

DOI: 10.17650/1818-8346-2022-17-3-62-72



Молекулярные методы в идентификации истинной групповой принадлежности эритроцитов у пациентов с заболеваниями системы крови перед трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток и их доноров

Л.Л. Головкина, А.Г. Стремоухова, Т.Д. Пушкина, Б.Б. Хасигова, Г.В. Агрощенко, Р.С. Каландаров, Л.А. Кузьмина, В.А. Васильева, Е.Н. Паровичникова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России; Россия, 125167 Москва, Новый Зыковский пр-д, 4

Контакты: Лариса Леонидовна Головкина largol@mail.ru

Введение. При трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) необходимо учитывать несовместимость донора и реципиента по антигенам эритроцитов для оценки возможности иммунологических осложнений при трансфузии ГСК и/или приживлении трансплантата (острый гемолиз, отсроченный гемолиз и др.). Результаты серологических методов исследования не всегда позволяют идентифицировать истинную групповую принадлежность вследствие посттрансфузионного химеризма у больных и/или присутствия аллельного полиморфизма антигенов.

Цель исследования – установить частоту ABO-несовместимых аллогенных трансплантаций ГСК в НМИЦ гематологии, определить молекулярными методами групповую принадлежность пациентов с ослабленной экспрессией антигенов и/или после множественных гемотрансфузий перед трансплантацией ГСК, уточнить группу крови доноров ГСК с ослабленной экспрессией антигенов.

Материалы и методы. Обследована кровь 270 пар реципиентов и доноров ГСК. Группу крови систем ABO, Резус, MNS, Kell определяли в реакции агглютинации на плоскости с применением соответствующих Цоликлонов класса иммуноглобулинов М и в гелевых картах. Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции с праймерами для выявления генов систем ABO, Резус, Kell, MNS.

Результаты. В 2018–2020 гг. в НМИЦ гематологии было выполнено 270 трансплантаций ГСК. У 141 (52,22 %) пары выявлена несовместимость донора и реципиента по системе ABO: большая – 23,33 %, малая – 20,0 %, бинаправленная – 8,89 %. Проблемы оценки серологических результатов были у 97 (36,3 %) больных: у 78 с посттрансфузионным химеризмом и у 19 с ослабленной экспрессией антигенов; у 15 (5,56 %) доноров ГСК: у 4 из-за отсутствия сведений о группе крови при поступлении криоконсервированных клеток, у 10 вследствие ослабленной экспрессии антигенов, у 1 для поиска информативных маркеров мониторинга приживления ГСК. Результаты исследования продемонстрировали, что процент агглютинированных эритроцитов при посттрансфузионном химеризме не может быть надежным критерием для установления истинного фенотипа пациента. У доноров и больных с ослабленной экспрессией антигенов подтверждено присутствие генов *ABO*01, -A1, -A2, -B1, RHD weak type 1, RHD weak type 2, RHD weak type 3, RHCE*С** и впервые в России – ген *RHCE*01.38*.

Заключение. Отмечено преобладание ABO-несовместимых трансплантаций ГСК. Проблемы с серологическим определением группы крови у трети больных перед трансплантацией ГСК возникали из-за наличия посттрансфузионного химеризма и ослабления экспрессии антигенов. Определение генотипа доноров ГСК необходимо при ослаблении экспрессии антигенов и поступлении криоконсервированных клеток. Процент агглютинированных эритроцитов при посттрансфузионном химеризме не может быть надежным критерием для установления истинного фенотипа пациента. Обнаружение смешанного химеризма при определении групповых факторов крови серологическими методами является показанием к генотипированию, особенно в условиях преобладания несовместимых трансплантаций ГСК.

Ключевые слова: ослабление экспрессии антигенов, посттрансфузионный химеризм, антигены эритроцитов систем ABO, Резус, Kell, MNS, донор гемопоэтических стволовых клеток, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, генотипирование

Для цитирования: Головкина Л.Л., Стремоухова А.Г., Пушкина Т.Д. и др. Молекулярные методы в идентификации истинной групповой принадлежности эритроцитов у пациентов с заболеваниями системы крови перед трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток и их доноров. Онкогематология 2022;17(3):62–72. DOI: 10.17650/1818-8346-2022-17-3-62-72

Molecular methods in identifying the true grouping of erythrocytes in patients with blood system diseases before transplantation of hematopoietic stem cells and their donors

L.L. Golovkina, A.G. Stremoukhova, T.D. Pushkina, B.B. Khasigova, G.V. Atroshchenko, R.S. Kalandarov, L.A. Kuzmina, V.A. Vasilieva, E.N. Parovichnikova

National Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyy Zykovskiy Proezd, Moscow 125167, Russia

Contacts: Larisa Leonidovna Golovkina largol@mail.ru

Background. When transplantation of hematopoietic stem cells (HSC) is performing, it is necessary to take into account the incompatibility of the donor and recipient in terms of erythrocyte antigens in order to assess the possibility of immunological complications during HSC transfusion and/or graft engraftment (acute hemolysis, delayed hemolysis, etc.). The results of serological research methods do not always allow identifying the true group affiliation due to post-transfusion chimerism in patients and/or the presence of antigen allelic polymorphism.

Aim. To establish the frequency of ABO-incompatible allo-HSC transplantations in the National Research Center for Hematology, to determine by molecular methods the group affiliation of patients with a weakened expression of antigens and/or after multiple blood transfusions before HSC transplantation, to clarify the blood type of HSC donors with a weakened expression of antigens.

Materials and methods. The blood of 270 HSC donor-recipient couples was examined. The blood group of the ABO, Rhesus, MNS, Kell systems was determined in a plane agglutination test using the corresponding IgM class Tsolicones and in gel cards. Genotyping was performed by polymerase chain reaction with primers to identify the genes of the ABO, Rhesus, Kell, and MNS systems.

Results. In 2018–2020 270 HSC transplantations were performed at the National Research Center for Hematology. In 141 (52.22 %) couples, incompatibility of the donor and recipient according to the ABO system was revealed: major – 23.33 %, minor – 20 %; bidirectional – 8.89 %. Problems in assessing of serological results were observed in 97 (36.3 %) patients: in 78 patients with post-transfusion chimerism and 19 patients with weakened antigen expression; in 15 (5.56 %) HSC donors: in 4 due to the lack of information about the blood group of cryopreserved cells, in 10 due to weakened antigen expression, in 1 to search for informative markers for monitoring HSC engraftment. The results of the study demonstrated that the percentage of agglutinated erythrocytes in post-transfusion chimerism cannot be a reliable criterion for establishing the true phenotype of a patient. In donors and patients with weakened expression of antigens, the presence of *ABO*01, -A1, -A2, -B1, RHD weak type 1, RHD weak type 2, RHD weak type 3, RHCE*C** genes was confirmed. For the first time in Russia gene *RHCE*01.38* was found.

Conclusion. The prevalence of ABO-incompatible HSC transplants was noted. Problems with serological determination of the blood group in a third of patients before HSC transplantation arose due to the presence of post-transfusion chimerism and weakened expression of antigens. Determining of the genotypes of HSC donors is necessary when the expression of antigens is weakened and cryopreserved cells are received. The percentage of agglutinated erythrocytes in post-transfusion chimerism cannot be a reliable criterion for establishing the true phenotype of a patient. Detection of mixed chimerism in the determination of group factors by serological methods is an indication for genotyping, especially in the context of the predominance of incompatible HSC transplantations.

Keywords: weakening of antigen expression, post-transfusion chimerism, erythrocyte antigens of the ABO, Rhesus, Kell, MNS systems, hematopoietic stem cell donor, hematopoietic stem cell transplantation, genotyping

For citation: Golovkina L.L., Stremoukhova A.G., Pushkina T.D. et al. Molecular methods in identifying the true grouping of erythrocytes in patients with blood system diseases before transplantation of hematopoietic stem cells and their donors. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2022;17(3):62–72. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2022-17-3-62-72

Введение

Трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) широко применяют в гематологии в качестве одного из этапов программного лечения больных с опухолями лимфоидной и кроветворной систем [1–4], миеломой [5, 6], а также с другими патологическими состояниями системы крови. Источником гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) могут быть костный мозг, периферическая или пуповинная кровь от HLA-идентичных/гаплоидентичных/частично совместимых доноров – родственников или совершенно чужих людей [7, 8]. Заселение клеток донора возможно после освобождения плацдарма и полного подавления иммунной системы хозяина-реципиента,

осуществляемого различными программами кондиционирования (интенсивными или пониженной интенсивности). После аллогенной ТГСК (алло-ТГСК) в организме реципиента происходят сложные иммунологические взаимодействия клеток донора и хозяина, влияющие на эффективность и исход трансплантации. Полное приживание клеток-предшественников способствует их длительной функциональной активности – восстановлению гемопоэза и появлению донорского типа кроветворения.

Больным ТГСК осуществляют исключительно с учетом генов главной системы совместимости тканей HLA (Human Leukocyte Antigens) реципиента и донора. Несовместимость по генам малого комплекса

гистосовместимости, к которым некоторые авторы относят гены тромбоцитарных (Human Platelet Antigens, HPA) [9] и эритроцитарных (ABO, Резус и др.) [10] систем, не является препятствием для проведения ТГСК. Так, расхождение реципиента и донора по антигенам эритроцитарных систем не препятствует алло-ТГСК, поскольку эти антигены не представлены на незрелых полипотентных стволовых клетках и ранних коммитированных предшественниках гемопоэтических клеток [11, 12].

Однако несовместимость донора и реципиента по антигенам эритроцитов необходимо учитывать для прогнозирования возможных иммунологических осложнений, которые могут развиваться непосредственно во время самой операции трансфузии ГСК или в процессе приживления трансплантата.

По варианту несовместимости донора ГСК и реципиента по антигенам системы ABO принято выделять большую, малую и бинаправленную несовместимость.

Под большой ABO-несовместимостью понимают сочетания антигенов и естественных антител (изогемагглютининов) у пар донор–реципиент, при которых у реципиента присутствуют изогемагглютинины (анти-А, анти-В, анти-А+В), направленные против антигенов эритроцитов донора ГСК. Большая несовместимость будет иметь место между донором с группой крови А, В или АВ и реципиентом с группой крови О (естественные антитела анти-А и анти-В) или между донором с группой крови АВ и реципиентом с группой крови А (в плазме присутствуют естественные антитела анти-В) или В (в плазме присутствуют естественные антитела анти-А).

Под малой ABO-несовместимостью понимают сочетания антигенов и естественных антител (изогемагглютининов) у пар донор–реципиент, при которых у донора ГСК присутствуют изогемагглютинины (анти-А, анти-В, анти-А+В), направленные против антигенов эритроцитов реципиента. Малая несовместимость будет иметь место между донором с группой крови О (естественные антитела анти-А и анти-В) и реципиентом с группой крови А и/или В и между донором с группой крови А (в плазме присутствуют естественные антитела анти-В) или В (в плазме присутствуют естественные антитела анти-А) и реципиентом с группой крови АВ.

Под бинаправленной ABO-несовместимостью понимают сочетания антигенов и естественных антител (изогемагглютининов) у пар донор–реципиент, при которых у реципиента присутствуют естественные изогемагглютинины, направленные к антигенам эритроцитов донора, и одновременно у донора присутствуют естественные изогемагглютинины, направленные к антигенам эритроцитов реципиента. Бинаправленная ABO-несовместимость будет иметь место между донором ГСК с группой крови А (в плазме присутствуют естественные антитела анти-В) и реципиентом с груп-

пой крови В и между донором ГСК с группой крови В (в плазме присутствуют естественные антитела анти-А) и реципиентом с группой крови А. Другими словами, бинаправленная ABO-несовместимость включает и большую, и малую ABO-несовместимость [13].

При введении аллогенных ГСК в организм пациента в случае несовместимости по системе ABO возможен острый гемолиз. Такое осложнение чаще встречается при высоком титре изогемагглютининов реципиента (при большой ABO-несовместимости) или донора и/или при малом объеме циркулирующей плазмы у реципиента по отношению к переливаемому вместе с ГСК объему плазмы (при малой ABO-несовместимости) [14–16]. Для профилактики подобного осложнения принято проводить больному сеансы плазмообмена для снижения активности естественных изогемагглютининов, а из трансплантата удалять максимально возможное количество эритроцитов.

На более поздних сроках алло-ТГСК могут развиваться отсроченный гемолиз, аллоиммунизация *de novo*, парциальная красно-клеточная аплазия [17, 18].

Прогнозирование развития отсроченного гемолиза имеет значение для прогнозирования сроков приживления красного роста гемопоэза и планирования необходимого количества доз эритроцитсодержащих компонентов для трансфузий. При большой ABO-несовместимости отсроченный гемолиз будет обусловлен взаимодействием изогемагглютининов реципиента, продуцируемых выжившими после кондиционирования плазматическими клетками, с антигенами эритроцитов донора. Он чаще встречается после немиелоаблативных режимов кондиционирования и приводит к отсроченному приживлению эритроцитов донора ГСК. Отсроченное приживление эритроцитов донора может иметь место в сочетании с парциальной красно-клеточной аплазией или без нее. Парциальная красно-клеточная аплазия возникает вследствие вторичной продукции изогемагглютининов персистирующими остаточными В-лимфоцитами реципиента и/или плазматическими клетками, перенесшими режим кондиционирования.

При малой ABO-несовместимости отсроченный гемолиз развивается вследствие сопутствующего лимфоцитарного синдрома. Это осложнение возникает из-за переноса с ГСК В-лимфоцитов донора, которые продуцируют изогемагглютинины, направленные к антигенам остаточных эритроцитов реципиента. Чаще встречается у больных после немиелоаблативных режимов кондиционирования. Гемолиз происходит между 5-м и 15-м днями после трансплантации. Отсроченный гемолиз обычно бывает средней степени тяжести, хотя в течение нескольких часов может произойти острое разрушение эритроцитов [19].

Осложнения бинаправленной ABO-несовместимости будут включать те же перечисленные осложнения, вместе взятые.

Вовлеченность антигенов системы Резус в развитие гемолиза после ТГСК занимает 2-е место после антигенов

системы АВО. Под большой и малой резус-несовместимостью при алло-ТГСК понимают состояния, при которых реципиент или донор ГСК имеют антитела (аллоиммунизированы предыдущими трансфузиями эритроцитов или во время беременности) к антигенам системы Резус. Большая несовместимость — аллоиммунизированный реципиент RhD— и донор RhD+; малая несовместимость — реципиент RhD+ и аллоиммунизированный донор RhD—. В остальных случаях говорят о несовпадении реципиента и донора по резусным антигенам: большое несовпадение — наличие антигена у донора и отсутствие такового у реципиента (возможность выработки антител реципиентом к антигенам донора); малое несовпадение — наличие антигена у реципиента и отсутствие такового у донора (возможность выработки антител донорскими В-лимфоцитами к антигенам реципиента в условиях смешанного химеризма) [20]. Антирезусные антитела могут образовываться *de novo* после трансплантации либо в ранние сроки В-лимфоцитами донора RhD— после приживления ГСК у реципиента RhD+, когда остаточные эритроциты больного стимулируют клетки иммунной системы трансплантата, либо в позднем посттрансплантационном периоде В-лимфоцитами донора RhD— после пересадки ГСК реципиенту RhD+ при смешанном химеризме (одновременном присутствии кроветворения донора и реципиента). Поэтому необходимы детекция антирезусных антител и правильное определение фенотипа антигенов системы Резус. Слабо экспрессированные антигены могут остаться не выявленными серологическими методами исследования [21–25]. При несовместимости реципиента и донора ГСК по антигену RhD системы Резус описано развитие парциальной красно-клеточной аплазии [26].

Подобные ситуации и осложнения могут возникать при несовместимости и несовпадении донора ГСК и реципиента по антигенам других эритроцитарных систем: Kell, Kidd, MNS, Duffy, Lewis.

Перед трансплантацией больным часто проводят заместительную терапию эритроцитосодержащими компонентами, которая способствует формированию у больных посттрансфузионного химеризма — присутствию в кровеносном русле собственных и аллогенных эритроцитов. Если антигенный профиль донорских эритроцитов отличался от антигенного профиля эритроцитов реципиента, то различия можно выявить серологическими методами по присутствию смешанной агглютинации эритроцитов, однако истинную групповую принадлежность реципиента идентифицировать проблематично [27–29]. При массивных гемотрансфузиях иногда происходит полное замещение эритроцитов на аллогенные, и у таких больных идентифицируют группу крови донора. В связи с этим возрастает роль генетического типирования [30]. В настоящее время молекулярные методы исследования аллельных вариантов антигенов разных эритроцитарных систем становятся важным дополнением к серологическим ме-

тодам идентификации групп крови разных антигенных систем эритроцитов.

Цель исследования — установить частоту АВО-несовместимых алло-ТГСК в НМИЦ гематологии, определить молекулярными методами групповую принадлежность пациентов с ослабленной экспрессией антигенов и/или после множественных гемотрансфузий перед ТГСК, уточнить группу крови доноров ГСК с ослабленной экспрессией антигенов.

Материалы и методы

Обследована кровь 270 пациентов и 270 доноров ГСК. Группу крови систем АВО, Резус, MNS доноров ГСК и реципиентов до трансплантации определяли серологическими методами. Эритроциты исследовали методом гемагглютинации на плоскости с использованием Цоликлонов фирмы «Гематолог» (Россия), а также с помощью гелевых карт DiaClon ABO/D + Reverse Grouping фирмы BioRad (Швейцария). Фенотипирование эритроцитов по системе Резус выполняли в реакции агглютинации на плоскости Цоликлонами класса иммуноглобулинов М со специфичностями анти-D, анти-C, анти-C^w, анти-c, анти-E, анти-e (Гематолог, Россия) и в гелевых картах DiaClon Rh-subgroups+K (BioRad, Швейцария). Антигены системы MNS определяли методом гемагглютинации на плоскости с использованием Цоликлонов фирмы «Гематолог» (Россия).

Геномную ДНК 70 больных и 15 доноров выделяли с помощью реактивов фирмы BAG (Германия) по методике производителя. 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. Генотипирование выполняли с помощью набора для выявления генов систем АВО (ABO-Type kit), Резус (RH-TYPE kit, RHD weak Type kit), MNS (MNS-Type kit), Kell, Kidd, Duffy (KKD-Type kit) по методике производителя — фирмы BAG (Германия). Детекцию полученных результатов осуществляли посредством электрофореза продуктов амплификации в 2 % агарозном геле с визуализацией в ультрафиолетовом свете после окрашивания бромистым этидием (1 мкг/мл) в ТВЕ буфере (pH 8,0) при напряженности электрического поля 10–15 В/см. В лунки геля вносили по 10 мкл амплификационной смеси. Результаты визуализировали в ультрафиолетовом свете ($\lambda = 310$ нм) с помощью трансиллюминатора в виде полос ярко-оранжевого цвета. О корректности проведенной полимеразной цепной реакции (ПЦР) свидетельствовало наличие ПЦР-фрагментов внутреннего контроля.

Результаты

Анализировали совместимость 270 пар донор—реципиент ГСК по антигенам (генам) эритроцитарных

систем ABO, Резус, Kell, MNS после проведения серологических и/или молекулярных методов исследования у доноров ГСК и больных. Проблемы интерпретации результатов серологических методов исследования (присутствие смешанной агглютинации) отмечены у 97 (36,3 %) больных: у 78 больных с посттрансфузионным химеризмом и у 19 больных с ослабленной экспрессией антигенов. Генотипирование провели 56 больным с посттрансфузионным химеризмом, уточнение генотипа при ослабленной экспрессии антигенов – 14 больным. Уточнение генотипа выполнили 15 донорам ГСК по следующим причинам: ослабленная экспрессия эритроцитарных антигенов (у 10 доноров), отсутствие сведений о группе крови при поступлении криоконсервированных ГСК и невозможность выполнения серологических исследований из-за лизиса эритроцитов (у 4 доноров); уточнение генотипа для выявления информативных маркеров мониторинга приживления ГСК (у 1 донора по системе MNS).

Из 270 пар донор–реципиент в 129 (47,78 %) случаях выявлена одинаковая группа крови системы ABO, в 141 (52,22 %) случае установлена ABO-несовместимость донора и реципиента. Типы ABO-несовместимости были следующими: в 63 (23,33 % от общего числа пар донор–реципиент) случаях – большая, в 54 (20 %) – малая, в 24 (8,89 %) – бинаправленная (табл. 1).

Самой частой комбинацией при большой ABO-несовместимости было сочетание реципиент группы O и донор группы A (44,44 % случаев большой несовместимости и 19,86 % всех случаев несовместимости), при малой ABO-несовместимости – сочетание реципиент группы A и донор группы O (42,59 % случаев малой несовместимости и 16,3 % всех случаев несовместимости), при бинаправленной ABO-несовместимости – сочетание реципиент группы B и донор группы A (62,5 % случаев бинаправленной несовместимости и 10,64 % всех случаев несовместимости). Групповая

принадлежность доноров ГСК и реципиентов (141 пара) при ABO-несовместимой алло-ТГСК представлена в табл. 2.

Определение группы крови системы ABO молекулярными методами выполнено 32 первичным пациентам, интерпретировать результаты генотипирования можно было только у 30 (табл. 3). У 2 больных продукт специфической амплификации отсутствовал вследствие лейкопении.

У 7 больных отмечали отрицательную реакцию с Цоликлоном анти-A₁ и неполную агглютинацию с Цоликлонами анти-A и анти-A слабый (см. табл. 3, строка 1). Процент агглютинации эритроцитов с Цоликлонами анти-A и анти-A слабый у этих больных колебался от 80 до 90. У 5 пациентов подтверждена группа крови A₂ в генотипе ABO*O1A2, у 2 – группа крови A₂B в генотипе ABO*A2B1. Посттрансфузионный химеризм был обусловлен присутствием аллогенных эритроцитов группы крови O.

У 21 больного наблюдали неполную агглютинацию эритроцитов с Цоликлонами анти-A, анти-A слабый и анти-A₁. У 4 больных процент агглютинированных эритроцитов с анти-A₁ колебался от 30 до 80, генотип у 3 пациентов был определен как ABO*O1A2, у 1 – как ABO*A2A2. Посттрансфузионный химеризм был обусловлен присутствием аллогенных эритроцитов группы крови A₁ (см. табл. 3, строка 2). У 17 больных процент агглютинированных эритроцитов с анти-A₁ колебался от 30 до 98. Генотип ABO*O1A1 определен у 7 пациентов, ABO*A1A1 – у 2, ABO*A1A2 – у 2 и ABO*A1B1 – у 6 (см. табл. 3, строка 3). Причиной неполной агглютинации с Цоликлоном анти-A₁ послужила циркуляция донорских эритроцитов группы A₂, так как на станции переливания крови не проводят дифференцировку антигенов A₁ и A₂ у доноров.

Неполная агглютинация Цоликлоном анти-B обнаружена у 2 больных. Из них у 1 больного процент

Таблица 1. Количество алло-ТГСК (общее, ABO-идентичных и ABO-несовместимых) за 2018–2020 гг.

Table 1. Number of allo-HSCT (total, ABO-identical and ABO-incompatible) during 2018–2020

Год Year	Общее количество алло-ТГСК Total number of allo-HSCT	ABO-идентичные алло-ТГСК ABO-identical allo-HSCT		ABO-несовместимость алло-ТГСК ABO-incompatibility in allo-HSCT					
		n	%	большая major		малая minor		бинаправленная bidirectional	
				n	%	n	%	n	%
2018	66	29	43,94	18	27,27	13	19,70	6	9,09
2019	95	49	51,58	18	18,95	21	22,10	7	7,37
2020	109	51	46,79	27	24,77	20	18,35	11	10,09
Всего Total	270	129	47,78	63	23,33	54	20	24	8,89

Примечание. Алло-ТГСК – аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

Note. Allo-HSCT – allogeneic hematopoietic stem cells transplantation.

Таблица 2. Групповая принадлежность реципиента и донора гемопоэтических стволовых клеток при ABO-несовместимой аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (141 пара донор–реципиент)

Table 2. Group affiliation of the recipient and donor of hematopoietic stem cells in ABO-incompatible allogeneic hematopoietic stem cells transplantation (141 donor–recipient pairs)

Донор Donor	Реципиент Recipient	n	% (процент всех случаев несовместимости) % (percentage of all incompatibility cases)	ABO-несовместимость (процент несовместимых случаев) ABO-incompatibility (percentage of incompatible cases)
A	O	28	19,86 (44,44)	Большая (44,68) Major (44.68)
B	O	15	10,64 (23,81)	
AB	O	2	1,42 (3,17)	
AB	A	13	9,22 (20,64)	
AB	B	5	3,55 (7,94)	
O	A	23	16,3 (42,59)	Малая (38,30) Minor (38.30)
O	B	11	7,8 (20,37)	
O	AB	5	3,55 (9,26)	
A	AB	5	3,55 (9,26)	
B	AB	10	7,09 (18,52)	
A	B	15	10,64 (62,5)	Бинаправленная (17,02) Bidirectional (17.02)
B	A	9	6,38 (37,5)	

Таблица 3. Посттрансфузионный химеризм по системе ABO и результаты генотипирования больных перед аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (n = 30)

Table 3. Post-transfusion chimerism according to the ABO system and genotyping results of patients before allogeneic hematopoietic stem cells transplantation (n = 30)

№ строки Line number	Процент агглютинированных эритроцитов с моноклональными антителами Percentage of agglutinated erythrocytes with monoclonal antibodies				Генотип ABO* (число больных) ABO* genotype (number of patients)	Причина посттрансфузионного химеризма Cause of post-transfusion chimerism
	Результат серологических методов исследования The result of serological methods					
	анти-A anti-A	анти-A ₁ anti-A ₁	анти-A слабый anti-A weak	анти-B anti-B		
1	80–90	0	80–90	0	OIA2 (5)	Присутствие аллогенных эритроцитов группы крови O Presence of allogeneic erythrocytes of O blood type
	80–90	0	80–90	100	A2B1 (2)	
2	90–100	30–80	90–100	0	OIA2 (3); A2A2 (1)	Присутствие аллогенных эритроцитов группы крови A ₁ Presence of allogeneic erythrocytes of A ₁ blood type
3	100	30–98	100	100	A1B1 (6)	Присутствие аллогенных эритроцитов группы крови A ₂ Presence of allogeneic erythrocytes of A ₂ blood type
	90–100	50–95	90–100	0	OIA1 (7)	
	80–100	80–90	80–100	0	A1A1 (2)	
	100	80	100	0	A1A2 (2)	
4	0	0	0	5	OIO1 (1)	Присутствие аллогенных эритроцитов группы крови B Presence of allogeneic erythrocytes of B blood type
5	0	0	0	98	OIB1 (1)	Присутствие аллогенных эритроцитов группы крови O Presence of allogeneic erythrocytes of O blood type

агглютинированных эритроцитов составил 5, что позволило предположить присутствие слабого антигена В, тем более что изогемагглютинин анти-В отсутствовал, титр изогемагглютинина анти-А составил 4. Однако при молекулярном исследовании у данного пациента был выявлен генотип *ABO*O1O1* (см. табл. 3, строка 4). У 2-го пациента процент агглютинированных эритроцитов составил 98, молекулярным методом подтвержден генотип *ABO*O1B1* (см. табл. 3, строка 5).

Молекулярно-генетическое уточнение группы крови системы ABO выполнено 12 донорам ГСК: у 4 определили генотип *ABO*O1A1*, у 3 – *ABO*O1A2*, у 2 – *ABO*O1B1*, у 2 – *ABO*A2B1*, у 1 – *ABO*O1O1*.

Посттрансфузионный химеризм по антигенам системы Резус определяли у 21 больного, интерпретировать результат ПЦР можно было у 20. У 1 больной продукт специфической амплификации отсутствовал вследствие лейкопении и малой концентрации ДНК. Результаты серологического, молекулярного методов исследования и причины посттрансфузионного химеризма представлены в табл. 4.

По антигену RhD посттрансфузионный химеризм (70 %) выявлен только у 1 больной, имеющей редкий генотип *RHD+ RHCE*ccce*. Присутствие свободных эритроцитов в реакции агглютинации с Цоликлоном анти-D было связано с циркуляцией RhD– аллогенных

Таблица 4. Посттрансфузионный химеризм по системе Резус и результаты генотипирования больных перед аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (n = 20)

Table 4. Post-transfusion chimerism according to the Rhesus system and genotyping results of patients before allogeneic hematopoietic stem cells transplantation (n = 20)

№ строки Line number	Процент агглютинированных эритроцитов с моноклональными антителами Percentage of agglutinated erythrocytes with monoclonal antibodies					Генотип системы Резус (число больных) Rhesus genotype (number of patients)	Причина посттрансфузионного химеризма Cause of post-transfusion chimerism
	Результат серологических методов исследования The result of serological methods						
	анти-D anti-D	анти-C anti-C	анти-c anti-c	анти-E anti-E	анти-e anti-e		
1	70	–	100	–	100	<i>RHD+ RHCE*ccce</i> (1)	Присутствие RhD– аллогенных эритроцитов Presence of RhD– allogeneic erythrocytes
2	100	50–100	20–95	10–60	80–100	<i>RHD+ RHCE*CCce</i> (5)	Присутствие Rhc+, RhE+ аллогенных эритроцитов Presence of Rhc+, RhE+ allogeneic erythrocytes
3	100	50–100	95–100	0–50	100	<i>RHD+ RHCE*Ccee</i> (5)	Присутствие RhE+, RhCC+, Rhcc+ аллогенных эритроцитов Presence of RhE+, RhCC+, Rhcc+ allogeneic erythrocytes
4	100	80–99 В 1 случае анти-C ^w 80 In 1 case anti-C ^w 80	100	98–100	100	<i>RHD+ RHCE*CcEe</i> (3)	Присутствие RhCw+, Rhcc+, Rhee+ аллогенных эритроцитов Presence of RhCw+, Rhcc+, Rhee+ allogeneic erythrocytes
5	100	90	100	95	100	<i>RHD+ RHCE*CwCEe</i> (1)	Присутствие Rhcc+, Rhee+ аллогенных эритроцитов Presence of Rhcc+, Rhee+ allogeneic erythrocytes
6	100	95 Анти-C ^w 95 Anti-C ^w 95	20	0	100	<i>RHD+ RHCE*CwCee</i> (1)	Присутствие Rhcc+ аллогенных эритроцитов Presence of Rhcc+ allogeneic erythrocytes
7	100	100 Анти-C ^w 95 Anti-C ^w 95	100	0	100	<i>RHD+ RHCE*Cwcee</i> (1)	Присутствие RhC+ аллогенных эритроцитов Presence of RhC+ allogeneic erythrocytes
8	100	0	100	100	50–90	<i>RHD+ RHCE*ccEe</i> (2)	Присутствие RhEE+ аллогенных эритроцитов Presence of RhEE+ allogeneic erythrocytes
9	0	30	100	0	100	<i>RHD– RHCE*ccce</i> (1)	Присутствие RhC+ аллогенных эритроцитов Presence of RhC+ allogeneic erythrocytes

эритроцитов (см. табл. 4, строка 1). У 5 больных с 20–95 % эритроцитов, агглютинированных Цоликлоном анти-с, и 10–60 % эритроцитов, агглютинированных Цоликлоном анти-Е (см. табл. 4, строка 2), молекулярным методом установлена гомозиготность по гену *RHCE*Ce* (генотип *RHCE*CCee*). У 1 больной с 30 % эритроцитов, агглютинированных Цоликлоном анти-С, выявлена гомозиготность по гену *RHCE*c* (см. табл. 4, строка 9).

Уточнение генотипа системы Резус было выполнено 12 пациентам и 13 донорам. У 2 больных подтвердили наличие гена *RHCE*e*, еще у 4 – *RHCE*С*Сee*. У 5 больных наблюдали ослабление экспрессии антигена RhD, у 1 из них идентифицировали ген *RHD weak type 2*, у 3 – *RHD weak type 3*, у 1 пациента по результатам генотипирования отклонений в гене *RHD* не обнаружено. Еще у 1 больной уточняли генотипы по системам АВО и RH для научной работы: определены генотипы *ABO*O. 01/O. 01*, *RHD*D+ RHCE*CCee*.

Ослабление экспрессии антигена RhD наблюдали у 4 доноров ГСК, у 1 из них генотипированием установлен генотип *RHD weak type 1*, у 2 – *RHD weak type 3*, у 1 донора отклонений в гене *RHD* не обнаружено. Еще у 4 доноров молекулярным методом подтверждены генотипы *RH*CCDee*, *RH*CCDee*, *RH*Ccdee*, *RH*CcDEe*. Также у 4 доноров определены гены *RHCE*CC*ee*. У 1 донора отмечалось снижение экспрессии антигена Rhe, обусловленное присутствием гена *RHCE*01.38*, имеющего мутацию в регионе промотора 5'UTR с.1-10C>T.

Посттрансфузионный химеризм по антигенам системы MNS выявлен у 30 пациентов, генотипирование проведено 20 больным (табл. 5). У лиц с 50–90 % агглютинацией эритроцитов с Цоликлоном анти-М и 50–100 % агглютинацией эритроцитов с Цоликлоном анти-Н был генотип *NN*. У больных с 90–100 % агглютинацией эритроцитов с Цоликло-

ном анти-М и 5–95 % агглютинацией эритроцитов с Цоликлоном анти-Н – *MM*. У обследованных со 100 % агглютинацией эритроцитов с Цоликлоном анти-М и 30–80 % агглютинацией эритроцитов с Цоликлоном анти-Н – *MN*. Неполная (10 %) агглютинация с Цоликлоном анти-Н обнаружена у 1 донора, которому было проведено уточнение генотипа для выявления информативных маркеров мониторинга приживления ГСК (определен генотип *MM*).

Посттрансфузионный химеризм по антигенам системы Kell выявлен у 4 пациентов (табл. 6). У 1 больного определено по 50 % агглютинированных эритроцитов реактивами анти-К и анти-к, молекулярный метод выявил гомозиготность по гену *KEL*01.01*. Больному переливали эритроциты от доноров, гомозиготных по антигену k (Челлано). У 3 больных, у которых от 80–97 % эритроцитов агглютинировались Цоликлоном анти-К, в генотипе определено присутствие генов *KEL*01.01* и *KEL*02*.

Обсуждение

В 2018–2020 гг. в НМИЦ гематологии количество несовместимых по системе АВО ТГСК составило 52,22 % от общего числа ТГСК. Расхождение реципиента и донора по антигенам эритроцитарных систем, в том числе по системе АВО, не является препятствием для проведения ТГСК. Однако несовместимость донора и реципиента по антигенам эритроцитов необходимо учитывать для прогнозирования развития возможных иммунологических осложнений непосредственно при самой операции трансфузии ГСК и/или в процессе приживления трансплантата; для поиска маркеров, отличающих реципиента от донора ГСК, что важно для применения серологических методов в мониторинге приживления трансплантата; для прогнозирования необходимого объема трансфузионных сред в посттрансплантационном периоде. При введении

Таблица 5. Посттрансфузионный химеризм по системе MNS и результаты генотипирования больных перед аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (n = 20)

Table 5. Post-transfusion chimerism according to the MNS system and genotyping results of patients before allogeneic hematopoietic stem cells transplantation (n = 20)

Процент агглютинированных эритроцитов с моноклональными антителами Percentage of agglutinated erythrocytes with monoclonal antibodies		Генотип Genotype	Причина посттрансфузионного химеризма Cause of post-transfusion chimerism
Результат серологических методов исследования The result of serological methods			
анти-М anti-M	анти-Н anti-N		
90–100	5–95	<i>MM</i>	Присутствие NN+, MN+ аллогенных эритроцитов Presence of NN+, MN+ allogeneic erythrocytes
50–90	50–100	<i>NN</i>	Присутствие MM+, MN+ аллогенных эритроцитов Presence of MM+, MN+ allogeneic erythrocytes
100	30–80	<i>MN</i>	Присутствие MM+ аллогенных эритроцитов Presence of MM+ allogeneic erythrocytes

Таблица 6. Посттрансфузионный химеризм по системе Kell и результаты генотипирования больных перед аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток ($n = 4$)

Table 6. Post-transfusion chimerism according to the Kell system and genotyping results of patients before allogeneic hematopoietic stem cells transplantation ($n = 4$)

Процент агглютинированных эритроцитов с моноклональными антителами Percentage of agglutinated erythrocytes with monoclonal antibodies		Генотип Genotype	Причина посттрансфузионного химеризма Cause of post-transfusion chimerism
Результат серологических методов исследования The result of serological methods			
анти-K anti-K	анти-k anti-k		
50	50	<i>KEL*01.01/01.01</i>	Присутствие аллогенных эритроцитов с фенотипом kk Presence of allogeneic erythrocytes with kk phenotype
80	100	<i>KEL*01.01/02</i>	
97	100	<i>KEL*01.01/02</i>	
97	100	<i>KEL*01.01/02</i>	

аллогенных разнотипных ГСК случаев острого гемолиза у больных не наблюдали.

Полученные результаты наглядно демонстрируют, что процент агглютинированных эритроцитов при посттрансфузионном химеризме и/или ослабленной экспрессии антигенов эритроцитов не может предсказать истинный фенотип пациента. Количество собственных эритроцитов больного в кровеносном русле будет зависеть от объема перелитых аллогенных эритроцитов и показателей гематокрита у больного.

Чем меньше будут показатели гематокрита у больного, тем меньше будет количество собственных эритроцитов. Большие объемы перелитых эритроцитосодержащих компонентов иногда могут даже полностью заместить собственные эритроциты, которые невозможно будет определить серологическими методами детекции групп крови. При этом установление правильной групповой принадлежности, в том числе определение разных вариантов одного антигена, является важной задачей. Например, пациентам с группами крови A_1 и A_2 необходимы разные гемотрансфузионные

среды, но не все серологические методы и не всегда способны выявить и дифференцировать варианты антигена A [31].

Заключение

Показано, что уточнение генотипа доноров ГСК может оказаться необходимым при ослабленной экспрессии антигенов эритроцитов и поступлении криоконсервированных клеток (из-за лизиса эритроцитов).

Поскольку процент агглютинации при посттрансфузионном химеризме и присутствии слабых вариантов эритроцитарных антигенов не может быть надежным критерием для установления истинного фенотипа пациента, обнаружение неполной агглютинации при определении групповых факторов крови является показанием к применению молекулярных методов типирования, особенно в условиях преобладания АВО-несовместимых ТГСК. Поэтому необходимо дальнейшее внедрение генотипирования эритроцитарных структур в трансфузиологическую практику при сохранении исследований серологическими методами.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Любимова Л.С. и др. Трансплантация костного мозга при острых миелоидных лейкозах. *Терапевтический архив* 1993;(7):7–15. [Savchenko V.G., Parovichnikova E.N., Lyubimova L.S. et al. Bone marrow transplantation for acute myeloid leukemia. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive* 1993;(7):7–15. (In Russ.).]
2. Савченко В.Г., Любимова Л.С., Паровичникова Е.Н. и др. Трансплантация аллогенных и аутологичных гемопоэтических стволовых клеток при острых лейкозах (итога 20-летнего опыта). *Терапевтический архив* 2007;(7):30–5. [Savchenko V.G., Lyubimova L.S., Parovichnikova E.N. et al. Transplantation of allogeneic and autologous hematopoietic stem cells in acute leukemia (results of 20 years of experience). *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive* 2007;(7):30–5. (In Russ.).]
3. Савченко В.Г. Протоколы трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. М.: Практика, 2020. 320 с. [Savchenko V.G. *Allogeneic hematopoietic stem cells transplantation protocols*. Moscow: Praktika, 2020. 320 p. (In Russ.).]
4. Афанасьев Б.В., Зубаровская Л.С. Роль трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в терапии взрослых больных острыми лейкозами. *Онкогематология* 2006;(1–2):70–85. [Afanasyev B.V., Zubarovskaya L.S. The role of hematopoietic stem cell transplantation in the treatment of adult patients with acute leukemia. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2006;(1–2):70–85. (In Russ.).]
5. Паровичникова Е.Н., Васильева В.А., Довыденко М.В. и др. Протоколы

- трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. М., 2020. С. 218–224. [Parovichnikova E.N., Vasilieva V.A., Dovydenko M.V. et al. Allogeneic hematopoietic stem cells transplantation protocols. Moscow, 2020. Pp. 218–224. (In Russ.)].
6. Фирсова М.В., Менделеева Л.П., Паровичникова Е.Н. и др. Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток пациентам с множественной миеломой. Терапевтический архив 2021;93(7):778–4. [Firsova M.V., Mendeleeva L.P., Parovichnikova E.N. et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive* 2021;93(7):778–4. (In Russ.)]. DOI: 10.26442/00403660.2021.07.200929
 7. Bug G., Serve H. Stem cell and cord blood transplantation – state of the art. *ISBT Science Series* 2010;5:317–23.
 8. Васильева В.А., Кузьмина Л.А., Паровичникова Е.Н. и др. Выполнение трансплантаций аллогенных гемопоэтических стволовых клеток от неродственных доноров из российского и зарубежного регистров в одном трансплантационном центре. Гематология и трансфузиология 2020;65(3):299–311. [Vasilieva V.A., Kuzmina L.A., Parovichnikova E.N. et al. Implementation of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors from Russian and foreign registries. *Genatologiya i transfuziologiya = Russian Journal of Hematology and Transfusiology* 2020;65(3):299–311. (In Russ.)]. DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-3-299-311
 9. Golovkina L.L. Influence of donor/s and recipient/s HPA-differences on duration of aplasia after allo-myelotransplantation. *Bone Marrow Transplantat* 2011;46(S1):S324.
 10. Eiz-Vesper B., Seltsam A., Blasczyk R. ABO glycosyltransferases as potential source of minor histocompatibility antigens in allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation. *Transfusion* 2005;45(6):960–8. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2005.04370.x
 11. Sieff C., Bicknell D., Caine G. et al. Changes in cell surface antigen expression during hemopoietic differentiation. *Blood* 1982;60(3):703–13.
 12. Kishino K., Muroi K., Kawano C. et al. Evaluation of engraftment by ABO genotyping analysis of erythroid burst-forming units after bone marrow transplantation. *Leuk Res* 2002;26(1):13–7. DOI: 10.1016/s0145-2126(01)00090-x
 13. Booth G.S., Gehrie E.A., Bolan C.D., Savani B.N. Clinical guide to ABO-incompatible allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplantat* 2013;19(8):1152–8. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.03.018
 14. Hows J., Beddo K., Gordon-Smith E. et al. Donor-derived red blood cell antibodies and immune hemolysis after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 1986;67(1):177–81.
 15. Bolan C.D., Childs R.W., Procter J.L. et al. Massive immune haemolysis after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with minor ABO incompatibility. *Br J Haematol* 2001;112(3):787–95. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2001.02587.x
 16. Worel N., Greinix H.T., Keil F. et al. Severe immune hemolysis after minor ABO-mismatched allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation occurs more frequently after nonmyeloablative than myeloablative conditioning. *Transfusion* 2002;42(10):1293–301. DOI: 10.1046/j.1537-2995.2002.00209.x
 17. Franchini M., Gandini G., Aprili G. Non-ABO red blood cell alloantibodies following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantat* 2004;33(12):1169–72. DOI: 10.1038/sj.bmt.1704524
 18. Tomac G., Bojanic I., Mazic S. et al. Haemolysis, pure red cell aplasia and red cell antibody formation associated with major and bidirectional ABO incompatible haematopoietic stem cell transplantation. *Blood Transfus* 2018;16(4):397–404. DOI: 10.2450/2017.0322-16
 19. Lee J.H., Gulbis A., De Padua S.L. et al. Rituximab for passenger lymphocyte syndrome associated with allogeneic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2008;42(1):67–9. DOI: 10.1038/bmt.2008.79
 20. Cid J., Lozano H.G., Flegel W.A. Matching for D antigen in haematopoietic progenitor cell transplantation: definition and clinical outcomes. *Blood Transfus* 2014;12(3):301–6. DOI: 10.2450/2014.0238-13
 21. Головкина Л.Л., Стремоухова А.Г., Пушкина Т.Д. и др. Молекулярно-серологические характеристики типов слабого антигена D системы Резус. Терапевтический архив 2016;88(7):78–83. [Golovkina L.L., Stremoukhova A.G., Pushkina T.D. et al. Molecular serological characteristics of weak D antigen types of the Rhesus system. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive* 2016;88(7):78–83. (In Russ.)]. DOI: 10.17116/terarkh201688778-83
 22. Golovkina L.L., Stremoukhova A., Vasiljeva M. et al. ABO*A and RHD variants in Russians. *Vox Sanguinis* 2017;112(suppl. 1):218 (Poster 494).
 23. Головкина Л.Л., Каландаров Р.С., Пшеничникова О.С. и др. Выявление распространенных и новых редких типов слабого антигена RHD у больных с заболеваниями системы крови и здоровых лиц. *Онкогематология* 2019;14(3):52–9. [Golovkina L.L., Kalandarov R.S., Pshenichnikova O.S. et al. Identification of common and new rare types of weak RhD anti-gen in patients with blood diseases and healthy person. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2019;14(3):52–9. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1818-8346-2019-14-3-52-59
 24. Головкина Л.Л., Сурин В.Л., Пшеничникова О.С. и др. Выявление аллельных вариантов антигена RHC у гематологических больных по результатам серологического и молекулярного исследований. *Трансфузиология* 2019;20(4):315–22. [Golovkina L.L., Surin V.L., Pshenichnikova O.S. et al. Identification of RHC antigen allelic variants in hematological patients based on the results of serological and molecular studies. *Transfuziologiya = Transfusiology* 2019;20(4):315–22. (In Russ.)].
 25. Чумак А.А., Белякова В.В., Майорова О.А. и др. Идентификация групповых антигенов эритроцитов по системам ABO, RH и KEL серологическими тестами и методами генотипирования. *Гематология и трансфузиология* 2021;66(1):37–53. [Chumak A.A., Belyakova V.V., Mayorova O.A. et al. Identification of ABO, RH and KEL blood group antigens with serology and genotyping methods. *Genatologiya i transfuziologiya = Russian Journal of Hematology and Transfusiology* 2021;66(1):37–53. (In Russ.)]. DOI: 10.35754/0234-5730-2021-66-1-37-53
 26. Dykes J.H., Lindmark A., Lenhoff S. et al. Autologous del(20q)-positive erythroid progenitor cells, re-emerging after DLI treatment of an MDS patient relapsing after allo-SCT, can provide a normal peripheral red blood cell count. *Bone Marrow Transplantat* 2004;33(5):559–63. DOI: 10.1038/sj.bmt.1704383
 27. Golovkina L.L., Stremoukhova A., Vasiljeva M. et al. Erythrocyte's genomic in Russian multitransfused hematological patients. *Haematologica* 2016;101(s1):876–7.
 28. Каландаров Р.С., Головкина Л.Л., Васильева М.Н. и др. Генотипирование групп крови систем ABO и Резус у пациентов после множественных гемотрансфузий. *Онкогематология* 2017;12(2):70–9. [Kalandarov R.S., Golovkina L.L., Vasilieva M.N. et al. Genotyping of AB0 and Rh systems blood groups in patients after multiple hemotransfusions. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2017;12(2):70–9. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1818-8346-2017-12-2-70-79
 29. Минеева Н.В., Кробинец И.И., Гавровская С.В. и др. Генотипирование групп крови эритроцитов для пациентов с множественными трансфузиями. *Казанский медицинский журнал* 2021;102(5):621–5. [Mineeva N.V., Krobinec I.I., Gavrovskaya S.V. et al. Genotyping of erythrocyte blood groups in patients with multiple transfusions. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal* 2021;102(5):621–5. (In Russ.)]. DOI: 10.17816/KMJ2021-621
 30. Головкина Л.Л., Стремоухова А.Г., Пушкина Т.Д. и др. Молекулярно-

генетические методы для определения групп крови эритроцитарных систем. Справочник заведующего КЛД 2018;(9):46–56. [Golovkina L.L., Stremoukhova A.G., Pushkina T.D. et al. Molecular genetic methods for determining blood groups of erythrocyte systems. Spravochnik zaveduyushchego KLD = Reference Book for the Head

of Clinical Diagnostic Laboratory 2018;(9):46–56. (In Russ.)].

31. Головкина Л.Л., Каландаров Р.С., Стремоухова А.Г. и др. Дифференциация подгрупп А1 и А2 антигена А системы АВО: биологическая основа и серологическая стратегия. Гематология и трансфузиология 2019;64(4):504–15. [Golovkina L.L., Kalandarov R.S.,

Stremoukhova A.G. et al. Differentiation of the A1 and A2 subgroups of the ABO system: biological background and serological strategy. Genatologiya i transfuziologiya = Russian Journal of Hematology and Transfusiology 2019;64(4):504–15. (In Russ.)]. DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-4-504-515

Вклад авторов

Л.Л. Головкина: разработка дизайна исследования, интерпретация данных, написание статьи;
А.Г. Стремоухова, Б.Б. Хасигова: выполнение серологического раздела работы;
Т.Д. Пушкина, Г.В. Атрощенко: выполнение полимеразной цепной реакции с коммерческими праймерами;
Р.С. Каландаров: участие в подготовке статьи для редакции;
Л.А. Кузьмина, В.А. Васильева, Е.Н. Паровичникова: выполнение клинического раздела исследования.

Authors' contributions

L.L. Golovkina: concept and design development, data interpretation, article writing;
A.G. Stremoukhova, B.B. Khasigova: serological part of the work;
T.D. Pushkina, G.V. Atroshchenko: polymerase chain reaction with commercial primers;
R.S. Kalandarov: article writing;
L.A. Kuzmina, V.A. Vasilieva, E.N. Parovichnikova: clinical part of the study.

ORCID авторов / ORCID of authors

Л.Л. Головкина / L.L. Golovkina: <https://orcid.org/0000-0002-9423-2640>
А.Г. Стремоухова / A.G. Stremoukhova: <https://orcid.org/0000-0002-1705-7535>
Т.Д. Пушкина / T.D. Pushkina: <https://orcid.org/0000-0002-8801-5578>
Б.Б. Хасигова / B.B. Khasigova: <https://orcid.org/0000-0002-3974-2189>
Г.В. Атрощенко / G.V. Atroshchenko: <https://orcid.org/0000-0001-6635-8791>
Р.С. Каландаров / R.S. Kalandarov: <https://orcid.org/0000-0002-7730-8367>
Л.А. Кузьмина / L.A. Kuzmina: <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>
В.А. Васильева / V.A. Vasilieva: <https://orcid.org/0000-0003-0904-7385>
Е.Н. Паровичникова / E.N. Parovichnikova: <https://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России.

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of National Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia.

All patients gave written informed consent to participate in the study.