

DOI: 10.26693/jmbs05.05.045

УДК 615.38.39+615.373

Павлюк Р. П.

## СЕРОЛОГІЧНО СЛАБКИЙ D-ФЕНОТИП: ОГЛЯД ТА ІНТЕРПРЕТАЦІЯ ГРУПИ КРОВІ RhD

ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України», Київ, Україна

raisa.pvl@gmail.com

Система Резус є другою за ступенем важливості для трансфузіології еритроцитарною системою після АВО. Точне визначення резус-статусу донора, реципієнта, вагітної дозволяє попередити розвиток посттрансфузійних ускладнень і гемолітичної хвороби у плода або новонародженого, пов'язаної з несумісністю крові матері і плоду по D антигену. Визначення резус-належності людини виконують, як правило, серологічними методами з використанням анти-резус реагентів з повними (IgM) або неповними (IgG) антитілами. Однак, результати серологічних досліджень не завжди однозначні. Мутації та інші впливи на генний локус *RH* порушують продукцію нормального D антигену і призводять до виникнення численних різновидів антигену D.

У 1946 р. був описаний варіант антигену D, який позначили як D<sup>u</sup>. Було показано, що відмінності D<sup>u</sup> антигену від нормального D носять кількісний, а не якісний характер. Антигеном D<sup>u</sup> пізніше стали позначати серологічно слабкий D-антиген або D-фенотип (D<sup>weak</sup>). На початку 50-х років були виявлені анти-D антитіла у реципієнтів зі слабким D-антигеном після переливання їм резус-позитивної крові і у вагітних з фенотипом D<sup>u</sup> під час вагітності та при народженні D-позитивної дитини. Висловлено припущення, що антиген D не є однорідним і складається з численних часткових варіантів: D1, D2, D3 і т. п. Повний набір парціальних варіантів відповідає повноцінному D-антигену. Відсутність будь-якого одного або декількох парціальних чинників призводить до появи ослаблених форм антигену D, що позначаються як D<sup>partial</sup>. Особи, позбавлені певних парціальних антигенів, можуть виробляти по відношенню до них анти-D антитіла. Диференціація слабких фенотипів D має велике клінічне значення, тому що переливання Rh- еритроцитів реципієнтам з D<sup>weak</sup>, які фактично є резус-позитивними, не має під собою наукового підґрунтя і веде до невиправданої витрати дефіцитної крові і непотрібної імунопрофілактики анти-резус імуноглобуліном вагітним.

У світовій лабораторній практиці немає єдиної політики щодо діагностики слабких варіантів D антигену і інтерпретації отриманих результатів. Полімеразна ланцюгова реакція на основі визначення генотипу *RHD* дозволяє точно встановити резус-статус індивіда і уникнути необґрунтованих

переливань резус-негативних еритроцитів резус-позитивним реципієнтам і непотрібної імунопрофілактики антирезус-імуноглобуліном резус-позитивним вагітним.

**Ключові слова:** RhD група крові, серологічно слабкий D фенотип, трансфузія еритроцитів, резус-профілактика.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Роботу виконано в межах НДР ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України» «Розробити заходи профілактики імунологічних ускладнень при проведенні гемотрансфузійної терапії», № державної реєстрації 0113U000461.

**Вступ.** Початок двадцятого століття ознаменувався великими досягненнями, які заклали наукові основи імунологічної безпеки переливання крові – це відкриття у 1900 році груп крові АВО, а в 1940 – резус-фактора людини. Значення цих двох відкриттів імуносерологічної школи Ландштейнера для медицини і біології неможливо переоцінити. Завдяки їм клінічна практика збагатилася новими методами діагностики, профілактики і лікування синдромів, зумовлених груповими факторами крові, а трансфузіологія, акушерство, судова медицина, генетика, антропологія отримали істотний стимул для розвитку [1, 2].

Якщо уявлення про систему АВО залишаються майже незмінними, то знання про систему Резус (Rh), з часу відкриття і по сьогодні, збагачуються все новими даними [3].

З клінічної точки зору система груп крові Rh є найбільш важливою із 36 систем крові після АВО. Серед 59 антигенів системи Rh антиген RhD є найбільш імуногенним і значущим у клінічній практиці [4].

За наявністю антигену D на поверхні еритроцитів, усі люди – реципієнти переливань крові і донори крові – поділяються на дві категорії – RhD-позитивні (D+) і RhD-негативні (D-). При цьому 85% європейців є резус-позитивними, а 15% – резус-негативними, серед африканців резус-негативних осіб лише 8%, а серед населення Азії – 1% [5].

Висока імуногенність D антигену зумовлює необхідність чіткого встановлення резус-статусу індивіда, по-перше, через здатність ініціювати вироблення анти-D антитіл резус-негативною жінкою,

які при наступних вагітностях резус-позитивним плодом можуть спричинити його хворобу або загибель через розвиток гемолітичної хвороби плоду чи новонародженого; по-друге, через формування анти-D антитіл у RhD-негативної особи після трансфузії D+ еритроцитів, що виключає у майбутньому переливання йому RhD+ крові в умовах надзвичайних ситуацій.

Визначення резус-належності людини виконують, зазвичай, серологічними методами із використанням анти-резус реагентів з повними (IgM) або неповними (IgG) антитілами. Однак результати серологічних досліджень не завжди однозначні. Мутації та інші впливи на генний локус *RH* порушують продукцію нормального D антигену і призводять до виникнення численних різновидів антигену D, що впливає на результати дослідження.

Характеристики антигену D мають важливе значення, оскільки саме від них залежить його імуногенність і, відповідно, клінічне значення [6].

У 1946 р. Stratton описав [7] варіант антигену D системи резус, який позначив як фенотип D<sup>u</sup>. Цей антиген слабо реагував із сироватками анти-D, не аглютинувався повними IgM анти-D-антитілами, але показував позитивний результат з IgG-антитілами в непрямому антиглобуліновому тесті (НАГТ), і майже у 98% випадків одночасно з ним виявлявся антиген C [8]. З часом було показано відмінності між антигеном D і D<sup>u</sup>, які мають кількісний, а не якісний характер.

D<sup>u</sup> не має власної антигенної специфічності, чим відрізняється від D, проте передається у спадок кодомінантно, як D і всі інші групові антигени. Після трансфузії D<sup>u</sup>-позитивних еритроцитів, у резус-негативних хворих виробляються антитіла зі специфічністю анти-D. Антитіла анти-D можуть бути повністю видалені з сироватки адсорбцією еритроцитами D<sup>u</sup>, але неможливо диференціальною адсорбцією розділити сироватку анти-D на анти-D і анти-D<sup>u</sup>. Чистих анти-D<sup>u</sup> антитіл не виділено. У сукупності всі ці ознаки свідчать про те, що антиген D<sup>u</sup> є результатом генної мутації або модифікації гену *D*, яка не є автономною і відбивається лише на кількості синтезованого антигенного субстрату, не зачіпаючи його специфічних властивостей [1].

Молекулярно-біологічні дослідження осіб із слабким D-фенотипом встановили типове для *RHD*-гена послідовність матричної РНК з нормальною промоторною ділянкою. Однак порівняльні дослідження за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) показали, що кількість *RHD*-специфічного транскрипту у осіб із слабким D зменшена. Низька експресія D-антигену при слабкому фенотипі D зумовлена не мутаціями у

кодуючій послідовності *RHD*-гена, а зменшенням активності матричної РНК [8, 9].

У 1992 р антиген D<sup>u</sup> перейменували в антиген weak D, тобто первісне позначення D<sup>u</sup>, дане Stratton, було замінено загальним поняттям «слабкий D-антиген», або «слабкий D-фенотип», D<sup>weak</sup> і рекомендовано виключити термін D<sup>u</sup> із вживання [10], але воно зустрічається і до цього часу, особливо у лабораторній практиці.

Пізніше були розроблені нові лабораторні методи, що дозволили визначати генотипи *RHD* виявлених при серологічних дослідженнях слабких D-фенотипів і стали позначати їх, вводячи термінологію для генотипування *RHD*, як «слабкий D тип 1», «слабкий D тип 2» і т.д., що легко було сплутати з позначенням «слабкий D», введеним у 1992 р. У 2015 році Американською асоціацією банків крові (AABB) і Коледжем американських патологів (CAP) були опубліковані рекомендації, в яких пропонувалось використовувати термін «серологічно слабкий D-фенотип» для слабого D, тестування якого проводилось в клінічних лабораторіях серологічними методами з використанням анти-людського глобуліну, на відміну від результатів генотипування *RHD* для слабких D-типів на основі молекулярних методів [11, 12].

У даний час описано понад 80 варіантів слабого D антигену. Чисельність варіантів слабого D антигену зумовлюється амінокислотними замінами в основному у трансмембранній і внутрішньоклітинній частинах білкової молекули антигену RhD через мутації в гені *RHD* [13].

За даними різних авторів кількість антигенних ділянок на еритроцитах зі слабким D знижена у середньому до 5-10% від нормального рівня [14]. Вважається, що кількість антигену D на 1 еритроциті у осіб з weak D варіює від 60 до 3800, в той час як у пацієнтів з «нормальним» D – 13 000-24 000 [15].

При дуже слабкій виразності антигену D, його виявляють тільки непрямую антиглобуліновою пробою, але коли на поверхні еритроцита є не менше 500 D-антигенних ділянок – критична кількість, що забезпечує чутливість методу [1].

Сучасні моноклональні реагенти анти-D аглютинують більшість зразків крові, які раніше при використанні поліклональних сироваток були б віднесені до слабого D-типу. Серед описаних типів слабого D-фенотипу найпоширенішими є 1, 2 і 3 типи, що мало відрізняються від нормального D антигену, і осіб із слабким D-фенотипом відносять до RhD-позитивних [13].

Ще однією ознакою, що відрізняє фенотип D weak від D, є присутність на цих еритроцитах приблизно в 98% випадків сильно вираженого антигену C та/або E [13].

Знижена експресія D антигену зустрічається в європейській популяції з частотою від 0,2% до 1% [16-20].

Незабаром після відкриття  $D^u$  з'явилися повідомлення, що трансфузія еритроцитів із слабким D реципієнту D- можуть викликати у нього продукцію анти-D антитіл [21].

Ці спостереження свідчать про імуногенність  $D^u$ , тому людей зі слабким D-антигеном прийнято відносити до D-, якщо вони є реципієнтами, а якщо вони є донорами, то їх враховують як резус-позитивних і їх еритроцити переливають тільки резус-позитивним хворим. Що стосується вагітних із серологічно слабким фенотипом D, то немає однозначної думки щодо застосування імуноглобуліну анти-D з профілактичною метою. Kopugres A. із співавт. [22] вважають, що його не слід призначати, по-перше, у зв'язку з рідкістю такої сенситивізації, а, по-друге, через те, що введений препарат швидше за все адсорбується на еритроцитах жінки і не виконає очікуваної захисної функції.

На початку 50-х років були виявлені анти-D антитіла у реципієнтів зі слабким D-антигеном після переливання їм резус-позитивної крові з нормально вираженим антигеном D і у вагітних з фенотипом  $D^u$  під час вагітності і при народженні D-позитивної дитини [23]. Пізніше ряд авторів [24, 25] також повідомили про хворих з нормальним або ослабленим антигеном D, у яких виявили анти-D-антитіла.

Описаний феномен довгий час залишався незрозумілим, чому у сироватці крові осіб із слабким D-антигеном, можуть бути присутніми антитіла анти-D, якщо слабкий D-антиген має кількісну, а не якісну відмінність від звичайного D-антигену. Тоді було висловлено припущення, що антиген D не є однорідним і складається з численних парціальних варіантів:  $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$  і т. п. Повний набір парціальних варіантів відповідає повноцінному D-антигену. Відсутність будь-якого парціального фактора або одночасно декількох факторів призводить до появи ослаблених форм антигену D (що позначаються як  $D^{partial}$ ), а особи, які позбавлені певних парціальних антигенів, можуть виробляти по відношенню до них анти-D антитіла. У свою чергу сироватки анти-D, на думку Pietrusky, також можуть містити окремо або в різних комбінаціях антитіла анти- $D_1$ , анти- $D_2$ , анти- $D_3$  і т. п., через що еритроцити зі слабким D по-різному реагують із набором сироваток анти-D. Деякі зразки таких еритроцитів аглютинуються одними і слабо або зовсім не аглютинуються іншими сироватками, показуючи велику різноманітність форм [26].

Таким чином, стало зрозумілим, у яких саме осіб із слабким D-антигеном можуть з'являтися анти-D антитіла. А саме: особи, чий слабкий

D-фенотип ( $D^{weak}$ ) зумовлений генною інгібіцією поліпептиду D (позиція *транс* гена *RHC*), або відповідним алельним геном, не можуть виробляти анти-D-антитіла, оскільки містять усі епітопи D-антигену, хоча і в ослабленій формі. Антитіла анти-D (парціальні) можуть виробляти лише ті люди, чий фенотип слабого D ( $D^{partial}$ ) зумовлений відсутністю декількох важливих для експресії антигену D епітопів. Подібні варіанти антигену правильніше відносити до групи парціальних D-антигенів, а не до категорії слабких D-фенотипів (раніше  $D^u$ ). Таке розмежування принципово важливе для оцінки значення цих двох груп антигенів у трансфузіології, оскільки специфічні антитіла до парціальних антигенів D є реальністю, а антитіла до слабого D-антигену до цих пір не знайдені.

Ряд дослідників після низки проведених молекулярних досліджень дійшли висновку, що немає чітко визначеної межі між слабким D та частковим D. Так [27] показали, що антигени weak D type 4 і DAR є варіантами антигену D з ідентичним фенотипом і майже ідентичним генотипом, хоч 1-й відносять до слабого варіанту антигену D, а 2-й – до парціального антигену D.

Серед парціальних форм D антигену надзвичайно важливе клінічне значення має антиген  $D^{VI}$ , який займає одне із перших місць за частотою серед варіантних форм антигену D, характеризується найбільшою кількістю відсутніх епітопів, і особи, які його мають, можуть утворювати алоантитіла не лише до нормального антигену D, але і до інших форм  $D^{partial}$ . Зважаючи на такі особливості антигену  $D^{VI}$ , особам, які його мають, задля запобігання індукції синтезу алоімунних антитіл, показана трансфузія D-негативної крові. Особам же з іншими варіантами  $D^{partial}$  для гемотрансфузії, як вважають деякі автори [28], може застосовуватися D-позитивна кров, так як вони мають меншу структурну відмінність від нормального антигену D, а також через надзвичайно низьку частоту цих антигенів, особливо серед європеїдного населення. За даними Wagner і співавт. антиген D категорії VI виявлявся з частотою 0,02 % серед 70 тис. обстежених жителів Південно-Західної Німеччини [ 29].

У 1984 г. Okubo і співавт. виявили, що еритроцити деяких японських донорів не аглютинуються поліклональними сироватками анти-D і моноклональними антитілами анти-D в антиглобуліновому тесті, однак адсорбують на себе деяку кількість анти-D антитіл. Антитіла виявляли в елюатах, знятих з цих еритроцитів після адсорбції сироваток. Фенотип таких еритроцитів отримав позначення Del (elution). Обстеження 172 222 донорів Гонконга (китайців) показало, що серед 0,29% осіб, які за результатами серологічного дослідження типува-

лись як D-, одна третина, тобто 0,09% від усієї популяції, мали фенотип Del [30].

Виявлення гаплотипу *Cde* у деяких людей з еритроцитами Del стало підставою для припущення, що фенотип Del – це продукт гена *D'*, супресованого локусом *C* в положенні *транс* [31].

У Китаї приблизно від 20% до 30% RhD-негативних осіб носять D варіант, названий «тип Азії» DEL6,7,19 [32]. У не монголоїдних популяціях фенотип Del поки що не описаний.

Р. С. Сахаров і співав. [33] обробляли висохлі плями крові резус-позитивних і резус-негативних осіб (жителів м. Москва) анти-D-антитілами і потім порівнювали отримані елюати. Виявилось, що висохла кров резус-негативних осіб адсорбує резус-антитіла так само як і резус-позитивних. Елюати з резус-негативної і резус-позитивної крові мали практично однакову активність. Автори вважають, що резус-антиген присутній не тільки в осіб Rh+, але в невеликій кількості і в осіб Rh-. На їхню думку, у резус-негативних людей епітопи D розташовуються в еритроцитах не позаклітинно, як у резус-позитивних, а ендоцелюлярно. Навряд чи можна зробити висновок, що Rh- жителі Москви мають фенотип Del, хоча і не можна виключити, що якась частина людей в російській популяції є носієм цього рідкісного фенотипу. Цей феномен залишається поки невивченим, оскільки Rh-антигени експресовані на внутрішньоклітинній стороні мембрани еритроцитів.

Варіантні антигени DEL (раніше D el) експресують D-антиген, який занадто слабкий, щоб його можна було виявити звичайними серологічними методами. Але переливання еритроцитів DEL RhD-негативним реципієнтам стимулює утворення у них анти-D антитіл. Реципієнти з повним фенотипом DEL не утворюють анти-D антитіл після переливання D+ еритроцитів [34]. Дослідження 160 індивідів DEL показало, що 97,5% з них були позитивними щодо антигену C, що демонструє можливість кореляцію між антигеном C та фенотипом DEL [31].

Таким чином, у повсякденній імуногематологічній практиці слабкий фенотип D визначається серологічними методами по відсутності або формуванню дрібної аглютинації досліджуваних еритроцитів з анти-D-реагентами на площині і за позитивним результатом НАГТ, в якій аглютинація еритроцитів формується з тимчасовим відставанням порівняно з позитивним контролем, а у реакції сольової аглютинації досліджувані еритроцити реагують з анти-D реагентом у більш низькому титрі порівняно зі стандартними D-позитивними еритроцитами. Але серологічні методи не дозволяють визначити тип антигену weak D. Це можна зробити тільки за допомогою молекулярних досліджень.

Серед безлічі варіантів слабого D фенотипу прийнято виділяти 3 основних:

- слабкий антиген D - D<sup>weak</sup> (його кількість на еритроциті знижена, особи з D<sup>weak</sup> не виробляють анти-D антитіла у відповідь на стимуляцію D+ еритроцитами після трансфузії або вагітності, для визначення слабого антигену D застосовують непрямий антиглобуліновий тест);
- парціальний - D<sup>partial</sup>, у якого відсутній будь-який з епітопів (особи з таким антигеном D можуть виробляти антитіла до відсутніх у них епітопів, ідентифікують тип D<sup>partial</sup> за допомогою панелі МКА);
- DEL. Еритроцити з антигеном DEL зазвичай ідентифікують як RhD-негативні при використанні серологічних методів [35].

Частота кумулятивного фенотипу цих варіантів D може наблизитися до 1% у певних регіонах Європи. Однозначна та чітка ідентифікація варіантів D має важливе клінічне значення, що впливає на стратегію трансфузії.

У 2015 році Sandler із співавторами [12] опублікували результати опитування понад 3100 американських лабораторій щодо їх політики та процедур тестування серологічно слабких D-фенотипів і відмітили, що у США відсутня стандартна практика виявлення і інтерпретації слабого D-антигену. Так, у деяких лабораторіях людина із серологічно слабким фенотипом D, особливо якщо це донор крові, враховується як RhD-позитивний. У тій же чи інших лабораторіях, якщо серологічно слабкий фенотип D виявлений у жінки репродуктивного віку, її, швидше за все, будуть враховувати як RhD-негативну в разі потреби переливання крові, і якщо вона вагітна, вважатиметься кандидатом для профілактики анти-D-імуноглобуліном.

Більшість лабораторій не використовують непрямий антиглобуліновий тест для пацієнтів, у тому числі і вагітних жінок, уникаючи виявлення серологічно слабого D-фенотипу, щоб інтерпретувати таку особу як RhD-негативну. В той же час інші лабораторії виконують тест на слабкий D-антиген у тій же категорії пацієнтів.

Така лабораторна практика – не проводити тест на слабкий D для реципієнтів і вагітних жінок і/або розглядати серологічно слабкі D-фенотипи як RhD-негативні, є безпечною стратегією, оскільки вона захищає ці особи від RhD алоімунізації і формування анти-D антитіл. Однак це призводить до невиправданого переливання обмежених запасів D-негативних еритроцитів багатьом реципієнтам і непотрібним ін'єкціям анти-резус-імуноглобуліну багатьом вагітним жінкам [12]. Для донорів крові і новонароджених стандартною є практика типування RhD для встановлення серологічного варіанту слабого D, і інтерпретують їх як RhD-позитивних.



В деяких лабораторіях не використовують НАГТ для ідентифікації слабого D у реципієнтів, а підтверджують їх резус-позитивний статус на основі фенотипування, беручи до уваги спостереження, що більшість слабких фенотипів D пов'язані із специфічними гаплотипами CDE, та використовують чутливі методи гель-серологічного тестування моноклональними реагентами та селективного генотипування [36, 37].

Існує декілька типів слабого D-фенотипу, серед яких найпоширенішими є 1, 2 і 3 типи. Їх частота складає 95% у європейській популяції. Вони мало відрізняються від нормального D антигену, і особи із слабким D-фенотипом можуть бути віднесені до RhD-позитивних, про що зазначено у рекомендаціях Американської асоціації банків крові і Робочої групи Коледжу американських патологів щодо управління серологічно слабкими фенотипами D як RhD-позитивними [12]. Така політика дозволяє виключити непотрібні ін'єкції анти-D-імуноглобуліну і не використовувати RhD-негативні еритроцити для трансфузії, які завжди в дефіциті, особам, які не можуть виробляти анти-D антитіла [38]. Це підтверджують 10-річні спостереження авторів [39], які не зафіксували випадків алоімунізації та утворення алоанти-D антитіл у осіб з молекулярно підтвердженим слабким типом D 1, 2 і 3 після переливання їм D-позитивних еритроцитів. Брайович та його колеги [40] виконали генотипування зразків еритроцитів із серологічно слабким D від 18 379 пацієнтів в Аргентині і дійшли висновку, що переливання D-позитивних еритроцитів особам із слабкими типами D 1, 2 і 3, могли б безпечно зберегти більше 5% D-негативних одиниць еритроцитів.

У лабораторній практиці в Україні фенотипування серологічно слабого D-фенотипу ще не знайшло широкого застосування, не завжди використовується, навіть, НАГТ, і часто можна зустріти вживання терміну D<sup>u</sup>. Віднесення всіх реципієнтів із серологічно слабким D-фенотипом до RhD-негативних, а донорів і новонароджених до RhD-позитивних, є виправданим, але свідчить про невисокий рівень досліджень. Реципієнти *RHD*-генотипування з серологічно слабким D-фенотипом можуть зберігати запаси RhD-негативних еритроцитів без шкоди для безпеки переливання. Крім того, *RHD*-генотипування вагітних жінок при виявленні серологічно слабого D дозволить уникнути непотрібних ін'єкцій анти-резус-імуноглобуліну без шкоди для безпеки їх вагітності або плоду.

**Заключення.** Сучасні молекулярні методи дослідження дозволяють ідентифікувати рідкісні алелі генів *RHD*, продукти яких визначають серологічними методами як слабкий варіант антигену D і надають можливість оновити політику та практику тестування слабких D і інтерпретації групи крові RhD з урахуванням генотипу *RHD* і використовувати отримані результати у клінічній практиці.

**Перспективи подальших досліджень.** Планується розробити алгоритм дій при виявленні серологічно слабого D антигену у донорів і реципієнтів з включенням генотипування *RHD* слабких D-типів на основі молекулярних методів. Це дозволить оновити підходи до трактовки резус-статусу таких осіб і розробити рекомендації та методичні документи щодо трансфузійної терапії і резус-профілактики для впровадження в лікувальну практику.

## References

1. Donskov SI, Morokov VA. *Human blood types: a guide to immunoserology*. M: IP Skorokhodov; 2011. 1015 p. [Russian]
2. Shaz BH, Gil MR, Hillyer CD, Eds. *Transfusion medicine and hemostasis: clinical and laboratory aspects*. 3th ed. Elsevier; 2019. Chapter 40, Rh-immune globulin p. 247-50.
3. Golovkina LL, Kalandarov RS, Pshenichnikova OS, Surin VL, Stremoukhova AG, Pushkina TD, et al. Identification of common and new rare types of weak RhD antigen in patients with blood diseases and healthy person. *Oncohematology*. 2019; 14(3): 52-9. [Russian]
4. Storry JR, Castilho L, Chen Q, Daniels G, Denomme G, Flegel WA, et al. International society of blood transfusion working party on red cell Immunogenetics and terminology: report of the Seoul and London meetings. *ISBT Sci Ser. Author manuscript*. 2016 Aug; 11(2): 118-22.
5. Reid ME, Lomas-Francis C, Olsson M. *The Blood Group Antigen Facts Book*. 3rd ed. San Diego: Academic Press; 2012. 758 p.
6. Fanaskova EV, Gruzdeva OV, Goncharenko MV, Penskaya TYu, Kuzmina AA, Dyleva YuA, et al. Frequency of erythrocyte antigens and allosensibilization peculiarities in cardiac-surgery patients. *Practical Medicine*. 2019 Apr; 17(2): 111-6. [Russian]
7. Stratton F. A new Rh allelomorph. *Nature*. 1946 Jul; 158: 25-6.
8. Rouillac C, Gane P, Cartron J, Le Pennec PY, Cartron JP, Colin Y. Molecular basis of the altered antigenic expression of RhD in weak D (Du) and RhC/e in RN phenotypes. *Blood*. 1996 Jun; 87(11): 4853-61.

9. Beckers EA, Faas BH, Ligthart P, Overbeeke MA, Borne AE, Schoot CE, et al. Lower antigen site density and weak D immunogenicity cannot be explained by structural genomic abnormalities or regulatory defects of the RHD gene. *Transfusion*. 1997 Jun; 37(6): 616-23.
10. Agre PC, Davies DM, Issitt PD, Lamy BM, Schmidt PJ, Treasy M, et al. A proposal to standardize terminology for weak D antigen. *Transfusion*. 1992 Jan; 32(1): 86-7.
11. Sandler SG, Horn T, Keller J, Langeberg AI, Keller MA. A model for integrating molecular-based testing in transfusion services. *Blood Transfus*. 2016 Nov; 14(6): 566-72.
12. Sandler SG, Flegel WA, Westhoff CM, Denomme GA, Delaney M, Keller MA, et al. It's time to phase-in RHD genotyping for patients with a serologic weak D phenotype. *Transfusion*. 2015 Mar; 55(3): 680-9.
13. Wagner FF, Gassner C, Müller TH, Schönitzer D, Schunter F, Flegel WA. Molecular basis of weak D phenotypes. *Blood*. 1999 Jan; 93(1): 385-93.
14. Szymanski IO, Araszkiwicz P. Quantitative studies on the D antigen of red cells with the Du phenotype. *Transfusion*. 1989 Feb; 29(2): 103-5.
15. Wagner FF, Frohmajer A, Ladewig B, Eicher NI, Lonicer CB, Müller TH, et al. Weak D alleles express distinct phenotypes. *Blood*. 2000 Apr; 95(8): 2699-708.
16. Roubinet F, Apoil PA, Blancher A. Frequency of partial D phenotypes in the south western region of France. *Transfus Clin Biol*. 1996; 3(4): 247-55.
17. Müller TH, Wagner FF, Trockenbacher A, Eicher NI, Flegel WA, Schönitzer D, et al. PCR screening for common weak D types shows different distributions in three Central European populations. *Transfusion*. 2001 Jan; 41(1): 45-52.
18. Esteban R, Montero R, Flegel WA, Wagner FF, Subirana L, Parra R, et al. The D category VI type 4 allele is prevalent in the Spanish population. *Transfusion*. 2006 Apr; 46(4): 616-23.
19. Flegel WA. Blood group genotyping in Germany. *Transfusion*. 2007 Jul; 47(1 Suppl): 47S-53S.
20. Pavlyuk RP, Tymoshenko UV. Rhesus belonging identification at case of week or partial forms of D antigen and their frequency among population of Central-Ukrainian genogeographical district. *Hematology & blood transfusion: interdepartamental collection*. 2010; 35: 223-30. [Ukrainian]
21. Flegel WA, Khull SR., Wagner FF. Primary anti-D immunization by weak D type 2 RBCs. *Transfusion*. 2000 Apr; 40(4): 428-34.
22. Konugres AA, Polesky HF, Walker RH. Rh immune globulin and the Rh-positive, D<sup>u</sup> variant, mother. *Transfusion*. 1982 Jan-Feb; 22(1): 76-7.
23. Argall CI, Ball JM, Trentelman E. Presence of anti-D antibody in the serum of Du patient. *J Lab Clin Med*. 1953 Jun; 41(6): 895-8.
24. Prasad MR, Krugh D, Rossi KQ, O'Shaughnessy RW. Anti-D in Rh positive pregnancies. *Am J Obstet Gynecol*. 2006 Oct; 195(4): 1158-62.
25. Yazer MH, Triulzi DJ. Detection of anti-D in D- recipients transfused with D+ red blood cells. *Transfusion*. 2007 Dec; 47(12): 2197-201.
26. Pietrusky F. *Das Blutgruppengutachten. Ausführungen zu seinem Verständnis und seiner Bewertung für Juristen, Kriminalisten u. Jugendämter*. 2e éd. Berlin: Becksche Verlagsbuchhandlung; 1956. 57 p.
27. Golovkina LL, Stremouchova AG, Pushkina TD, Parovichnicova EN. Case of rhesus antigen weak D type 4.2. (DAR category) detection. *Oncogematology*. 2015; 10(3): 70-2. [Russian]
28. Kiparski S, Northoff H, Flegel WA, Neumeister B. Rh blood group antigens – Update. *Clin Lab*. 2000; 46(1-2): 17-22.
29. Wagner FF, Kasulke D, Kerowgan M, Flegel WA. Frequencies of the blood groups ABO, Rhesus, D category VI, Kell, and of clinically relevant high-frequency antigens in South-Western Germany. *Infusionsther Transfusionsmed*. 1995 Oct; 22(5): 285-90.
30. Okubo Y, Yamaduchi H, Tomita T, Nagao N. A D variant, Del? *Transfusion*. 1984 Nov-Dec; 24(6): 542.
31. Hasekura H, Ota M, Ito S, Hasegawa Y, Ichinose A, Fucushima H, et al. Flow cytometric studies of the D antigen of various Rh phenotypes with particular reference to Du and Del. *Transfusion*. 1990 Mar-Apr; 30(3): 236-8.
32. Shao C-P. Transfusion of RHD-positive blood in "Asia type" DEL recipients. *N Engl J Med*. 2010 Feb; 362(5): 472-3.
33. Sacharov RS, Kondratova IV, Fedulova MV. About presence in negativ (cde) red cells of the Rh0(D) antigen. *Hematology problems*. 2003; 2: 25-31. [Russian]
34. Wang Q-P, Dong G-T, Wang X-D, Gu J, Li Z, Sun A-Y, et al. An investigation of secondary anti-D immunization among phenotypically RhD-negative individuals in the Chinese population. *Blood Transfus*. 2014 Apr; 12(2): 238-43.
35. Daniels G. Variants of RhD-current testing and clinical consequences. *Br J Haematol*. 2013 May; 161(4): 461-70.

36. Flegel WA. How I manage donors and patients with a weak D phenotype. *Curr Opin Hematol*. 2006 Nov; 13(6): 476-83.
37. Scrinia I. Blood service of Latvia. Basic principles of immuno-hematological research of donors and recipients in Latvia. *Hematology & blood transfusion: interdepartmental collection*. 2019; 40: 251-60. [Russian]
38. Janssen MP, van Tilborgh AJW, de Vooght KMK, Bokhorst AG, Wiersum-Osselton JC. Direct costs of transfusion reactions – an expert judgement approach. *Vox Sang*. 2018 Feb; 113(2): 143-151.
39. Flegel WA. Molecular genetics and clinical applications for RH. *Transfus Apher Sci*. 2011 Feb; 44(1): 81-91.
40. Brajovich ME, Boggione CT, Biondi CS, Racca AL, Tarragó M, Nogués N, et al. Comprehensive analysis of RHD alleles in argentineans with variant D phenotypes. *Transfusion*. 2012 Feb; 52(2): 389-96.

УДК 615.38.39+615.373

**СЕРОЛОГИЧЕСКИ СЛАБЫЙ D-ФЕНОТИП:  
ОБЗОР И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ГРУППЫ КРОВИ RhD**

**Павлюк Р. П.**

**Резюме.** Система Резус является второй по степени важности для трансфузиологии эритроцитарной системой после ABO. Точное определение резус-статуса донора, реципиента, беременной позволяет предупредить развитие посттрансфузионных реакций и гемолитических осложнений у плода или новорожденного, связанных с несовместимостью крови матери и плода по D антигену.

Определение резус-принадлежности человека выполняют, как правило, серологическими методами с использованием анти-резус реагентов с полными (IgM) или неполными (IgG) антителами. Однако результаты серологических исследований не всегда однозначны. Мутации и другие воздействия на генный локус *RH* нарушают продукцию нормального D антигена и приводят к возникновению многочисленных разновидностей антигена D. В 1946 г. был описан вариант антигена D, который обозначили как D<sup>u</sup>. Было показано, что отличия D<sup>u</sup> антигена от нормального D носят количественный, а не качественный характер. Антиген D<sup>u</sup> позже стал обозначаться как D<sup>weak</sup> – слабый D-антиген или слабый D-фенотип. В начале 50-х годов были обнаружены анти-D антитела у реципиентов со слабым D-антигеном после переливания им резус-положительной крови и у беременных с фенотипом D<sup>u</sup> во время беременности и при рождении D-положительного ребенка.

Высказано предположение, что антиген D не является однородным и состоит из многочисленных частичных вариантов: D1, D2, D3 и т. п. Полный набор парциальных вариантов соответствует полноценному D-антигену. Отсутствие любого одного или нескольких парциальных факторов приводит к появлению ослабленных форм антигена D, обозначаемых как D<sup>partial</sup>. Лица, лишённые определенных парциальных антигенов, могут производить по отношению к ним анти-D антитела. Дифференцировка слабых фенотипов D имеет большое клиническое значение, т.к. переливание Rh- эритроцитов реципиентам с D<sup>weak</sup>, которые фактически являются резус-положительными, не имеет под собой научного обоснования и ведет к неоправданному расходу дефицитной крови и ненужной иммунопрофилактике антирезус иммуноглобулином беременным.

В мировой лабораторной практике нет единой политики в отношении диагностики слабых вариантов D антигена и трактовки полученных результатов. Полимеразная цепная реакция позволяет точно установить резус-статус индивида и избежать необоснованных переливаний резус-отрицательной крови резус-положительным реципиентам и ненужной иммунопрофилактики антирезус-иммуноглобулином резус-положительным беременным.

**Ключевые слова:** RhD группа крови, слабый D фенотип, трансфузия эритроцитов, резус-профилактика.

UDC 615.38.39+615.373

**Serologically Weak D-phenotype: Review and Interpretation of Blood Group RhD**

**Pavliuk R. P.**

**Abstract.** The Rhesus system is the second most important erythrocyte system for transfusion after ABO. Accurate determination of the Rhesus status of the donor, recipient, pregnant allows to prevent the development of post-transfusion hemolytic complications of the fetus or newborn associated with incompatibility of the blood of the mother and the fetus by D antigen.

Generally, determination of the Rhesus affiliation of a person is performed by serological methods using anti-Rhesus reagents with full or incomplete antibodies. However, the results of serological studies are not always clear. Mutations and other effects of the RH gene locus disrupt the production of the normal D antigen and lead to the emergence of numerous varieties of antigen D. The variant of antigen D was described in 1946 and was designated as D<sup>u</sup>. The study showed that the differences between D<sup>u</sup> antigen and normal D were

quantitative rather than qualitative. The D<sup>u</sup> antigen was later designated as D<sup>weak</sup> - a weak D-antigen or a weak D-phenotype. In the early 1950s, anti-D antibodies were detected in recipients with a weak D-antigen after transfusion with Rh-positive blood and in pregnant women with the D<sup>u</sup> phenotype during pregnancy and at the birth of a D+ baby. It was suggested that the D antigen was not homogeneous and consisted of numerous partial variants: D1, D2, D3, etc. A complete set of partial variants corresponds to a complete D-antigen. The absence of any of one or more partial factors leads to the appearance of attenuated forms of the D antigen, denoted as D<sup>partial</sup>. People lacking certain partial antigens can produce anti-D antibodies against them. Differentiation of weak D phenotypes has great clinical importance, because transfusion of Rh-erythrocytes to recipients with D<sup>weak</sup> and who are actually Rh-positive, has no scientific justification and leads to unjustified consumption of deficient blood and unnecessary immunoprophylaxis of anti-Rh immunoglobulin to pregnant women.

International laboratory practice has no unified policy regarding the diagnosis of weak variants of D antigen and the interpretation of the results. Polymerase chain reaction allows to accurately define the Rh status of an individual and to avoid unreasonable transfusions of Rh-negative blood and unnecessary immunoprophylaxis.

**Keywords:** RhD blood group, weak D phenotype, transfusion of erythrocytes, rhesus prophylaxis.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 25.06.2020 р.

*Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування*