

СЛУЧАЙ ВЫЯВЛЕНИЯ РЕДКОГО ФЕНОТИПА DEL У ДОНОРА КРОВИ

Кара В.В.^{1,*}, Данилец В.В.¹, Райкина Е.В.², Чумак А.А.³, Шрагина О.А.², Погонин А.В.¹, Дрозд Т.С.¹, Мартынова Е.А.¹, Буланов А.Ю.⁴

¹ГБУЗ «Городская клиническая больница имени М.П. Кончаловского Департамента здравоохранения города Москвы», 124489, г. Москва, Российская Федерация

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117198, г. Москва, Российская Федерация

³ГБУЗ «Центр крови имени О.К. Гаврилова Департамента здравоохранения Москвы», 125284, г. Москва, Российская Федерация

⁴ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», 129090, г. Москва, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Введение. Высокоиммуногенный антиген D — один из наиболее важных после групповых антигенов A и B. Многочисленные аллели гена *RHD* приводят к появлению новых фенотипов антигена D. Фенотип Del характеризуется сверхслабой экспрессией антигена D.

Цель: представить результаты типирования антигена D у донора крови с фенотипом Del.

Материалы и методы. Для серологического типирования крови донора использовали технологию микроколоночной агглютинации и твердофазную микропланшетную технологию «Capture». Первичное генотипирование донора выполняли методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (АСП-ПЦР). Был проведен поиск нуклеотидных замен методом секвенирования по Сэнгеру продуктов ПЦР экзонов гена *RHD*.

Результаты. При проведении серологического типирования с анти-D-антителами IgM и IgG с использованием твердофазной микропланшетной технологии был получен положительный результат. При определении парциальных вариантов антигена D однозначно интерпретировать полученные данные не получилось. Для идентификации вариантов антигена weak D потребовалось проведение молекулярно-генетического анализа. По результатам первичного генотипирования методом АСП-ПЦР было сделано предположение о делеции 9-го экзона гена *RHD* либо нуклеотидной замене в 9-м экзоне. По результатам секвенирования по Сэнгеру в экзоне 9 был обнаружен вариант нуклеотидной последовательности ДНК с. 1203T>A, приводящий к образованию стоп-кодона Tyr401Ter (rs759513820). Данный генетический вариант соответствует аллелю *RHD*01EL.17*. Антиген, кодируемый этим аллелем, относится к типу Del.

Заключение. Необходимо применять иммуногематологические методы в сочетании с молекулярно-генетическими методами для типирования антигена D у доноров крови с фенотипом Del с целью предотвращения аллоиммунизации антигеном D.

Ключевые слова: фенотип Del, резус-фактор, антигены эритроцитов, иммуногематология, генотипирование

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа не имела спонсорской поддержки.

Для цитирования: Кара В.В., Данилец В.В., Райкина Е.В., Чумак А.А., Шрагина О.А., Погонин А.В., Дрозд Т.С., Мартынова Е.А., Буланов А.Ю. Случай выявления редкого фенотипа Del у донора крови. Гематология и трансфузиология. 2025; 70(2):264–272. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-264-272>

A CASE OF RARE DEL PHENOTYPE IN A BLOOD DONOR

Kara V.V.^{1,*}, Danilets V.V.¹, Raykina E.V.², Chumak A.A.³, Shragina O.A.², Pogonin A.V.¹, Drozd T.S.¹, Martynova E.A.¹, Bulanov A.Yu.⁴

¹ City Clinical Hospital named after M. P. Konchalovsky, 124489, Moscow, Russian Federation

² Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, 117198, Moscow, Russian Federation

³ Moscow City Blood Center named after O.K. Gavrilov, 125284, Moscow, Russian Federation

⁴ N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, 129090, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. The highly immunogenic D antigen is one of the most important antigens after the group antigens A and B. Numerous alleles of the *RHD* gene lead to the emergence of new D antigen phenotypes. The Del phenotype is characterized by an extremely weak expression of the D antigen.

Aim: to present the results of D antigen typing in a blood donor with the Del phenotype.

Materials and methods. Two technologies were used for serologic typing of donor blood: microcolumn agglutination technology and solid phase microplate Capture technology. Primary genotyping of the donor was performed by allele-specific polymerase chain reaction (ASP-PCR). Nucleotide substitutions were searched for by Sanger sequencing of PCR products of exons of the *RHD* gene.

Results. When serological typing with IgM and IgG anti-D antibodies using solid-phase microplate technology was performed, a positive result was obtained. When determining partial variants of the D antigen, it was not possible to unambiguously interpret the data obtained. Molecular genetic analysis was required to identify variants of the weak D antigen. The results of primary genotyping by ASP-PCR suggested deletion of exon 9 of the *RHD* gene or nucleotide substitution in exon 9. According to the results of Sanger sequencing, a variant of the DNA nucleotide sequence c.1203T>A was detected in exon 9, resulting in the formation of the stop codon Tyr401Ter (rs759513820). This genetic variant corresponds to the *RHD**01EL.17 allele. The antigen encoded by this allele is of the Del type.

Conclusion. It is necessary to use immunohematological methods in combination with molecular genetic methods for D antigen typing in blood donors with the Del phenotype in order to prevent alloimmunization with the D antigen.

Key words: Del phenotype, Rh-factor, erythrocyte antigens, immunohematology, genotyping

Conflict of interest: the authors declare that they have no competing interests.

Funding: this study was not supported by any external sources of funding.

For citation: Kara V.V., Danilets V.V., Raykina E.V., Chumak A.A., Shragina O.A., Pogonin A.V., Drozd T.S., Martynova E.A., Bulanov A.Yu. A case of rare Del phenotype in a blood donor. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2025; 70(2):264–272 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-264-272>

Введение

Система Rh является наиболее полиморфной системой групп крови человека, имеющей большое клиническое значение в трансфузионной медицине. Соответствие между донором и реципиентом по резус-антигену D является ключевым фактором предотвращения аллоиммунизации и гемолитических трансфузионных реакций [1]. Rh-полипептиды кодируются парой гомологичных генов, *RHD* и *RHCE*, которые расположены на коротком плече хромосомы 1

(1p34.3–36.13). Оба гена состоят из 10 экзонов и являются результатом дупликации общего гена-предка [2, 3]. Они имеют противоположную ориентацию в RH-локусе, то есть находятся в конфигурации хвост к хвосту (5'*RHD*3'-3'*RHCE*5'). При этом кодирующая нить *RHD* становится некодирующей нитью *RHCE*, и наоборот [4]. Ген *RHD* фланкирован двумя высокомолекулярными последовательностями, так называемыми «резусными боксами». Гены *RHD* и *RHCE* кодируют

трансмембранные белки RhD и RhCE длиной более 400 аминокислотных остатков. Полипептид RhD отличается от обычной формы белка RhCE примерно на 31–35 аминокислотных остатков в зависимости от аллеля *RHCE*. Белки резус пересекают мембрану эритроцита 12 раз, формируя 6 внеклеточных петель — потенциальных мест экспрессии антигенов Rh [2–4]. Ген *RHD* кодирует синтез антигена D, который имеет более 30 эпитопов, а ген *RHCE* может образовывать антигенные C/c и E/e в комбинации Ce, ce, cE и CE [5].

В зависимости от наличия или отсутствия антигена D на поверхности эритроцитов люди делятся на Rh-положительных и Rh-отрицательных. На поверхности эритроцитов резус-отрицательных лиц экспрессия антигена D отсутствует вследствие делеции гена *RHD* или из-за его транскрипционного молчания [6]. Ген *RHD* является высокополиморфным, и существование большого количества различных аллелей приводит к появлению новых фенотипов антигена D [7]. Даже незначительные изменения в аминокислотной последовательности могут вызвать конформационные изменения, которые создают новые антигены и влияют на экспрессию существующих [4].

Вариант Del демонстрирует чрезвычайно слабую экспрессию антигена D, в результате чего стандартные иммуногематологические тесты на антиген D часто ошибочно идентифицируют лиц с вариантом Del как Rh-отрицательных [8]. Количество детерминант антигена D на поверхности эритроцитов лиц с вариантом Del оценивается менее чем в 22 детерминанты на клетку по сравнению с 10 000–30 000 детерминант для нормального D и 1500–7000 — для слабого D [9–11]. Основными механизмами, приводящими к возникновению аллелей *DEL*, являются миссенс-варианты и варианты, влияющие на проявление альтернативного сплайсинга. Дополнительные механизмы включают гибридные аллели, варианты сдвига рамки считывания, преждевременные стоп-кодоны и крупные делеции, охватывающие целые экзоны [12].

Для обеспечения иммунологической безопасности гемотрансфузий важно идентифицировать доноров крови, экспрессирующих антиген D, и классифицировать их как Rh-положительных вне зависимости от плотности антигена D на поверхности эритроцитов [13]. Ошибочное отнесение доноров крови с фенотипом Del к лицам с резус-отрицательной принадлежностью ассоциировано с риском анти-D аллоиммунизации при переливании эритроцитсодержащих компонентов резус-отрицательным реципиентам. В связи с тем что стандартное иммуногематологическое тестирование для определения резус-принадлежности не всегда эффективно в случае слабой экспрессии антигена D, для обнаружения варианта Del может дополнительно потребоваться молекулярно-генетическое типирование [8].

Цель настоящей работы — представить результаты типирования антигена D у донора крови с фенотипом Del.

Материалы и методы

Исследование выполнено в отделении трансфузиологии ГБУЗ «ГКБ им. М.П. Кончаловского ДЗМ» в соответствии с требованиями этических норм и принципов Хельсинкской декларации и поддержано локальным этическим комитетом ГБУЗ «ГКБ им. М.П. Кончаловского ДЗМ». В соответствии с единым протоколом и на основании информированного согласия образец периферической крови донора (идентификационный номер пробы: 777302330094824) был собран в индивидуальную вакуумную пробирку UNIVAC с K2 ЭДТА (ООО «Эйлитон», Россия) путем стандартной венопункции для проведения иммуногематологических исследований.

В целях обеспечения соблюдения требований безопасности донорской крови были проведены следующие иммуногематологические исследования: определение группы крови по системе ABO и резус-принадлежности; типирование антигенов эритроцитов C, c, E, e, D, K; скрининг и идентификация антител в непрямом антиглобулиновом тесте (НАГТ); подтверждение D слабого (D weak) с использованием твердофазной методики; прямой антиглобулиновый тест (ПАГТ); определение парциальных вариантов антигена D.

При проведении иммуногематологических исследований крови донора использовали две различные технологии: технологию микроколоночной агглютинации от компаний «Bio-Rad» (США) и «Diagnostic Grifols, S.A.» (Испания), а также твердофазную микропланшетную технологию «Capture» компании «Immucor» (США).

Для фенотипирования эритроцитов по системе ABO методом гемагглютинации в жидкой фазе на микропланшетах использовали реагенты «immuClone Anti-A IgM», «immuClone Anti-B IgM», «immuClone Anti-AB IgM» («Immucor», США). Типирование антигенов эритроцитов C, c, E, e, D, K проводили с использованием реагентов «immuClone Anti-C IgM», «Anti-c IgM», «Anti-D rapid IgM», «Anti-E IgM», «Anti-e IgM», «Anti-K IgM» (Immucor, США). Данные исследования проводили на иммуногематологическом анализаторе «Immucor Galileo Neo» («Immucor», США). При наличии на эритроцитах соответствующего антигена на поверхности лунки микропланшета наблюдали прямую агглютинацию исследуемых эритроцитов.

Для определения слабого антигена D использовали микрострипы «Capture-R Select» («Immucor», США) и реагент «Novoclone Anti D IgM + IgG» («Immucor», США), содержащий анти-D человеческие моноклональные антитела IgM, клон D175–2 и IgG, клон D415–1E4 соответственно. Компонент IgG анти-D позволяет выявить наиболее слабые варианты антигена D.

В дополнение к твердофазной технологии антиген D был типирован с использованием метода колоночной агглютинации — гелевая карта «DG Gel ABO/Rh (2D) + Kell» («Diagnostic Grifols, S.A.», Испания). Изображения, полученные с автоматического иммуногематологического анализатора «Erytra» («Diagnostic Grifols, S.A.», Испания), оценивали визуально. Наличие компактного осадка эритроцитов на дне микропробирки свидетельствовало об отрицательной реакции. ПАГТ проводили с использованием гелевой карты «DG Gel Coombs» («Diagnostic Grifols, S.A.», Испания). НАГТ был проведен с использованием твердофазной системы «Capture-R Ready-Screen» («Immucor», США).

Для определения парциальных вариантов антигена D (DII, DIV, DV, DVI, DVII, DFR, DBT и DHAR) в образце донорской крови ручным методом был использован набор «ID-Partial RhD Typing» («Bio-Rad», США), который содержит 6 микропробирок с полиспецифическим антиглобулиновым реагентом, а также набор анти-D сывороток, включающий 6 линий моноклональных анти-D антител (клеточные линии: LHM76/55 (IgG), LHM77/64 (IgG), LHM70/45 (IgG), LHM59/19 (IgG), LHM169/80 (IgG), LDM1 (IgM)).

Молекулярно-генетическое определение резус-принадлежности было проведено в лаборатории молекулярной биологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Выделение геномной ДНК для генетического типирования из ядросодержащих клеток периферической крови проводили с использованием коммерческого набора для ручной экстракции ДНК с мини-центрифугирующими колонками «Protrans DNA Box 500» («Protrans GmbH», Германия). В образце, полученном после выделения ДНК, измеряли концентрацию геномной ДНК с помощью спектрофотометра «Nano Drop One» («Thermo Fisher Scientific», США). Показатель чистоты ДНК, определяемый по отношению показателей при 260 и 280 нм, составил 1,75; концентрация конечной ДНК — 52 нг/мкл.

Первичное генотипирование донора выполняли методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (АСП-ПЦР) с использованием коммерческих наборов реагентов для определения клинически значимых и редких вариантов системы резус «RH-TYPE», «BA Gene Weak D-TYPE», «BA Gene Partial D-TYPE» («BAG Health Care GmbH», Германия). «BAGene RH-TYPE» позволяет проводить молекулярно-генетическое определение стандартных *RHD/RHCE* (C, Cw, c, D, DEL, E, e). «BAGeneWeak D-TYPE» позволяет проводить молекулярно-генетическое определение типов слабого антигена D (weak D) включая 1, 1.1, 2, 3, 4.0/4.1, 4.2, 5, 11, 15, 17, 20. «BA Gene Partial D-TYPE» позволяет проводить молекулярно-генетическое определение частичных D, таких как DII, DIII, DIV, DV, DVI,

DVII, DAU, DBT, DFR, DHMi, DHMii, DNB и DHAR (Rh33). Детекцию продуктов АСП-ПЦР осуществляли методом электрофореза в 2% агарозном геле с добавлением бромистого этидия. Для визуализации результатов использовали гель-документирующую систему «ChemiDoc» («Bio-Rad», США). Результаты интерпретировали в соответствии с диаграммами оценки, предоставленными производителем.

Для проведения секвенирования по Сэнгеру продуктов ПЦР экзонов гена *RHD* были подобраны праймеры для амплификации 10 экзонов гена *RHD* с захватом прилежащих интронных областей [14]. Праймеры и мастер-микс для ПЦР экзонов и секвенирования были изготовлены компанией ЗАО «Евроген» (Россия). Для амплификации использовали набор реагентов «Platinum™ Taq DNA Polymerase» («Invitrogen», США). Очистку амплификата проводили с помощью набора для ферментативной очистки продуктов ПЦР «ExoSAP-IT» («Thermo Fisher Scientific», США). Секвенирование проводили с использованием набора реактивов «Big Dye Terminator 1.1v Cycle Sequencing Kit» («Applied Biosystems», США). Для секвенирующей реакции использовали прямой и обратный праймеры. После проведения секвенирующих реакций продукты ПЦР очищали при помощи набора «iX-Pure™ Dye Terminator Cleanup Kit» («NimaGen», Нидерланды). Продукты секвенирующих реакций разделяли и анализировали с использованием генетического анализатора «Applied Biosystems 3500 xL» («Applied Biosystems», США). Данные секвенирования по Сэнгеру сопоставляли с референсной последовательностью гена *RHD* (Hg38, NM_016124.6) в геномном браузере Ensembl, аннотация аллелей проведена в соответствии с номенклатурой Международного общества переливания крови.

Результаты

Первоначальную диагностику антигенной структуры эритроцитов проводили с помощью иммуногематологических методов. На рисунке 1 представлен протокол исследования, полученный с иммуногематологического анализатора «Immucor Galileo Neo». При серологическом исследовании антигенного состава образца крови донора получен следующий результат: группа крови по системе ABO — A, резус-принадлежность — Rh-, фенотип ccEe. При проведении НАГТ аллоиммунные антитела IgG к антигенам эритроцитов не выявлены.

При типировании антигена D с использованием микропланшетной технологии и реагента, содержащего моноклональные IgM-антитела к антигену D, получен отрицательный результат (рис. 1). Для выявления слабых подтипов антигена D был проведен тест «D weak» на иммуногематологическом анализаторе «Immucor Galileo Neo». Был получен следующий результат: сила положительной реакции (3+), что соответствует степени

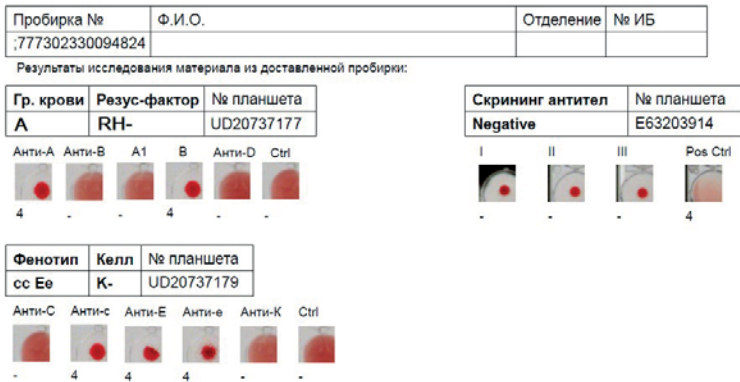


Рисунок 1. Результаты стандартного серологического типирования образца крови донора на анализаторе «Immucor Galileo Neo»

Figure 1. Results of standard serological typing of a donor blood sample on the Immucor Galileo Neo analyzer

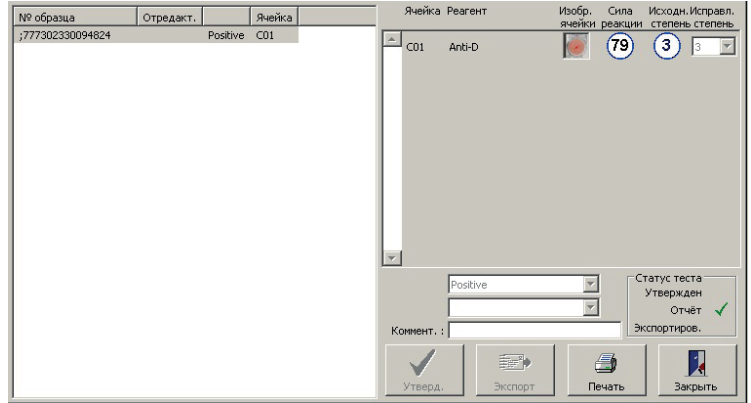


Рисунок 2. Результат теста «D weak» на иммуногематологическом анализаторе «Immucor Galileo Neo»

Figure 2. The result of the weak D test on the Immucor Galileo Neo immunohematology analyzer

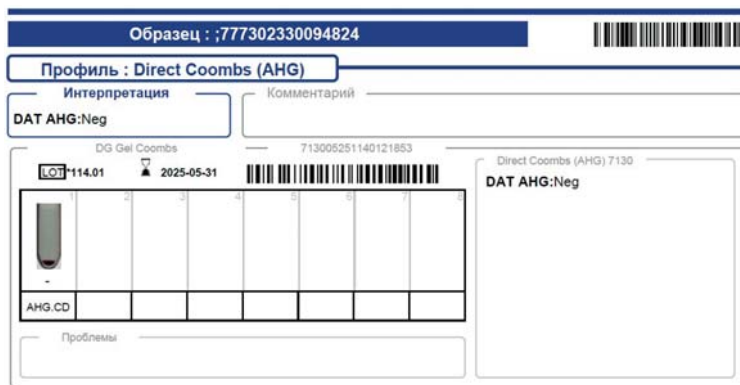


Рисунок 3. Результат прямого антиглобулинового теста

Figure 3. The result of a direct antiglobulin test

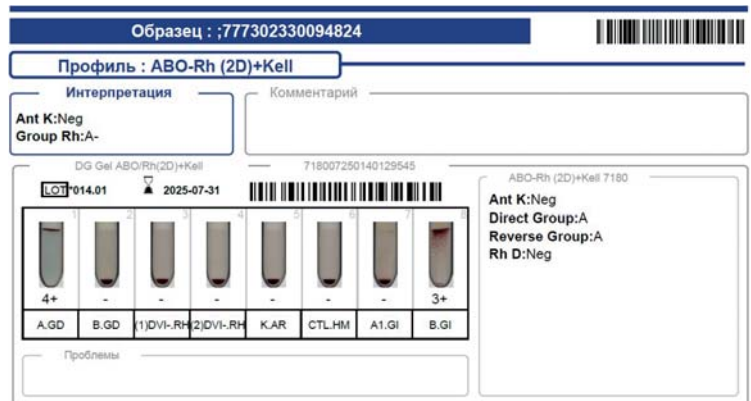


Рисунок 4. Результат двойного определения RhD с использованием гелевой карты «DG Gel ABO/Rh (2D) + Kell»

Figure 4. Result of double RhD determination using a gel card DG Gel ABO/Rh (2D) + Kell

адгезии эритроцитов к монослою (рис. 2). Появление положительного результата только в тесте «D weak» с анти-D-антителами IgM и IgG позволило судить о наличии слабого фенотипа антигена D или в меньшей степени о вариантной форме антигена D.

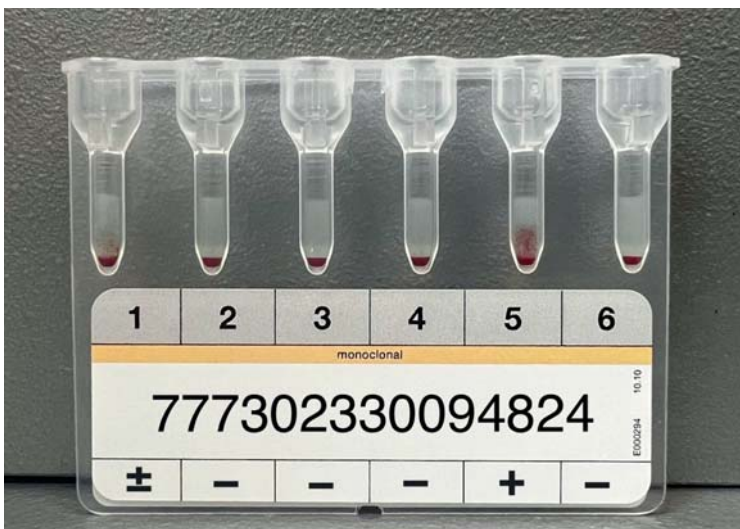


Рисунок 5. Результат типирования парциальных вариантов антигена RhD образца донорской крови

Figure 5. RhD antigen partial variant typing result of a donor blood sample

Для исключения ложноположительного результата в тесте «D weak» с анти-D-антителами, вызванного эритроцитами, сенсibilизированными *in vivo* иммуноглобулинами и/или фракциями комплемента, был проведен прямой антиглобулиновый тест с использованием гелевой карты «DG Gel Coombs». Была установлена отрицательная реакция, что свидетельствовало об отсутствии выявляемых антител IgG или компонента комплемента C3d на эритроцитах (рис. 3).

По результатам типирования антигена D в гелевой карте в микропробирке с моноклональными анти-D-антителами IgM человеческого происхождения получен отрицательный результат. В микропробирке со смесью моноклональных анти-D-антител IgM и IgG, позволяющей выявлять слабый D и частичные варианты антигена D, также был получен отрицательный результат (рис. 4).

При типировании парциальных вариантов антигена D в микропробирке 1 с LHM76/55 (IgG) линией моноклональных анти-D-антител и микропробирке 5 с LHM169/80 (IgG) линией моноклональных анти-D-антител сила реакции составила (±) и (+) соответственно (рис. 5). Полученные результаты не позволили однозначно интерпретировать данные результаты

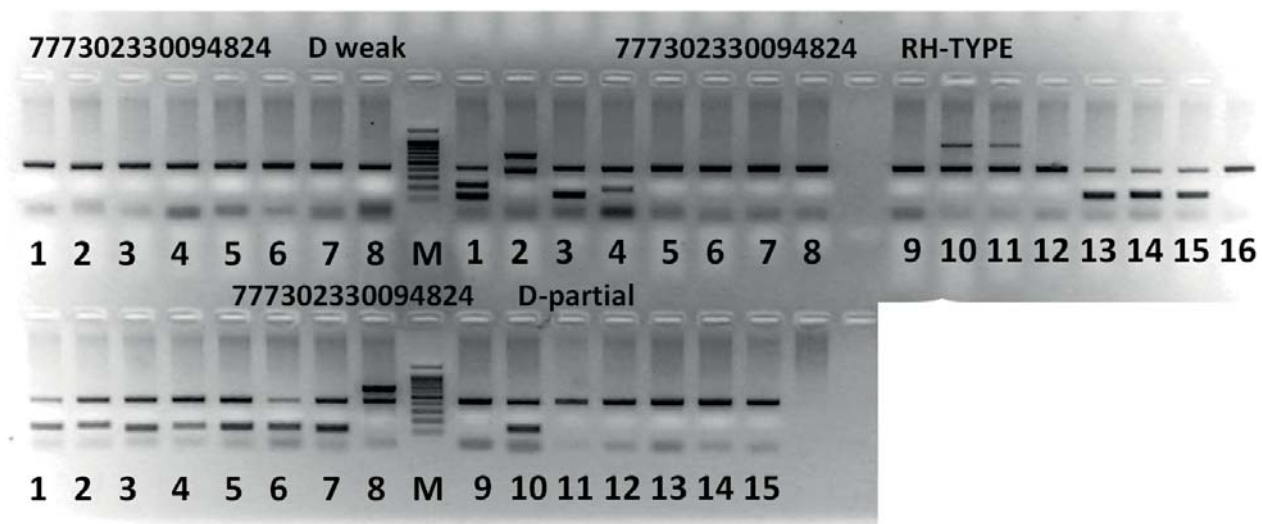


Рисунок 6. Электрофореграммы продуктов АСП-ПЦР с экзон-специфическими праймерами гена *RHD*. М — маркер молекулярного веса ДНК, содержащий фрагменты от 100 до 1000 пар нуклеотидов

Figure 6. Electrophoregrams of ASP-PCR products with exon-specific primers of the *RHD* gene. М — DNA molecular weight marker containing fragments of between 100 to 1000 bp

в соответствии с прилагаемой интерпретационной таблицей. В связи с этим возникла необходимость в проведении дополнительных исследований. По результатам первичного генотипирования методом АСП-ПЦР было сделано предположение о делеции 9-го экзона гена *RHD* либо нуклеотидной замене в 9-м экзоне, однако точный вариант антигена D не был определен (рис. 6). Поскольку результаты генотипирования были неоднозначными, был проведен анализ последовательности методом секвенирования по Сэнгеру. Для анализа геномной последовательности каждый из 10 экзонов *RHD* и фланкирующих интронных областей был амплифицирован с использованием специфических праймеров. ПЦР экзонов и прилегающих интронов гена *RHD* показала наличие всех 10 экзонов, что позволило исключить версию о делеции экзона 9. При анализе результатов секвенирования в экзоне 9 обнаружен вариант нуклеотидной последовательности ДНК с. 1203T>A (рис. 7).

Обсуждение

Антиген D, который не выявляется при использовании стандартных серологических тестов, включая НАГТ, принято относить к категории «D-elution», или Del [15]. Свое название фенотип получил благодаря тому, что для детекции антигена D с крайне слабой экспрессией требуется метод адсорбции-элюции [12]. Впервые вариант Del был описан в 1984 г. группой японских авторов [16], и к настоящему моменту выявлено большое количество аллелей, связанных с вариантом Del, в разных этнических популяциях [8]. Распространенность фенотипа Del составляет 30 % у китайских Rh-отрицательных доноров, 28 % у японских Rh-отрицательных доноров и 17 % у корейских Rh-отрицательных доноров. При этом среди Rh-отрицательных доноров европеоидной расы фено-

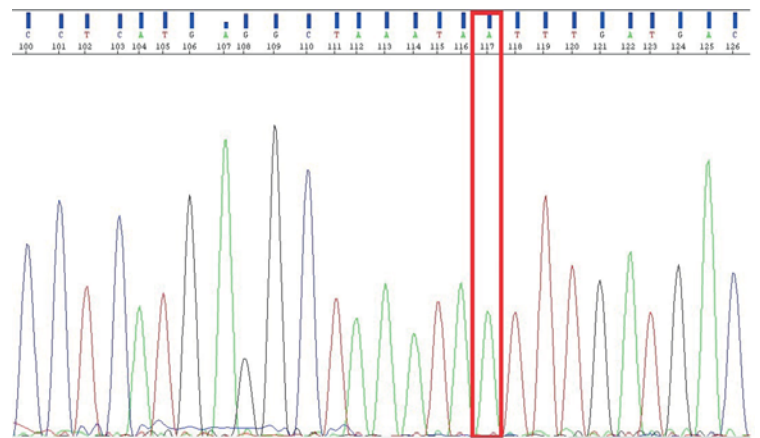


Рисунок 7. Фрагмент электрофореграммы 9-го экзона гена *RHD* с нуклеотидной заменой с.1203T>A

Figure 7. Fragment of electrophoregram of exon 9 of *RHD* gene with nucleotide substitution c.1203T>A

тип Del встречается редко, на его долю приходится 0,1 % [17].

Номенклатура Международного общества переливания крови насчитывает более 50 различных аллелей *DEL*. При этом их распространенность широко варьирует в этнических группах, что необходимо учитывать при разработке подходящих стратегий безопасности переливания крови [12]. В Китае, Японии и Корее, а также в странах со значительной долей лиц восточноазиатского происхождения, таких как Австралия и США, преобладающим является «Азиатский тип» Del (*RHD*01EL.01*) [18]. У европеоидов аллельный профиль *DEL* имеет большую гетерогенность и характеризуется преобладанием таких аллелей, как *RHD*01EL.08*, *RHD*11* и также *RHD*01EL.01* [12, 19].

В данном исследовании описан случай редкого фенотипа Del у донора крови. Результаты серологического типирования не позволили однозначно определить, выявлено ли наличие слабого фенотипа антигена D

или его вариантной формы. Данные первичного генотипирования методом АСП-ПЦР также оказались неоднозначными, поскольку наборы для АСП-ПЦР имеют ограничения за счет того, что праймеры нацелены на определенные регионы и не учитывают потенциальные редкие нуклеотидные вариации или гибридные аллели [20, 21]. Анализ результатов секвенирования по Сэнгеру позволил выявить наличие варианта нуклеотидной последовательности ДНКс. 1203T>A в экзоне 9 гена *RHD* (NM_016124.6), приводящего к образованию стоп-кодона Tgt401Ter (rs759513820). Данный генетический вариант соответствует аллелю *DEL* (*RHD*01EL.17*) [22]. Впервые этот аллель был описан в публикации С. Gassner и соавт. [19] в 2005 г. при исследовании резус-отрицательного донора из Кировской области. Аллель характеризуется образованием стоп-кодона и терминацией синтеза полипептидной цепи в 401 позиции, укорачивая полипептид RhD с 417 до 400 а.к. По всей видимости, терминация трансляции полипептидной цепи на карбоксильном конце не приводит к полной утрате экспрессии антигена D, но существенно снижает ее.

Несмотря на то что во многих источниках указывается на возможность обнаружения Del только с помощью метода адсорбции-элюции, выявленный в настоящей работе вариант показал положительную реакцию с анти-D-антителами IgM и IgG в тесте «D weak» на иммуногематологическом анализаторе «Immucor Galileo Neo». В работе S. Dajak и соавт. [23] было выявлено 6 случаев фенотипа Del с помощью НАГТ, впоследствии подтвержденных генотипированием. По видимости, аллели *DEL* демонстрируют различные серологические профили, которые отличаются по плотности антигена D и отсутствию эпитопов [12]. Таким образом, необходимы дополнительные исследования, направленные на оценку диагностической чувствительности и специфичности методов микро-

лоночной агглютинации и твердофазной микропланшетной технологии «Capture» для определения антигена D у лиц с фенотипом Del.

Большинство фенотипов Del ошибочно интерпретируют как D-отрицательные из-за ограничений рутинного серологического типирования. По этой причине у реципиента с истинно D-отрицательным фенотипом может развиваться анти-D аллоиммунизация после переливания эритроцитсодержащих компонентов крови с фенотипом Del [24]. Имеются сообщения о случаях как первичной, так и вторичной алло-D иммунизации, сопровождающейся нарастанием титра антител. В этой связи некоторые банки крови ввели программу генетического скрининга аллелей *DEL* у резус-отрицательных доноров, чтобы исключить их из категории D- и квалифицировать их эритроциты как D+ [25–27].

Несмотря на то что не все исследователи считают такую меру оправданной, необходимо помнить, что анти-D антитела являются лидирующей причиной тяжелой гемолитической болезни плода и новорожденного. Таким образом, обеспечение совместимых трансфузий резус-отрицательным реципиентам, в особенности женского пола, является весомым аргументом в пользу ДНК-тестирования резус-отрицательных доноров [28]. Полученные данные свидетельствуют о необходимости комплексного подхода при решении вопроса о наличии или отсутствии антигена D в образце донорской крови. Сочетание иммуногематологических и молекулярно-генетических методов исследования представляется целесообразным и надежным подходом для определения истинно резус-отрицательных доноров при первичной донации. Создание программы скрининга варианта Del у доноров на территории Российской Федерации является перспективным направлением для предотвращения анти-D аллоиммунизации реципиентов и связанных с ней гемолитических посттрансфузионных реакций.

Литература / References

1. Nadarajan V.S. Serological analysis of Rh antigens: how far can we go? *Ann Blood*. 2023;8:40. DOI: 10.21037/aob-23-30.
2. Wagner F.F., Flegel W.A. RHD gene deletion occurred in the Rhesus box. *Blood*. 2000;95(12):3662–8. DOI: 10.1182/blood.v95.12.3662.012k12_3662_3668.
3. Wagner F.F., Moulds J.M., Flegel W.A. Genetic mechanisms of Rhesus box variation. *Transfusion*. 2005;45(3):338–44. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2005.04339.x.
4. Geoff D., Imelda B. *Essential Guide to Blood Groups*. John Wiley & Sons, Nov 11, 2013. Medical. 131 p.
5. Westhoff C.M. The structure and function of the Rh antigen complex. *Semin Hematol*. 2007;44(1):42–50. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2006.09.010.
6. Colin Y., Chérif-Zahar B., Le Van Kim C., et al. Genetic basis of the RhD-positive and RhD-negative blood group polymorphism as determined by Southern analysis. *Blood*. 1991;78(10):2747–52. DOI: 10.1182/blood.v78.10.2747.bloodjournal78102747.
7. Cruz B.R., Chiba A.K., Moritz E., et al. RHD alleles in Brazilian blood donors with weak D or D-negative phenotypes. *Transfusion medicine*. 2012;22(2):84–9. DOI: 10.1111/j.1365-3148.2011.01129.x.

8. Flegel W.A. Blood group genotyping in Germany. *Transfusion*. 2007;47(1 Suppl):47S–53S. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2007.01310.x.
9. Beckers E.A., Faas B.H., Ligthart P., et al. Lower antigen site density and weak D immunogenicity cannot be explained by structural genomic abnormalities or regulatory defects of the RHD gene. *Transfusion*. 1997;37(6):616–23. DOI: 10.1046/j.1537-2995.1997.37697335156.x.
10. Körmöcz G.F., Gassner C., Shao C.P., et al. A comprehensive analysis of DEL types: partial DEL individuals are prone to anti-D alloimmunization. *Transfusion*. 2005;45(10):1561–7. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2005.00584.x.
11. Kulkarni S., Mohanty D., Gupta S., et al. Flow cytometric quantification of antigen D sites on red blood cells of partial D and weak D variants in India. *Transfus Med*. 2006;16(4):285–9. DOI: 10.1111/j.1365-3148.2006.00667.x.
12. Wagner F.F. Serology and molecular biology of DEL: a narrative review. *Ann Blood* 2023;8:28. DOI: 10.21037/aob-22-16.
13. Schmidt L.C., Castilho L., Vieira O.V., et al. Impact of a confirmatory RhD test on the correct serologic typing of blood donors. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 201;37(5):302–5. DOI: 10.1016/j.bjhh.2015.06.001.

14. Fichou Y., Le Maréchal C., Jamet D., et al. Establishment of a medium-throughput approach for the genotyping of RHD variants and report of nine novel rare alleles. *Transfusion*. 2013;53(8):1821–8. DOI: 10.1111/trf.12009.
15. Cohn C., Delaney M., Johnson S., et al. Technical manual. 20th edition. Bethesda, MD: AABB, 2020.
16. Okubo Y., Yamaguchi H., Tomita T., et al. A D variant, Del² Transfusion. 1984;24(6):542. DOI: 10.1046/j.1537-2995.1984.24685066827.x.
17. Kwon D.H., Sandler S.G., Flegel W.A. DEL phenotype. *Immunohematology*. 2017;33(3):125–32. DOI: 10.21307/immunohematology-2019-019.
18. Flegel W.A., Wagner F.F. DEL. *Blood Transfus.* 2020;18(3):159–62. DOI: 10.2450/2020.0296-19.
19. Gassner C., Doescher A., Drnovsek T.D., et al. Presence of RHD in serologically D-, C/E+ individuals: a European multicenter study. *Transfusion*. 2005;45(4):527–38. DOI: 10.1111/j.0041-1132.2004.04211.x.
20. Jeong D., Oh S., Song E.Y., et al. Molecular Characteristics of the Serological Weak D Phenotype in Koreans. *Diagnostics*. 2021;11(6):920. DOI: 10.3390/diagnostics11060920.
21. Hundhausen T., Petershofen E.K., Doescher A., et al. RHCE-D-CE hybrid genes can cause false-negative DNA typing of the Rh e antigen. *Vox Sang.* 2002;83(3):268–72. DOI: 10.1046/j.1423-0410.2002.00220.x.
22. International Society of Blood Transfusion Red Cell Immunogenetics and Blood Group Terminology. (ISBT 004) RHD blood group alleles v6.431-JUL-2023. <https://www.isbtweb.org/resource/004rhd.html>
23. Dajak S., Krstic J.L., Körmöcz G., et al. Characteristics and frequency of DEL phenotype detected by indirect antiglobulin test in Dalmatia county of Croatia. *Transfus Apher Sci.* 2014;50(2):210–3. DOI: 10.1016/j.transci.2014.01.019.
24. Gu J., Wang X.D., Shao C.P., et al. Molecular basis of DEL phenotype in the Chinese population. *BMC Med Genet.* 2014;15:54. DOI: 10.1186/1471-2350-15-54.
25. Wagner F.F., Frohmajer A., Flegel W.A. RHD positive haplotypes in D negative Europeans. *BMC Genet.* 2001;2:10. DOI: 10.1186/1471-2156-2-10.
26. Wagner F.F. RHD PCR of D-Negative Blood Donors. *Transfus Med Hemother.* 2013;40(3):172–81. DOI: 10.1159/000351604.
27. Polin H., Danzer M., Gaszner W., et al. Identification of RHD alleles with the potential of anti-D immunization among seemingly D- blood donors in Upper Austria. *Transfusion*. 2009;49(4):676–81. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2008.02046.x.
28. Krog G.R., Clausen F.B., Berkowicz A., et al. Is current serologic RhD typing of blood donors sufficient for avoiding immunization of recipients? *Transfusion*. 2011;51(11):2278–85. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2011.03156.x.

Информация об авторах

Кара Вадим Васильевич*, врач клинической лабораторной диагностики отделения трансфузиологии ГБУЗ «Городская клиническая больница имени М.П. Кончаловского Департамента здравоохранения г. Москвы»,
e-mail: vadim29-00@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-3032-6262>

Данилец Виолетта Вячеславовна, заведующая отделением трансфузиологии ГБУЗ «Городская клиническая больница имени М.П. Кончаловского Департамента здравоохранения г. Москвы»,
e-mail: gb3opk@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4605-8315>

Райкина Елена Владиславовна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией молекулярной биологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: Elena.Raykina@dgoi.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7634-2053>

Чумак Анна Александровна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией HLA-типирования, ГБУЗ «Центр крови им. О.К. Гаврилова» Департамента здравоохранения г. Москвы,
e-mail: gella5@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5912-3564>

Шрагина Ольга Андреевна, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории молекулярной биологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: olga.shragina@dgoi.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1547-4212>

Information about the authors

Vadim V. Kara*, Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Division of Transfusiology, City Clinical Hospital named after M.P. Konchalovsky,
e-mail: vadim29-00@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-3032-6262>

Violetta V. Danilets, Head of the Department of Transfusiology, City Clinical Hospital named after M.P. Konchalovsky,
e-mail: gb3opk@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4605-8315>

Elena V. Raykina, Cand. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Molecular Biology, Dmitry Rogachev National Research Center for Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology,
e-mail: Elena.Raykina@dgoi.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7634-2053>

Anna A. Chumak, Cand. Sci. (Med.), Head of the Laboratory for HLA-typing, Moscow City Blood Center named after O.K. Gavrilov,
e-mail: gella5@mail.ru,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5912-3564>

Olga A. Shragina, Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics of the Molecular Biology Laboratory, Dmitry Rogachev National Research Center for Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology,
e-mail: olga.shragina@dgoi.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1547-4212>

Погонин Алексей Владимирович, кандидат медицинских наук, главный врач ГБУЗ «Городская клиническая больница имени М. П. Кончаловского Департамента здравоохранения г. Москвы»,
e-mail: PogoninAV@zdrav.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5051-1656>

Дрозд Тамара Станиславовна, биолог отделения трансфузиологии ГБУЗ «Городская клиническая больница имени М. П. Кончаловского Департамента здравоохранения г. Москвы»,
e-mail: Peru6ko@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8508-5984>

Мартынова Екатерина Александровна, врач клинической лабораторной диагностики отделения трансфузиологии ГБУЗ «Городская клиническая больница имени М.П. Кончаловского Департамента здравоохранения г. Москвы»,
e-mail: emart1971@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4376-8840>

Буланов Андрей Юльевич, доктор медицинских наук, главный внештатный специалист трансфузиолог Департамента здравоохранения города Москвы; ведущий научный сотрудник отдела биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы»,
e-mail: BulanovAY@sklif.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6999-8145>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 11.02.2025

Принята к печати: 10.06.2025

Aleksey V. Pogonin, Cand. Sci. (Med.), Chief Physician, City Clinical Hospital named after M.P. Konchalovsky,
e-mail: PogoninAV@zdrav.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5051-1656>

Tamara S. Drozd, Biologist, Division of Transfusiology, City Clinical Hospital named after M. P. Konchalovsky,
e-mail: Peru6ko@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8508-5984>

Ekaterina A. Martynova, Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Division of Transfusiology, City Clinical Hospital named after M.P. Konchalovsky,
e-mail: emart1971@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4376-8840>

Andrey Yu. Bulanov, Dr. Sci. (Med.), Chief Transfusiology Specialist of the Moscow Healthcare Department, Leading Researcher, Department of Biotechnology and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine,
e-mail: BulanovAY@sklif.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6999-8145>

*** Corresponding author**

Received 11 Feb 2025

Accepted 10 Jun 2025