

УДК 612:13: 616.1-078

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ФОРМИРОВАНИЯ ГРУПП КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

**П.В. Тарлыков, У.А. Кожамкулов, Е.М. Раманкулов**

*РГП «Национальный центр биотехнологии», ул. Ш. Валиханова, 13/1, Астана, 010000, Казахстан*

*pavel.tarlykov@gmail.com*

### АБСТРАКТ

Изучение генетических особенностей формирования антигенов групп крови началось около 20 лет назад. За это время были предложены разнообразные молекулярно-генетические методы определения групп крови. Наиболее значимым преимуществом применения генетического подхода стало определение группы крови плода при беременностях, сопровождающихся возможным развитием гемолитической болезни плода. В то же время проведение генетического тестирования при обязательном серологическом анализе не всегда является необходимой для реципиента процедурой. Тем не менее, использование ДНК-тестирования для уточнения фенотипа может помочь более точно подобрать донорскую кровь для пациентов с предрасположенностью к аллоиммунизации, например, для тех, кто страдает серповидно-клеточной и другими видами анемии. Помимо этого, определение генетической структуры локусов, ответственных за экспрессию эритроцитарных антигенов, позволяет избежать ошибок в определении групп крови, связанных с объективными трудностями при выполнении иммуногематологических исследований. Поэтому проведение генетического тестирования аллелей генов эритроцитарных антигенов будет наиболее востребовано в центрах переливания крови в случае возникновения спорных ситуаций при стандартном определении группы крови.

**Ключевые слова:** группа крови, резус, аллоиммунизация, ДНК-тестирование, трансфузиология, анемия.

## GENETIC BASIS OF HUMAN BLOOD GROUP FORMATION

**P.V. Tarlykov, U.A. Kozhamkulov, E.M. Ramankulov**

*National Center for Biotechnology, Valikhanov str. 13/1, Astana, 010000, Kazakhstan*

*pavel.tarlykov@gmail.com*

### ABSTRACT

Study of the genetic features of blood group antigens has started over 20 years ago. During this time, a variety of DNA-based methods for determining blood groups has been developed. The most significant advantage of genetic approach was to determine the blood group of the fetus in pregnancies with possible development of hemolytic disease of the fetus. At the same time the use of genetic testing with mandatory serological assay is not always necessary for the recipient. Nevertheless, the use of DNA testing to verify the phenotype can help to more accurately match donated blood for patients with a predisposition to alloimmunization, such as those who suffer from anemia. In addition, identification of the genetic structure of the loci responsible for the expression of erythrocyte antigens can help to avoid errors in determining blood groups associated with limitations of immunological methods. Therefore, the use of genetic testing will be in demand in blood transfusion centers when correct typing of a blood group with the use of agglutination method is under question.

**Keywords:** blood type, rhesus, alloimmunization, DNA-based testing, transfusion medicine, anemia.

## ВВЕДЕНИЕ

Ошибки при определении групповой принадлежности крови у реципиентов создают серьезные предпосылки для развития гемолитических осложнений при гемотрансфузионной терапии. Частота острых гемолитических осложнений в среднем составляет 1 на 25 тыс. трансфузий. Фатальные гемолитические осложнения встречаются с частотой 1 на 100 тыс. трансфузий. Несовместимость по группе АВ0 составляет примерно 83% от всех фатальных острых гемолитических осложнений [1]. При этом летальность в результате несовместимых по системе АВ0 трансфузий составляет в Великобритании 1 на 10 случаев несовместимых трансфузий, в США – 1 на 18, в России – 1 на 3,9 [2-3]. Летальность гемолитических осложнений в Казахстане неизвестна. Точный анализ частоты встречаемости острых гемолитических осложнений затруднен, поскольку в трансфузиологической практике, как в нашей стране, так и за рубежом, ряд осложнений скрывается или маскируется под видом других диагнозов [4].

Для безопасного переливания крови должны быть удовлетворены три основных условия. Во-первых, красные кровяные тельца должны быть совместимы по группе крови АВ0. Во-вторых, не допускается переливание резус-положительных эритроцитов резус-отрицательным реципиентам женского пола. В-третьих, эритроциты донора не должны иметь антигенов, вступающих в реакцию с любым клинически значимым антителом реципиента. Таким образом, возникает вопрос, существуют ли надежные ДНК-методы для определения антигенов группы крови АВ0 и резус-фактора, удовлетворяющие эти условия, чтобы рассматривать их в качестве замены существующих серологических методов?

В настоящее время описано более 300 наследуемых антигенов, находящихся на поверхности эритроцитов и характеризующих группы крови человека [5, 6]. Эти антигены были впервые выявлены после обнаружения антиген-специфичных антител, присутствующих в сыворотке крови человека. Около 50 из этих антигенов являются полиморфными в любой популяции земного шара. То есть, альтернативные аллели представлены в популяции в большей степени, чем теоретически возможно. Некоторые из полиморфных антигенов являются клинически значимыми при переливании крови и могут приводить к гемолитической болезни плода (ГБП), а также другим побочным реакциям. Следовательно, безопасное переливание для большинства реципиентов зависит от корректного типирования больных и доноров в отношении фенотипа АВ0 и скрининга сыворотки пациентов на наличие клинически значимых антител, полиморфных среди местного населения. Например, определение антигена D (резус-фактора) обязательно среди доноров и реципиентов в популяциях, где он полиморфен, потому что именно он будет являться основной причиной ГБП и других побочных реакций. В странах Юго-Восточной Азии, где резус-отрицательный фенотип является редкостью, данная процедура необязательна [7].

За последние 30 лет в медицине наблюдается тенденция к уменьшению количества предтрансфузионных тестов и внедрение модифицированных тестов, основанных на агглютинации, например, таких как гелевый тест, которые могут проводиться сотрудниками лаборатории без длительного практического обучения, характерного для традиционных серологических методов [8]. Хотя эти тесты идеально подходят большинству реципиентов, некоторые пациенты имеют более высокий риск аллоиммунизации, например, при серповидно-клеточной анемии или талассемии, и, следовательно, нуждаются в более точном подборе донорской крови [9, 10].

Параллельно с упрощением процедуры предтрансфузионного тестирования долгое время проводились масштабные исследования по изучению генов, ответственных за образование групп крови [8]. В результате был разработан новый подход определения антигенов группы крови, основанный на определении последовательности ДНК, а не на реакции агглютинации. Основным недостатком ДНК-метода является то, что он не может обнаружить непосредственно присутствие или отсутствие антигена на поверхности эритроцитов. Несмотря на это, существует ряд клинических случаев, когда этот подход является востребованным. В данном обзоре рассматривается влияние генетических методов при оказании медицинской помощи в трансфузиологии и неонатальной медицине и как эти методы могут повлиять на существующие лабораторные протоколы предтрансфузионного тестирования.

## ДНК-типирование антигенов системы АВ0

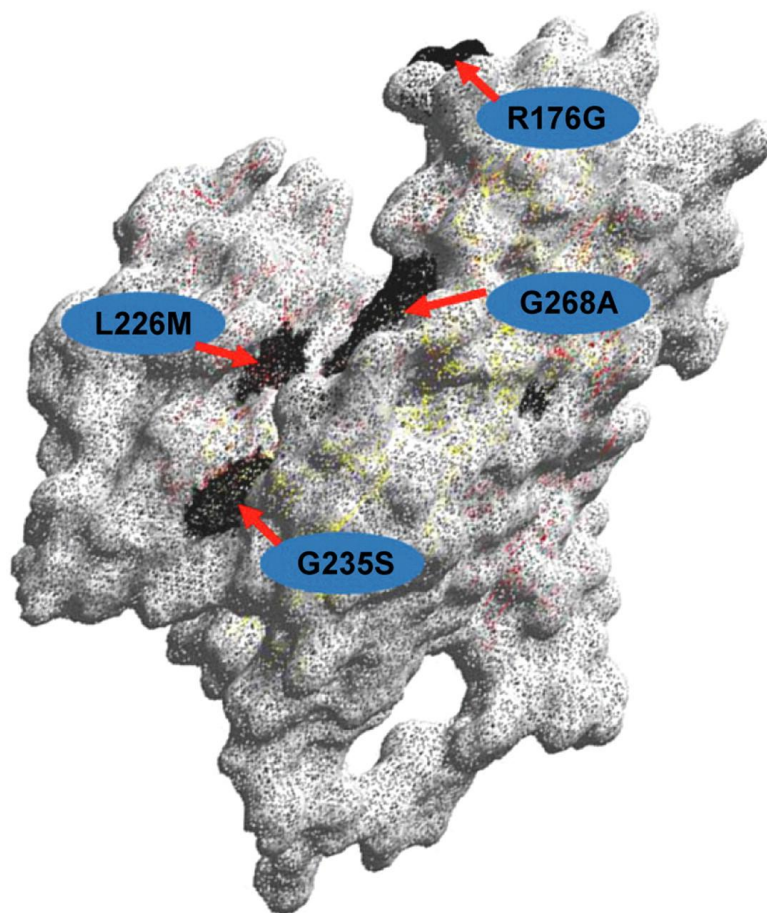
Молекулярные основы системы групп крови АВ0 были изучены еще в 90-х годах [11]. Выяснилось, что фенотип АВ0 определяется экспрессией гена гликозилтрансферазы. Группы крови АВ0 у человека определяются тремя альтернативными вариантами гена гликозилтрансферазы (А, В, 0), расположенного на 9-й хромосоме. Эта система групп крови наследуется по множественному принципу, при котором действие различных вариантов одного гена проявляется в равной степени, независимо друг от друга. Парное сочетание этих генов определяет одну из четырех групп крови. Ген АВ0 состоит из 7 экзонов размером от 28 до 688 п.н., с наибольшей кодирующей последовательностью в 7-м экзоне. Два последних экзона содержат 823 нуклеотида из 1062 и кодируют растворимую часть АВ0 гликозилтрансферазы, содержащую каталитический домен. На основании нуклеотидного полиморфизма, который детектируется в этом районе, к настоящему моменту описано большое число аллелей гена

ABO. Только те полиморфные замены, которые приводят к смене аминокислоты, являются критичными в определении активности и субстрат-специфичности гликозилтрансферазы и, таким образом, ответственными за различный ABO-фенотип. К настоящему моменту описано 26 несинонимичных замен в нуклеотидных последовательностях экзона 6 и 7. За одним исключением все они локализованы в 7 экзоне. Однако надо отметить, что каждая популяция имеет свой уникальный набор аллельных вариантов генов, что усложняет разработку тест-систем, основанных на ДНК-анализе.

Система групп крови ABO является наиболее клинически важной, потому что антитела против антигенов А или В или одновременно обоих присутствуют в сыворотке лиц, чьи красные кровяные тельца экспрессируют группу крови В, А, или 0. Каждый студент-медик знает, что переливание крови, несовместимое по ABO, является потенциально смертельным. Отсюда следует, что определение группы крови на основе ДНК-типирования не может рассматриваться как самостоятельный способ прогнозирования фенотипа ABO.

Трехмерная структура белка гликозилтрансферазы была разгадана *Patanaude* и др. (рисунок 1) [12]. Антигены А, В, и их варианты экспрессируются геном гликозилтрансферазы, отвечающим за перенос N-ацетил-D-галактозамина и D-галактозы к концам цепочек соответствующих олигосахаридов, расположенных на поверхности эритроцитов. Фенотип эритроцитов называется «0», если ген гликозилтрансферазы неактивен. Тот факт, что группа 0 получается при наличии неактивного гена, создает фундаментальную проблему для разработки методов определения групп крови ABO на основе ДНК-анализа, потому что инактивирующие мутации, приводящие к фенотипу 0, могут происходить в самых разных местах кодирующей части гена. Наиболее распространенным является аллель 01, который отличается от референс-аллеля А1 делецией гуанина в кодоне 261, которая вызывает сдвиг рамки считывания, приводящий к трансляции дефектного варианта белка, не содержащего каталитического домена. Другой аллель, «аллель 02» имеет 6 полиморфизмов, отличающих его от аллеля А1. Наиболее примечательным из них является SNP G802A, который приводит к замене Gly268Arg в активном центре фермента, что, в итоге, делает его неактивным (рисунок 1) [13]. Аллель 03 имеет вставку гуанина в 804 позиции, в результате чего меняется рамка считывания, которая изменяет последовательность белка, начиная с 269 положения. Аллель 04 имеет вставку гуанина в нуклеотиде 88, что также приводит к сдвигу рамки и трансляции неактивного белка. Аллели 05 и 06 представлены нуклеотидными заменами C322T и G542A, соответственно, приводящими к образованию стоп-кодонов. Эти аллели могут возникнуть на фоне аллеля А1, так что любой метод, основанный на ДНК-анализе, может ошибочно определить такой образец как А1. Такие случаи представляет собой серьезную проблему из-за риска неправильного подбора донора и последующего несоответствия групп крови при переливании. Например, такой случай был описан в работе *Storry* [14]. Донор для трансплантации почки был исследован как генетическим, так и обычным серологическим методом. ДНК-анализ установил группу крови А, в то время как серологический анализ – группу 0 с анти-А и анти-В антителами в сыворотке крови.

Знание молекулярно-генетических основ фенотипа группы 0 в различных популяциях может помочь в разработке ДНК-методов, способных обнаруживать все известные аллели, но не может помочь в случае наличия неизвестной ранее инактивирующей мутации. Следовательно, если генетический метод будет использоваться в качестве замены установленных процедур, будет существовать возможность случайного переливания несовместимых групп крови ABO. Одним из способов минимизации риска будет дополнительное тестирование всех образцов на присутствие анти-А и анти-В антител, но даже в этом случае сложно понять, каким образом ДНК-анализ может быть использован для подтверждения групп крови ABO в отсутствие результатов обычного серологического анализа.



Различия между А, В и 0 вариантами белка гликозилтрансферазы представлены аминокислотными заменами R176G, L226M, G235S и G268A

**Рисунок 1** – Трехмерная структура белка гликозилтрансферазы [48]

Amino acid residues differing between A, B and 0 transferases (R176G, L226M, G235S and G268A)

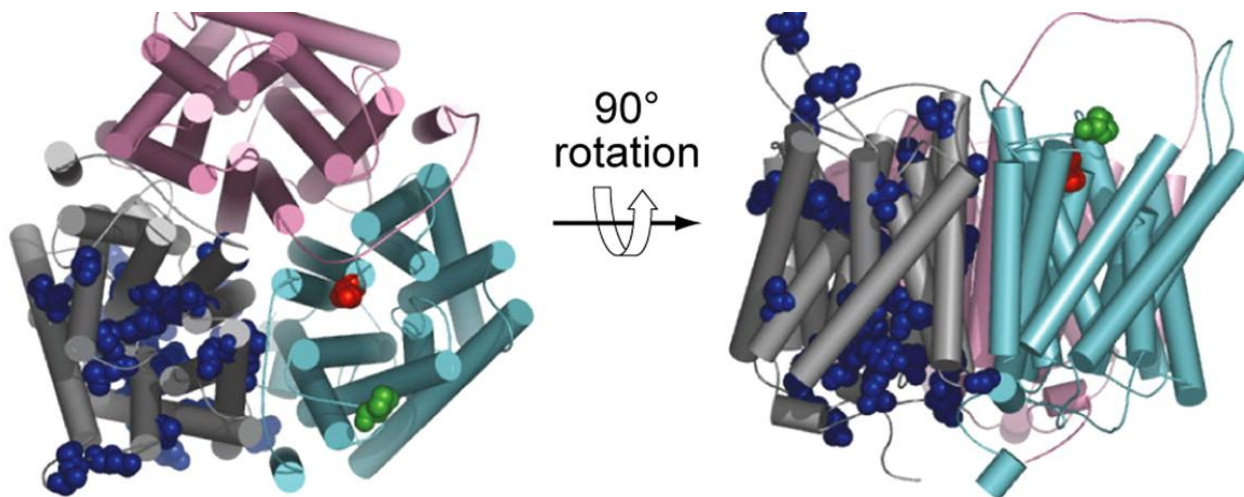
**Figure 1** – 3D Structure of the AB0 glycosyltransferase

### ДНК-типирование антигенов системы резус

Прошло более 20 лет с тех пор как были обнаружены гены, кодирующие антигены группы крови резус. Ген *RHCE* был впервые описан в 1990 году [15, 16], в то время как второй ген *RHD* был обнаружен чуть позже [17-19]. Эти открытия положили конец 50-летнему спору, в котором одна группа ученых предполагала, что резус-антигены (*rh*-антигены) являются продуктом экспрессии лишь одного *RH* гена, в то время как другая считала, что это продукты трех тесно связанных *RH* генов [20-21]. Когда все же удалось экспрессировать *RHCE in vitro*, стало ясно, что полипептид (CE полипептид) может продуцировать сразу два антигена (Cс и Ee). В результате, два гена *RHD* и *RHCE* кодируют 2 полипептида (D и CE) [22-23].

D-антиген не зря считают самым сложным из всех известных антигенов группы крови. Объяснить это можно следующим образом. Зачастую у народов европейского происхождения ген *RHD* не экспрессируется, что выражается в отсутствии D полипептида на поверхности эритроцитов. Таким образом, D-антитела отличаются своей неспособностью реагировать с эритроцитами, не имеющими D полипептид. Данное свойство D-антигена обусловлено появлением полиморфизмов, приводящих к замене аминокислоты в белковой последовательности активного белка. Отсюда следует, что любой человек, наследующий измененную последовательность гена *RHD*, может оказаться носителем нефункционального D-антигена. Ситуация осложняется наличием соседнего и

гомологичного гена *RHCE*, так как конверсия генов между генами *RHD* и *RHCE* в мейозе может создать гибридные аллели, кодирующие белки с последовательностями, полученными как от D, так и от CE полипептидов. После выяснения структуры антигенов D, Cc и Ee был составлен подробный каталог групп крови, встречающихся в различных популяциях и имеющих слабо выраженные или измененные резус-антигены (рисунок 2) [24]. Методы, основанные на ДНК-анализе, идеально подходят для идентификации резус-антигена и обеспечивают более высокую разрешающую способность, чем обычный серологический анализ. Однако полученная информация не представляет клинической значимости, так как эта значимость определяется иммуногенностью резус-антигена.



Гетеротример, включающий полипептиды RhAG (сиреневый), RhD (серый) и RHCE (циан). В структуре D полипептида синим цветом обозначены аминокислоты, которые отличаются от CE полипептида. Аминокислоты, характерные для Cc и Ee, показаны на CE полипептиде красным и зеленым

**Рисунок 2** – Трехмерная структура Rh белков [49]

Heterotrimer comprising RhAG (pink), RhD polypeptide (gray), and RhCE polypeptide (cyan). Residues in the D polypeptide differing from those in the CE polypeptide are shown as blue spheres. Cc and Ee associated residues on the CE polypeptide are shown as red and green spheres, respectively

**Figure 2** – 3D Model of the structure of Rh proteins [49]

Гемолитическая болезнь плода является основным клиническим проявлением, вызываемым анти-D антителами. В западной Европе D-отрицательный фенотип образуется в результате делеции в гене *RHD*. В то же время молекулярно-генетические особенности образования D-отрицательного фенотипа во многих популяциях Центральной Азии до сих пор не определены. Значительная часть отрицательных фенотипов у лиц африканского происхождения имеют не полностью удаленный ген *RHD* [25]. В коренных народах Юго-Восточной Азии D-отрицательный фенотип встречается редко, и, следовательно, ГБП не является распространенной клинической проблемой. Ян и др. изучили выборку из 305,572 китайцев, из которых 99,53% обладали резус-положительной группой [26]. Еще в 1988 году из-за преобладания D-положительной группы на Тайване было прекращено определение резус-фактора у доноров и реципиентов, что не вызвало роста заболеваемости ГБП.

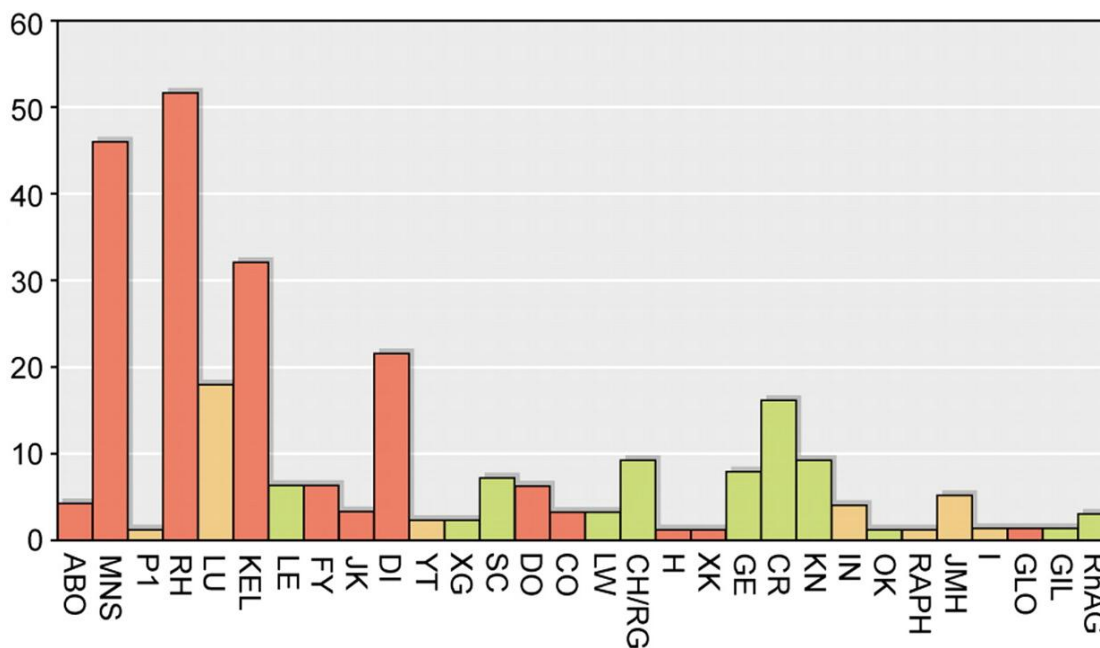
Поликлональный анти-D иммуноглобулин (резус иммуноглобулин) является превосходной профилактикой ГБП [27]. Этот продукт имеет превосходные показатели безопасности, хотя имеются редкие побочные эффекты [28]. Ценным нововведением для здравоохранения стало диагностическое тестирование беременных с отрицательным резус-фактором, которое позволяет определять фенотип группы крови плода. Изначально тестирование проводилось на эмбриональной ДНК, полученной путем амниоцентеза от D-отрицательных матерей, которые уже имели ребенка, перенесшего ГБП. Процедура амниоцентеза представляет определенный риск для плода, поэтому этот метод не получил широкого применения, пока не было показано, что достаточное для анализа количество клеток фетальной ДНК может быть выделено из материнской плазмы крови. В настоящее время данный

метод является рутинной диагностической процедурой во многих странах [29-30]. В настоящее время успешно применяются автоматизированные системы тестирования, способные анализировать большое количество дородовых образцов за короткий промежуток времени [31-32]. ГБП, вызываемая другими резус-антителами, отличными от D, практически не встречается. Тем не менее, тесты для определения вариантов C и E существуют [33].

Идея применения методов ДНК-анализа для определения резус-антигенов не лишена недостатков. Не ясно, как на основе ДНК будет определяться огромное разнообразие D-вариантов, найденных в крови доноров и пациентов. Даже если подобная технология и появится, предстоит решить будет ли клинический эффект сопоставим с затратами на внедрение новой методологии [34-35]. D-варианты часто подразделяют на частичные и слабые, хотя различие между этими D-антигенами довольно расплывчаты [36]. Было бы целесообразней обозначить все D-вариантные антигены, которые стимулируют образование клинически значимых антител. Некоторые варианты D-антигенов встречаются с частотами не более 1 или 2 на 1000 человек. В сочетании с малочисленностью случаев аллоиммунизации и ГБП, вызванных этими редкими вариантами антигенов, необходимо тщательно отобрать только клинически значимые аллели, которые могут использоваться в дальнейшем для тестирования пациента.

### ДНК-типирование других полиморфных антигенов

Проблемы, связанные с разработкой ДНК-систем для определения групп крови АВ0 и резус не всегда распространяются на полиморфные антигены других групп крови, а таких систем существует около тридцати. Как правило, разнообразие аллельных антигенов возникает в результате однонуклеотидных замен в активном поверхностном белке той или иной группы крови. Компьютерные 3D модели для многих активных поверхностных белков различных групп крови находятся в свободном доступе. Более того, почти все гены, кодирующие полиморфные антигены в системах групп крови, были клонированы и изучены, а SNP, ответственные за полиморфность, ассоциированную с клинически значимыми антителами, были определены (рисунок 3). Остановимся лишь на некоторых из них.



Количество антигенов для каждой групповой системы показано на оси ординат. Красным показаны групповые системы с наибольшей клинической значимостью, менее значимые обозначены желтым, а нейтральные – зеленым [48]

**Рисунок 3** – Клиническая значимость различных групповых систем

The number of antigens in each blood group system is indicated on the ordinate. Blood group systems containing antigens that often stimulate clinically significant antibodies are shown in red, the ones that occasionally stimulate clinically significant antibodies are yellow and the ones that rarely stimulate clinically significant antibodies are green [48]



### Figure 3 – Clinical importance of antibodies to blood group antigens

**Групповая система Келл (Kell).** Антитела к антигену Келл являются наиболее часто встречающимися клинически значимыми антителами после АВ0 и Rh антител. Особенно это касается народов, проживающих в Европе [37]. Ген, кодирующий Келл-гликопротеин, был клонирован еще в 1991 [38]. Это мембранный белок II типа гомологичный семейству эндопептидаз M13. К настоящему времени было описано несколько методов ДНК-типирования полиморфных антигенов группы крови Kell [39]. Анти-Келл антиген (K1) вызывает тяжелую неонатальную анемию у примерно 40% K1-положительных младенцев от женщин с анти-K1 [40]. Описан способ определения присутствия фетальной ДНК, кодирующей K1, в плазме крови матери [41].

**Групповая система Даффи (Duffy).** Ген, кодирующий антигены Fy, был клонирован в 1993 г. и полностью изучен в 1996 г. [42-43]. Он кодирует мембранный белок с полиморфизмом Fy<sup>a</sup>/Fy<sup>b</sup>, вызванным нуклеотидной заменой Gly (Fy<sup>a</sup>) на Asp (Fy<sup>b</sup>) в 42 положении N-терминального домена [44]. Эритроциты фенотипа Fy(a-b-) широко распространены в странах, где встречается малярийный паразит *Plasmodium*. Другие SNP вызывают слабую выраженность Fy, например, Fy<sup>x</sup>, который описан в работе *Castilho* [45]. Антигены системы Даффи в редких случаях могут вызвать гемотранфузионные осложнения.

**Групповая система Домброк (Dombrock).** Домброк-гликопротеин является членом семейства АДФ-рибозилтрансфераз. Полиморфные антигены Do<sup>a</sup> и Do<sup>b</sup> характеризуются нуклеотидной заменой (A793G), которая вызывает замену аминокислоты Asn265 (Do<sup>a</sup>) на Asp (Do<sup>b</sup>) [46].

**Групповая система Колтон.** В группе крови Колтон антигены находятся на белке-транспортере, называемом аквапорин 1 (AQP1). Полиморфные антигены Co<sup>a</sup> и Co<sup>b</sup> получаются в результате нуклеотидной замены (C134T), который преобразует Ala45 (Co<sup>a</sup>) на Val (Co<sup>b</sup>) [47].

### Генетические особенности определения групп крови

Как уже говорилось ранее, переливание несовместимой крови часто является следствием неправильного типирования крови донора или реципиента. Ошибки при определении группы крови АВ0, Rh и других на индивидуальную совместимость возникают при нарушении техники выполнения исследования или в случаях трудноопределимых групп крови. Генотипирование может быть использовано в тех случаях, когда возникают объективные трудности при выполнении иммуногематологических исследований. К таким случаям относятся следующие.

**Подгруппы групп крови.** Например, известно, что антигены А и В системы АВ0 существуют в разных вариантах, отличающихся по своей антигенной активности: А1, А2, А3 и т.д., В1, В2 и т.д. Активность убывает в порядке их нумерации. Наличие в крови людей агглютиногенов с низкой активностью может привести к ошибкам при определении группы крови, а значит, и переливанию несовместимой крови. Ошибки, связанные с невыявлением слабого антигена А2, составляют около 0,05% случаев. Среди доноров группы А у 16,5% определяется слабый вариант А2, среди группы АВ это число возрастает до 19,5%. Группа крови А2 может быть неправильно определена как 0, А2В – как В. Наиболее часто это имеет место при предварительном исследовании крови больных.

**Неспецифическая агглютинация эритроцитов.** О неспецифической агглютинации судят на основании способности эритроцитов агглютинироваться сыворотками всех групп, включая АВ. Неспецифическая агглютинация наблюдается при аутоиммунной гемолитической анемии и других аутоиммунных заболеваниях, сопровождающихся адсорбцией аутоантител на эритроцитах, при гемолитической болезни новорожденных, эритроциты которых нагружены аллоантителами матери. Неспецифическую агглютинацию трудно отличить от специфической. Поэтому при наличии агглютинации эритроцитов с реагентами анти-А, анти-В, анти-АВ, анти-Д необходимо провести пробу со стандартной сывороткой АВ и физиологическим раствором. В противном случае реципиент может быть ошибочно отнесен к группе АВ резус положительный, что повлечет за собой неправильный выбор донора. Если из-за неспецифической агглютинации эритроцитов группу крови больного установить не удается, заключение о групповой принадлежности крови не выдают, образец крови направляют в специализированную лабораторию. При наличии жизненных показаний больному переливают эритроциты группы 0.

**Кровяные химеры.** Кровяными химерами называют одновременное пребывание в кровяном русле двух популяций эритроцитов, отличающихся по группе крови и другим антигенам. Трансфузионные химеры возникают в результате многократного переливания эритроцитарной массы или взвеси группы 0 реципиентам другой группы. Истинные химеры встречаются у гетерозиготных близнецов, а также после пересадки аллогенного костного мозга.

Установление группы крови при кровяных химерах затруднено, поскольку в некоторых случаях половина эритроцитов, циркулирующих в кровяном русле, имеет одну группу крови, а другая половина – другую. Реципиенту, имеющему кровяную химеру, переливают эритроцитную массу или взвесь, не содержащие антигены, по отношению к которым у реципиента могут быть антитела.

Определение группы крови АВ0 и резус принадлежности может быть затруднено у больных в связи с изменением свойств эритроцитов при различных патологических состояниях. Это может выразиться в повышенной агглютинабельности эритроцитов, наблюдаемой у больных циррозом печени, при ожогах или сепсисе. Агглютинабельность может быть столь высока, что эритроциты склеиваются в собственной сыворотке и физиологическом растворе. При лейкозах наблюдается снижение агглютинабельности эритроцитов, в результате чего значительное их количество остается не вовлеченным в агглютинацию даже при использовании высокоактивных стандартных реагентов (ложная кровяная химера). У некоторых новорожденных, в отличие от взрослых людей, антигены А и В на эритроцитах выражены слабо, а соответствующие агглютинины в сыворотке крови отсутствуют.

**Резус-фактор.** Второй по важности в трансфузионной терапии является система групп крови «резус-фактор» (Rh-система). Антиген D обладает высокой иммуногенностью и анти-D антитела могут приводить к гемолитическим осложнениям при переливании крови, а также у новорожденных при несовпадении групп крови по данной системе у матери и плода. Как уже упоминалось выше, в формировании системы «резус-фактора» участвуют два гена RHD и RHCE. Они расположены на хромосоме 1 и обладают очень высокой гомологией (белковая последовательность идентична на 92%). Фенотипически различают D-негативные, слабые D и частичные D-аллели. Существует большое число вариантов гена RHD, соответствующих данным аллелям. Наиболее часто встречается аллель с полной делецией гена RHD, который приводит к формированию D-негативного фенотипа. Аллели с точечными мутациями, делециями, а также гибридные D/CE аллели формируют «слабые» D-фенотипы, которые часто могут приниматься за D-негативные фенотипы.

Подход для молекулярно-генетического тестирования групп крови системы «резус-фактора» основан на амплификации участков гена RHD. Основной проблемой в данном случае является высокая гомология генов RHD и RHCE, что затрудняет выбор олигонуклеотидных праймеров для проведения ПЦР. Если праймер не будет специфично взаимодействовать только с последовательностью гена RHD, то это может приводить к «ложно-положительным» результатам, когда индивидуум с отрицательным «резус-фактором» определяется как имеющий нормальный RHD-аллель. Также использование только одной пары праймеров может приводить к «ложно-отрицательным» результатам, когда отсутствие амплификации интерпретируется как полная делеция гена, а на самом деле человек является носителем делеционного «слабого» D-аллеля. Для избежания этой ситуации используются системы мультиплексной амплификации.

## ВЫВОДЫ

Изучение молекулярного полиморфизма генов человека дает возможность определять генетические детерминанты физиологических особенностей человека. В частности, определение генетической структуры локусов, ответственных за экспрессию эритроцитарных антигенов, позволяет избежать ошибок в определении групп крови, связанных с объективными трудностями при выполнении иммуногематологических исследований. Поэтому проведение генетического тестирования аллелей генов эритроцитарных антигенов будет наиболее востребовано в центрах переливания крови в случае возникновения спорных ситуаций при стандартном определении группы крови.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Dunbar N.M., Ornstein D.L., Dumont L.J. ABO incompatible platelets: risks versus benefit // *Current opinion in hematology*. – 2012. – Vol. 19, №6. – P. 475-479.
2. Berseus O., Boman K., Nessen S.C., Westerberg L.A. Risks of hemolysis due to anti-A and anti-B caused by the transfusion of blood or blood components containing ABO-incompatible plasma // *Transfusion*. – 2013. – Vol. 53, Suppl 1. – P. 114S-123S.
3. Izetbegovic S. Occurrence of ABO And RhD Incompatibility with Rh Negative Mothers // *Materia socio-medica*. – 2013. – Vol. 25, №4. – P. 255-258.
4. Колосков А. Как повысить иммунологическую безопасность гемотрансфузионной терапии? // *Медицинская газета. Наука и практика*. – 2006. – 27 октября. – №82. – С. 12-15.
5. Daniels G.L., Fletcher A., Garratty G., et al. Blood group terminology 2004: from the International Society of Blood Transfusion committee on terminology for red cell surface antigens // *Vox Sang*. – 2004. – Vol. 87. – P. 304-316.



6. Daniels G.L., Flegel W.A., Fletcher A., et al. *International Society of Blood Transfusion Committee on Terminology for Red Cell Surface Antigens: Cape Town report // Vox Sang.* – 2007. – Vol. 92. – P. 250-253.
7. Lin M. *Taiwan experience suggests that RhD typing for blood transfusion is unnecessary in southeast Asian populations // Transfusion.* – 2006. – Vol. 46, №1. – P. 95-98.
8. Chapman J.F., Milkins C., Voak D. *The computer crossmatch: a safe alternative to the serological crossmatch // Transfus. Med.* – 2000. – Vol. 10. – P. 251-256.
9. Vichinsky E.P., Earles A., Johnson R.A., et al. *Alloimmunization in sickle-cell anemia and transfusion of racially unmatched blood // N. Engl. J. Med.* – 1990. – Vol. 322. – P. 1617-1621.
10. Josephson C.D., Su L.L., Hillyer K.L., et al. *Transfusion in the patient with sickle cell disease. A critical review of the literature and transfusion guidelines // Transfus. Med Rev.* – 2007. – Vol. 21. – P. 118-133.
11. Yamamoto F., Clausen H., White T., et al. *Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system // Nature.* – 1990. – Vol. 345. – P. 229-233.
12. Patenaude S.I., Seto N.O., Borisova S.N., et al. *The structural basis for specificity in human ABO(H) blood group biosynthesis // Nat. Struct. Biol.* – 2002. – Vol. 9. – P. 685-690.
13. Lee H.J., Barry C.H., Borisova S.N., et al. *Structural basis for the inactivity of human blood group O<sup>2</sup> glycosyltransferase // J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280. – P. 525-529.
14. Storry J.R., Carter V., Helberg A., et al. *Pre-transplantation confirmatory ABO genotyping reveals a novel non-deletional O allele // Vox Sang.* – 2008. – Vol. 95, Suppl 1. – P. 178.
15. Cherif-Zahar B., Bloy C., Le Van Kim, et al. *Molecular cloning and protein structure of a human blood group Rh polypeptide // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1990. – Vol. 87. – P. 6243-6247.
16. Avent N.D., Ridgwell K., Tanner M.J.A., et al. *cDNA cloning of a 30 kDa erythrocyte membrane protein associated with Rh (Rhesus)-blood-group-antigen expression // Biochem. J.* – 1990. – Vol. 271, №3. – P. 821-825.
17. Le Van Kim C., Mouro I., Cherif-Zahar B., et al. *Molecular cloning and primary structure of the human blood group RhD polypeptide // Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1992. – Vol. 89. – P. 10925-10929.
18. Kajii E., Umenishi F., Iwamoto S., et al. *Isolation of a new cDNA clone encoding an Rh polypeptide associated with the Rh blood group system // Hum. Genet.* – 1993. – Vol. 91. – P. 157-162.
19. Arce M.A., Thompson E.S., Wagner S., et al. *Molecular cloning of RhD cDNA derived from a gene present in Rh-positive, but not Rh-negative individuals // Blood.* – 1993. – Vol. 82. – P. 651-655.
20. Wiener A.S. *The Rh series of allelic genes // Science.* – 1944. – Vol. 100. – P. 595-597.
21. Fisher R.A., Race R.R. *An "incomplete" antibody in human serum // Nature.* – 1944. – Vol. 153. – P. 771-772.
22. Mouro I., Colin Y., Cherif-Zahar B., et al. *Molecular genetic basis of the human Rhesus blood group system // Nat. Genet.* – 1993. – Vol. 5. – P. 62-65.
23. Smythe J.S., Avent N.D., Judson P.A., et al. *Expression of RHD and RHCE gene products using retroviral transduction of K562 cells establishes the molecular basis of Rh blood group antigens // Blood.* – 1996. – Vol. 87, №7. – P. 2968-2973.
24. Colin Y., Cherif-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. – Vol. 78. – P. 2747-2752.
25. Singleton B.K., Green C.A., Avent N.D., et al. *The presence of an RHD pseudogene containing a 37 base pair duplication and a nonsense mutation in Africans with the RhD negative blood group phenotype // Blood.* – 2000. – Vol. 95. – P. 12-18.
26. Yan L., Wu J., Zhu F., et al. *Molecular basis of D variants in Chinese persons // Transfusion.* – 2007. – Vol. 47. – P. 471-477.
27. Bowman J. *Thirty-five years of Rh prophylaxis // Transfusion.* – 2003. – Vol. 43. – P. 1661-1666.
28. Zucker M., Zivelin A., Teitel J., et al. *Induction of an inhibitor to factor XI in a patient with severe inherited factor XI deficiency by Rh immune globulin // Blood.* – 2008. – Vol. 111. – P. 1309-1308.
29. Lo Y.M.D., Corbetta N., Chamberlain P.F., et al. *Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum // Lancet.* – 1997. – Vol. 350. – P. 485-487.
30. Daniels G.L., Finning K., Martin P., et al. *Fetal blood group typing. Present and future // Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2006. – Vol. 1075. – P. 88-95.
31. Van der Schoot C.E., Soussan A.A., Koelewijn J., et al. *Non-invasive antenatal RHD typing // Transf. Clin. Biol.* – 2006. – Vol. 13. – P. 53-57.
32. Finning K., Martin P., Summers J., et al. *Effect of high throughput RHD typing of fetal DNA in maternal plasma on use of anti-RhD immunoglobulin in RhD negative pregnant women: prospective feasibility study // BMJ.* – 2008. – Vol. 336. – P. 816-818.
33. Finning K., Martin P., Summers J., et al. *Fetal genotyping for the K(Kell) and Rh C.c and E blood groups on cell-free fetal DNA in maternal plasma // Transfusion.* – 2007. – Vol. 47. – P. 2126-2133.
34. Anstee D.J. *Goodbye to agglutination and all that? // Transfusion.* – 2005. – Vol. 45. – P. 652-653.

35. Westhoff C.M. *Molecular genotyping for RHD: what (not) to do?* // *Transfusion*. – 2007. – Vol. 47. – P. 1337-1339.
36. Daniels G.L., Poole G., Poole J. *Partial D and weak D: can they be distinguished?* // *Transfus. Med.* – 2007. – Vol. 17. – P. 145-146.
37. Klein H.G., Anstee D.J. *Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine // 11th Ed. Oxford, United Kingdom: Blackwell Publishing.* – 2005. – P. 496-545.
38. Castilho L., Rios M., Rodrigues A., et al. *High frequency of partial DIIIa and DAR alleles found in sickle cell patients suggests increased risk of alloimmunization to RhD* // *Transfus. Med.* – 2005. – Vol. 15. – P. 49-55.
39. Lee S. *The value of DNA analysis for antigens of the Kell and Kx blood group systems* // *Transfusion*. – 2007. – Vol. 47. – P. 32S-39S.
40. Caine M.E., Mueller-Heubach E. *Kell sensitization in pregnancy* // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1986. – Vol. 154. – P. 85-90.
41. Finning K., Martin P., Summers J., et al. *Fetal genotyping for the K(Kell) and Rh C.c and E blood groups on cell-free fetal DNA in maternal plasma* // *Transfusion*. – 2007. – Vol. 47. – P. 2126-2133.
42. Chaudhuri A., Polyakova J., Zbrzezna V., et al. *Cloning of glycoprotein D cDNA, which encodes the major subunit of the Duffy blood group system and the receptor for Plasmodium vivax malaria parasite* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1993. – Vol. 90. – P. 10793-10797.
43. Iwamoto S., Li J., Omi T., et al. *Identification of a novel exon and spliced form of Duffy mRNA that is the predominant transcript in both erythroid and postcapillary venule endothelium* // *Blood*. – 1996. – Vol. 87. – P. 378-385.
44. Mallinson G., Soo K.S., Schall T.J., et al. *Mutations in the erythrocyte chemokine receptor (Duffy) gene: the molecular basis of the Fy<sup>a</sup>/Fy<sup>b</sup> antigens and identification of a deletion in the Duffy gene of an apparently healthy individual with the Fy(a-b-) phenotype* // *Br. J. Haematol.* – 1995. – Vol. 90. – P. 823-829.
45. Castilho L. *The value of DNA analysis for antigens in the Duffy blood group system* // *Transfusion*. – 2007. – Vol. 47. – P. 28S-31S.
46. Gubin A.N., Njoroge J.M., Wojda U., et al. *Identification of the Dombrock blood group glycoprotein as a polymorphic member of the ADP-ribosyltransferase gene family* // *Blood*. – 2000. – Vol. 96, №7. – P. 2621-2627.
47. Smith B.L., Preston G.M., Spring F.A., Anstee D.J., Agre P. *Human red cell Aquaporin CHIP I. Molecular characterization of ABH and Colton blood group antigens* // *J Clin Invest.* – 1994. – Vol. 94. – P. 1043-1049.
48. Anstee D.J. *Red cell genotyping and the future of pretransfusion testing* // *Blood*. – 2009. – Vol. 114, №2. – P. 248-56.
49. Burton N.M., Anstee D.J. *Structure, function and significance of Rh proteins in red cells* // *Curr. Opin. Hematol.* – 2008. – Vol. 15. – P. 625-630.

## REFERENCES

1. Dunbar N.M., Ornstein D.L., Dumont L.J. *ABO incompatible platelets: risks versus benefit. Current opinion in hematology*, 2012, vol. 19, no. 6, pp. 475-479.
2. Berseus O., Boman K., Nessen S.C., Westerberg L.A. *Risks of hemolysis due to anti-A and anti-B caused by the transfusion of blood or blood components containing ABO-incompatible plasma. Transfusion*, 2013, vol. 53, suppl 1, pp. 114S-123S.
3. Izetbegovic S. *Occurrence of ABO and RhD Incompatibility with Rh Negative Mothers. Materia socio-medica*, 2013, vol. 25, no. 4, pp. 255-258.
4. Koloskov A. *Kak povysit immunologicheskuyu bezopasnost gemotransfuzionnoy terapii?[How to increase the immunological safety of transfusion therapy?]. Meditsinskaya gazeta. Nauka i praktika - Medical Newspaper. Science and Practice*, 2006, 27 oct. no. 82, pp. 12-15.
5. Daniels G.L., Fletcher A., Garratty G., et al. *Blood group terminology 2004: from the International Society of Blood Transfusion committee on terminology for red cell surface antigens. Vox Sang*, 2004, vol. 87, pp. 304-316.
6. Daniels G.L., Flegel W.A., Fletcher A., et al. *International Society of Blood Transfusion Committee on Terminology for Red Cell Surface Antigens: Cape Town report. Vox Sang*, 2007, vol. 92, pp. 250-253.
7. Lin M. *Taiwan experience suggests that RhD typing for blood transfusion is unnecessary in southeast Asian populations. Transfusion*, 2006, vol. 46, no. 1, pp. 95-98.
8. Chapman J.F., Milkins C., Voak D. *The computer crossmatch: a safe alternative to the serological crossmatch. Transfus Med*, 2000, vol. 10, pp. 251-256.
9. Vichinsky E.P., Earles A., Johnson R.A., et al. *Alloimmunization in sickle-cell anemia and transfusion of racially unmatched blood. N Engl J Med.*, 1990, vol. 322, pp. 1617-1621.

10. Josephson C.D., Su L.L., Hillyer K.L., et al. Transfusion in the patient with sickle cell disease. A critical review of the literature and transfusion guidelines. *Transfus Med Rev*, 2007, vol. 21, pp. 118-133.
11. Yamamoto F., Clausen H., White T., et al. Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. *Nature*, 1990, vol. 345, pp. 229-233.
12. Patenaude S.I., Seto NOL, Borisova S.N., et al. The structural basis for specificity in human ABO(H) blood group biosynthesis. *Nat Struct Biol.*, 2002, vol. 9, pp. 685-690.
13. Lee H.J., Barry C.H., Borisova S.N., et al. Structural basis for the inactivity of human blood group O<sup>2</sup> glycosyltransferase. *J Biol Chem.*, 2005, vol. 280, pp. 525-529.
14. Storry J.R., Carter V., Helberg A., et al. Pre-transplantation confirmatory ABO genotyping reveals a novel non-deletional O allele. *Vox Sang*, 2008, vol. 95, suppl 1, pp. 178.
15. Cherif-Zahar B., Bloy C., Le Van Kim, et al. Molecular cloning and protein structure of a human blood group Rh polypeptide. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, vol. 87, pp. 6243-6247.
16. Avent N.D., Ridgwell K., Tanner M.J.A., et al. cDNA cloning of a 30 kDa erythrocyte membrane protein associated with Rh (Rhesus)-blood-group-antigen expression. *Biochem J.*, 1990, vol. 271, no. 3, pp. 821-825.
17. Le Van Kim C., Mouro I., Cherif-Zahar B., et al. Molecular cloning and primary structure of the human blood group RhD polypeptide. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, vol. 89, pp. 10925-10929.
18. Kajii E., Umenishi F., Iwamoto S., et al. Isolation of a new cDNA clone encoding an Rh polypeptide associated with the Rh blood group system. *Hum Genet*, 1993, vol. 91, pp. 157-162.
19. Arce M.A., Thompson E.S., Wagner S., et al. Molecular cloning of RhD cDNA derived from a gene present in Rh-positive, but not Rh-negative individuals. *Blood*, 1993, vol. 82, pp. 651-655.
20. Wiener A.S. The Rh series of allelic genes. *Science*, 1944, vol. 100, pp. 595-597.
21. Fisher R.A., Race R.R. An "incomplete" antibody in human serum. *Nature*, 1944, vol. 153, pp. 771-772.
22. Mouro I., Colin Y., Cherif-Zahar B., et al. Molecular genetic basis of the human Rhesus blood group system. *Nat Genet*, 1993, vol. 5, pp. 62-65.
23. Smythe J.S., Avent N.D., Judson P.A., et al. Expression of RHD and RHCE gene products using retroviral transduction of K562 cells establishes the molecular basis of Rh blood group antigens. *Blood*, 1996, vol. 87, no. 7, pp. 2968-2973.
24. Colin Y., Cherif-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, vol. 78, pp. 2747-2752.
25. Singleton B.K., Green C.A., Avent N.D., et al. The presence of an RHD pseudogene containing a 37 base pair duplication and a nonsense mutation in Africans with the RhD negative blood group phenotype. *Blood*, 2000, vol. 95, pp. 12-18.
26. Yan L., Wu J., Zhu F., et al. Molecular basis of D variants in Chinese persons. *Transfusion*, 2007, vol. 47, pp. 471-477.
27. Bowman J. Thirty-five years of Rh prophylaxis. *Transfusion*, 2003, vol. 43, pp. 1661-1666.
28. Zucker M., Zivelin A., Teitel J., et al. Induction of an inhibitor to factor XI in a patient with severe inherited factor XI deficiency by Rh immune globulin. *Blood*, 2008, vol. 111, pp. 1309-1308.
29. Lo Y.M.D., Corbetta N., Chamberlain P.F., et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet*, 1997, vol. 350, pp. 485-487.
30. Daniels G.L., Finning K., Martin P., et al. Fetal blood group typing. Present and future. *Ann NY Acad Sci*, 2006, vol. 1075, pp. 88-95.
31. Van der Schoot C.E., Soussan A.A., Koelewijn J., et al. Non-invasive antenatal RHD typing. *Transf Clin Biol.*, 2006, vol. 13, pp. 53-57.
32. Finning K., Martin P., Summers J., et al. Effect of high throughput RHD typing of fetal DNA in maternal plasma on use of anti-RhD immunoglobulin in RhD negative pregnant women: prospective feasibility study. *BMJ*, 2008, vol. 336, pp. 816-818.
33. Finning K., Martin P., Summers J., et al. Fetal genotyping for the K(Kell) and Rh C.c and E blood groups on cell-free fetal DNA in maternal plasma. *Transfusion*, 2007, vol. 47, pp. 2126-2133.
34. Anstee D.J. Goodbye to agglutination and all that? *Transfusion*, 2005, vol. 45, pp. 652-653.
35. Westhoff C.M. Molecular genotyping for RHD: what (not) to do? *Transfusion*, 2007, vol. 47, pp. 1337-1339.
36. Daniels G.L., Poole G., Poole J. Partial D and weak D: can they be distinguished? *Transfus Med*, 2007, vol. 17, pp. 145-146.
37. Klein H.G., Anstee D.J. *Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine*. 11th Ed. Oxford, United Kingdom: Blackwell Publishing, 2005, pp. 496-545.
38. Castilho L., Rios M., Rodrigues A., et al. High frequency of partial DIIIa and DAR alleles found in sickle cell patients suggests increased risk of alloimmunization to RhD. *Transfus Med*, 2005, vol. 15, pp. 49-55.

39. Lee S. *The value of DNA analysis for antigens of the Kell and Kx blood group systems. Transfusion, 2007, vol. 47, pp. 32S-39S.*
40. Caine M.E., Mueller-Heubach E. *Kell sensitization in pregnancy. Am J Obstet Gynecol, 1986, vol. 154, pp. 85-90.*
41. Finning K., Martin P., Summers J., et al. *Fetal genotyping for the K(Kell) and Rh C.c and E blood groups on cell-free fetal DNA in maternal plasma. Transfusion, 2007, vol. 47, pp. 2126-2133.*
42. Chaudhuri A., Polyakova J., Zbrzezna V., et al. *Cloning of glycoprotein D cDNA, which encodes the major subunit of the Duffy blood group system and the receptor for Plasmodium vivax malaria parasite. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, vol. 90, pp. 10793-10797.*
43. Iwamoto S., Li J., Omi T., et al. *Identification of a novel exon and spliced form of Duffy mRNA that is the predominant transcript in both erythroid and postcapillary venule endothelium. Blood, 1996, vol. 87, pp. 378-385.*
44. Mallinson G., Soo K.S., Schall T.J., et al. *Mutations in the erythrocyte chemokine receptor (Duffy) gene: the molecular basis of the Fy<sup>a</sup>/Fy<sup>b</sup> antigens and identification of a deletion in the Duffy gene of an apparently healthy individual with the Fy(a-b-) phenotype. Br J Haematol, 1995, vol. 90, pp. 823-829.*
45. Castilho L. *The value of DNA analysis for antigens in the Duffy blood group system. Transfusion, 2007, vol. 47, pp. 28S-31S.*
46. Gubin A.N., Njoroge J.M., Wojda U., et al. *Identification of the Dombrock blood group glycoprotein as a polymorphic member of the ADP-ribosyltransferase gene family. Blood, 2000, vol. 96, no. 7, pp. 2621-2627.*
47. Smith B.L., Preston G.M., Spring F.A., Anstee D.J., Agre P. *Human red cell Aquaporin CHIP I. Molecular characterization of ABH and Colton blood group antigens. J Clin Invest, 1994, vol. 94, pp. 1043-1049.*
48. Anstee D.J. *Red cell genotyping and the future of pretransfusion testing. Blood, 2009, vol. 114, no. 2, pp. 248-56.*
49. Burton N.M., Anstee D.J. *Structure, function and significance of Rh proteins in red cells. Curr Opin Hematol, 2008, vol. 15, pp. 625-630.*

## ТҮЙІН

Қан топтары антигенінің қалыптасуының генетикалық ерекшеліктерін зерттеу 20 жыл бұрын басталды. Осы уақыт ішінде қан топтарын анықтаудың алуан-түрлі молекулалы-генетикалық әдістері ұсынылды. Генетикалық тәсілді қолданудың ең маңызды артықшылығы жүктілік кезіндегі ұрықтың гемолитикалық ауруының даму ықтималдылығымен ілесе жүретін ұрықтың қан тобын анықтау болды. Сонымен қатар міндетті серологиялық талдау кезінде генетикалық тестілеу жүргізу реципиент үшін міндетті процедура болып табылады. Дегенмен фенотипті нақтылау үшін ДНҚ-технологияны қолдану аллоиммунизацияға бейім, мысалы, анемиядан зардап шеккен науқастар үшін донор қанын нақтылау таңдап алуда көмектесе алады. Осымен бірге, эритроцитарлы антигендердің экспрессиясына жауапты локустардың генетикалық құрылымын анықтау иммуногематологиялық зерттеулерді орындау кезіндегі объективті қиыншылықтармен байланысты қан топтарын анықтаудағы қателіктерден құрылуға мүмкіндік береді. Сондықтан, эритроциттік антигендер генінің аллельдеріне генетикалық тестілеу жүргізу қан тобын стандартты әдіспен анықтау кезіндегі даулы жағдайлары туындағанда қан құю орталықтарында талап етілетін болады.

**Кілтті сөздер:** қан топтары, резус, аллоиммунизация, ДНҚ-тестілеу, трансфузиология, анемия.