Н и может применяться с той же целью.

Таким образом, в рутинной практике для дифференциации подгрупп A_1 и A_2 в большинстве случаев достаточно двух реагентов: анти-А и анти-A_1. Моноклональные реагенты анти-А одинаково надежно выявляют A_1 и A_2 и четко реагируют с эритроцитами A_3, а реагенты анти-A_1 при необходимости позволят дифференцировать A_1 от A_2 и более слабых подгрупп. Моноклональный реагент Цоликлон анти-A_1 является адекватной заменой лектину анти-A_1. В случае сомнительного результата реакции эритроцитов с анти-A_1-реагентом следует провести тестирование с реагентом анти-Н: сильная реакция укажет на A_2, отрицательная или слабая — на A_1.

У двух доноров в настоящем исследовании было отмечено расхождение результатов серологических и молекулярных методов: серологически была определена подгруппа A_3, генотипирование методом ПЦР выявило аллель $AB0^{*}A_1$. Прямое секвенирование ДНК показало сочетание мутантных аллелей, которое проявляет себя как фенотип A_3 [26]. Праймеры наборов A-variant Type (фирмы BAG) подобраны к наиболее часто встречающимся вариантам и не могут выявить все мутации гена *AB0*. За очевидными результатами генотипирования могут маскироваться мутантные аллели, что и наблюдалось в двух образцах.

Очевидно, что поиск генетических разновидностей антигена А представляет интерес для исследования эволюции гена, описания новых или редких вариантов [27], но в практической трансфузиологии генетическое типирование каждого реципиента со сла-

https://docviewer.yandex.by/view/22558586/?page=9&*=cOsSemrVHu7m63GpMnA0OSMDhVB7InVybCI6InlhLW1haWw6Ly8xNzA4NTUzM… 140/146

11.12.2019 Gem-4_web.pdf

бым антигеном А затруднительно и нерационально. Кроме того, результаты генетического анализа позволяют лишь предсказать наличие антигена; окончательное решение принимается на основе данных серологического исследования, как в приведенном выше случае. Тем не менее в литературе предлагается использовать ДНК-анализ как подтверждающий тест в тех случаях, когда у здоровых доноров со слабой подгруппой антигена А не совпадают результаты перекрестного АВ0-типирования, и компонент крови при этом бракуют. Авторы считают, что уточнение группы с помощью ДНК-анализа позволит избежать нерациональной отбраковки таких компонентов [28].

Литература

1. Дашкова Н.Г., Рагимов А.А., Асоскова Т.К. Значение изоантигена А2 и иммунных анти-А1 антител в трансфузиологии. *Анестезиология и реаниматология*. 2009; 6: 62–4.
2. Helmich F., Baas I., Ligthart P. et al. Acute hemolytic transfusion reaction due to a warm reactive anti-A1. *Transfusion*. 2018; 58: 1163–70. DOI: 10.1111/trf.14537
3. Jaben E.A., Jacob E.K., Tauscher C. et al. Clinically significant anti-A(1) in a presumed AB0-identical hematopoietic stem cell transplant recipient: a case report. *Transfusion*. 2013; 53: 202–5. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2012.03696.x
4. Reid M.E., Lomas-Francis C. *The blood group antigen factsbook*. 2nd ed. Academic Press, 2004.; DOI: 10.1016/B978-0-12-586585-2.X5000-8
5. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation (Ministry of Health of Russia) April 2, 2013, N 183n, Moscow: "On approval of the rules for the clinical use of donated blood and (or) its components".
6. Yamamoto F. Molecular genetics of AB0. *Vox Sang*. 2000; 78: 91–103.
7. Seltsam A., Hallensleben M., Kollmann A., Blasczyk R. The nature of diversity and diversification at the AB0 locus. *Blood*. 2003; 102: 3035–42. DOI: 10.1182/blood-2003-03-0955
8. Prager M. Molecular genetic blood group typing by the use of PCR-SSP technique. *Transfusion*. 2007;47:54–9. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2007.01311.x
9. Olsson M.L., Chester M.A. Polymorphism and recombination events at the AB0 locus: a major challenge for genomic AB0 blood grouping strategies. *Transfus Med*. 2001; 11: 295–313.
10. Chen D.P., Sun C.F., Ning H.C. et al. Genetic and mechanistic evaluation for the weak A phenotype in Ael blood type with, IVS6 + 5G>A AB0 gene mutation. *Vox Sang*. 2015; 108: 64–71. DOI: 10.1111/vox.12196
11. *Technical manual*. Ed. Mark E. Brecher. 15th ed., Bethesda, AABB, 2005.
12. Донсков С.И., Мороков В.А. *Группы крови человека*. Руководство по иммуносерологии. М.: Бином; 2014.
13. *Трансфузиология*. Национальное руководство. Под ред. А.А. Рагимова, 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2018.
14. Shastry S., Bhat S. Imbalance in A(2) and A(2)B phenotype frequency of AB0 group in South India. *Blood Transfus*. 2010; 8: 267–70. DOI: 10.2450/2010.0147-09
15. Ogasawara K., Yabe R., Uchikawa M. et al. Different alleles cause an imbalance in A2 and A2B phenotypes of the AB0 blood group. *Vox Sang*. 1998; 74: 242–7.
16. Economidou J., Hughes-Jones N.C., Gardner B. Quantitative measurements concerning A and B antigen sites. *Vox Sang*. 1967; 12: 321–8.
17. Schachter H., Michaels M.A., Tilley C.A., Crookston M.C., Crookston J.H. Qualitative differences in the N-acetyl-D-galactosaminyltransferases produced by human A1 and A2 genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1973; 70: 220–4. DOI: 10.1073/pnas.70.1.220
18. Storry J.R., Olsson M.L. Genetic basis of blood group diversity. *Br J Haematol*. 2004; 126: 759–71. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05065.x
19. Yamamoto F., McNeill P.D., Hakomori S. Human histo-blood group A2 transferase coded by A2 allele, one of the A subtypes, is characterized by a single

References

1. Dashkova N.G., Ragimov A.A., Asoskova T.K. Significance of the isoantigen A2 and immune anti-A1 antibodies in transfusiology. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2009; 6: 62–4 (In Russian).
2. Helmich F., Baas I., Ligthart P. et al. Acute hemolytic transfusion reaction due to a warm reactive anti-A1. *Transfusion*. 2018; 58: 1163–70. DOI: 10.1111/trf.14537
3. Jaben E.A., Jacob E.K., Tauscher C. et al. Clinically significant anti-A(1) in a presumed AB0-identical hematopoietic stem cell transplant recipient: a case report. *Transfusion*. 2013; 53: 202–5. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2012.03696.x
4. Reid M.E., Lomas-Francis C. *The blood group antigen factsbook*. 2nd ed. Academic Press, 2004.; DOI: 10.1016/B978-0-12-586585-2.X5000-8
5. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation (Ministry of Health of Russia) April 2, 2013, N 183n, Moscow: "On approval of the rules for the clinical use of donated blood and (or) its components".
6. Yamamoto F. Molecular genetics of AB0. *Vox Sang*. 2000; 78: 91–103.
7. Seltsam A., Hallensleben M., Kollmann A., Blasczyk R. The nature of diversity and diversification at the AB0 locus. *Blood*. 2003; 102: 3035–42. DOI: 10.1182/blood-2003-03-0955
8. Prager M. Molecular genetic blood group typing by the use of PCR-SSP technique. *Transfusion*. 2007;47:54–9. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2007.01311.x
9. Olsson M.L., Chester M.A. Polymorphism and recombination events at the AB0 locus: a major challenge for genomic AB0 blood grouping strategies. *Transfus Med*. 2001; 11: 295–313.
10. Chen D.P., Sun C.F., Ning H.C. et al. Genetic and mechanistic evaluation for the weak A phenotype in Ael blood type with, IVS6 + 5G>A AB0 gene mutation. *Vox Sang*. 2015; 108: 64–71. DOI: 10.1111/vox.12196
11. *Technical manual*. Ed. Mark E. Brecher. 15th ed., Bethesda, AABB, 2005.
12. Donskov S.I., Morokov V.A. *Human blood groups*. Immunoserology manual. Moscow: Binom; 2014 (In Russian).
13. *Transfusion*. National Standart. Ed. AA Ragimov. Second ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2018 (In Russian).
14. Shastry S., Bhat S. Imbalance in A(2) and A(2)B phenotype frequency of AB0 group in South India. *Blood Transfus*. 2010; 8: 267–70. DOI: 10.2450/2010.0147-09
15. Ogasawara K., Yabe R., Uchikawa M. et al. Different alleles cause an imbalance in A2 and A2B phenotypes of the AB0 blood group. *Vox Sang*. 1998; 74: 242–7.
16. Economidou J., Hughes-Jones N.C., Gardner B. Quantitative measurements concerning A and B antigen sites. *Vox Sang*. 1967; 12: 321–8.
17. Schachter H., Michaels M.A., Tilley C.A., Crookston M.C., Crookston J.H. Qualitative differences in the N-acetyl-D-galactosaminyltransferases produced by human A1 and A2 genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1973; 70: 220–4. DOI: 10.1073/pnas.70.1.220
18. Storry J.R., Olsson M.L. Genetic basis of blood group diversity. *Br J Haematol*. 2004; 126: 759–71. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05065.x
19. Yamamoto F., McNeill P.D., Hakomori S. Human histo-blood group A2 transferase coded by A2 allele, one of the A subtypes, is characterized by a single

https://docviewer.yandex.by/view/22558586/?page=9&*=cOsSemrVHu7m63GpMnA0OSMDhVB7InVybCI6InlhLW1haWw6Ly8xNzA4NTUzM… 141/146

11.12.2019 Gem-4_web.pdf

base deletion in the coding sequence, which results in an additional domain at the carboxyl terminal. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992; 187: 366–74. DOI: 10.1016/s0006-291x(05)81502-5

20. Yoshida A., Dave V., Prchal J. Uncertainty in identification of blood group A subtypes by agglutination test. *Hum. Hered.* 1985; 35: 1–6. DOI: 10.1159/000153505

21. Watkins W.M. Genetic regulation of the structure of blood-group-specific glycoproteins. *Biochem Soc Symp.* 1974; 40: 125–46.

22. Clausen H., Hakomori S. ABH and related histo-blood group antigens; immunochemical differences in carrier isotypes and their distribution. *Vox Sang.* 1989; 56: 1–20.

23. Zhang Wei, Zhu Zi-yan. Structural modification of H histo-blood group antigen. *Blood Transfus.* 2015; 13: 143–9. DOI: 10.2450/2014.0033-14

24. Luiz Carlos de Mattos. Structural diversity and biological importance of AB0, H, Lewis and secretor histo-blood group carbohydrates. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2016; 38(4): 331–40. DOI: 10.1016/j.bjhh.2016.07.005

25. Svensson L, Rydberg L, de Mattos L.C., Henry S.M. Blood group A(1) and A(2) revisited: an immunochemical analysis. *Vox Sang.* 2009; 96: 56–61. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2008.01112.x

26. Barjas-Castro M.L., Carvalho M.H., Locatelli M.F., Bordin S., Saad S.T. Molecular heterogeneity of the A3 subgroup. *Clin. Lab. Haematol.* 2000; 22: 73–8.

27. Головкина Л.Л., Стремоухова А.Г., Пушкина Т.Д. Выявление редкого аллеля антигена А системы АВ0 Ael у женщины из Дагестана. Интермедикал. 2015; 1(7): 25–8.

28. Westhoff C.M. Blood group genotyping. *Blood.* 2019; 133: 1814–20. DOI: 10.1182/blood-2018-11-833954

base deletion in the coding sequence, which results in an additional domain at the carboxyl terminal. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992; 187: 366–74. DOI: 10.1016/s0006-291x(05)81502-5

20. Yoshida A., Dave V., Prchal J. Uncertainty in identification of blood group A subtypes by agglutination test. *Hum. Hered.* 1985; 35: 1–6. DOI: 10.1159/000153505

21. Watkins W.M. Genetic regulation of the structure of blood-group-specific glycoproteins. *Biochem Soc Symp.* 1974; 40: 125–46.

22. Clausen H., Hakomori S. ABH and related histo-blood group antigens; immunochemical differences in carrier isotypes and their distribution. *Vox Sang.* 1989; 56: 1–20.

23. Zhang Wei, Zhu Zi-yan. Structural modification of H histo-blood group antigen. *Blood Transfus.* 2015; 13: 143–9. DOI: 10.2450/2014.0033-14

24. Luiz Carlos de Mattos. Structural diversity and biological importance of AB0, H, Lewis and secretor histo-blood group carbohydrates. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2016; 38(4): 331–40. DOI: 10.1016/j.bjhh.2016.07.005

25. Svensson L, Rydberg L, de Mattos L.C., Henry S.M. Blood group A(1) and A(2) revisited: an immunochemical analysis. *Vox Sang.* 2009; 96: 56–61. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2008.01112.x

26. Barjas-Castro M.L., Carvalho M.H., Locatelli M.F., Bordin S., Saad S.T. Molecular heterogeneity of the A3 subgroup. *Clin. Lab. Haematol.* 2000; 22: 73–8.

27. Golovkina L.L., Stremoukhova A.G., Pushkina T.D. Detection of rare allele Ael of AB0 system in woman from Dagestan. Inter-medical. 2015; 1(7): 25-8

28. Westhoff C.M. Blood group genotyping. *Blood.* 2019; 133: 1814–20. DOI: 10.1182/blood-2018-11-833954

Информация об авторах

Головкина Лариса Леонидовна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией трансфузиологической иммуногематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: largol@mail.ru;
ORCID: http://orcid.org/0000-0002-9423-2640

Каландаров Рахман Самиевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории трансфузиологической иммуногематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: rkalandari@yandex.ru;
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7730-8367

Стремоухова Алла Геннадьевна, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории трансфузиологической иммуногематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: allastrem@mail.ru;
ORCID: http:// orcid.org/0000-000 2-1705-7535

Калмыкова Ольга Сергеевна, заведующая лабораторией контроля качества и безопасности гемотрансфузий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: olga.da2009@yandex.ru;
ORCID: http://orcid.org/0000-0002-6897-5977

Information about the authors

Larisa L. Golovkina, Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory for Transfusion Immunohematology, National Research Center for Hematology,
e-mail: largol@mail.ru;
ORCID: http://orcid.org/0000-0002-9423-2640

Rakhman S. Kalandarov, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory for Transfusion Immunohematology, National Research Center for Hematology,
e-mail: rkalandari@yandex.ru;
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7730-8367

Alla G. Stremoukhova, Clinical Pathologist, Laboratory for Transfusion Immunohematology, National Research Center for Hematology,
e-mail: allastrem@mail.ru;
ORCID: http:// orcid.org/0000-000 2-1705-7535

Olga S. Kalmykova, Head of the Laboratory for the Quality Control and Safety of Blood Transfusions, National Research Center for Hematology,
e-mail: olga.da2009@yandex.ru;
ORCID: http://orcid.org/0000-0002-6897-5977

https://docviewer.yandex.by/view/22558586/?page=9&*=cOsSemrVHu7m63GpMnA0OSMDhVB7InVybCI6InlhLW1haWw6Ly8xNzA4NTUzM… 142/146

11.12.2019 Gem-4_web.pdf

Пушкина Татьяна Дмитриевна, биолог лаборатории трансфузиологической иммуногематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: tanya.pushkina.1959@mail.ru;
ORCID: http://orcid.org/0000-0002-8801-5578

Tatyana D. Pushkina, Biologist, Laboratory for Transfusion Immunohematology, National Research Center for Hematology,
e-mail: tanya.pushkina.1959@mail.ru;
ORCID: http://orcid.org/0000-0002-8801-5578

Сурин Вадим Леонидович, старший научный сотрудник лаборатории генной инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: vadsurin@mail.ru;
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1890-4492

Vadim L. Surin, Senior Researcher, Laboratory of Genetic Engineering National Research Centre for Hematology,
e-mail: vadsurin@mail.ru;
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1890-4492

Пшеничникова Олеся Сергеевна, старший научный сотрудник лаборатории генной инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: pshenichnikovaolesya@gmail.com;
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5752-8146

Olesya S. Pshenichnikova, Senior Researcher, Laboratory of genetic engineering, National Research Center for Hematology,
e-mail: pshenichnikovaolesya@gmail.com;
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5752-8146

Николаева Татьяна Леонидовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: TanyaLN0419@mail.ru;
ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2614-0506

Tatyana L. Nikolaeva, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory for Physiology of Hematopoiesis,
e-mail: TanyaLN0419@mail.ru;
ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2614-0506

Оловникова Наталья Ивановна*, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: olovnikova@gmail.com, тел.: +7 (916) 915-25-01;
ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0876-5414

Natalya I. Olovnikova*, Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory for Physiology of Hematopoiesis, National Research Center for Hematology,
e-mail: olovnikova@gmail.com, tel.: +7 (916) 915-25-01;
ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0876-5414

*** Автор, ответственный за переписку**
Поступила: 05.07.2019
Принята к печати: 12.09.2019

*** Corresponding author**
Received 05 Jul 2019
Accepted 12 Sep 2019

https://docviewer.yandex.by/view/22558586/?page=9&*=cOsSemrVHu7m63GpMnA0OSMDhVB7InVybCI6InlhLW1haWw6Ly8xNzA4NTUzM… 143/146