

**Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Российский научно-исследовательский институт
гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства»**

ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ

THE BULLETIN OF HEMATOLOGY

Том XI № 2 2015

Ежеквартальный научно-практический журнал
Основан в сентябре 2004 года

Главный редактор

заслуженный деятель науки Российской Федерации
профессор

К. М. Абдулкадыров

Заместитель главного редактора

профессор

С. С. Бессмельцев

Санкт-Петербург
2015

Редакционная коллегия:

К. М. Абдулкадыров (главный редактор); *С. С. Бессмельцев* (заместитель главного редактора);
А. Н. Богданов; *Л. Н. Бубнова*; *Т. В. Глазанова* (ответственный секретарь);
С. А. Гусева; *А. Ю. Зарицкий*; *Н. М. Калинина*; *Л. П. Папаян*; *В. Г. Радченко*;
В. И. Ругаль; *О. А. Рукавицын*; *В. Н. Чеботкевич*.

Редакционный совет:

Б. В. Афанасьев (Санкт-Петербург); *В. В. Базарный* (Екатеринбург);
М. Л. Гершанович (Санкт-Петербург); *К. Г. Дуткевич* (Санкт-Петербург); *Г. А. Зайцева* (Киров);
Ю. М. Захаров (Челябинск); *Л. Г. Ковалева* (Москва); *А. В. Литвинов* (Смоленск);
В. И. Мазуров (Санкт-Петербург); *И. В. Поддубная* (Москва); *Т. Н. Поспелова* (Новосибирск);
А. Г. Румянцев (Москва); *В. Г. Савченко* (Москва); *Н. Н. Третьяк* (Киев); *Н. П. Шабалов* (Санкт-Петербург).

Зав. редакцией — *Е. Р. Шилова*, тел.: (812) 717-58-57

Ответственный секретарь — *Т. В. Глазанова*, тел.: (812) 717-08-90, факс: (812) 717-20-87

Адрес редакции:

191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д. 16

E-mail: bloodscience@mail.ru

Сайт: www.bloodscience.ru

За содержание рекламных объявлений редакция ответственности не несет.

При перепечатке материалов ссылка на журнал «Вестник гематологии» обязательна.

Мнение членов редакционной коллегии не всегда совпадает с мнением авторов статей.

Обложка и художественное оформление *О. С. Дмитриева*
 Компьютерная верстка *О. С. Дмитриева*

Журнал зарегистрирован Северо-Западным окружным межрегиональным территориальным управлением по Санкт-Петербургу и Ленинградской области Министерства Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средствам массовых коммуникаций.

Свидетельство о регистрации ПИ № 2-7271 от 28 мая 2004 г.

Подписано в печать 10.07.2015 г. Формат бумаги 60 × 90 1/8.

Бумага офсетная. Печать офсетная. Тираж 500 экз. Заказ 123.

Издательство РосНИИГТ, 193024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д. 16.

Отпечатано в ООО «Типография «Победа»», Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, д. 23.

18+

СОДЕРЖАНИЕ

Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ИММУНОГЕНЕТИКИ И ТКАНЕВОГО ТИПИРОВАНИЯ»
 (Санкт-Петербург, 24–25 июня 2015 г.)..... 4

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Куртанов Х. А., Данилова А. Л., Яковлева А. Е., Саввина А. Д., Максимова Н. Р.
 Генетическое исследование больных целиакией
 на гены HLA II класса — DRB1, DQA1, DQB1..... 44

Kurtanov H. A., Danilova A. L., Yakovleva A. E., Savvina A. D., Maximova N. P.
 Genetic research of HLA genes I and II class — DRB1, DQA1, DQB1
 in patients with celiac disease 44

Авторский алфавит..... 49

ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ
«АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ИММУНОГЕНЕТИКИ
И ТКАНЕВОГО ТИПИРОВАНИЯ»

(Санкт-Петербург, 24–25 июня 2015 г.)

СОСТАВ ОРГАНИЗАЦИОННОГО КОМИТЕТА

Председатель оргкомитета:

Уйба В. В., руководитель ФМБА России, доктор медицинских наук, профессор.

Заместители председателя оргкомитета:

Хавкина Е. Ю., Чечеткин А. В., заместитель руководителя ФМБА России, кандидат медицинских наук; директор ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, доктор медицинских наук, профессор;

Бессмельцев С. С., заместитель директора ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России по научной работе, доктор медицинских наук, профессор;

Бубнова Л. Н., руководитель лаборатории иммуногематологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, доктор медицинских наук, профессор;

Члены оргкомитета:

Вареник В. И., начальник Управления организации научных исследований ФМБА России, кандидат химических наук;

Эйхлер О. В., заместитель начальника Управления здравоохранения ФМБА России;

Глазанова Т. В., доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории иммуногематологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России;

Павлова И. Е., доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногематологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России;

Соколова Ю. В., кандидат биологических наук, ученый секретарь ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России;

Розанова О. Е., доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногематологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России;

Чубукина Ж. В., кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории иммуногематологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России;

Беляева Е. В., кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории иммуногематологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России;

Беркос А. С., кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией иммунологического типирования тканей ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России.

Алянский А. Л., Кузьмич Е. В., Макаренко О. А., Тимофеева Н. П., Хорошайлова А. Е., Ермолина В. В., Мерзлякова С. В., Иванова Н. Е., Афанасьев Б. В.

ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии
имени Р. М. Горбачевой

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ HLA АЛЛЕЛЕЙ И ГАПЛОТИПОВ
В РЕГИСТРЕ ДОНОРОВ КОСТНОГО МОЗГА ПСПбГМУ им. И. П. ПАВЛОВА

Цель работы. Анализ распределения частот HLA аллелей и гаплотипов в Регистре потенциальных доноров костного мозга ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова.

Материалы и методы. Выполнено типирование HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1 аллелей 3500 потенциальных доноров Регистра ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. Иммуногенетические исследования осуществлены с помощью методов полимеразной цепной реакции с использованием сиквенс-специфичных праймеров (реагенты фирмы «Protrans») и сиквенс-специфичных олигонуклеотидных проб (реагенты фирмы «One Lambda»). Обработка результатов исследования выполнена с помощью методов популяционной генетики с использованием программы Arlequin (версия 3.5.1.2).

Результаты. В декабре 2012 года база данных Регистра доноров костного мозга

ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова содержала информацию об HLA фенотипах 750 потенциальных доноров. Большинство образцов крови для исследования было получено от здоровых индивидуумов, проживающих на территории Санкт-Петербурга и Ленинградской области. В течение 2013–2014 годов более 2000 граждан, проживающих в различных регионах Российской Федерации, стали потенциальными донорами Регистра ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. В настоящее время база данных включает информацию об HLA фенотипах 3500 потенциальных доноров. В *таблице* представлены данные о распределении частот HLA аллелей, которые, согласно исследованиям, выполненным в январе 2013 г. и апреле 2015 г., являются наиболее распространенными среди доноров регистра.

Таблица.

*Распределение частот HLA аллелей
в регистре доноров костного мозга ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова*

Локус	Аллельная группа	Частота, % (данные 2013 г.)	Частота, % (данные 2015 г.)
HLA-A	*02	28,3	29,4
	*03	14,7	14,6
	*24	12,6	12,3
HLA-B	*01	10,9	10,9
	*07	12,6	13,2
	*35	11,0	10,8
	*18	8,6	7,3
	*44	8,5	9,9
HLA-C	*08	6,9	6,1
	*07	27,2	27,2
	*12	12,9	11,8
	*04	12,7	12,8
	*06	11,3	11,6
HLA-DRB1	*03	10,6	11,2
	*15	14,8	15,0
	*07	13,9	13,6
	*13	12,8	12,8
	*11	11,6	12,4
HLA-DQB1	*01	11,3	12,8
	*04	11,4	10,8
	*03	30,6	32,1
	*06	24,6	24,1
	*05	20,9	18,3
	*02	18,1	19,9

Сравнительный анализ результатов, полученных на разных этапах исследования, демонстрирует, что частоты наиболее распространенных аллельных групп существенным образом не изменились при увеличении числа потенциальных доноров регистра. Следствием увеличения количества доноров является тот факт, что в настоящее время в регистре представлены редкие варианты аллельных групп, такие как HLA-B*73, HLA-A*69.

По данным исследования, выполненного нами в январе 2013 года, в регистре с наибольшей частотой встречались следующие гаплотипы: *A01-B*08-C*07-DRB1*03-DQB1*02 (3,5%); *A03-B*07-C*07-DRB1*15-DQB1*06 (3,3%);

*A03-B*35-C*04-DRB1*01-DQB1*05 (3,0%). Результаты настоящей работы подтвердили, что наиболее распространенными в Регистре ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова являются гаплотипы: *A01-B*08-C*07-DRB1*03-DQB1*02 (3,8%); *A03-B*07-C*07-DRB1*15-DQB1*06 (3,3%); *A03-B*35-C*04-DRB1*01-DQB1*05 (2,7%); *A02-B*07-C*07-DRB1*15-DQB1*06 (2,2%).

Заключение. Выполненная работа позволила изучить распределение частот HLA аллелей и гаплотипов, выделить аллели и гаплотипы, представленные в Регистре потенциальных доноров костного мозга ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова с максимальной частотой.

Беркос А. С., Беляева Е. В., Ерохина Л. В., Павлова И. Е., Бакай В. В., Моисеева Л. М., Глазнова Т. В., Розанова О. Е., Чубукина Ж. В., Бессмельцев С. С., Бубнова Л. Н.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ HLA ГАПЛОТИПОВ В СЕМЬЯХ БОЛЬНЫХ ГЕМОБЛАСТОЗАМИ

Введение. Поиск HLA идентичного донора для больных гемобластозами всегда начинается с сиблингов пациентов. В соответствии с законами кодоминантного наследования, вероятность обнаружения в семье двух HLA-идентичных сиблингов должна составлять 25%. При этом вероятность выявления совместимого сиблинга будет увеличиваться в семьях с количеством детей более двух. Большой интерес представляет изучение распределения HLA гаплотипов в данных семьях, связанное с возможной ролью определенных сочетаний в предрасположенности к развитию гемобластозов.

Цель. Установление особенностей распределения HLA гаплотипов в семьях больных гемобластомами.

Материалы и методы. Были изучены HLA-специфичности у 155 больных гемобластомами и 194 их сиблингов. Для 58 пациентов удалось выполнить также типирование обоих родителей для установления семейных гаплотипов. Использовали серологическое и молекулярное типирование генов HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 на базовом и, при необходимости, на высоком уровне разрешения в соответствии с требованиями стандартов EFI.

Результаты. Для 45 пациентов (29%) был найден сиблинг, полностью совпадающий по га-

плотипам HLA. В семьях с количеством детей более двух обнаружено значительное увеличение частоты выявления HLA совместимого сиблинга по сравнению с семьями с двумя детьми — 52% и 24% соответственно. Частота встречаемости идентичных, гаплогенных и полностью отличающихся по фенотипу сиблингов соответствовала классическому менделевскому распределению (24%, 52% и 24% соответственно).

Анализ наследования HLA-гаплотипов в семьях с детьми, больными гемобластомами, показал, что в фенотипах родителей обязательно имелись либо совпадения по одному и более HLA-антигенам — в 77% случаев, либо гомозиготность в том или ином HLA локусе — в 65%. При этом частота встречаемости HLA-гомозиготности среди больных была на уровне популяционного контроля — 12%, в то время как уровень гомозиготности среди здоровых сиблингов в 3 раза превысил этот показатель для больных и составил 36%.

Известно, что в период внутриутробного развития взаимодействие генных субстанций организма плода и матери играет важную регулируемую роль не только в обеспечении нормального течения беременности, обеспечивая толерантность материнского организма к унаследованным отцовским антигенам плода, но

и в становлении иммунной системы будущего ребёнка. Этот процесс осуществляется на уровне микрохимизма в результате двунаправленного проникновения в организм матери и плода аллогенных гаплогенных клеток, представленных в основном стволовыми клетками и лейкоцитами. При этом иммунные клетки обладают способностью захватывать протеины, продуцируемые аллогенными клетками, в том числе и молекулы HLA, а затем представлять их на своей мембране. Значительное снижение антигенного разнообразия на уровне системы HLA при этих взаимодействиях может вызывать на-

рушения в процессах формирования иммунной системы плода, в том числе процессов распознавания, и его нормального кроветворения. В связи с этим нами были проанализированы совпадения унаследованных материнских (ИМА) и унаследованных отцовских (ОПА) HLA-антигенов, унаследованных отцовских (ОПА) и неунаследованных материнских (НИМА), а также гомозиготность матери, т.е. совпадение унаследованных (ИМА) и неунаследованных (НИМА) материнских антигенов, в семьях больных гемобластомами. Результаты представлены в таблице.

Таблица.

Наличие совпадающих унаследованных и неунаследованных материнских и унаследованных отцовских HLA-антигенов в семьях больных гемобластомами

Совпадения HLA-антигенов у родителей	Больные гемобластомами	Здоровые сиблинги
NIMA = OPA	40%	24%
ИМА = НИМА (гомозиготность матери)	55%	55%
ИМА = ОПА (гомозиготность ребёнка)	12%	36%
NIMA = OPA + ИМА = НИМА	18%	9%

Как видно из представленной таблицы, у 40% пациентов обнаружено сочетание одинаковых неунаследованных материнских и унаследованных отцовских HLA антигенов. Комбинация совпадающих унаследованных и неунаследованных материнских антигенов встречалась в 55% случаев, а сочетание одинаковых унаследованных материнских и отцовских антигенов — в 12% случаев. В 18% было обнаружено сочетание гомозиготности матери одновременно с совпадением с отцовскими антигенами.

У здоровых сиблингов данные сочетания распределились следующим образом: совпадающие неунаследованные материнские + унаследованные отцовские встретились в 2 раза реже, чем у заболевших — 24%, так же как и совпадающие отцовские и материнские антигены в сочетании с гомозиготностью матери — 9%, а совпадающие унаследованные материнские + унаследованные отцовские в три раза чаще — 36%.

Следует отметить, что при комбинации совпадающих NIMA = OPA, так же как и в случае сочетания одинаковых унаследованных и неунаследованных материнских антигенов, иммунная система плода имеет более ограниченные возможности контакта с HLA антигенами, от-

личающимися от собственных HLA специфичностей. Именно такие сочетания преобладают в группе больных гемобластомами (95%), что может быть причиной предрасположенности к данной патологии. При сочетании одинаковых унаследованных материнских и отцовских антигенов у плода, обуславливающим гомозиготность по данному гаплотипу, возникает обратная ситуация, обеспечивающая большее антигенное разнообразие при взаимодействии плода с материнским организмом. Высокий уровень гомозиготности среди здоровых сиблингов (36%) по сравнению с больными (12%) подтверждает эти предположения.

Выводы. Полученные данные подтверждают увеличение вероятности обнаружения HLA идентичного родственного донора ГСК в многодетных семьях. Выявленное снижение антигенного разнообразия в HLA фенотипах родителей детей, больных гемобластомами, дает основание предположить, что антигены гистосовместимости играют важную роль в формировании предрасположенности к данной патологии в период внутриутробного развития организма и формировании его иммунной системы, обеспечивающей противоопухолевый иммунитет.

Бубнова Л. Н., Четкин А. В.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В РОССИЙСКОМ НИИ ГЕМАТОЛОГИИ И ТРАНСФУЗИОЛОГИИ

Лаборатория иммуногематологии была создана в Ленинградском НИИ гематологии и переливания крови в 1975 году с целью разработки теоретических вопросов проблемы иммунологической реактивности организма человека при онкогематологических заболеваниях, совершенствования специализированной медицинской помощи больным, нуждающимся в пересадке органов, тканей и применении компонентов крови, и создания регистра доноров костного мозга. Большую помощь при создании лаборатории оказали всемирно известные ученые, посещавшие в эти годы наш институт: лауреат Нобелевской премии академик Ж. Доссэ, профессор Р. Чеппелини, профессора В. Бодмер и Ю. Бодмер.

В 1979 году на базе Ленинградского НИИ гематологии и переливания крови в соответствии с приказом № 658 от 27.12.78 года «О создании Республиканского центра и зональных лабораторий иммунологического типирования тканей» был организован Республиканский центр иммунологического типирования тканей — РЦИТТ, работающий совместно с лабораторией иммуногематологии, на который были возложены обязанности по научному и организационно-методическому руководству всей службой иммунологического типирования тканей РСФСР. Эта служба базировалась на Зональных лабораториях иммунологического типирования тканей станций переливания крови всех нынешних Федеральных округов: Нижнего Новгорода, Самары, Ростова-на-Дону, Челябинска, Екатеринбурга, Новосибирска, Иваново, Хабаровска. В течение 25 лет Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства является головным учреждением системы иммунологического обеспечения трансплантаций органов и тканей в Российской Федерации.

В рамках совместной работы Республиканский центр и зональные лаборатории начали осуществлять поиск гистотипирующих стандартов, пригодных для использования в типизирующих наборах. О высоком качестве гистотипирующих стандартов свидетельствует то, что эти сыворотки регулярно входили в диагностическую панель

Евротранспланта и исследовательскую панель CTS профессора Г. Опельца. Это позволило создать и постоянно совершенствовать отечественную панель для серологического типирования, являющуюся в настоящее время единственным зарегистрированным в МЗ РФ диагностическим набором, который используют лечебно-профилактические учреждения страны.

С 1993 года в РЦИТТ внедрен метод молекулярного типирования HLA-генов. В настоящее время определение генов системы HLA I и II классов проводится как на базовом, так и на высокоразрешающем уровнях. Также выполняется молекулярно-генетическое типирование генов HPA и KIR-генов.

В течение 30 лет сотрудники лаборатории и Центра обеспечивают иммунологический подбор при трансплантации почки в г. Санкт-Петербурге.

РЦИТТ ведет активное международное сотрудничество: более 20 лет его сотрудники являются членами Европейской Федерации Иммуногенетики (EFI) и Американской Ассоциации Иммуногенетики (ASHI), представляют свои научные работы на ежегодных конференциях этих организаций.

В 2010 году РЦИТТ первым в России получил аккредитацию Европейской Федерации иммуногенетики (EFI), подтвердившую высокий уровень проводимых исследований и полное соответствие их европейским стандартам, что позволяет создавать Национальный Регистр на современном мировом уровне.

В настоящее время Донорский регистр Российского НИИ гематологии и трансфузиологии насчитывает около 5000 типированных доноров, давших своё согласие на донацию ГСК в случае установления совместимости с пациентом, нуждающимся в трансплантации костного мозга. Численность регистра постоянно растёт благодаря включению в него новых доноров Санкт-Петербурга, а также ряда Зональных лабораторий иммунологического типирования тканей станций переливания крови. Главной задачей регистра является поиск совместимых доноров ГСК по заявкам специалистов гематологических клиник Российской Федерации. Несмотря

на относительную малочисленность Регистра, в 2002 г. в клиническом отделении гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга института была проведена первая в России трансплантация костного мозга от донора из собственного Регистра — жителя Санкт-Петербурга. В настоящее время общее число трансплантаций, выполненных в клиниках России благодаря донациям стволовых клеток российских доноров, составляет около 20.

Сотрудниками РЦИТТ и лаборатории иммуногематологии института ежегодно проводятся обучающие семинары для заведующих Зональными лабораториями иммунологического типирования тканей. В течение последних пяти лет при участии ведущих ученых Европейской федерации иммуногенетики организуются обучающие конференции для специалистов тканевого типирования России и стран ближнего зарубежья. Мы выражаем глубокую признательность

ведущим европейским специалистам, регулярно принимающим участие в наших конференциях.

Таким образом, созданные более 20 лет назад в нашей стране иммуногенетические лаборатории сыграли важную роль в развитии трансплантологии в России, благодаря их работе стали возможными успешные пересадки почек и других органов, эффективные трансфузии тромбоцитов. Однако одна из важнейших задач, ради которой создавались эти структуры, осталась невыполненной: формирование полноценного Национального регистра доноров ГСК, дающего возможность осуществлять подбор доноров для гематологических больных в основном в пределах нашей страны. Эту задачу необходимо решить в течение ближайших лет, и реальные шаги в этом направлении в последние 2 года сделаны Федеральным медико-биологическим агентством России.

Бутина Е. В., Зайцева Г. А.

ФГБУН «Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России», Киров

РИСК РАЗВИТИЯ ИММУННОЙ ТРОМБОЦИТОПЕНИИ НОВОРОЖДЕННОГО

Введение. Тромбоцитопения (уровень тромбоцитов в периферической крови менее 150×10^9 /л) встречается у 1–5% новорожденных. В патогенезе иммунной тромбоцитопении лежит реакция взаимодействия антител (иммуноглобулинов класса G) с антигенами поверхности тромбоцитов, приводящая к разрушению клеток в ретикуло-эндотелиальной системе. Кроме прямой деструкции тромбоцитов, происходит также снижение их продукции мегакариоцитами. Во внутриутробном периоде и периоде новорожденности могут наблюдаться следующие варианты иммунной тромбоцитопении:

1. аллоиммунная тромбоцитопения (АТПН), возникающая при несовместимости матери и плода по специфическим антигенам тромбоцитов системы HPA (Human Platelet Antigens) и сенсибилизации матери к данным антигенам;
2. трансаммунная тромбоцитопения, при которой разрушение тромбоцитов ребенка происходит под действием аутоантител матери, страдающей иммунной тромбоцитопенией или системными заболеваниями, сопровождающимися аутоиммунной тромбоцитопенией;

3. аутоиммунная тромбоцитопения, развивающаяся вследствие срыва иммунологической толерантности и выработки антител к собственным тромбоцитам у ребенка.

Частота случаев возникновения аллоиммунной тромбоцитопении составляет от 1:800 до 1:1000 новорожденных. Наиболее опасными осложнениями АТПН являются внутримозговые кровоизлияния во внутриутробном или раннем постнатальном периодах. Тяжелые нарушения, приводящие к инвалидности, регистрируются в 20% случаев АТПН, смертность составляет 15%. Установлено, что в 75% случаев АТПН возникает при несовместимости по гену HPA-1a (генотип матери — HPA-1bb, ребенка — HPA-1ab). Причиной АТПН в 15,5% случаев являются антитела к антигену HPA-5b (генотип матери — HPA-5aa, ребенка — HPA-5ab) и 4% случаев — анти-15b антитела (генотип матери — HPA-15aa, ребенка — HPA-15ab). Сочетание антител указанных специфичностей выявляется в 5,5% случаев АТПН.

Цель. Определение риска развития АТПН на основании анализа распределения генов HPA локусов HPA-1,—5, 15 у типированных доноров крови и ее компонентов.

Материалы и методы. Проведено исследование а- и b-форм генов локусов HPA-1,—5,—15 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с флуориметрической регистрацией продуктов в ходе процесса (ПЦР в реальном времени) с помощью наборов реагентов ТромбоГенТест (Россия). Гены локуса HPA-1 определены у 1419 человек, локуса HPA-5 и HPA-15 — у 185 доноров крови и/или ее компонентов, проживающих на территории Кировской области.

Результаты. Установлена частота встречаемости генетических сочетаний, выявление которых у женщин является критерием риска развития АТПН. Генотип HPA-1bb определен у 1,3% обследованных, генотип HPA-5aa — 84,5%, генотип HPA-15aa — 24,7% человек. Для выявления риска развития АТПН проведен расчет

вероятности несовместимости матери и ребенка по HPA-генотипам по формуле: $r = a(b + c)$, где r — генетический риск развития АТПН; a — частота встречаемости «генотипа риска»; b, c — другие сочетания генов в данном локусе. Соответственно, риск развития АИТН составляет по локусам HPA-1 — 1,28%, HPA-5 — 13,1%, HPA-15—18,5%.

Заключение. Анализ совместимости HPA-генотипов матери и ребенка является одним из критериев дифференциальной диагностики причин тромбоцитопении у новорожденных. Для постановки диагноза АТПН, наряду с генетическими показателями, необходимо исследовать наличие у матери антител к собственным тромбоцитам и тромбоцитам ребенка.

Головкина Л.Л., Стремоухова А.Г., Пушкина Т.Д.,
Атроищенко Г.В., Каландаров Р.С., Паровичникова Е.Н.

ФГБУ Гематологический Научный Центр Минздрава России, Москва

ЧАСТОТА ТИПОВ АНТИГЕНА DWEAK СИСТЕМЫ РЕЗУС У РОССИЯН

Введение. Антигены системы Резус имеют большое значение в трансфузиологии ввиду их высокой иммуногенности. В настоящее время установлен широкий полиморфизм генов, кодирующих синтез белковых молекул антигена RhD. Классический антиген D состоит из 36 составных частей (эпитопов). Среди множества его вариантов принято выделять три основных: слабый антиген D — Dweak (его количество на эритроците снижено), парциальный антиген D, у которого отсутствует какой-либо из эпитопов (лица с таким антигеном D могут вырабатывать антитела к отсутствующим у них эпитопам) и DEL. Выявление Dweak представляет большое значение как у доноров, так и у реципиентов для профилактики анти-D аллоиммунизации. Серологические методы определения резус-принадлежности людей, применяемые в обычной практике иммуногематологов, не позволяют идентифицировать тип слабого варианта антигена Dweak. Это можно сделать только с помощью молекулярных методов. Выявление слабых типов антигена D у доноров важно для предупреждения аллоиммунизации D-отрицательных пациентов. Для пациентов это имеет значение в контексте тактики переливания эритроцитосодержащих сред: в практике американских трансфузиологов рекомендовано переливание

реципиентам с Dweak type 1, 2, 3 эритроцитов от D-положительных доноров для экономии резус-отрицательных эритроцитов. Беременным женщинам с теми же типами слабого антигена D не рекомендовано введение антирезусного иммуноглобулина.

Цель работы: выявить частоту типов антигена Dweak и фенотипов антигенов системы Резус у Dweak-положительных лиц среди россиян.

Методы исследования: фенотипирование эритроцитов по системе Резус выполняли в реакции агглютинации на плоскости Цоликлонами IgM класса со специфичностями анти-D,—C,—c,—E.—e. Определение антигена Dweak проводили в реакции солевой агглютинации в планшетах с полными моноклональными антителами анти-D (Эритротест™-Цоликлон анти-D Супер, ООО «Гематолог», Москва) двух серий, непрямой антиглобулиновый тест с неполными моноклональными антителами анти-D двух серий (Эритротест™-Цоликлон анти-D, ООО «Гематолог», Москва) в пробирках и в геле (фирма BioRad, США). Антиглобулиновую сыворотку трех серий применяли для выявления фиксирования неполных анти-D антител после проведенной инкубации на исследуемых и контрольных эритроцитах. Метод полимеразной цепной реакции выполняли с праймерами для выявления ге-

нотипов системы Резус (RH-TYPE) и вариантов антигена Dweak (Weak D-TYPE) производства фирмы «BAG» (Германия).

Результаты. В 2014 году определение фенотипа эритроцитов системы Резус выполнено у 3205 человек, из них антиген Dweak выявлен у 64 (2%). Генотипирование для идентификации типов антигена Dweak проведено у 32 человек, у которых выявлено 7 типов Dweak (таблица).

Чаще у обследованных лиц встретились типы Dweak type 3 (46,9%) и Dweak type 1 (28, 1%). Остальные 5 типов антигена Dweak имели следующие частоты: Dweak type 2—9,4%, Dweak type 20—6,25%, Dweak type 4.2 (DAR), Dweak type 6, Dweak type — по 3,1% каждый. Dweak-положительные лица чаще имели фенотип Csee (75%). Реже встречались фенотипы CSee (9,4%), cSee (6,25%), csee (3,1%).

Таблица.

Частота типов антигена D weak и фенотипов антигенов системы Резус у D weak-положительных лиц.

Типы антигена D weak	Количество		Фенотипы				
	Абс.	%	CcD ^w ee	CCD ^w ee	ccD ^w ee	ccD ^w Ee	Ccdee
1	9	28,125	9	0	0	0	0
2	3	9,375	1	0	0	2	0
3	15	46,875	13	2	0	0	0
4.2, DAR	1	3,125	0	0	1	0	0
6	1	3,125	1	0	0	0	0
15	1	3,125	0	1	0	0	0
20	2	6,25	0	0	0	0	2
Всего в абс.цифрах:	32		24	3	1	2	2
Всего в %	100		75	9,375	3,125	6,25	6,25

Большой интерес представили два человека, у которых был определен фенотип Ccdee, и только молекулярным методом можно было идентифицировать генотип как Cc **Dweak type 20** ee. Можно предположить, что у этих двух людей гаплотипы были Cde/ce Dweak type 20, поскольку у лиц белой расы чаще встречается именно гаплотип Cde. Если это положение верно, то антиген C будет находиться в положении транс и супрессировать экспрессию антигена Dweak type 20.

Заключение. Современные молекулярные методы исследования позволяют идентифицировать редкие аллели генов RHD, продукты которых выявляются серологическими методами как слабый антиген D. При очень слабой выраженности антигена Dweak вследствие малого количества антигенных детерминант на эритроците или супрессии находящимися в позиции транс антигенами C серологические методы бессильны в его выявлении.

Головкина Л.Л., Пушкина Т.Д., Михайлова Е.А., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г.

ФГБУ Гематологический Научный Центр Минздрава России, Москва

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА НА АНТИГЕНЫ СИСТЕМ HLA И HPA У ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С МНОЖЕСТВЕННЫМИ ТРАНСФУЗИЯМИ ТРОМБОЦИТОВ

Введение. Аллоиммунизация больных затрудняет проведение заместительной трансфузионной терапии гемокомпонентами. Образование антител к антигенам систем HPA (Human Platelet Antigens) и HLA (Human Leukocyte Antigens) I класса является иммунологическим осложнением при переливании тромбоцитов.

Известно, что за инициацию гуморального иммунного ответа отвечают HLA II класса. HLA-рестрикция аллоиммунизации недостаточно изучена в трансфузиологии.

Цель работы: изучить ассоциацию. HLA и HPA генотипов с антителогенезом на антигены систем HLA и HPA у гематологических больных

с множественными трансфузиями тромбоцитов.

Методы: Генотипирование HLA-DRB1, — DQB1 низкого и высокого разрешения праймерами фирм Dypal, Protrans, BAG и HPA-1, —2, —3, —4, —5, —6, —15 праймерами фирм BAG, Protrans. методом PCR-SSP, стандартный микролимфоцитотоксический тест, метод иммуноферментного анализа с нативными и модифицированными (лишенными HLA) тромбоцитами. Тромбоциты HPA-типированных доноров использовали для выявления специфичностей анти-HPA антител. Статистические методы непараметрической статистики применяли для расчета достоверности результатов. HLA гаплотипы определяли методом наибольшего правдоподобия с использованием программы Арлекин.

Результаты: Аллоиммунизация к антигенам систем HLA и HPA была выявлена у 70% больных АА и МДС, 35,5% больных ОМЛ и 15% больных ОЛЛ. По частоте антителогенеза нозологические формы заболевания можно ранжировать как: АА+МДС-ОМЛ-ОЛЛ. Параллельное исследование наличия анти-HLA антител и HLA генотипирование выполнено у 124 больных (39 АА+МДС, 36 ОЛЛ и 49 ОМЛ). Анти-HLA антитела выявлены у 48 пациентов (20 АА, 22 ОМЛ и 6 ОЛЛ). Генетическими факторами риска образования анти-HLA антител являются HLA-DQB1*02 и HLA-DQB1*03:01 с генами суперсемьи HLA-DRB3*01 (HLA-DRB1*03, —*11, —12, —*13, —*14): 18/20 больных АА и 13/22 больных ОМЛ с анти-HLA антителами, и 6/19 больных АА и 7/27 больных

ОМЛ без антител имели ген HLA-DQB1*03:01 ($p < 0,001$ и $p = 0,04$, соответственно). У больных с анти-HLA антителами чаще выявляли гаплотип HLA-DRB1*13:03, — DQB1*03:01: 5/20 больных АА ($p = 0,047$), 4/22 больных ОМЛ ($p = 0,035$) и 3/6 больных ОЛЛ ($p = 0,01$). 10/22 больных ОМЛ с анти-HLA антителами и 4/27 без антител имели еще один ген HLA-DQB1*02 ($p = 0,027$). Гены HLA-DRB1*15 и HLA-DQB1*06 обладали протективным действием на антителообразование у больных ОМЛ: 13/27 больных без анти-HLA антител и 3/22 больных с антителами были HLA-DRB1*15 положительными ($p = 0,015$); соответственно корреляция с HLA-DQB1*06 составила 19/27 и 7/22 ($p = 0,016$) (таблица). Параллельное исследование анти-HPA антителогенеза и HLA генотипа было выполнено у 114 больных (46 с АА+МДС, 56 с ОЛЛ и 12 с ОМЛ), из них антитела были выявлены только у 33. Специфичность анти-HPA антител смогли установить у 24 больных. Выявлены следующие гаплотипы, предрасполагающие к образованию специфических анти-HPA антител: анти-HPA-1b у HPA-1a/1a больных — HLA-DRB1*07:01, — DQB1*02; анти-HPA-5b у HPA-5a/5a больных — HLA-DRB1*13:01, — DQB1*06 и HLA-DRB1*13:03, — DQB1*03:01, анти-HPA-2b у HPA-2a/2a больных — HLA-DRB1*15, — DQB1*06:02/*06:14.

Заключение: HLA и HPA генотипы являются важными и информативными маркерами предрасположенности к аллоиммунизации у больных с множественными трансфузиями тромбоцитов.

оценивалась у детей (с cPRA = 0%; с cPRA ≤ 50%; с cPRA > 50%) в 1, 2, 6, 12, 18, 24 месяца после трансплантации почки. Определяли анти-HLA антитела I и II класса мультиплексным анализом (Luminex 200-технология, MFI) с рассчитанным процентом панель-реактивных антител (cPRA). 22 пациента с предсуществующими анти-HLA антителами (cPRA ≥ 0%) были включены в исследование. Все пациенты имели стандартный протокол иммуносупрессии. Индукционная фаза: поликлональные антитела + метилпреднизолон. Основная: ингибиторы кальциневрина (такролимус или циклоспорин А) + микофенолат мофетил (MMF) + преднизолон. Протокол отмены антитело-опосредованного отторжения (ABMR): метилпреднизолон + внутривенный иммуноглобулин (ВВИГ) + ритуксимаб ± плазмаферез.

Результаты. СКФ у детей с предсуществующими анти-HLA антителами (cPRA ≤ 50%) не отличалась от СКФ пациентов, без предсуществующих анти-HLA антител в течение 2 лет после трансплантации аллогенной почки ($p ≥ 0,05$; Kruskal-Wallis ANOVA). СКФ детей с предсуществующими анти-HLA антителами (cPRA > 50%) была хуже, чем у пациентов без предсуществующих анти-HLA антител, начиная с 1 месяца после трансплантации аллогенной почки ($p ≤ 0,05$; Kruskal-Wallis ANOVA).

Скорость клубочковой фильтрации у детей, которых лечили для отмены антитело-опосредованного отторжения: метилпреднизолон пульс-терапия, ритуксимаб и внутривенный иммуноглобулин (ВВИГ) была стабильной до 6 месяцев после лечения (73,45 мл/мин), но затем начи-

нала снижаться (55,4 мл/мин, 45,1 мл/мин, 43,9 мл/мин, 41, 9 мл/мин в 6, 12, 18 и 24 мес., соответственно). У 4-х детей развилось острое антитело-опосредованное отторжение (ABMR), СКФ у них уменьшалась в течение 6 месяцев после трансплантации. Терапия ритуксимабом, добавленным в качестве дополнительного компонента в фазу индукции иммуносупрессии у детей с предсуществующими анти-HLA антителами (cPRA > 50%), не улучшала функцию аллогенного трансплантата почек ($p > 0,05$; Kruskal-Wallis, ANOVA), но уменьшала частоту Т-клеточно-опосредованного отторжения (TCMR) почек и отменяла острое антитело-опосредованное отторжение (ABMR) почек.

Выводы. Предсуществующие анти-HLA антитела (cPRA ≤ 50%) не уменьшают функцию аллогенного почечного трансплантата в течение 2 лет после трансплантации ($p > 0,05$; Kruskal-Wallis, ANOVA). Предсуществующие анти-HLA антитела (cPRA > 50%) снижают функцию аллогенного почечного трансплантата, начиная с 1-го месяца после трансплантации ($p < 0,05$; Kruskal-Wallis, ANOVA). Ритуксимаб, добавленный в качестве дополнительного компонента в фазу индукции иммуносупрессии в группе детей с предсуществующими анти-HLA антителами (cPRA > 50%), не улучшал функцию аллогенного почечного трансплантата ($P > 0,05$; Kruskal-Wallis, ANOVA), но снижал частоту TCMR и отменял ABMR. Это одноцентровое исследование, для более подробной информации необходимо рандомизированное многоцентровое исследование.

Грачева Л. А., Харламова Л. А., Петрова Л. В., Румянцев А. Г., Валов А. Л., Бологов А. А.

ФГБУ «Российская детская клиническая больница» Минздрава России, Москва

СПОСОБ УМЕНЬШЕНИЯ ВЛИЯНИЯ ПРЕДСУЩЕСТВУЮЩИХ АНТИ-HLA АНТИТЕЛ НА ОТТОРЖЕНИЕ ТРАНСПЛАНТАТА АЛЛОГЕННОЙ ПОЧКИ

Введение. Оценка влияния предсуществующих анти-HLA антител на успех трансплантации аллогенных почек, а также изучение способа отмены влияния антител на отторжение пересаженных органов, является актуальной проблемой современной медицины.

Цель. Оценить влияние предсуществующих анти-HLA антител с различным процентом панель-реактивных антител (cPRA) на функцию трансплантата аллогенных почек у детей; оценить функцию трансплантата аллогенных почек в 1, 2, 6, 12, 18, 24 мес. после трансплантации;

оценить влияние ритуксимаба, добавленного в качестве дополнительного компонента в индукционную фазу терапии, на функцию трансплантата аллогенных почек.

Материалы и методы. Было обследовано 116 детей (13,8 ± 0,8 лет — средний возраст) (2009–2013) до трансплантации аллогенной почки и после операции в течение 2 лет. Все дети с предсуществующими анти-HLA антителами были разделены на 2 группы в соответствии с уровнем cPRA (≤ 50%; > 50%). Скорость клубочковой фильтрации (СКФ мл/мин, Schwartz)

Евсеева И.

¹ Anthony Nolan (Великобритания),
² WMDA

МЕЖДУНАРОДНОЕ СОТРУДНИЧЕСТВО РЕГИСТРОВ ДОНОРОВ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И БАНКОВ ПУПОВИННОЙ КРОВИ

Всемирная Ассоциация Доноров Костного Мозга (WMDA) — это добровольная организация, представляющая регистры доноров стволовых клеток, банки пуповинной крови и другие организации, занимающиеся вопросами трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Она обеспечивает возможность обсуждения проблем, касающихся клинического применения стволовых клеток, на международном уровне и вырабатывания единых рекомендаций по транспортировке, контролю качества, решению этических проблем,

взаимных расчетов, информационного обеспечения и аккредитации регистров.

Более 25 миллионов неродственных доноров и более полмиллиона единиц пуповинной крови в настоящее время зарегистрировано в мире. Благодаря международному сотрудничеству, трансплантация неродственных гемопоэтических стволовых клеток проведена более чем миллиону пациентов. Число и эффективность проведенных трансплантаций увеличивается с каждым годом.

В докладе будут освещены вопросы истории и структурной организации WMDA, проекты и инициативы, осуществляемые для гармонизации и развития международного сотрудниче-

ства, а также роль мирового регистра (BMDW) и международной коммуникационной системы EMDIS.

Ершов Д. Е., Полякова А. П., Силютина А. А., Бутылин П. А.

ФГБУ «Северо-Западный Федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России, Санкт-Петербург.

РАЗРАБОТКА И ОПТИМИЗАЦИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКОГО ХИМЕРИЗМА МЕТОДОМ ФРАГМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Введение. Расширение применения немиелоаблативных режимов кондиционирования обуславливает растущую потребность в трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). В связи с этим остро актуальность приобретает проблема разработки высокочувствительного и специфичного теста для оценки гемопоэтического химеризма.

Цель: разработка, оптимизация и внедрение в лабораторную практику Северо-Западного Федерального медицинского исследовательского центра методики количественной оценки гемопоэтического химеризма путем фрагментного анализа у больных, перенесших ТГСК; сравнительная оценка чувствительности и точности разработанной диагностической панели для капиллярного электрофореза и методики количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Результаты. На основании литературных данных разработана диагностическая панель, включающая 12 локусов коротких tandemных повторов (STR): D2S1360, D7S1517, D8S1132, D9S1118, D10S2325, D11S554, D12S1064, D12S391, MYCL1, P450sup19, Se-33, Amelogenin. Подобраны праймеры для STR и их рабочие концентрации. Установлены оптимальные условия амплификации, а также условия разделения продуктов в агарозном геле. В рамках предварительного экспериментального исследования произведена полуколичественная оценка химеризма у пациента на 30-й, 71-й, 85-й день после ТГСК. Локус считается информативным

при наличии хотя бы одного отличающегося аллеля в образцах ДНК донора и реципиента. В данном случае при определении STR-профиля образцов такими маркерами стали D11S554, SE-33. Оценку результатов производили при помощи программного обеспечения Quantity One (Bio-Rad Laboratories). Для локуса D11S554 интенсивность сигнала информативного донорского аллеля составила: на 30-й день — 34,7%; на 71-й день — 9,7%, а на 85-й день — 11,4% по отношению к суммарной интенсивности сигнала донорских аллелей. Для локуса SE-33 эти значения составили на 30-й день — 64,2%, на 71-й день — 9,5% и на 85-й день — 28,9%. Состоятельность полученных результатов подтверждена тестом на основе панели Allele SEQR Chimerism для qPCR (Abbot, США), по итогам которого донорский химеризм пациента на 71-й и 85-й день после ТГСК составлял 10,0% и 30,5% соответственно; на 30-й день тест проведен не был.

Выводы. Проведены предварительные экспериментальные испытания диагностической панели для полуколичественной оценки гемопоэтического химеризма. Результаты тестов проанализированы и подтверждаются верифицированным методом. В дальнейшем планируется оптимизировать условия для амплификации нескольких продуктов в одной пробирке (multiplex ПЦР) с последующей количественной оценкой химеризма посредством капиллярного электрофореза.

Иоффе Ю. Г.

Благотворительный фонд «Карельский регистр неродственных доноров гемопоэтических стволовых клеток», Петрозаводск

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ КАРЕЛЬСКОГО РЕГИСТРА НЕРОДСТВЕННЫХ ДОНОРОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЗА 10 ЛЕТ (2004–2014 гг.)

Введение. Анализ деятельности регистра доноров костного мозга позволяет объективно оценить его работу, определить место в ряду других регистров, а также выявить его потенциальные возможности. К сожалению, донорство костного мозга в России пока развито недостаточно. По этой причине до сих пор не разработаны независимые критерии оценки работы регистров. Поэтому анализ своей деятельности регистры проводят по собственной инициативе.

Целью данной работы явилась статистическая оценка деятельности Карельского регистра неродственных доноров гемопоэтических стволовых клеток за 10-летний период.

Материал и методы. Проанализированы основные параметры, дающие возможность объективно оценить деятельность регистра доноров костного мозга: общее количество доноров, количество доноров с установленным HLA-A-B-DRB1 генотипом, количество запросов на поиски доноров, количество подборов доноров, число донаций гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Оценивались статистические значения параметров в период с 2004 по 2014 гг. по итогам каждого года.

Результаты. Общее количество доноров составило: 2004 г. — 1183 человек, 2005 г. — 1292, 2006 г. — 1992, 2007 г. — 2080, 2008 г. — 2458, 2009 г. — 2732, 2010 г. — 2711, 2011 г. — 2723, 2012 г. — 2720, 2013 г. — 2792, 2014 г. — 2961. Таким образом, за 10 лет донорская база выросла в 2,5 раза. Количество доноров с установленным HLA-A-B-DRB1 генотипом по данным за 2006–2014 гг. (за 2004–2005 гг. информации нет): 2006 г. — 85 человек (4,3% от общего числа доноров), 2007 г. — 91 (4,4%), 2008 г. — 106 (4%), 2009 г. — 121 (4,4%), 2010 г. — 165 (6%), 2011 г. — 218 (8%), 2012 г. — 258 (9,5%), 2013 г. — 375 (13,4%), 2014 г. — 554 (18,7%). Следует отметить, что доля доноров с установленным HLA-A-B-DRB1 генотипом за 8 лет выросла в абсолютных цифрах в 6,5 раз, а в процентном отношении в 4,3 раза. Соответственно, доля доноров, имеющих только HLA-A-B генотип, уменьшилась с 95,7% (2006 г.) до 81,3% (2014 г.).

Число запросов на поиски доноров: 2004 г. — 26 (получены от иностранных поисковых центров), 2005 г. — 15 (от иностранных поисковых центров), 2006 г. — 12 (10 — от иностранных поисковых центров, 2 — от российских поисковых центров), 2007 г. — 8 (6 и 2), 2008 г. — 34 (31 и 3), 2009 г. — 33 (22 и 8), 2010 г. — 47 (15 и 32), 2011 г. — 48 (14 и 34), 2012 г. — 67 (19 и 48), 2013 г. — 109 (47 и 62), 2014 г. — 62 (41 и 21). Таким образом, за 10 лет количество запросов от российских поисковых центров выросло с 0 до нескольких десятков в год.

Общее число подобранных доноров (включая полностью и частично совместимых) распределилось следующим образом: 2004 г. — 2 (полностью совместимые — 2, частично совместимые — 0), 2005 г. — 0, 2006 г. — 2 (1 и 1), 2007 г. — 1 (0 и 1), 2008 г. — 11 (0 и 11), 2009 г. — 12 (0 и 12), 2010 г. — 37 (0 и 37), 2011 г. — 1 (0 и 1), 2012 г. — 9 (0 и 9), 2013 г. — 8 (1 и 7) и 2014 г. — 8 (0 и 8). Иначе говоря, одного полностью совместимого донора удавалось подобрать в среднем 1 раз в 2,5 года, причем сделать прогноз вероятности такого подбора было невозможно (временной отрезок «удачных подборов» составил 2 года и 7 лет). И, наконец, последний показатель — количество донаций ГСК. В 2004 г. нашими донорами выполнено 2 донации, в последующие годы подобных удач не было.

Выводы. Несмотря на небольшую донорскую базу 10-ти летний опыт работы нашего регистра позволяет сделать следующие выводы:

1. «Малые» регистры доноров костного мозга востребованы поисковыми центрами. Возможно, одной из причин этого может быть наличие в них доноров, имеющих редкие HLA-генотипы.
2. Преобладание запросов на поиски доноров от иностранных центров косвенно свидетельствует о невысокой частоте неродственных трансплантаций ГСК в России. Наряду с другими причинами этому может способствовать и низкая информированность гематологов о возможностях отечественных регистров доноров костного мозга;

3. Типирование по трем (HLA-A-B-DRB1), как минимум, или более локусам во время рекрутинга доноров ведет к росту востребованности регистра, тем самым снижая

временные, финансовые и ресурсные затраты на последующем этапе подбора совместимых доноров.

Котелевская Е. А.^{1,2}, Шунькина К. В.¹, Смирнова С. А.^{1,2}, Смолянинов А. Б.^{1,2}

¹ ООО «Покровский банк стволовых клеток», Санкт-Петербург, Россия

² Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ HLA-A,— B,— DRB1 ЛОКУСОВ В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ РЕГИОНЕ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Введение. Пуповинная кровь как источник гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) давно применяется при лечении гематологических, иммунологических и онкологических заболеваний. Пуповинная кровь обладает рядом преимуществ: повышенный потенциал роста и пролиферации клеток, лучшая приживаемость, меньшая частота реакции «трансплантат против хозяина», а также неограниченные ресурсы по заготовке образцов, возможность подбора редких HLA-гаплотипов, обязательный контроль инфекционной безопасности перед заготовкой. При необходимости трансплантации ГСК пуповинная кровь может быть единственным шансом на жизнь для пациентов, для которых не удалось найти донора костного мозга. Поэтому создание общественных банков пуповинной крови и объединение баз данных образцов пуповинной крови в Российской Федерации значительно упрощает процедуру поиска образцов ГСК в стране.

Целью работы является определение антигенов главного комплекса гистосовместимости образцов пуповинной крови общественного хранения, созданного на базе ООО «Покровский банк стволовых клеток», молекулярно-генетическим методом для создания регистра образцов пуповинной крови и анализа полиморфности локусов HLA-A,— B,— DRB1 жителей Северо-Западного региона Российской Федерации.

Материалы и методы. В процессе работы было проведено HLA-типирование 920 образцов пуповинной крови методом SSP (sequence-specific priming). ДНК выделяли из 0,2–0,5 мл цельной крови, применяя наборы для выделения ProtransDNABox 500 (Protrans, Германия) и AxyPrepBloodGenomic DNA MiniprepKit

(Axugen, США). Анализировали локусы HLA-A, HLA-B и HLA-DRB1, используя циклерплатную систему ProtransHLA-A*,— B*,— DRB1* (Protrans, Германия) и BAGHealthcare HISTOTYPEABDR (BAGHealthcare, Германия). Статистическую обработку данных проводили с помощью ресурса www.hla-net.eu.

Результаты. В процессе исследования были выявлены следующие наиболее часто встречающиеся аллели: HLA-A*02–29,7%, *03–15,8%, *01–13,1%; HLA-B*07–12,4%, *35–12,0%, *44–8,7%; HLA-DRB1*07–14,8%, *15–14,3%, *13–13,7%. Частота часто встречающихся гаплотипов составляет: HLA-A*01-B*08-DRB1*03–3,96%, HLA-A*03-B*07-DRB1*15–3,59%, HLA-A*03-B*35-DRB1*01–3,22%, HLA-A*02-B*13-DRB1*07–2,64%.

Выводы. При сравнении полученных данных распределения аллелей и гаплотипов ГКГ в Санкт-Петербурге и Ленинградской области с результатами исследований полиморфизма генов HLA-системы на территории Российской Федерации (Самары, Москвы, Челябинска, Чувашии), а также стран ближнего зарубежья (Украина, Белоруссия) были выявлены некоторые отличия. В связи с этническим разнообразием в стране рекомендуется создавать общественные банки пуповинной крови и регистры костного мозга в каждом крупном региональном центре. Главным преимуществом наличия собственного ресурса ГСК в регионе помимо доступности и уменьшения стоимости материала для трансплантации является то, что вероятность совпадения HLA-генотипа среди одной популяции гораздо выше, чем при поиске в мировом регистре.

Кузьминова Е. П., Юшкова А. А., Чугреева Т. П., Хамаганова Е. Г.

ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, Москва

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НУЛЕВОГО АЛЛЕЛЯ HLA-C*04:09N СРЕДИ ДОНОРОВ И БОЛЬНЫХ, НУЖДАЮЩИХСЯ В НЕРОДСТВЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Введение. Как известно, нулевой или молчащий аллель характеризуется отсутствием способности экспрессировать белок или кодирует нефункциональный белок. Считается, что идентификация нулевых аллелей в генотипах HLA занимает важное место в определении совместимости доноров и реципиентов, нуждающихся в трансплантации. Так, нулевой аллель локуса C — HLA-C*04:09N, расположенный в седьмом экзоне гена, имеет делецию в позиции 1095 в 365 кодоне. Данная мутация сдвигает открытую рамку считывания, что в результате приводит к удлинению цитоплазматического домена тяжелой цепи HLA-Cw4 (добавление 32 аминокислот в C-терминальном конце) и отсутствию поверхностной экспрессии молекулы. При HLA типировании для подбора доноров на неродственную трансплантацию необходимо учитывать такие неэкспрессируемые аллели.

Целью данного исследования было обнаружение нулевого аллеля локуса C (HLA-C*04:09N) среди пациентов, нуждающихся в трансплантации костного мозга, и потенциальных доноров стволовых клеток.

Материалы и методы. В исследовании участвовали пациенты с онкогематологическими заболеваниями, наблюдавшиеся в ФГБУ ГНЦ Минздрава России в период за 2013–2014 годы, а также потенциальные доноры стволовых клеток, включенные в регистр неродственных доноров ФГБУ ГНЦ за период 2014 — начало 2015 годов. Все исследуемые образцы были типированы по генам HLA I и II класса. Типирование локусов HLA-A,— B,— C,— DRB1,— DQB1 проводили методом PCR-SBT, либо PCR-SSP с применением коммерческих наборов фирм Invitrogen (USA), Olerup (Sweden) и Protrans (Germany). Наличие или отсутствие нулевого аллеля HLA-C*04:09N определяли набором «HLA-C high resolution for frequent alleles HLA-C*04:09N» фирмы Olerup. Статистическая обработка данных проводилась согласно общепринятым методикам.

Результаты: В общей сложности было протипировано 505 человек (337 больных и 168 доноров). Поскольку, согласно литературным данным, аллель HLA-C*04:09N обнаруживается

в составе гаплотипа HLA-B*44:03-C*04:01:01G, то в дальнейшем наше внимание было сосредоточено на индивидах с данным сочетанием. В результате у 20 человек из общей выборки в генотипе было обнаружено сочетание генов B*44-C*04 (3,96%). Среди них было проведено уточняющее типирование локуса HLA-C для определения наличия или отсутствия нулевого аллеля. В результате, среди носителей B*44-C*04 один образец оказался положительным по наличию нулевого аллеля, что составило 0,2% от общей выборки. Нулевой аллель HLA-C*04:09N был обнаружен в составе гаплотипа HLA-A*23-B*44-C*04:09N-DRB1*07-DQB1*02.

Выводы. В нашем исследовании частота аллеля HLA-C*04:09N составила 0,2%, что соответствует основным результатам, опубликованным ранее в работах С. Pinto и В. Моог. Поскольку нулевые аллели выявляются с достаточно высокой частотой, это необходимо иметь в виду при HLA типировании больных и доноров для неродственной трансплантации стволовых клеток, что, в свою очередь, делает определение нулевых аллелей неотъемлемой частью работы клинической лаборатории. Такие аллели невозможно обнаружить серологически, однако, и молекулярно-генетическими методами их можно обнаружить не всегда. Так, метод HLA-SBT для типирования HLA I класса ограничивается секвенированием 2 и 3 экзонов гена. Нулевой аллель C*04:09N, входящий в группу C*04:01:01G, имеет одинаковую последовательность со всеми аллелями данной группы во 2 и 3 экзонах, и отличается наличием делеции в экзоне 7. В результате, данный аллель может не выявляться методом HLA-SBT (экзон 7 обычно не секвенируется). Таким образом, определение нулевых аллелей, особенно при HLA типировании для трансплантации, требует особого внимания и применения нескольких молекулярно-генетических методов. Это связано с тем, что наличие в генотипе неучтенных нулевых аллелей, в частности C*04:09N, может запускать ряд иммунологических реакций, оказывать влияние на приживаемость трансплантата и возможное развитие РТПХ.

Кузьмич Е. В., Алянский А. Л., Иванова Н. Е., Бондаренко С. Н.

ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии имени
Р. М. Горбачевой

ПРИМЕНЕНИЕ Т-КЛЕТОЧНОГО ЭПИТОПНОГО АЛГОРИТМА ОЦЕНКИ ИММУНОГЕННОСТИ HLA-DPB1 АЛЛЕЛЕЙ В ПРОЦЕССЕ СЕЛЕКЦИИ ОПТИМАЛЬНОГО ДОНОРА ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Цель работы. Проанализировать возможность использования Т-клеточного эпитопного алгоритма оценки иммуногенности HLA-DPB1 аллелей в процессе селекции оптимального неродственного донора гемопоэтических стволовых клеток.

Материалы и методы. Выполнен анализ результатов 54 аллогенных неродственных трансплантаций гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), проведенных пациентам с онкогематологическими заболеваниями в период 2009–2012 гг. Подбор пар реципиент/донор осуществлен по 10 HLA аллелям (HLA-A,— B,— C,— DRB1,— DQB1) при использовании типирования высокого разрешения. Определение HLA-DPB1 аллелей выполнено с помощью методов полимеразной цепной реакции с использованием сиквенс-специфичных олигонуклеотидных проб (реагенты фирмы «One Lambda») и метода секвенирования (реагенты фирмы «Protrans»). Для классификации HLA-DPB1 аллелей донора и реципиента по степени иммуногенности применен Т-клеточный эпитопный алгоритм (TCE-алгоритм) (Zino E. et al., 2007; Crocchiolo R. et al., 2009; Fleischhauer K. et al., 2012). Статистический анализ данных выполнен с помощью пакета SAS Enterprise Guide (версия 5.1). Для анализа риска развития острой реакции «трансплантат-против-хозяина» применены точный тест Фишера, метод логистической регрессии. Сравнительный анализ общей выживаемости больных осуществлен с помощью метода Каплан-Майер. Для оценки достоверности различий применен Log-rank тест. Многофакторный анализ общей выживаемости пациентов после алло-ТГСК выполнен с помощью метода регрессии Кокса.

Результаты. Из 54 пар донор/реципиент, подобранных по 10/10 HLA аллелям (HLA-A,— B,— C,— DRB1,— DQB1), только 16,7% имели соответствие в HLA-DPB1 локусе. HLA-DPB1 аллели, определенные у пациентов и доноров, были классифицированы по степени иммуногенности в соответствии с Т-клеточным эпитопным алгоритмом (TCE-алгоритм). В зависимости от

принадлежности аллелей донора и реципиента к группам высокой, средней, низкой иммуногенности нами были выделены «допустимые» и «недопустимые» согласно TCE-алгоритму комбинации HLA-DPB1 аллелей. Недопустимые согласно TCE-алгоритму комбинации HLA-DPB1 аллелей были определены у 25 (46,3%) пар донор/реципиент. Из них 29,6% пар имели несоответствие аллелей в векторе «трансплантат-против-хозяина», 16,7% — в векторе «хозяин-против-трансплантата». Сравнительный анализ частоты развития острой реакции «трансплантат-против-хозяина» 3–4 степени выявил статистически достоверное увеличение риска развития осложнения в группе пациентов старше 18 лет, перенесших алло-ТГСК с применением немиелоаблативных режимов кондиционирования от доноров с недопустимым несоответствием HLA-DPB1 аллелей в векторе «хозяин-против-трансплантата» — RR3.75 (CI 1.01–13.40, p=0.04). Не было установлено статистически достоверной зависимости между наличием у пары донор/реципиент недопустимого несоответствия HLA-DPB1 аллелей в векторе «трансплантат-против-хозяина» и частотой развития острой РТПХ 3–4 степени. Сравнительный анализ 2-летней общей выживаемости был выполнен в группе пациентов с диагнозом «острый лейкоз» (ОЛЛ — 17 человек, ОМЛ — 27 человек). Установлено, что общая 2-летняя выживаемость больных после алло-ТГСК от доноров, подобранных по 12/12 аллелям, и пациентов, перенесших алло-ТГСК от доноров со степенью HLA подбора 11/12 аллелей с допустимым согласно TCE-алгоритму несоответствием HLA-DPB1 аллелей, не имела значимых различий — 75 и 65%. Общая 2-летняя выживаемость больных, получивших трансплантат от доноров с недопустимым согласно TCE-алгоритму несоответствием HLA-DPB1 аллелей, составила 38% (p=0.047). Многофакторный анализ, выполненный с учетом иммуногенетических и клинико-биологических параметров, выявил тенденцию снижения общей двухлетней выживаемости больных при наличии у пары донор/реципиент недопустимых согласно TCE-

алгоритму комбинаций HLA-DPB1 аллелей (HR1.53, p=0.078).

Заключение. Т-клеточный эпитопный алгоритм, разработанный для оценки иммуногенности HLA-DPB1 аллелей, позволяет выделить неблагоприятные (ассоциированные с повышением риска развития осложнений, снижением

общей выживаемости больных) комбинации аллелей пациента и потенциального донора ГСК. Исключение вариантов подбора с недопустимыми комбинациями HLA-DPB1 аллелей будет способствовать оптимизации процесса селекции донора, повышению эффективности аллогенной неродственной ТГСК.

Кузьмич Е. В., Макаренко О. А., Алянский А. Л., Ермолина В. В., Мерзлякова С. В., Иванова Н. Е., Афанасьев Б. В.

ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии имени
Р. М. Горбачевой

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДЛЯ HLA ТИПИРОВАНИЯ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДОНОРОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В РЕГИСТРЕ ПСПБГМУ им. И.П. ПАВЛОВА

Цель работы. Анализ распределения частот HLA аллелей, определенных с помощью метода секвенирования, в группе потенциальных доноров костного мозга Регистра ПСПБГМУ им. акад. И. П. Павлова.

Материалы и методы. Обследованы 200 потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток Регистра ПСПБГМУ им. акад. И. П. Павлова. Высокоразрешающее типирование HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1 аллелей осуществлено с помощью метода секвенирования по Сэнгеру. Использованы коммерческие наборы реагентов фирмы «Protrans» (Германия). Обработка результатов исследова-

ния осуществлена с помощью методов популяционной генетики с использованием программы Arlequin (версия 3.5.1.2).

Результаты. На основании результатов высокоразрешающего HLA типирования, выполненного с помощью метода секвенирования, исследовано распределение частот HLA аллелей в группе потенциальных доноров Регистра ПСПБГМУ им. акад. И. П. Павлова. Определены HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1 аллели, встречающиеся в обследованной группе с наибольшей частотой (таблица).

Таблица.

Распределение частот HLA аллелей.

HLA-A	Частота, %	HLA-B	Частота, %	HLA-C	Частота, %	HLA-DRB1	Частота, %	HLA-DQB1	Частота, %
*02:01	25,3	*07:02	9,1	*07:02	12,3	*07:01	11,8	*03:01	17,1
*24:02	12,4	*13:02	7,1	*04:01	12,3	*15:01	8,2	*02:01	13,3
*03:01	12,1	*08:01	6,5	*06:02	12,3	*01:01	8,0	*05:01	10,2
*01:01	10,3	*15:01	5,2	*07:01	10,9	*03:01	6,2	*03:02	8,3
*11:01	5,7	*18:01	4,8	*12:03	9,1	*04:01	5,5	*06:02	7,5
*26:01	4,9	*51:01	4,5	*02:02	5,7	*16:01	5,4	*05:02	6,0
*32:01	4,3	*44:02	4,0	*03:04	4,0	*11:01	4,9	*06:03	4,9
*25:01	3,7	*35:01	3,4	*03:03	3,7	*13:01	3,8	*03:03	2,6
*33:01	1,7	*38:01	3,3	*17:01	3,7	*13:03	3,4	*04:02	2,0
*68:01	1,7	*41:02	3,2	*01:02	2,3	*11:04	3,4	*06:01	1,4

Выделены 5-локусные гаплотипы, представленные в группе обследованных потенциальных доноров с максимальной частотой: A*01:01 – B*08:01 – C*07:01 – DRB1*03:01 – DQB1*02:01 (2,9%). A*03:01 – B*07:02 – C*07:02 – DRB1*15:01 – DQB1*06:02 (1,6%).

Заключение. В настоящей работе обобщен первый опыт применения метода секвенирования для типирования HLA аллелей потенциальных доноров костного мозга Регистра ПСПБГМУ им. акад. И. П. Павлова.

Лебедева Л.Л., Пухликова Т.В., Чумак А.А., Павленко С.В., Зинкин В.Ю., Майорова О.А.

ГБУЗ «Станция переливания крови Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва

ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА АНТИГЕНОВ ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ БАНКА ОБРАЗЦОВ ПУПОВИННОЙ КРОВИ ГБУЗ «СТАНЦИИ ПЕРЕЛИВАНИЯ КРОВИ ДЕПАРТАМЕНТА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ»

Введение. Поиск и подбор неродственного донора гемопоэтических стволовых клеток для нуждающихся пациентов — сложный и многоступенчатый процесс, зависящий от многих факторов, и в первую очередь, гистосовместимости пары донор-реципиент. Известно, что система HLA отличается высокой полигенностью и экстремальным полиморфизмом, а частоты встречаемости как аллелей, так и её гаплотипов значительно варьируют между расами и этническими популяциями. Поэтому знание особенностей иммуногенетического профиля региональных донорских регистров костного мозга и банков пуповинной крови имеет важное значение для оценки вероятности нахождения подходящего HLA совместимого донора, что особенно актуально для многонациональной России.

В настоящее время в банке СПК хранится около 5000 единиц пуповинной крови (ПК), типированных по HLA-A, B, C, DRB1 и DQB1 генам, внесенных в реестр неродственных доноров ГСК.

Целью исследования явилось изучение характера распределения специфических аллельных групп и гаплотипов системы HLA донорских образцов банка пуповинной крови СПК.

Материал и методы. Были проанализированы 2000 образцов ПК, типированных по HLA-системе молекулярно-генетическими методами — ПЦР с использованием аллель-специ-

фических праймеров (SSP) и с помощью гибридизации с олигонуклеотидными зондами (SSO) на платформе мультиплексного анализатора Luminex. Статистическую обработку результатов типирования проводили по трем локусам HLA-A, B и DRB1. Частоты встречаемости аллельных групп и их гаплотипов определяли методом максимального правдоподобия с использованием программы Arlequin 3.1

Результаты. В результате исследования в банке пуповинной крови СПК были выявлены все известные группы аллелей генов HLA за исключением крайне редко встречаемых во всех этнических популяциях. Частота встречаемости (в долях единицы) HLA-аллелей представлена в *таблице 1*. По гаплотипам HLA-A/B/DRB1 были выявлены 927 их вариантов (сумма частот которых составляет 0,999996), наиболее часто встречаемые из них, представлены в *таблице 2*. Сравнительный анализ полученных результатов с данными международной базы Allele Frequency Net Database выявил как общие тенденции в частоте встречаемости групп HLA-аллелей и гаплотипов в славянских популяциях, так и их особенности в московском банке пуповинной крови. Так, гаплотип A*02/B*41/DRB1*13 у доноров ПК московского региона встречается значительно чаще (2,6%), чем в других этнических популяциях мира (0,0%-0,42%).

Таблица 1.

Частота встречаемости HLA-A, B, DRB1 генов в банке ПК СПК г. Москвы.

Группы аллелей	Частота	Группы аллелей	Частота	Группы аллелей	Частота
HLA-A		B*13	0,06325	B*55	0,00950
A*01	0,11950	B*14	0,02650	B*52	0,02450
A*02	0,29500	B*15	0,06050	B*53	0,00125
A*03	0,13850	B*17	0,00025	B*56	0,01275
A*11	0,06550	B*18	0,07775	B*57	0,02550
A*23	0,02300	B*27	0,04500	B*58	0,01200
A*24	0,10575	B*35	0,10999	B*73	0,00100
A*25	0,04525	B*37	0,01150	HLA-DRB1	
A*26	0,04825	B*38	0,04450	DRB1*01	0,11850
A*29	0,01575	B*39	0,02275	DRB1*03	0,08250
A*30	0,02600	B*40	0,06050	DRB1*04	0,10685

Группы аллелей	Частота	Группы аллелей	Частота	Группы аллелей	Частота
A*31	0,01950	B*41	0,03025	DRB1*07	0,14050
A*32	0,02850	B*42	0,00100	DRB1*08	0,03475
A*33	0,02450	B*44	0,09400	DRB1*09	0,01225
A*66	0,00775	B*45	0,00325	DRB1*10	0,01300
A*68	0,03550	B*46	0,00175	DRB1*11	0,14375
A*69	0,00175	B*47	0,00250	DRB1*12	0,02350
A*74	0,00025	B*48	0,00375	DRB1*13	0,13700
HLA-B		B*49	0,01575	DRB1*14	0,02150
B*07	0,11075	B*50	0,01475	DRB1*15	0,12100
B*08	0,06475	B*51	0,04950	DRB1*16	0,04500

Таблица 2.

Частота встречаемости HLA-A/B/DRB1 гаплотипов в банке ПК СПК г. Москвы.

Гаплотипы	Частота	Гаплотипы	Частота
A *01/B *08/DRB1 *03	0,041292	A *02/B *41/DRB1 *13	0,013057
A *03/B *07/DRB1 *15	0,024050	A *25/B *18/DRB1 *15	0,012475
A *02/B *13/DRB1 *07	0,018070	A *30/B *13/DRB1 *07	0,010696
A *03/B *35/DRB1 *01	0,017853	A *11/B *35/DRB1 *01	0,010569
A *02/B *18/DRB1 *11	0,014590	A *33/B *14/DRB1 *01	0,010467
A *02/B *07/DRB1 *15	0,013092	A *24/B *13/DRB1 *07	0,009671

Выводы. Полученные данные свидетельствуют, что распределение частот встречаемости HLA-аллелей и гаплотипов в банке пуповинной крови СПК имеет свои характерные особен-

сти, которые необходимо учитывать при подборе пары донор-реципиент для трансплантации ГСК.

Павленко С.В., Лебедева Л.Л., Чумак А.А., Пухликова Т.В., Зинкин В.Ю., Майорова О.А.

ГБУЗ «Станция переливания крови Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ KIR-РЕЦЕПТОРОВ СРЕДИ ОБРАЗЦОВ БАНКА ПУПОВИННОЙ КРОВИ ГБУЗ «СТАНЦИИ ПЕРЕЛИВАНИЯ КРОВИ ДЕПАРТАМЕНТА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ»

Введение. KIR система характеризуется высоким уровнем полиморфизма, как и ее HLA-лиганды, и обладает выраженным разнообразием в частоте встречаемости как самих KIR-генов, так и KIR-гаплотипов у различных народностей и этнических группах. KIR-генотип донора может влиять на эффективность трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при онкогематологических заболеваниях. Ввиду неоднозначности имеющихся данных о влиянии несоответствия KIR-генотипа на клинический исход трансплантации, популяционные исследования этой полиморфной системы представляются актуальными.

Цель исследования. Охарактеризовать распределение KIR-генов и KIR-генотипов среди образцов банка пуповинной крови СПК, полу-

ченных от условно здоровых новорожденных потенциальных доноров в Московском регионе и сравнить частоты этих генов с показателями в других популяциях.

Материалы и методы. Было проведено молекулярно-генетическое типирование 188 образцов пуповинной крови славян. Генотипирование проводили методом PCR-SSO на платформе Luminex с использованием наборов Life Codes KIR Typing KIT (Immucor USA). Частоту встречаемости KIR-генов и генотипов определяли методом прямого подсчета. Наименование KIR-генотипов определяли согласно номенклатуре базы данных Allele Frequencies KIR Database. Статистический анализ частотных различий KIR-генов в разных популяционных группах проводили с использованием критерия χ^2 и точного критерия Фишера.

Результаты. Частота встречаемости ингибирующих KIR-генов в обследованных образцах пуповинной крови оказалась значительно выше (85,6%) чем активирующих KIR-генов (46%) за исключением гена 2DS4, который присутствовал в 96,8%. Практически во всех образцах пуповинной крови присутствовали ингибирующие гены *KIR2DL1* (98,9%), *KIR2DL2* (79%), *KIR2DL3* (87,2%) и *KIR3DL1* (88,3%).

Структурные ингибирующие гены *KIR3DL2*, *KIR3DL3* и псевдогены *KIR2DP1* и *KIR3DP1* присутствовали во всех 188 исследованных образцах.

Активирующие KIR-гены встречались с частотой (46%): *KIR2DS2* (60,0%), *KIR2DS1* (46,8%), *KIR2DS3* (37,2%), *KIR3DS1* (38,8%). Наименьшая частота встречаемости была обнаружена для гена *KIR2DS5* (33,6%).

При анализе KIR-генотипов образцов пуповинной крови у 23,4% был выявлен AA-генотип (ID1). Среди Vx-генотипов (76,5%) наиболее часто встречались ID4 (8%), ID5 (9%), ID6 (10%), ID8 (7%), ID71 (6%), остальные Vx-генотипы имели частоту встречаемости менее 3%.

Таблица.

Частота встречаемости KIR-генов среди образцов банка ПК СПК (n=188)

Ингибирующие KIR-гены					
	2DL1	2DL2	2DL3	2DL5	3DL1
Частота встречаемости%	98.9	79	87.2	52.7	88.3
Активирующие KIR-гены					
	2DS1	2DS2	2DS3	2DS5	3DS1
Частота встречаемости%	46.8	60.1	37.2	34.6	38.8

Анализ частоты KIR-генов и KIR-генотипов в других популяциях, проведенный с использованием базы данных Allele Frequencies KIR Database, выявил наибольшее сходство этих показателей с восточно-европейскими славянами, за исключением гена 2DL2, частота которого была достоверно выше ($p < 0,05$).

Выводы. Полученные результаты позволяют утверждать, что частотное распределение KIR-генов и KIR-генотипов среди донорских образцов пуповинной крови московского региона имеет как общие черты с популяциями восточно-европейских славян, так и свои характерные особенности.

Павлова А. А., Бубнова Л. Н., Соколова Ю. В., Бессмельцев С. С., Павлова И. Е.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ IL-1A И IL-1B У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

Введение. Множественная миелома (ММ) характеризуется обилием и разнообразием клинических проявлений. Оссалгия, являющаяся одним из ведущих симптомов заболевания, обусловлена резорбцией костной ткани, причиной которой может быть существенное увеличение активности остеокластов или ингибция остеокластов. Известно, что наряду с IL-6, IL-1 является остеокластактивирующим фактором. Этот цитокин играет важную роль в развитии костной болезни и, вместе с TNF-α и IL-3, оказывает существенное влияние на процесс деструкции в костях у пациентов с множественной миеломой. Установлено, что одиночные нуклеотидные замены в генах цитокинов могут повлиять на их

транскрипцию и продукцию, что в свою очередь может оказать существенное влияние на течение множественной миеломы.

Целью настоящего исследования явилось определение однонуклеотидных полиморфных вариантов (SNP) генов IL-1α (-889T/C) и IL-1β (-511C/T, +3962T/C), ассоциированных с развитием ММ у жителей Северо-Западного региона России, а также определяющих тяжесть поражения костной ткани.

Материалы и методы. Обследовано 44 больных ММ, средний возраст пациентов составил 69,3 ± 9,2 лет. Пациенты были разделены на две группы в зависимости от выявленных изменений в костях: 1-я группа (20 пациентов) — с вы-

раженными остеолитическими поражениями костной ткани (III стадия по классификации Durie-Salmon); 2-я группа (24 пациента) — с проявлениями остеопороза и единичными очагами лизиса (II стадия по классификации Durie-Salmon). Контрольную группу составили 40 здоровых добровольцев (средний возраст — 54 ± 10,1 лет). Все обследованные лица являлись жителями Северо-Западного региона (Санкт-Петербург), считающими себя и своих родителей русскими, и не связанными кровным родством. Геномную ДНК выделяли из ядросодержащих клеток периферической крови. Определение SNP генов IL-1α и IL-1β проводили с помощью стандартного набора реагентов (Invitrogen), используя PCR-SSP. Визуализацию результатов осуществляли посредством горизонтального электрофореза в агарозном геле.

Результаты. На основании результатов типирования полиморфных участков генов IL-1α и IL-1β у больных ММ и здоровых лиц установлено, что некоторые частоты генотипов в общей когорте обследованных больных отличались от результатов, полученных в контрольной группе. Например, генотип IL-1α -889TT у здоровых лиц встречался в 7 раз реже, чем у больных ММ (0,025 к 0,186 соответственно), а генотип IL-1β +3962TT в 2 раза реже встречался у здоровых лиц, нежели у больных ММ (0,100 к 0,233). При анализе SNP гена IL-1β -511C/T различия между пациентами с ММ и здоровыми ли-

цами наблюдались в генотипах IL-1β -511CC и -511CT — частоты данных генотипов в группе здоровых составили 0,375 (для -511CC) и 0,525 (для -511CT), тогда как в группе пациентов, наоборот, частоты этих генотипов были 0,535 и 0,372 соответственно. Сравнительный анализ результатов, полученных в двух выделенных группах больных, показал, что у пациентов с выраженными литическими поражениями (1-я гр.) частота генотипов IL-1β -511CC и IL-1β +3962CC была выше, чем во 2-й гр. пациентов (с проявлениями остеопороза и единичными очагами лизиса) — 0,583 к 0,474 (для IL-1β -511CC) и 0,542 к 0,369 (для IL-1β +3962CC), соответственно. Генотип IL-1α -889TT в 1-й группе больных выявлялся значительно чаще, чем у здоровых лиц и во 2-й группе больных ММ (0,208 к 0,025 и к 0,158 соответственно). Частота генотипа IL-1β +3962CC в группе пациентов с проявлениями остеопороза была значительно меньше (0,369), чем в группе здоровых лиц (0,575).

Выводы. Таким образом, полученные нами результаты позволяют расценивать следующие генотипы как факторы, предрасполагающие к развитию ММ: IL-1α -889TT, IL-1β -511CC и IL-1β +3962TT; тогда как генотипы IL-1α -889CT, IL-1β -511CT и IL-1β +3962CC, вероятно, можно рассматривать как протекторы развития заболевания. Генотип IL-1β -511CC ассоциирован с развитием тяжелых остеолитических поражений при этом заболевании.

Пирожков И. А.^{1,2}, Смолянинов А. Б.^{1,2}, Четкин А. В.³, Иволгин Д. А.^{1,2}

¹ Покровский банк стволовых клеток, Санкт-Петербург

² Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова, Санкт-Петербург

³ ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА», Санкт-Петербург

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА CCR5 И РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К ИНФИЦИРОВАНИЮ ВИЧ. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ ОБЩЕСТВЕННОГО РЕГИСТРА ПУПОВИННОЙ КРОВИ

Введение. Вирус иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1) был открыт в 1983 году. Однако до настоящего времени пандемия ВИЧ инфекции всё ещё остается одной из самых серьезных проблем здравоохранения. ВИЧ проникает в клетку после взаимодействия гликопротеина вирусной оболочки gp120 преимущественно с двумя поверхностными клеточными рецепторами — CD4 и CCR5. Одновременная экспрессия этих рецепторов встречается на Т-лимфоцитах, моноцитах, макрофагах и дендритных клетках.

Известен вид полиморфизма гена *CCR5*, представляющий собой делецию 32 пар нуклеотидов в кодирующей области гена (*CCR5 delta 32*). У лиц с генотипом *CCR5 delta 32/delta 32* выявлена практически полная резистентность к инфицированию ВИЧ-1. Аллельный полиморфизм *CCR5 delta 32* в гомозиготном состоянии определяется у 1% представителей европеоидной расы, гетерозиготами являются в среднем 10–15% европейцев. Известен успешный случай трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

(ТГСК) с генотипом *CCR5 delta 32/delta 32* ВИЧ-инфицированному пациенту с острым миелоидным лейкозом в 2007 году в Германии. После трансплантации пациент прекратил приём противовирусных препаратов. При этом по настоящее время вирусная нагрузка остаётся неопределяемой, а при анализе периферической крови и биоптатов различных тканей не удаётся выявить наличия провирусной ДНК. Перспективы применения пуповинной крови (ПК) при лечении ВИЧ-инфекции связаны с возможностью проведения ТГСК ПК ВИЧ-инфицированному реципиенту от донора, являющегося гомозиготным носителем мутации *CCR5 delta 32*.

Цель работы. Оценка научно-организационных возможностей создания общественного регистра ПК с генотипом *CCR5 delta 32/delta 32* для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов.

Материалы и методы. Скрининговое обследование ПК для детекции полиморфизма гена *CCR5* производилось с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). HLA-типирование *CCR5 delta 32/delta 32* образцов ПК выполнялось методом SSP (sequence-specific priming) (Protrans, Германия). Исследована длина теломер *CCR5 delta 32/delta 32* образцов ПК методом ПЦР в реальном времени.

Результаты работы. Всего обследовано 4000 образцов ПК, находящихся на хранении в общественном регистре Покровского банка стволовых клеток. В результате исследования отобрано 40 образцов с генотипом *CCR5 delta 32/delta 32*, что составило 1% в относительном количестве. В 721 образцах полиморфизм *CCR5 delta 32*

присутствовал в гетерозиготном состоянии или 18,03% в относительном количестве. Проведён сравнительный анализ распределения HLA-аллелей у доноров ПК с диким типом гена *CCR5*, подобранных методом случайной выборки, и среди доноров ПК с генотипом *CCR5 delta32/delta32*. Отмечена высокая встречаемость наиболее распространённых на Северо-Западе России HLA-аллелей среди доноров ПК обеих групп. Средняя длина теломер *CCR5 delta 32/delta 32* клеток ПК составила 8,72 т.п.н. (возрастная норма составляет 8,4–11,8 т.п.н.).

Выводы.

1. Частота встречаемости генотипа *CCR5 delta 32/delta 32* в Северо-Западном регионе Российской Федерации составляет около 1%.
2. Выявлена высокая встречаемость наиболее распространённых на Северо-Западе России HLA-аллелей у доноров ПК с диким типом гена *CCR5* и среди *CCR5 delta 32/delta 32* доноров ПК, то есть существует значительно большая вероятность нахождения совместимого образца для ТГСК в региональном регистре доноров.
3. Исследование длины теломер показало нормальный пролиферативный потенциал клеток *CCR5 delta 32/delta 32* образцов ПК.
4. Обнаруженные в результате скрининга *CCR5 delta 32/delta 32* образцы позволяют организовать собственное региональное хранилище подобного рода образцов ПК.

Полякова А. П., Волкова О. Я., Трескина Н. А., Петренко Ю. В., Иванов Д. О.

ФГБУ «Северо-Западный Федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России, Санкт-Петербург

МИКРОХИМЕРИЗМ ГЕНОВ СИСТЕМЫ HLA У МАТЕРЕЙ И НОВОРОЖДЕННЫХ С ПАТОЛОГИЕЙ ПЕРИНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА

Микрохимеризм представляет собой присутствие в организме человека не более 1% чужеродных клеток от всех клеток индивидуума. Он может наблюдаться во время беременности, после переливания крови, трансплантации стволовых клеток и солидных органов. Перенос чужеродных клеток осуществляется посредством кровотока и, во время беременности, возможен в двух направлениях: от матери к плоду — «материнский микрохимеризм — МХ», и от плода

к матери — «фетальный микрохимеризм — ФХ». По данным литературы известно, что повышенная частота МХ характерна для детей с синдромом задержки внутриутробного развития (ЗВУР), гемолитической болезнью новорожденных (ГБН), а также после операции «наружный поворот плода».

Целью настоящего исследования было изучить возможность выявления феномена микрохимеризма по генам системы человеческого лей-

коцитарного антигена (HLA) локусов А, В, С, DRB1, DQB1 методом ПЦР с сиквенс-специфическими праймерами (SSP) и проанализировать частоту этого явления у матерей и новорожденных с патологией перинатального периода.

В исследование были включены 49 пар мать-новорожденный с патологией перинатального периода, в том числе 21 пара с ЗВУР плода, 20 пар с ГБН и 8 пар после операции внутриутробного поворота плода. Группу контроля составили 23 пары без патологии перинатального периода. Анализ микрохимеризма генов системы HLA локусов А, В, С, DRB1, DQB1 выполнялся методом ПЦР-SSP с использованием коммерческих тест-систем. Оценка значимости различий в ча-

стоте выявления химерных генов выполнялась на основании точного критерия Фишера.

В результате исследования микрохимеризм был выявлен в группе пациентов в 38,8% случаев (38 человек) и в 19,2% (5 человек) случаев в группе контроля (p=0,03). При этом более часто данное явление встречалось среди пар с ГБН (47,5% против 19,2% в контрольной группе, p=0,013). Отличия встречаемости химерных генов системы HLA в других исследуемых группах не были статистически значимыми по сравнению с группой контроля. Частота выявления микрохимеризма по генам системы HLA в исследуемых группах представлена в таблице.

Таблица.

Частота выявления микрохимеризма по генам системы HLA в исследуемых группах.

Исследуемая группа	Количество человек в группе	Химеризм общий	Локус HLA					Химеризм, %	
			A	B	C	DRB1	DQB1		Комбинация локусов
ЗВУР	42	14	1	1	12	2	0	1	33,33%
ГБН	40	19	0	2	15	4	1	3	47,50%
Наружный поворот	16	5	1	0	3	1	0	0	31,25%
Контроль	26	5	1	1	2	0	1	0	19,23%

Во всех исследуемых группах чаще выявлялся микрохимеризм генов в локусе HLA-C, а у пациентов с ЗВУР и ГБН еще и в локусе HLA-DRB1. Кроме того, в ряде случаев у пациентов из групп ЗВУР и ГБН отмечалось сочетание нескольких химерных генов из разных локусов. Изучение распределения химерных генов у матерей и их детей в исследуемых группах и контроле показало, что частота выявления материнского и фетального микрохимеризма не имела значимых отличий как среди пар с перинатальной патологией (МХ = 40,8% и ФХ = 32,6%), так и у здоровых лиц (МХ = 23,1% и ФХ = 15,4%).

Полученные данные подтвердили наше предположение о возможности выявления микрохимеризма по генам системы HLA локусов А, В, С, DRB1 и DQB1 в образцах крови матерей и их новорожденных детей методом ПЦР-SSP. При этом явление микрохимеризма генов HLA нами чаще наблюдалось среди пациентов с перинатальной патологией, чем у здоровых лиц и было более распространено, по нашим данным, среди пар с ГБН, что согласуется с данными литературы. Материнский и фетальный микрохимеризм выявлялся в исследуемых группах примерно с одинаковой частотой.

Преймачук Е. А., Степанов А. А., Коротаев Е. В., Пономарев С. А.

АУ «Югорский научно-исследовательский институт с банком стволовых клеток», Ханты-Мансийск

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АЛЛЕЛЕЙ HLA У ЖИТЕЛЕЙ ХАНТЫ-МАНСИЙСКОГО АВТОНОМНОГО ОКРУГА

Введение. Необходимым условием для проведения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) является наличие гистосовместимого донора. Вероятность найти HLA-идентичных сиблингов внутри семьи составляет только 25%. Поиск неродствен-

ного донора в существующих российских регистрах заканчивается результативно пока только в единичных случаях. Успешность поиска доноров для пациентов, проживающих в национальных регионах России, зависит от особенностей распределения HLA-аллелей среди населения.

Исследование особенностей частоты встречаемости HLA-аллелей у жителей Ханты-Мансийского автономного округа позволит обосновать необходимость создания регионального банка доноров.

Материалы и методы. В ходе исследования проведено HLA-типирование по двум локусам класса I (HLA-A,— B) и по одному локусу класса II (HLA-DRB1) 99 образцов пуповинной крови, собранных в роддоме г. Ханты-Мансийска и предназначенных для общественного хра-

нения. HLA-типирование образцов пуповинной крови проводили методом PCR SSP. Выделение ДНК выполнялось методом колоночной фильтрации реагентами Protrans (Германия). Концентрация ДНК оценивалась на спектрофотометре. Для амплификации использовали наборы Protrans HLA-A,— B,— DRB1 (Германия). Разделение продуктов амплификации проводилось методом электрофореза в агарозном геле.

Результаты. Частота генов HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 представлена в *таблице*.

Таблица.

Аллельные варианты локусов HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 и частоты их встречаемости в образцах ПК общественного регистра Югорского НИИ КТ г. Ханты-Мансийска.

HLA-A			HLA-B			HLA-DRB1		
Аллель	n	Частота	Аллель	n	Частота	Аллель	n	Частота
01	30	0,152	07	19	0,096	01	15	0,076
02	59	0,298	08	14	0,071	03	20	0,101
03	22	0,111	13	15	0,076	04	27	0,136
11	14	0,071	15	14	0,071	07	33	0,167
23	1	0,005	18	12	0,061	08	7	0,035
24	27	0,136	27	5	0,025	09	2	0,010
25	9	0,045	35	21	0,106	10	2	0,010
26	13	0,066	37	1	0,005	11	14	0,071
29	4	0,020	38	9	0,045	12	8	0,040
30	3	0,015	39	14	0,071	13	36	0,182
31	2	0,010	40	10	0,051	14	8	0,040
32	6	0,030	41	4	0,020	15	19	0,096
33	1	0,005	44	19	0,096	16	7	0,035
34	0	0,00	46	2	0,010			
36	0	0,00	47	1	0,005			
43	0	0,00	48	3	0,015			
66	0	0,00	49	5	0,025			
68	7	0,035	50	2	0,010			
69	0	0,00	51	13	0,066			
74	0	0,00	52	6	0,030			
80	0	0,00	53	1	0,005			
			55	2	0,010			
			56	2	0,010			
			57	3	0,015			
			58	1	0,005			

В локусе A определились 14 из 21 типизируемых генов. Не встречались специфичности HLA-A: *34, *36, *43, *66, *69 *74, *80. Наиболее распространен вариант гена HLA-A*02 — наиболее часто встречаемый аллельный вариант локуса, его частота составляет 0,298. Вторым по частоте встречаемости в локусе HLA-A у населения, проживающего на территории округа, определен *01—0,152. Далее по

частоте встречаемости идут специфичности *24—0,136, *03—0,111, *11—0,071. Высокие частоты данных аллелей типичны для европеоидной популяции. Эти 5 аллельных вариантов обнаруживаются в 76,8% случаев исследованной выборки. Аллельные варианты *33, *31, характерные для монголоидной популяции, наблюдались с минимальной частотой — 0,005 и 0,010.

В локусе B определились 25 из 34 типизируемых генов. Не встречались специфичности HLA-B: *14, * 42, *54, *67, *73, *78, *81, *82, *83. Наиболее распространен вариант гена *35, его частота составляет 0,106. Следующими по частоте встречаемости в локусе B являются аллели *7 и *44 с частотой 0,096. Далее идут специфичности *13 с частотой 0,076 и *8, *15, *39 с одинаковой частотой встречаемости 0,071.

В локусе DRB1 с разной частотой обнаружены все исследуемые гены. С частотой 0,182 превалирует DRB1*13. На втором месте по ча-

стоте встречаемости находится ген DRB1*07—0,167. По данным литературы достаточно высокая (около 0,20) частота DRB1*07 встречается у представителей Волго-Уральского региона — удмурты (0,231), татары (0,24), представителей центрально-сибирских популяций — буряты (0,26 и 0,13), и центрально-сибирской народности — манси (0,17).

Вывод. В результате исследования установлены частоты распределения HLA-генов у жителей Ханты-Мансийского автономного округа.

Рудакова Г. А., Вавилов М. Н., Беляева С. В., Завьялова Т. М., Суздалева С. Л., Сулова Т. А.

ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», Челябинск, Россия

ОПЫТ ПОДБОРА СОВМЕСТИМЫХ ДОНОРОВ КОСТНОГО МОЗГА ИЗ РЕГИСТРА ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОСПК

Введение. Челябинский Регистр потенциальных доноров стволовых клеток создавался на Челябинской областной станции переливания крови с 2004 года. В 2015 году в Регистре состоит более 5000 потенциальных доноров стволовой клетки, более 3000 типированы по 5 локусам HLA и включены в объединенную платформу поиска доноров костного мозга (BMDS) на базе НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой.

Известно, что подбор донора по фенотипу, состоящему из устойчивых гаплотипов, типичных для населения территории, на которой создается Регистр, будет намного проще, если искомым гаплотип HLA будет представлен генами, которые не имеют неравновесного сцепления.

Мы провели анализ HLA-фенотипов совместимых по 5 локусам доноров, которыми была выполнена донация за период 2007–2015 годы (11 человек). Еще 11 доноров были совместимы с пациентами, но оказались невостребованными по различным причинам. Пациенты были жителями различных российских городов, донация стволовой клетки проводилась в Екатеринбургской областной клинической больнице — 4 случая, в НИИ детской онкологии,

гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой — 5, в Республиканской детской клинической больнице (Москва) — 1, в Гематологическом научном центре РАМН — 1. В 2 случаях пары донор-реципиент были жителями Челябинской области.

Материалы и методы. Иммунологическое типирование было проведено методом SSP-PCR с помощью реактивов Protrans. Для статистических данных были использованы данные HLA типирования 1908 потенциальных доноров Челябинского Регистра различной национальности. Расчет генных частот гаплотипов (HF) проводился методом максимизации ожидания в компьютерной программе Arlequin 3.1 (<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3/>).

Результаты. Из 44 гаплотипов доноров, HLA-совместимых с реципиентами за период 2007–2015 годы 35 представляют из себя устойчивые гаплотипы (данные представлены в *таблице*). Чаще всего у пары донор-реципиент встречались гаплотипы, имеющие наибольшую частоту встречаемости в Регистре (A*01-B*08-DRB1*03—6, A*03-B*07-DRB1*15—4, A*03-B*35-DRB1*01—6)

Таблица 1.

Частота встречаемости гаплотипов HLA у доноров Челябинского Регистра, совместимых с пациентами трансплантационных клиник России.

Гаплотипы HLA-A-B-DRB1	Частота гаплотипа в Регистре (HF, %)	Количество гаплотипов у совместимых доноров
A*01-B*08-DRB1*03	3,58	6
A*03-B*35-DRB1*01	3,17	6
A*03-B*07-DRB1*15	2,94	4
A*02-B*13-DRB1*07	2,78	2
A*02-B*07-DRB1*15	1,64	1
A*25-B*18-DRB1*15	1,26	1
A*24-B*07-DRB1*15	0,93	1
A*02-B*18-DRB1*11	0,89	2
A*02-B*44-DRB1*16	0,83	2
A*02-B*44-DRB1*11	0,68	1
A*11-B*35-DRB1*01	0,67	1
A*01-B*57-DRB1*07	0,65	1
A*02-B*07-DRB1*13	0,47	1
A*02-B*35-DRB1*08	0,40	1
A*11-B*07-DRB1*15	0,30	5
A*02-B*52-DRB1*15	0,26	1
A*24-B*35-DRB1*01	0,23	1
A*01-B*44-DRB1*07	0,22	1
A*01-B*13-DRB1*07	0,21	1
A*02-B*08-DRB1*03	0,15	1
A*24-B*07-DRB1*11	0,00	1
A*11-B*07-DRB1*13	0,00	1

Интересно отметить, что в пяти случаях у доноров встречался гаплотип A*11-B*07-DRB1*15, который не имеет высокой частоты встречаемости в Регистре, однако ген A*11 более характерен для популяций татар и башкир, проживающих в Челябинской области.

Только у одного из 11 совместимых доноров набор генов не состоял из устойчивых гаплотипов HLA, а представлял случайную комбинацию генов различных локусов — HLA A*01,01 — B*07,15 — C*07,14 — DRB1*01,03 — DQA1*01:01,05:01 — DQB1*02:01,05:01. У данной пары донор-реципиент было одно несовпадение в локусе A (A*01, 26). Донор и пациент были уроженцами Челябинской области. Трансплантация стволовой клетки в этом слу-

чае была успешно проведена в апреле 2014 года в НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой.

Вывод. Вероятность успешного поиска HLA совместимого донора выше в том случае, если фенотип представлен устойчивыми гаплотипическими сочетаниями.

Коллектив авторов выражает глубокую благодарность за поддержку Челябинского Регистра доноров стволовых клеток благотворительным организациям: Российскому Фонду помощи, Челябинскому городскому общественному движению помощи онкобольным детям «Искорка», Центру волонтерских объединений Челябинской области.

Рыбкина В. Л., Азизова Т. В., Адамова Г. В., Теплякова О. В., Румянцева А. В.

Южно-Уральский институт биофизики ФМБА России, Челябинская область, г. Озерск, Озерское шоссе, 19, clinic@subi.su

ФОРМИРОВАНИЕ УРАЛЬСКОГО РЕГИОНАЛЬНОГО РЕГИСТРА ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) применяется для лечения различных злокачественных и неопухолевых заболеваний, особенно крови и иммунной системы (таких как лейкозы, гемоглобинопатии и первичные иммунодефициты). Самые лучшие результаты аллогенной трансплантации ГСК наблюдаются у пациентов, получающих трансплантат от совместимого по HLA-антигенам сиблинга. Однако только примерно 30% пациентов имеют HLA-идентичного брата или сестру, в связи с чем были предприняты большие усилия к созданию регистров доноров ГСК. Регистры доноров-добровольцев из разных стран объединены в мировой регистр. Наличие этих Регистров доноров ГСК позволяет найти подходящего по HLA-A, B, C, DRB1 локусам донора от 60% до 70% пациентам-кавказоидам. Однако частота гаплотипов HLA различна среди различных этнических групп, и пациентам, принадлежащим к этническим меньшинствам, а также пациентам смешанного происхождения по-прежнему трудно подобрать подходящего донора (вероятность около 10%) в регистрах, где доминируют кавказоиды. Поскольку Россия является многонациональным государством, создание российских регистров со всем многообразием этносов является актуальной задачей.

В период 2007–2014 г.г. в Федеральном государственном унитарном предприятии «Южно-Уральский институт биофизики» (ЮУрИБФ) ФМБА России проводилась работа по формированию Уральского регионального регистра доноров (УРРД) ГСК, основанная на российских законах, международных стандартах и собственных методических разработках.

В настоящее время УРРД состоит из базы паспортных, генетических данных и лаборатории молекулярно-генетического типирования доноров. Кроме того, на базе клинического отдела ЮУрИБФ создан Донорский центр г. Озерска, который взаимодействует с УРРД.

Для привлечения доноров используются средства массовой информации, наглядной агитации,

презентации и индивидуальное собеседование. HLA-типирование проводится методом сиквенс-специфических праймеров и сиквенс-специфических олигонуклеотидов по 3 локусам: HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1.

За период 2007–2014 гг в регистр включен 5061 человек, желающий стать потенциальным донором ГСК, из них 3074 (60,7%) — мужчины, 1987 (39,3%) — женщины, 72% из них в возрасте 40 лет.

Отбор доноров в регистр проводил врач-терапевт регистра по результатам внешнего осмотра потенциального донора и анкетирования. При этом принимались во внимание противопоказания к донорству ГСК. Перечень противопоказаний был определен с учетом рекомендаций Всемирной ассоциации доноров костного мозга (World Marrow Donors Association).

Преобладающий этнос регистра — русские. Количество татар и башкир составляет по 5%. Украинцы и другие этносы, составили по 1%.

HLA-типирование по состоянию на март 2015 года проведено 302 потенциальным донорам-добровольцам ГСК.

Учитывая огромную территорию нашей страны и проживание на ней большого количества этносов с характерным для них своеобразием генетической структуры системы HLA, создание региональных регистров, объединенных в Российский национальный регистр крайне важно. Это приведет к тому, что количество трансплантаций ГСК от российских доноров возрастет и уменьшится количество пациентов с тяжелыми злокачественными и наследственными заболеваниями крови, которым не удастся найти подходящего донора, поскольку в мировом регистре (BMDW) отсутствуют многие российские этносы. Создание Российского национального регистра доноров-добровольцев ГСК позволит повысить качество оказания высокотехнологичной медицинской помощи гражданам Российской Федерации.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ HLA-ПАРАМЕТРОВ У ЖИТЕЛЕЙ БЕЛАРУСИ И В ДРУГИХ ПОПУЛЯЦИЯХ

Сведения, полученные в результате изучения полиморфизма главного комплекса гистосовместимости в популяциях различной этнической принадлежности, создают основу для развития ряда направлений клинической трансплантологии, диагностического направления (определение предрасположенности к различным заболеваниям), и могут рассматриваться также с антропологической точки зрения. Это является предпосылкой для проведения исследований HLA-разнообразия на современном молекулярно-генетическом уровне.

Сравнительное изучение HLA-полиморфизма среди различных популяций представляет интерес как теоретическая база для практических рекомендаций в клинической трансплантологии по поиску доноров аллогенного костного мозга в пределах генетически близких популяционных групп. С этой целью нами проанализированы HLA-параметры доноров республиканского регистра с аналогичными показателями в русской популяции (г. Москва и Северо-Западный регион России) и популяциях Польши, Чехии и Германии.

Население Минского региона, среди которого представлены белорусы, русские, украинцы и другие национальности, относят к восточнославянским народам. Получены сравнительные данные, отражающие встречаемость HLA-генов локусов A, B, C и DRB1 среди популяций, представляющих восточнославянские народы (жители г. Москвы и северо-западного региона России, Минского региона), западнославянские (жители Польши) и жителей Западной Европы (Германия, Чехия).

Исследование антигенов I класса системы HLA (локусов A, B, C) проводили серологическим методом с помощью классического лимфоцитотоксического теста с использованием панели собственного производства. Молекулярно-генетическое HLA-типирование II класса у потенциальных доноров регистра выполнялось по методологии SSO. Детекция результатов осуществляли на мембранных стрипах. Искомые HLA-аллели в процессе реакции окрашивались с участием фермента пероксидазы. Набор окра-

шенных полос на стрипе интерпретировали с помощью специальной компьютерной программы после сканирования.

В локусе A среди восточнославянских популяций достоверно значимые различия относились к антигенам A*30, A*31, A*32 и A*33. Причем A*30 в белорусской популяции был снижен по сравнению с жителями г. Москвы; A*31, напротив, повышен по отношению к москвичам и жителям северо-запада, так же как и A*32 и A*33 по отношению к последним. В сравнении с поляками изменения коснулись антигенов A*01, A*26 и A*33. Частота встречаемости A*26 и A*33 достоверно чаще наблюдалась у доноров белорусского регистра, а A*01 — у жителей Польши. Самые существенные различия получены при сравнении с жителями Германии. Частота антигенов A*01, A*03 и A*29 была достоверно повышена в немецкой популяции, а антигены A*25 и A*26 достоверно чаще встречались у жителей Минского региона.

В локусе B анализ данных среди восточнославянских популяций показал относительно близкие значения частот HLA-генов. Сниженной у доноров регистра по сравнению с поляками оказалась встречаемость генов B*08, B*27 и B*38. Целый спектр антигенов выявился при сравнительном анализе популяции Минского региона и жителей Германии. Частота генов B*08, B*15 и B*51 у немцев более чем в 1,5 раза превышала частоту аналогичных генов у доноров регистра. Напротив, гены B*13, B*41, B*52 и B*56 существенно чаще идентифицировались у жителей Минского региона. Но наиболее значимые различия обнаружили антигены B*18 и B*38, которые у минчан встречались в 2–2,5 раза чаще, чем в Германии.

В локусе C у жителей Минского региона определялась не вся «линейка» антигенов, так же как отсутствуют и данные по северо-западному региону России. Из определяемых достоверное снижение частоты встречаемости по сравнению с поляками и немцами обнаружил ген C*07, только с немцами — C*03 и C*05.

Что касается локуса DRB1, то, несмотря на то, что два гена DRB1*13 и DRB1*15 оказались до-

стоверно измененными по отношению к москвичам, в целом в восточнославянской популяции наблюдались одинаковые значения частот генов. По сравнению с западными славянами у минчан реже идентифицировался ген DRB1*03 и чаще DRB1*15. С немецкой популяцией этих различий больше и они более выражены. Это относится к DRB1*03, DRB1*04 и DRB1*16, причем если DRB1*03 и DRB1*04 значимо реже встре-

чались в Минском регионе, то DRB1*16 значимо реже встречался в Германии.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности взаимодействия формируемого в Республике Беларусь регистра доноров ГСК с регистрами доноров всех рассмотренных популяций и, в первую очередь, регистрами восточнославянских народов как генетически наиболее близких.

Соколова Ю. В., Четкин А. В., Павлова И. Е., Бесмельцев С. С., Бубнова Л. Н.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

KIR-ГЕНЫ У ДОНОРОВ СТВОЛОВЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ КЛЕТОК РЕСПУБЛИКАНСКОГО РЕГИСТРА

Введение. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) от родственных и неродственных доноров — стандартный вид высокотехнологичной терапии при многих онкогематологических заболеваниях.

Система KIR-генов, обладающая высоким уровнем полиморфизма и играющая важную роль в регуляции цитолитической активности естественных киллеров, может оказывать влияние на эффективность трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Определение KIR-генотипа донора необходимо для обеспечения наиболее благоприятного клинического исхода трансплантации и повышения эффективности терапии.

Целью данного исследования явилось изучение генетических особенностей иммуноглобулинподобных рецепторов киллерных клеток (KIR) у потенциальных доноров Республиканского регистра доноров гемопоэтических стволовых клеток Регистра Российского НИИ гематологии и трансфузиологии.

Материалы и методы. Для изучения распределения KIR-генов и KIR-генотипов у потенциальных доноров ГСК было проведено молекулярно-генетическое типирование 100 образцов крови русских лиц из Республиканского Регистра доноров в возрасте от 20 до 60 лет. Генотипирование осуществляли методом полимеразной цепной реакции с сиквенс-специфическими праймерами (PCR-SSP) с использованием наборов KIR Genotyping SSP Kit (Invitrogen, WI, USA). Частоту встречаемости KIR-генов и генотипов определяли методом прямого подсчета. Для проведения сравнительного анализа ча-

стот встречаемости KIR-генов и KIR-генотипов у потенциальных доноров ГСК нашего регистра и в других популяциях были использованы данные Allele Frequencies KIR Database (<http://www.allelefrequencies.net>). Обозначение KIR-генотипов производили в соответствии с этой же базой. Распределение потенциальных доноров на группы в соответствии с их KIR B статусом («best», «better», «neutral») проводили при помощи калькулятора <http://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/>.

Результаты. В исследуемой группе доноров ГСК установлена 21 разновидность KIR-генотипов: AA-генотипы — у 33% доноров, Vx — у 67%, что сопоставимо с данными, полученными для других европеоидных популяций. Единственный активирующий ген, присутствующий в AA генотипе — KIR2DS4, был выявлен у всех лиц, имеющих данный генотип. При этом две трети обследуемых были гомозиготны по аллельным вариантам KIR2DS4*003–007, имеющим делецию в экзоне 5 и кодирующим неэкспрессируемые формы KIR-рецепторов. Только один из 33 носителей AA генотипа был гомозиготен по аллельным вариантам KIR2DS4*001/002, кодирующим экспрессируемые рецепторы.

Среди Vx-генотипов наиболее часто встречались: ID5 (11%), ID2 (8%), ID4 (7%) и ID71 (6%), что составило вместе почти треть популяции. 16 из 21 Vx-генотипов имели частоту встречаемости менее 4%, и вместе также составили около трети популяции — 35%.

Частота встречаемости ингибирующих KIR-генов составила: для 2DL1–96%, 2DL2–47%, 2DL3–85%, 2DL5–52%, 3DL1–96%; а частота активирующих — 2DS1–40%, 2DS2–47%,

2DS3–39%, 2DS4–96%, 2DS5–23%, 3DS1–35%. При сравнении с другими европейскими популяциями обнаружена более низкая частота встречаемости следующих KIR-генов, ассоциированных с В-гаплотипом: 2DL2, 2DS5 и 3DS1. Среди 33 доноров, имеющих AA-генотип, только один был гомозиготен по аллелям гена 2DS4, кодирующим экспрессируемый рецептор.

Проведенный анализ показывает, что потенциальные доноры Республиканского регистра имеют наибольшую частоту KIR-генотипов, оказывающих наиболее выраженный положительный терапевтический эффект при трансплантации ГСК больным острым миелоидным лейкозом (доноры группы «Best»), среди всех проанализированных нами популяций: Китая, Южной Кореи, Таиланда, Японии, США, Португалии, Италии, Франции, Англии и Чехии.

Выводы. Распределение KIR-генов и KIR-генотипов у потенциальных доноров ГСК Республиканского Регистра имеет выраженные черты сходства с другими кавказоидными популяциями. Особенностью обследованной нами группы доноров ГСК является более высокая по сравнению со всеми популяциями сравнения частота встречаемости KIR-генотипов, оказывающих наиболее благоприятный клинический эффект при трансплантации ГСК при остром миелоидном лейкозе. Результаты данного исследования могут быть использованы для выбора наиболее предпочтительных доноров с целью улучшения терапевтического эффекта трансплантации ГСК, а также для оптимизации банка Республиканского Регистра неродственных доноров-добровольцев по количественному и популяционному составу.

Суслова Т. А., Вавилов М. Н., Хромова Е. Б., Беляева С. В., Сташкевич Д. С., Горелова А. К., Евдокимов А. В., Рудакова Г. А., Бурмистрова А. Л.

ФГБОУ ВПО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия
ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», Челябинск, Россия

ТИПИЧНЫЕ И УНИКАЛЬНЫЕ ГАПЛОТИПЫ HLA: A-B-DRB1 В ПОПУЛЯЦИИ РУССКИХ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Введение. Национальный состав жителей Челябинской области (ЧО) типичен для мегаполисов России с некоторыми отличиями, являющимися следствием географического положения региона. Согласно переписи населения 2010 года 80% жителей являются русскими, 5% — башкиры, 4,5 татары. Считается, что именно они являются основными этническими группами, проживающими в регионе. Сегодня далеко не каждому пациенту в России можно найти донора в отечественном Регистре. Возникает вопрос — это результат немногочисленности наших Российских Регистров, которые насчитывают около 30 000 типированных доноров в настоящее время, или следствие того факта, что генофонд русских несет уникальные гаплотипы, которые практически не встречаются в европейских миллионных Регистрах.

В случае неродственной трансплантации при совпадении донора и реципиента на гаплотипическом уровне, с большей вероятностью совпадут другие локусы системы гистосовместимости, чем при совпадении по отдельным аллелям. Таким образом, подбор донора, совпадающего по гаплотипам, повышает шансы на успешную

приживаемость донорских клеток.

Согласно официальным историческим данным, заселение русскими территории Челябинской области началось около 300 лет назад. Первыми поселенцами были жители Челябинской и Миасской крепостей, построенных по царскому указу Оренбургской экспедицией Кириллова. Впоследствии поселения расширялись за счет миграции русских из центральных и северных районов России согласно царскому указу «...к приращению государственной пользы заводить вновь разные заводы...». К началу 20 века заселение русскими территории современной Челябинской области было в основном завершено.

Цель исследования: оценка частот встречаемости трехлокусных гаплотипов HLA A, B, DR у русских Челябинской области в сравнении с распределением в популяциях поляков и финнов, как представителей типичных европейских популяций индоевропейской и финно-угорской языковых семей.

Материалы и методы. Для исследования были привлечены 958 доноров ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», идентифицирующих себя как русские в 3-м по-

колении. Группой сравнения служили популяции польского, немецкого Регистра доноров стволовой клетки и финской популяции. В качестве биологического материала для исследования использовалась венозная кровь, взятая в пробирки с 0,5% раствором калиевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА). Выделение ДНК проводили с использованием реагентов PROTRANS DNA Box 500. HLA-типирование проводилось полимеразной цепной реакцией с использованием аллель-специфических праймеров (SSP-PCR) методом, предложенным Downing J. Статистические методы:

расчет генных частот гаплотипов (HF) проводился методом максимизации ожидания в компьютерной программе Arlequin 3.1 (<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3/>).

Результаты исследования. В ходе исследования установлены частоты встречаемости гаплотипов HLA: A-B-DRB1 в популяциях русских, проживающих в Челябинской области. Данные о 30 наиболее распространенных гаплотипах у представителей русских Челябинской области, популяции польских доноров и представлены *таблице 1*.

Таблица 1.

Частоты трехлокусных гаплотипов HLA: A-B-DRB1 у русских Челябинской области в сравнении с популяцией поляков (Schmidt A. H., 2011).

Русские (n=958)			Поляки (n=20653)		
п.н. ^a	HLA-A-B-DRB1	HF, %	п.н.	HLA-A-B-C-DRB1	HF.(%)
1	A*01-B*08-DRB1*03	4,292	1	A*01:01-B*08:01-C*07:01-DRB1*03:01	6,024
2	A*03-B*07-DRB1*15	3,462	2	A*03:01-B*07:02-C*07:02-DRB1*15:01	2,593
3	A*03-B*35-DRB1*01	3,186	6	A*03:01-B*35:01-C*04:01-DRB1*01:01	1,095
4	A*02-B*13-DRB1*07	2,436	3	A*02:01-B*13:02-C*06:02-DRB1*07:01	1,61
5	A*02-B*07-DRB1*15	1,952	4	A*02:01-B*07:02-C*07:02-DRB1*15:01	1,423
6	A*02-B*27-DRB1*01	1,552	15	A*02:01-B*27:05-C*02:01-DRB1*01:01	0,993
7	A*02-B*41-DRB1*13	1,507	28	A*02:01-B*41:02-C*17:01-DRB1*13:03	0,419
8	A*02-B*15-DRB1*04	1,495	12	A*02:01-B*15:01-C*03:04-DRB1*04:01	0,821
9	A*25-B*18-DRB1*15	1,422	5	A*25:01-B*18:01-C*12:03-DRB1*15:01	1,304
10	A*25-B*18-DRB1*04	1,326	18	A*25:01-B*18:01-C*12:03-DRB1*04:01	0,677
11	A*03-B*07-DRB1*01	1,062	37	A*03:01-B*07:02-C*07:02-DRB1*01:01	0,307
12	A*02-B*18-DRB1*11	1,038	20	A*02:01-B*18:01-C*07:01-DRB1*11:04	0,633
13	A*30-B*13-DRB1*07	0,983	9	A*30:01-B*13:02-C*06:02-DRB1*07:01	0,899
14	A*02-B*44-DRB1*04	0,981	14	A*02:01-B*44:02-C*05:01-DRB1*04:01	0,726
15	A*01-B*57-DRB1*07	0,978	16	A*01:01-B*57:01-C*06:02-DRB1*07:01	0,718
17	A*33-B*14-DRB1*01	0,879	31	A*33:01-B*14:02-C*08:02-DRB1*01:02	0,356
18	A*02-B*44-DRB1*16	0,857	22	A*02:01-B*44:02-C*07:02-DRB1*16:01	0,849
19	A*24-B*07-DRB1*15	0,849	19	A*24:02-B*07:02-C*07:02-DRB1*15:01	0,67
21	A*02-B*15-DRB1*13	0,772	25	A*02:01-B*15:01-C*03:03-DRB1*13:01	0,46
22	A*02-B*44-DRB1*13	0,751	35	A*02:01-B*44:02-C*05:01-DRB1*13:01	0,314
25	A*11-B*35-DRB1*01	0,685	13	A*11:01-B*35:01-C*04:01-DRB1*01:01	0,778
27	A*23-B*44-DRB1*07	0,643	7	A*23:01-B*44:03-C*04:01-DRB1*07:01	0,939

^a П. н. — порядковый номер распространенности гаплотипа в популяции по частоте HF

В соответствии с *таблицей 1*, анцестральные гаплотипы AN8.1 и AN7.1 являются наиболее распространенными в популяциях русских и поляков. Частота гаплотипа AN8.1 — A*01-B*08-DRB1*03 у русских Челябинской области составляет 4,29%, у поляков — 6,024%. Гаплотип AN7.1 — A*03-B*07-DRB1*15 встречается с частотой 3,46% у русских ЧО, у поляков — 2,593%.

Третьим по распространенности у русских Челябинской области является гаплотип A*03-B*35-DRB1*01 с частотой 3,186%, в отличие

от популяции поляков, частота встречаемости данного гаплотипа у которых составила 1,095%. Этот гаплотип чаще встречается (2–7%) в таких популяциях как финны, саамы Швеции, саамы европейского севера России, чуваша — то есть, евразийских народов, имеющих в своем этногенезе финно-угорскую составляющую. Сравнительная характеристика частот трехлокусных гаплотипов в популяциях русских и финнов представлена в *таблице 2*.

Таблица 2.
Частоты трехлокусных гаплотипов HLA: A-B-DRB1 у русских Челябинской области и финнов (Wennerström A., 2013).

Гаплотипы	Русские (n=958)		Финны (n=150)	
	П.н. ^a	HF, %	П.н.	HF, %
HLA-A-B-DRB1				
A*01-B*08-DRB1*03:01	1	4,29	2	4
A*03-B*07-DRB1*15:01	2	3,46	16	1,1
A*03-B*35-DRB1*01:01	3	3,19	1	7,1
A*02-B*13-DRB1*07:01	4	2,44	10	1,6
A*02-B*07-DRB1*15:01	5	1,95	3	3,5
A*02-B*15-DRB1*04:01	8	1,50	7	1,9
A*03-B*07-DRB1*01:01	11	1,06	12	1,4
A*02-B*44-DRB1*04:01	14	0,98	14	1,2
A*02-B*15-DRB1*13:01	21	0,77	5	2,3
A*03-B*07-DRB1*13:01	24	0,69	15	1,2
A*02-B*15-DRB1*08:01	94	0,15	8	1,9
A*02-B*27-DRB1*08:01	112	0,23	4	2,7
A*02-B*40-DRB1*13:02	136	0,16	17	1,1
A*03-B*08-DRB1*03:01	190	0,07	6	2,1
A*03-B*15-DRB1*08:01	194	0,06	9	1,7
A*11-B*07-DRB1*15:01	253	0,48	11	1,5
A*02-B*15-DRB1*15:01	-	-	13	1,3

^a П.н. — порядковый номер распространенности гаплотипа в популяции по частоте HF

Наличие высокой частоты встречаемости анцестрального гаплотипа A*03-B*35-DRB1*01 у русских ЧО говорит о том, что в этногенезе русских велика финно-угорская составляющая. Это предположение также подтверждается фактом наличия у русских и финнов гаплотипа A*03-B*07-DRB1*01, типичного североевропейского, в котором в гене II класса произошла замена DRB1*15 на превалирующий в финно-угорских популяциях DRB1*01, а также появление гаплотипов с DRB1*08 (A*02-B*27-DRB1*08:01).

Данные гаплотипы, свидетели финно-угорского вклада в этногенез популяции, прослеживаются, хотя и в меньшей степени, в центральных европейских популяциях поляков (частота A*03-B*35-DRB1*01 у поляков составляет 1–2%, данный гаплотип занимает 6-е место по распространенности).

Четвертое место по частоте встречаемости у русских ЧО занимает гаплотип A*02-B*13-DRB1*07 с частотой 2,4%. Этот гаплотип превалирует во многих популяциях Евразии, предки которых были степными народами и занимались преимущественно скотоводством (башкиры, татары, чуваша России, казахи, уйгуры). Например, частота этого гаплотипа в популяции башкир достигает 6,7%. По-видимому, данный гаплотип придавал эволюционное преимуще-

ство его обладателям, ведущим кочевой образ жизни, что позволило признаку закрепиться в популяциях степных народов. У русских данный гаплотип не превалирует над остальными. Но его частота у русских Челябинской области выше, чем у типичных европейских популяций, в которых его распространенность редко достигает 1%.

Родственный ему гаплотип A*30-B*13-DRB1*07, широко распространенный в азиатских популяциях, у русских встречается значительно реже, с частотой 0,98%. Эти цифры сопоставимы с данными в популяции поляков, в которой частота этого гаплотипа выше, чем у русских (9-е место по частоте встречаемости, результаты представлены в таблице 1).

Частота гаплотипов A*29-B*44-DRB1*16 и A*23-B*44-DRB1*07 у русских значительно ниже, чем в польской популяции. Гаплотипы A*02-B*18-DRB1*11, A*33-B*14-DRB1*01 и A*02-B*41-DRB1*13 у русских встречаются чаще, чем у поляков.

Гаплотип A*02-B*18-DRB1*11, занимающий 12-е место по распространенности, встречается с частотой 1,038% у русских Челябинской области. Этот гаплотип широко распространен у татар России и южных славян, жителей балканских стран: болгар, албанцев, македонцев.

Частота гаплотипа A*33-B*14-DRB1*01 у русских ЧО составляет 0,88% (17-е место по распространенности), у поляков данный гаплотип встречается с частотой в два раза меньше 0,35%, занимая 31-е место. Согласно данным различных исследователей, этот гаплотип распространен в популяциях индоиранских народов: парси, популяции Туниса, Армении.

Остальные гаплотипы из 30 наиболее распространенных в русской популяции с близкой частотой встречаются у поляков, демонстрируя

генетическую близость этих двух славянских популяций. Кроме того, у русских не обнаружено гаплотипов, которые не встречались бы в польской популяции.

В тоже время в популяции русских встречаются редкие гаплотипы, характерные для азиатской части континента: A*01-B*37-DRB1*10, A*33-B*58-DRB1*03, A*02-B*50-DRB1*07, A*02-B*48-DRB1*12–0,07% (данные представлены в таблице 3).

Таблица 3.
Частота некоторых типичных азиатских гаплотипов у русских Челябинской области.

Редкие гаплотипы	Русские n=(958)	
	Кол-во	Частота, %
HLA-A-B-DRB1		
A*01-B*37-DRB1*10	2	0,052
A*02-B*48-DRB1*12	2	0,077
A*02-B*50-DRB1*07	2	0,104
A*03-B*50-DRB1*07	3	0,157
A*11-B*48-DRB1*12	5	0,250
A*02-B*52-DRB1*15	7	0,319
A*29-B*44-DRB1*07	5	0,344
A*33-B*58-DRB1*03	7	0,356
A*01-B*52-DRB1*15	7	0,386

Частота этих гаплотипов столь мала, что не позволяет считать их типичными для русской популяции.

Заключение. Распределение трехлокусных гаплотипов у русских Челябинской области соответствует таковому в европейской популяциях. Русские жители Челябинской области имеют в генофонде вклад гаплотипов, характерных для финно-угорских народов (A*03-B*35-DRB1*01, A*02-B*27-DRB1*08:01). Русские жители Челя-

бинской области имеют в генофонде вклад гаплотипов тюркских народов (A*02-B*13-DRB1*07). Русские жители Челябинской области не имеют существенного вклада генов, характерных для типичных монголоидных популяций.

Распределение частот генов HLA: A*, B*, DRB1* в группе практически здоровых лиц русской популяции Челябинской области было установлено в исследовании, поддержанном грантом РФФИ (№ 15–04–05176).

Хамаганова Е. Г., Паровичникова Е. Н., Кузьмина Л. А., Куликов С. М., Кузьминова Е. П., Юшкова А. А., Савченко В. Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение Гематологический научный центр Министерства здравоохранения России, Москва

ВЛИЯНИЕ KIR-ГЕНОВ ДОНОРА НА БЕЗРЕЦИДИВНУЮ ВЫЖИВАЕМОСТЬ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ МИЕЛОИДНЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ

Введение. Острые миелоидные лейкозы (ОМЛ) — основное показание к выполнению трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). Рецидивы заболевания являются одной из основных причин смертности пациентов после ТГСК. Алло-ТГСК

ассоциирована с самым низким риском рецидива, что связано с развитием реакции трансплантат против лейкоза [Савченко В. Г. и соавт. 2007, 2014]. Натуральные киллерные (NK) клетки распознают клетки-мишени со сниженной экспрессией HLA-молекул класса I, подобных

собственным, без предварительного контакта и развития иммунного ответа. Гены KIR (killer cell immunoglobulin-like receptors — киллерные иммуноглобулинподобные рецепторы) кодируют рецепторы, посредством которых NK-клетки распознают HLA-молекулы класса I. Функционально компетентными (лицензированными) становятся NK-клетки с KIR-рецепторами, для которых имеется соответствующий HLA-лиганд в геноме собственного организма. KIR-рецепторы распознают эпитопы HLA-молекул класса I (C1, C2, Bw4, A3/11). Алло-ТГСК от донора с KIR B-гаплотипами снижает частоту рецидива, при этом протективным эффектом обладают как гены центральной части B-гаплотипов, так и теломерной [Venstrom J. M. e. a., 2013; Cooley S. e. a., 2010, 2014].

Цель работы — оценить влияние KIR-генов донора на безрецидивную выживаемость после алло-ТГСК у больных ОМЛ со стандартным риском.

Материалы и методы. В проспективное исследование были включены 35 больных ОМЛ, которым в отделении трансплантации костного мозга ФГБУ ГНЦ МЗ РФ в 2010–14 гг. выполнена алло-ТГСК. 19 больным алло-ТГСК выполнена от HLA-идентичного родственного донора; 16 пациентам — от HLA-совместимого неродственного донора (совпадение 10/10). Возраст пациентов от 19 до 60 лет (медиана — 36). Период наблюдения после алло-ТГСК 5–56

мес. Стандартный риск — больные ОМЛ с алло-ТГСК в первой ремиссии (n=22). Высокий риск — больные ОМЛ с алло-ТГСК вне первой ремиссии, алло-ТГСК у больных «вторичным» ОМЛ, связанным с терапией предшествующего онкологического заболевания (n=13). KIR-генотипирование проводилось наборами KIR Genotyping SSP Kit (Invitrogen — Life Technologies, USA) в соответствии с рекомендациями производителя. Общая и безрецидивная выживаемость рассчитывались по методу Каплана-Мейера. Значимые события: для общей выживаемости (ОВ) — летальный исход, для безрецидивной (БРВ) — рецидив (как молекулярный, так и гематологический) и летальный исход. Для оценки статистической значимости различий выживаемости использовали лог-ранговый критерий. Статистическая обработка полученных данных выполнена с помощью пакета SAS9.3

Результаты. Трехлетняя ОВ всех включенных в исследование больных составила 66%, БРВ — 43%. Основным фактором, влияющим на выживаемость после алло-ТГСК, была группа риска, к которой относился больной перед трансплантацией. У больных из группы стандартного риска 3-х летняя ОВ и БРВ составляли соответственно 85% и 57%. У пациентов из группы стандартного риска было оценено влияние присутствия KIR-генов донора на БРВ после алло-ТГСК (таблица).

Таблица.

Влияние KIR-генов донора на БРВ после аллогенной ТГСК у больных ОМЛ из группы стандартного риска

Показатель	n	3-х летняя БРВ, %	P (Log rank)
Донор KIR B/x Донор KIR A/A	15 7	64 не достигнута	0,2
Донор KIR сеп B/x: да нет	11 11	63 53	0,7
Донор KIR tel B/x: да нет	10 12	70 50	0,2
KIR B-контент донора: Нейтральный (0–1 B-мотив) Лучший (≥2 B-мотивов без Cеп-B/B) Наилучший (≥2 B-мотивов с Cеп-B/B)	15 3 4	51 67 75	0,6
Комбинация — Донор KIR2DS1 позитивный — большой HLA-C1/x: есть нет	7 15	86 43	0,09

Выводы. Носительство донором гена KIR2DS1 сопровождается выраженной тенденцией к повышению безрецидивной выживаемости

после алло-ТГСК у больных ОМЛ со стандартным риском при отсутствии гомозиготности по генам HLA-C2-лигандов.

Хамаганова Е. Г., Кузьминова Е. П., Юшкова А. А., Чугреева Т. П., Гапонова Т. В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение Гематологический научный центр Министерства здравоохранения России, Москва

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ HLA-A*-B*-C*-DRB1*-DQB1*-ГАПЛОТИПОВ У ДОНОРОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК МОСКВЫ, РЕКРУТИРОВАННЫХ В ФГБУ ГНЦ МЗ РФ

Введение. Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) — самый эффективный метод лечения гемобластозов и некоторых других заболеваний системы крови. Цель аллогенной трансплантации ГСК — лечение больного. Однако менее четверти пациентов, нуждающихся в трансплантации аллогенных ГСК, имеют родственного донора. При отсутствии HLA-идентичного родственного донора ГСК, необходим поиск HLA-совместимого неродственного донора. В России ежегодно выполняется менее трехсот неродственных трансплантаций ГСК. Потребность в выполнении неродственных трансплантаций ГСК существенно превышает сегодняшнее положение дел в РФ, однако трансплантации, выполненные от российских доноров, до сих пор весьма немногочисленны. Например, в ФГБУ ГНЦ МЗ РФ за 2014 год было выполнено 26 неродственных трансплантаций ГСК, но лишь 8 из них от российских доноров (7 трансплантаций выполнено от доноров из регистра Российского медицинского научно-производственного центра «Росплазма» ФМБА, одна — от донора из регистра Челябинской ОСПК). Известно, что выживаемость больных, трансплантация ГСК которым выполнена от неродственных доноров с распространенными HLA-гаплотипами, выше, чем выживаемость больных, у доноров которых отсутствовали распространенные гаплотипы (Pedron B., e. a., 2011; Joris M. M., e. a., 2012).

Цель настоящего исследования — установить распределение HLA-A*-B*-C*-DRB1*-DQB1*-гаплотипов у доноров ГСК, рекрутированных в ФГБУ ГНЦ МЗ РФ.

Материалы и методы. Из рекрутированных с 01 ноября 2014 г. по 01 апреля 2015 г. потенциальных доноров ГСК HLA-типировано 157. Средний возраст доноров составил 30,4 года (разброс 18–50 лет). Женщин — 87 (55%), мужчин — 70 (45%). 150 доноров отнесли себя к русским (95%).

ДНК доноров выделяли из периферической крови с помощью прибора для автоматического выделения нуклеиновых кислот NorDiagArrow

на наборах «Arrow Blood DNA 200/500» (Sweden) в соответствии с рекомендациями производителя. HLA-A*-B*-C*-DRB1*-DQB1*-типирование выполняли методом PCR-SSP (полимеразной цепной реакции с сиквенс-специфическими праймерами) с использованием наборов «Protrans» (Germany) при низком разрешении в соответствии с рекомендациями производителя.

Определение частот генов HLA и их гаплотипов проводили методом максимизации ожидания с использованием компьютерной программы «Арлекин», версия 3.1 (<http://anthro.unige.ch/arlequin>)

Результаты. У 150 доноров (число гаплотипов 2n=300), относящих себя к русским, установлен 261 различный HLA-гаплотип. Один гаплотип был выявлен 7 раз, четыре — по 6 раз каждый, один гаплотип встретился 4 раза, два гаплотипа — 3 раза, 6 гаплотипов — два раза, остальные гаплотипы (247) были определены только по одному разу.

Самым высокочастотным HLA-гаплотипом, как и следовало ожидать, оказался наиболее распространенный у большинства популяций европеоидов гаплотип HLA-A*01-B*08-C*07-DRB1*03-DQB1*02, частота которого равнялась 2,3% (от числа гаплотипов). В шесть наиболее частотных гаплотипов у обследованных доноров вошли также: HLA-A*02-B*07-C*07-DRB1*15-DQB1*06, HLA-A*02-B*13-C*06-DRB1*07-DQB1*02, HLA-A*03-B*07-C*07-DRB1*15-DQB1*06, HLA-A*03-B*35-C*04-DRB1*01-DQB1*05 (2% каждый) и HLA-A*25-B*18-C*12-DRB1*15-DQB1*06 (1,3%).

Не выявлено два гаплотипа, относящихся к 10 наиболее распространенным у европеоидов HLA-гаплотипам по данным наибольшего регистра доноров ГСК — Be The Match Registry (NMDP — National Marrow Donor Program, USA, <http://bethematch.org>), — HLA-A*02-B*40-(C*03)-DRB1*13-(DQB1*06) и A*30-B*13-(C*06)-DRB1*07-(DQB1*02).

Выводы. У обследованных доноров выявлено большое разнообразие 5-локусных HLA-A*-B*-

C*-DRB1*-DQB1*-гаплотипов, которое можно объяснить гетерогенностью московской популяции (Москва является единственным регионом России, имеющим положительное миграционное сальдо со всеми другими регионами РФ).

Для более точного анализа распределения HLA-гаплотипов у потенциальных доноров ГСК необходимо большее количество наблюдений. Необходимо увеличивать число HLA-типированных российских доноров ГСК.

Хромова Е. Б., Сулова Т. А., Вавилов М. Н.*, Храмова К. Ю., Говоровская И. Ю., Кузина М. В.

ФГБОУ ВПО «Челябинский государственный университет»,
* ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», Челябинск

АЛЛЕЛИ ГЕНА DRB1*04 В ПОПУЛЯЦИЯХ РУССКИХ, ТАТАР И БАШКИР ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Согласно всероссийской переписи населения 2010 года, основными этносами, проживающими на территории Челябинской области, являются русские (83,80%), татары (5,36%) и башкиры (4,81%). Распределение генов и гаплотипов HLA в каждой из этих групп имеет свои особенности. Распределение HLA у русских и татар в целом соответствует европейским популяциям, HLA-профиль башкир имеет сходство как с европейскими, так и с азиатскими популяциями. Частота гена DRB1*04 примерно одинакова в этих популяциях, однако распределение аллелей этого гена может иметь популяционное отличие. Распределение аллелей гена DRB1*04 в популяции представляет особый интерес, так как некоторые из них, а именно *04:01 *04:04 *04:05 являются генами предрасположенности к мультифакторным аутоиммунным заболеваниям, в частности к ревматоидному артриту.

Таким образом, **цель** нашего исследования — провести анализ распределения аллелей гена

DRB1*04 в популяциях русских, башкир и татар Челябинской области.

Материалы и методы. Генотипирование аллелей гена DRB1*04 проводилось методом аллель-специфической ПЦР с помощью наборов праймеров. Все обследуемые лица входили в Челябинский регистр стволовой клетки на базе ГБУЗ «ЧОСПК». В группу русских были включены 300 доноров, в группу татар — 185 и в группу башкир — 146 доноров. Национальная принадлежность определялась по данным генеалогического анамнеза, в исследование вошли лица, принадлежащие к третьему поколению изучаемой популяции, проживающей на территории Челябинской области.

Результаты. Частоты распределения гена DRB1*04 и его аллельных вариантов в популяциях русских, татар и башкир Челябинской области представлены в *таблице*.

Таблица.

Частота встречаемости аллелей DRB1*04 в основных популяциях Челябинской области.

Аллели DRB1	Русские, N = 300	gf	Башкиры, N = 146	gf	Татары, N = 185	gf	p
*04	66	0,1168	31	0,1130	40	0,1147	ns
*04:01	28	0,2412	13	0,2380	13	0,1784	ns
*04:02	4	0,0308	2	0,0328	6	0,0780	ns
*04:03	6	0,0465	5	0,0842	3	0,0382	ns
*04:04	16	0,1296	4	0,0667	5	0,0646	ns
*04:05	-	-	3	0,0496	2	0,0253	ns
*04:06	1	0,0076	-	-	-	-	ns
*04:07	1	0,0076	10	0,1769	-	-	<0,01
*04:08	6	0,0465	-	-	1	0,0126	ns
*04:09	-	-	1	0,0163	2	0,0253	ns
*04:13	4	0,0308	1	0,0163	5	0,0646	ns

Согласно полученным данным, частота гена DRB1*04 в популяциях русских, татар и башкир практически одинаковая. Подобная частота характерна для некоторых европейских (France Grenoble — 0,1192, Portugal Braganca — 0,1100, Slovakia — 0,1120), азиатских (China Shaanxi Province Han — 0,1120, Thailand — 0,1140) и некоторых изученных русских (русские Московской — 0,1100 и Костромской — 0,1190 областей) популяций.

Сравнительный анализ частоты встречаемости аллелей гена DRB1*04 показал, что в популяции башкир обнаружено достоверное повышение частоты встречаемости аллеля DRB1*04:07, причем в популяции татар этот аллель не встречался ни разу, а у русских его частота составила менее 1%. Согласно базе данных Allelefrequency-

сies его частота повышена в основном в южноамериканских популяциях (Аргентина, Куба, Эквадор, Мексика).

В русской популяции, по сравнению с татарской и башкирской популяциями, примерно в два раза повышена частота встречаемости аллеля DRB1*04:04 (характерного как для европейских, так и для азиатских популяций), но эти данные не достигают уровня статистической значимости.

Таким образом, в популяции башкир Челябинской области обнаружено достоверное повышение частоты встречаемости аллеля DRB1*04:07. Различий в частоте встречаемости аллелей предрасположенности к мультифакторным аутоиммунным заболеваниям не обнаружено.

Evseeva Irina^{1,2}

¹ Anthony Nolan (United Kingdom),
² WMDA

INTERNATIONAL COLLABORATION OF UNRELATED DONOR REGISTRIES AND CORD BLOOD BANKS

The World Marrow Donor Association (WMDA) is a voluntary organisation of representatives of blood stem cell donor registries, cord blood banks, and other organisations and individuals with an interest in blood stem cell transplantation. It provides a forum for discussion of issues regarding the clinical use of blood stem cells from unrelated donors across international boundaries and for formulation of guidelines on logistics, quality control, ethics, finances, information technology and registry accreditation.

More than 25 million adult unrelated donors and more than half a million Cord Blood Units (CBUs)

are currently listed in the registries worldwide. Using international cooperation more than one million patients received unrelated haematopoietic stem cell transplantation. The number of transplants grows every year, and patient outcome constantly improves.

The presentation will cover history of the WMDA, its structure, projects and initiatives being currently run in order to harmonise practices and collaboration between the registries. The role of Bone Marrow Donor Worldwide (BMDW) and European Marrow Donor Information System (EMDIS) will be described.

Yepiskoposyan L., Nazaretyan M., Avagyan S., Sokourenko E.

ArmGenia Genetic Research Charitable Trust, Institute of Molecular Biology of the NAS, Yerevan, Armenia

MAPPING GENETIC AND CULTURAL ROOTS OF ARMENIANS

Armenians present culturally and geographically isolated population with a unique position within global genetic diversity, historically inhabited a region in the Near East bounded by the Mediterranean and Black seas and the Caucasus.

Armenian alphabet and language belong to independent branch of Indo-European family with distinctive phonological developments.

Geographic location and other factors were possible reasons that saved Armenians from significant mixture with other populations in recent history.

This study was initiated to explore the genetic/historical/cultural pathways of Armenians by applying novel technologies and anthropological genetic mapping in order to cover existing under-representation of Armenians in population genetics studies and genome-wide analysis.

The study responds to specific research questions regarding genetic and cultural signatures and level of isolation and genetic diversities of Armenians.

Since the insights into the human past envelops diverse areas of human existence, a combination of various methods, including genetic studies of Armenian subjects, population database and admixture analysis have been used for genetic mapping and

preparation of a multilayer «pie», representing anthropological genetics and proven historical, cultural and linguistic data. Results and detailed findings are summarized and presented on the website that can be found at www.armgenia.am.

This study shed a light on the genetic history of the Armenian population and their ancient genetic contacts with other Middle Eastern indigenous populations.

In broad historical context, highlights were articulated on the role the Armenians played in the genetic history of the Middle East and the Armenian Highlands, apparently being a main transition «corridor» for modern humans' migration to Europe both in Paleolithic and Neolithic.

Analysis of mixture of anthropological genetic signals with historical/cultural and linguistic data applications showed strong evidence for the indigenous nature of Armenians. The role of distinctive culture and language resulted in genetic isolation of Armenians from their surroundings.

The future steps of this research is to continue collection of Y chromosome paternal data to ensure the coverage of the whole extent of historical Armenia and to map direct masculine ancestry through-

out our historical expanse. Then maternally inherited genetic traits will be explored by mitochondrial DNA analysis to ensure that a maternal counterpart

to the paternal line of descent will be available as a necessary complement to present genetic background of the Armenians.

Naumova E.

Department of Clinical Immunology and Stem Cell Bank, University Hospital «Alexandrovsk», Medical University, Sofia, Bulgaria

STRATEGY FOR FINDING THE SUITABLE DONOR IN HSCT

Haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is limited by finding a suitable donor. The »best« donor is HLA matched sibling or unrelated donor. Unfortunately, in most cases the probability to find HLA identical sibling does not exceed 30% and depends on the family size. Additionally, number of factors restrict the probability to find HLA matched donor in Bone Marrow Donors Worldwide such as patient's ethnicity, presence of rare alleles or haplotypes, possible relevance of «non-classical» HLA and non-HLA alleles. All these factors should be considered for the estimation of time for donor search. For the Bulgarian patients the mean time to identify 10/10 matched donor varies from 28 to more than 90 days depending on the HLA genotype. Patient's related factors such as diagnosis and disease stage and transplant protocol are also important

for donor selection and clinical outcome of HSCT. In order to increase the efficacy of transplantation alternative strategies such as umbilical cord blood, mismatched unrelated adult donor or haploidentical related donor are considered for patients lacking HLA identical donor. In such cases it is important to estimate a number of clinically relevant factors, such as: the time for engraftment and haematopoiesis reconstitution, graft failure rate, graft versus host disease, transplant related mortality and relapses. Current data in the literature as well as our experience on the relevance of immunogenetic factors in HSCT will be discussed. An algorithm for finding the most suitable donor, that could help clinicians to provide an adequate treatment for each individual patient will be presented.

Nezih Cereb, MD

CEO & Co-founder Histogenetics

ADVANCES IN DNA SEQUENCING TECHNOLOGIES FOR HIGH RESOLUTION HLA TYPING

Recent advances in DNA sequencing technologies, so-called Next Generation Sequencing (NGS), have brought breakthroughs in deciphering the genetic information in all living species at a large scale and at an affordable level.

By introducing DNA barcode (index) sequences multiplexing samples from hundreds of individual became possible for genotyping certain genomic regions faster and cheaper with higher resolution.

In this talk I will present Histogenetics's experience and accomplishments in applying NGS for large-scale high resolution HLA typing. Histogenet-

ics had established Sanger capillary technology in 2006 for large volume DNA-based sequencing typing and more than 3.8 million samples were typed with that technique. Histogenetics' existing infrastructure helped us to transition to the NGS technologies without compromising accuracy, volume of typing and speed. In March 2013 Histogenetics introduced a Hybrid approach of Sanger + Illumina MiSeq DNA sequencing. A total 460,190 samples were typed with MiSeq+Sanger to validate MiSeq data during transition to NGS, shown in the *table 1*.

Table 1.

Total	A	B	C	DRB1	DRB3	DRB4	DRB5	DQB1	DQA1	DPB1	DPA1
460,190	404,016	410,523	393,343	424,154	178,933	159,060	180,648	325,989	11,775	268,896	9,679

High resolution typing was achieved using NGS between NGS and Sanger sequencing techniques for MisSeq platform. Comparison of resolution level registry donors are shown below (Table 2).

Table 2.

LOCUS	HIGH Resolution result percentage	
	NGS	Sanger
	HLA-A	99.94
HLA-B	99.75	80
HLA-C	97.75	60
HLA-DRB1	100.00	95.5
HLA-DQB1	100.00	96.1
HLA-DPB1	100.00	98

After establishing the new platform, in October 2013 we introduced Illumina MiSeq as the first line method for high volume, high resolution HLA Typing. To date we have typed close to 5 million individuals using SBT. While we were pushing for higher volume typing, we were also excelling in quality and accuracy with the strict quality control and quality assurance policy es-

tablished in Histogenetics' High throughput HLA typing process.

National Marrow Donor Program (NMDP) is one of the Histogenetics' major clients, and has a strict quality control program where average 3% of blind QC samples are included in every batch of testing samples. The table 3 shows error free typing for NMDP registry donors.

Table 3.

	Total (years: 2011–2015)
Samples Typed	716,540
Blind QC Samples	18,714
QC Error	0

In spite of these excellent results with Illumina MiSeq technology we have been exploring other single molecule sequencing technologies such as Pacific Bioscience's RS II.

The MiSeq platform has accomplished higher resolution HLA typing results, faster and more cost effective and easier work flow compared to Sanger Sequencing and other NGS. However, it has some shortcomings such as shorter read length compared to Sanger and PacBio that could result in missing insertions, and inability in phasing the exons unless additional amplicons are introduced. In addition MiSeq has a long run time and produces sequencing artifact in certain amplicons. Also, depending on a single technology and company can be a risk when quality of reagents fails or becomes substandard.

The PacBio platform has the following advantages to the MiSeq platform: Long read lengths with excellent phasing of the Exons and Introns and

short run times. It also provides us with an excellent alternative technology. Disadvantages of PacBio compared to MiSeq are a limitation in the barcoding (multiplexing) and longer sample preparation time.

Since October 2014, we have been routinely using PacBio for class I typing for resolving exon shuffling ambiguities and the new alleles. We have performed more than 5000 HLA-ABC on the PacBio platform, sequencing 1 kb amplicon that include ARS region (exon 2 and exon 3). We are incrementally extending the coverage length, and now for special projects we can routinely type the full gene length –3.5 kb which includes 8 exons and seven introns. Typing full length Class II genes are more challenging due to the lengths. They are approximately 18 kb or longer. But typing 5 kb fragments that include exon 2 and the rest of the downstream exons to the 3' translated regions are underway.

Another very important issue with NGS is the interpretation, presentation and visualization of the data. The focus should be matching patients and potential donors for those regions defining Antigen Recognition Sites (ARS) unambiguously-while not-

ing the similarities and variations in other regions of the gene.

Below (Figure 1) is an example of presentation for sequence matching at ARS between patient and potential donors.

Figure 1.

Genes	HLA-A				HLA-B				HLA-C				HLA-DRB1		HLA-DQB1	
	Exons	E1	ARS (E2+E3)	E4	E1	ARS (E2+E3)	E4	E1	ARS (E2+E3)	E4	E7	ARS (E2)	E3	ARS (E2)	E3	
PATIENT	Alleles by ARS		01:01:01G 68:01:02G			15:02:01G 51:01:01G			04:01:01G 07:01:01G			13:01:01G 14:01:01G		05:03:01G 06:03:01G		
	Index1	E1.0005	ARS.0001	E4.0004	E1.0012	ARS.0004	E4.0016	E1.0023	ARS.0004	E4.0003	E7.0001	ARS.0013	E3.0005	ARS.0005	E3.0020	
	Index2	E1.0004	ARS.0015	E4.0004	E1.0013	ARS.0005	E4.0100	E1.0030	ARS.0007	E4.0018	E7.0002	ARS.0014	E3.0007	ARS.0006	E3.0020	
	10 / 10 MATCH TO THE PATIENT (ARS)															
DONOR 1	Alleles by ARS		01:01:01G 68:01:02G			15:02:01G 51:01:01G			04:01:01G 07:01:01G			13:01:01G 14:01:01G		05:03:01G 06:03:01G		
	Index1	E1.0005	ARS.0001	E4.0004	E1.0012	ARS.0004	E4.0016	E1.0023	ARS.0004	E4.0003	E7.0001	ARS.0013	E3.0005	ARS.0005	E3.0020	
	Index2	E1.0004	ARS.0015	E4.0004	E1.0013	ARS.0005	E4.0100	E1.0030	ARS.0007	E4.0018	E7.0002	ARS.0014	E3.0007	ARS.0006	E3.0020	
	10 / 10 MATCH TO THE PATIENT (ARS)															
DONOR 2	Alleles by ARS		01:01:01G 68:01:02G			15:02:01G 51:01:01G			04:01:01G 07:01:01G			13:01:01G 14:01:01G		05:03:01G 06:03:01G		
	Index1	E1.0005	ARS.0001	E4.0001	E1.0012	ARS.0004	E4.0017	E1.0024	ARS.0004	E4.0003	E7.0003	ARS.0013	E3.0005	ARS.0005	E3.0021	
	Index2	E1.0005	ARS.0015	E4.0004	E1.0014	ARS.0005	E4.0101	E1.0031	ARS.0007	E4.0001	E7.0002	ARS.0014	E3.0001	ARS.0006	E3.0021	
	5 / 10 MATCH TO THE PATIENT (ARS)															
DONOR 3	Alleles by ARS		01:01:01G 24:02:01G			07:05:01G 51:01:01G			04:02:01G 18:01:01G			13:01:01G 15:01:01G		05:03:01G 06:02:01G		
	Index1		ARS.0001			ARS.0006			ARS.0004			ARS.0013		ARS.0005		
	Index2		ARS.0016			ARS.0005			ARS.0018			ARS.0015		ARS.0006		
	*ARS: Antigen Recognition Site. * G Code: G code is a group of alleles that have identical nucleotide sequences in the antigen recognition site															

Above figure is a schematic presentation of HLA typing report that compares patient and potential donors focusing on ARS regions.

Conclusion. Recent progress in sequencing technologies and laboratory processes together with

advanced informatics enable us to have a clearer representation of MHC and other Immune response genes. This will in turn help us to understand the puzzles of complex genetic systems that can serve the base for health and disease.

Куртанов Х. А.¹, Данилова А. Л.¹, Яковлева А. Е.², Саввина А. Д.³, Максимова Н. Р.²

¹ ФГБНУ ЯНЦ КМП, Якутск,
² СВФУ им. М. К. Аммосова, Якутск,
³ ГБУ РС (Я) «Детская городская больница»

**ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БОЛЬНЫХ ЦЕЛИАКИЕЙ
 НА ГЕНЫ HLA II КЛАССА — DRB1, DQA1, DQB1**

Kurtanov H. A.¹, Danilova A. L.¹, Yakovleva A. E.², Savvina A. D.³, Maximova N. P.³

¹ Federal State Scientific Institution «Yakut Scientific Center of complex medical problems», Yakutsk,
² North-Eastern Federal University M. K. Ammosova, Yakutsk,
³ State budget institution of the Republic of Sakha (Yakutia), «Children's Hospital»

**GENETIC RESEARCH OF HLA GENES I AND II CLASS — DRB1, DQA1, DQB1
 IN PATIENTS WITH CELIAC DISEASE**

В статье представлены результаты молекулярно-генетического исследования на основе типирования генов HLA класса II (*DRB1, DQA1, DQB1*) у 37 пациентов с направительным диагнозом целиакия или с подозрением на целиакию в возрасте от 8 месяцев до 18 лет. В результате исследования генов HLA класса II с помощью трехлокусных гаплотипов *DRB1-DQA1-DQB1* было обнаружено 17 носителей гаплотипов, ассоциированных с целиакией. Обнаружена высокая частота носительства гаплотипа *DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02* (DQ8 тип) у якутов (31,1%) по сравнению с русскими (11,6%).

Ключевые слова: целиакия, гены *DRB1, DQA1* и *DQB1*, гаплотип

Введение. Целиакия является одной из актуальных медико-социальных проблем современной гастроэнтерологии. Высокая частота осложнений и развитие ассоциированных болезней, ведущих к инвалидизации, определяют важность изучения данной патологии и поиск новейших технологий для выделения групп риска и реабилитации больных [1].

До недавнего времени заболевание считалось редким (1:5000–10000). Однако в настоящее время известно, что заболевание встречается в большинстве стран с одинаковой регулярностью (от 1:184 до 1:500). Исследования, проведенные в Европе и США, указывают, что распространенность целиакии среди детей составляет 1:80–1:300. В России целевые клинико-эпидемиологические исследования по данной патологии не проводились, предполагаемая распространен-

The article presents the results of molecular genetic research of gene typing based HLA class II (*DRB1, DQA1, DQB1*) in 37 patients diagnosed with celiac disease or suspicion of celiac disease between the ages of 8 months to 18 years. Results of research of gene HLA class by means of three-locus haplotypes (*DRB1-DQA1-DQB1*) have found 17 carriers haplotypes associated with celiac disease. A high frequency carrier haplotype *DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02* (DQ8) was found among the Yakuts (31,1%) compared to Russian (11,6%).

Key words: celiac disease, genes *DRB1, DQA1, and DQB1*, haplotype.

ность 1:1000 [1]. Исходя из значительной роли целиакии в этиологии многих системных заболеваний, встает проблема ее активной диагностики, лечения и реабилитации, что будет способствовать излечению от целиакии и связанных с ней болезней, профилактике онкологических заболеваний кишечника [2].

Патогенез развития целиакии и ее осложнений является многофакторным и определяется генетически обусловленными особенностями метаболизма, иммунитета и уровнем гиперчувствительности к глютену. Существует несколько теорий патогенеза целиакии, но, по мнению Всемирного Общества Гастроэнтерологов, основной является генетическая теория. Развитие заболевания связано с наличием генов *HLA-DQ2* (*A1*0501* и *B1*0201*), которые выявляют у 90–95% больных и *HLA DQ-8* (*A1*03* и *B1*0302*),

которые выявляют у 5–10% больных. [3, 4]. Но наличие этих генов необязательно приводит к развитию целиакии; имеет место наличие не-HLA генов, участвующих в формировании предрасположенности к целиакии [3].

Одним из подходов к изучению генетических факторов риска при мультифакторных заболеваниях, к которым относится и целиакия, является концепция молекулярной генетики об ассоциации полиморфных генетических маркеров с предрасположенностью или устойчивостью к развитию патологии. Эти специфичные для конкретной патологии маркеры могут быть выявлены задолго до ее клинической манифестации, что позволит определить группы риска, организовать их мониторинг, а в случае необходимости, назначить превентивную терапию. Особый интерес представляет изучение генов-кандидатов, если продукт их экспрессии (фермент, гормон, рецептор) прямо или косвенно участвует в развитии патологического процесса [2].

В связи с современными достижениями в области молекулярной генетики, изучение вклада генов-кандидатов в развитие заболевания, его клинические проявления, изменчивость количественных признаков иммунитета и метаболизма, участвующих в формировании осложнений, является перспективным и может способствовать поиску критериев риска целиакии [1].

В Республике Саха (Якутия) распространенность целиакии среди детей в 2008 г. составила 1:1660, а в г. Якутск — 1:884 среди детского населения [2]. Отсутствие в Якутии единых диагностических критериев, особенно в отношении субклинических форм, вызывающих наибольшее количество осложнений, и неразработанность основ молекулярной генетики целиакии определяют целесообразность проведения данно-

го исследования. Актуальность изучения гаплотипического разнообразия генов HLA II класса (*DRB1, DQA1, DQB1*) среди пациентов разных этнических групп, проживающих на территории РС(Я), в первую очередь связана с необходимостью накопления информации об особенностях генотипов больных целиакией в данном регионе. Многочисленные исследования, проведенные в направлении «HLA и болезни», говорят о существовании различий в клиническом течении заболевания и развитии иммунного ответа в зависимости от генотипа больного. Выявление таких корреляций позволит в дальнейшем приблизиться к решению проблемы лечения целиакии путем индивидуального патогенетического подхода, что существенно снизит число онкологических и других осложнений и улучшит качество жизни пациентов.

Таким образом, целью данной работы явилось молекулярно-генетическое исследование и гаплотипическое разнообразие целиакии на основе типирования генов HLA класса II (*DRB1, DQA1, DQB1*) в Якутии.

Материалы и методы исследования. В настоящее исследование были включены образцы ДНК больных детей, направленных гастроэнтерологом из МУ «Детская городская больница» г. Якутска. Информированное согласие на проведение генетического исследования было получено от каждого участника исследования. Всего исследовано 37 пациентов с направительным диагнозом целиакия или с подозрением на целиакию в возрасте от 8 месяцев до 18 лет проживающих в РС(Я). Из них 24 (64,9%) человека — якутской национальности, 11 (29,7%) человек — русской национальности, 1 (2,7%) эвенок и 1 (2,7%) киргиз. По половому признаку пациенты разделились на 18 (48,6%) женского пола и 19 (51,4%) мужского пола (табл. 1).

Таблица 1.

Распределение пациентов по национальности и полу.

№	Национальность	Человек (%)	Пол	
			Мужской	Женский
1	Якуты	24 (64,9)	13 (54,2)	11 (45,8)
2	Русские	11 (29,7)	5 (45,5)	6 (55,5)
3	Эвенки	1 (2,7)	1 (100,0)	-
4	Киргизы	1 (2,7)	-	1 (100,0)
5	Всего	37 (100,0)	19 (51,4)	18(48,6)

Выделение ДНК проводилось из 0,5–0,6 мл венозной крови с помощью коммерческих наборов для выделения ДНК Extra — Gene I (BAG Health Care GmbH, Германия. ЗАО «Северо-Западная медицинская база», г. Санкт-Петербург). Все исследуемые были прогенотипированы на гены *DRB1*, *DQA1* и *DQB1* с помощью коммерческих наборов для гистотипирования HLA аллелей HISTO TYPE SSP (BAG Health Care GmbH, Германия. ЗАО «Северо-Западная медицинская база», г. Санкт-Петербург).

Результаты и обсуждение. Было прогенотипировано всего 37 человек с направительным диагнозом целиакия или с подозрением на целиакию. В результате генотипирования у 17 из 37 исследованных были обнаружены гаплотипы, ассоциированные с целиакией (табл. 2). У оставшихся 20 человек гаплотипов ассоциированных с целиакией не было найдено, из них у 4 пациентов есть клиника целиакии. У якутов ассоциированные с целиакией гаплотипы выявлены всего у 11 чел., у русских — 6 чел., у эвенка и киргиза — не найдено (табл. 2). Количество первого гаплотипа (*DRB1*04 — DQA1*03:01 — DQB1*03:02*) составило 6 (30%), из них 5 (38,4%) — у якутов и 1 (14,3%) у русского. Второй гаплотип (*DRB1*03 — DQA1*05:01 — DQB1*02:01*) найден в равных количествах у якутов и у русских — по 3, всего 6 (30%).

Количество третьего гаплотипа (*DRB1*07 — DQA1*02:01 — DQB1*02:02*) составило 5 (25%), из них 3 (15%) найдены у якутов и 2 (10%) у русских, а четвертого гаплотипа (*DRB1*11 — DQA1*05:05 — DQB1*03:01*) — 3 (15%), из них 2 найдены у якутов (10%) и 1 у русского (5%). Как мы видим в таблице 2, DQ2 тип представлен 3 гаплотипами, а DQ8 тип 1 гаплотипом. DQ8 тип найден в 5 случаях (31,1%) у якутов и в 1 случае у русского (11,6%). Количество DQ2 типа составило 8 у якутов (49,8%) и 6 у русских (69,3%). DQ8 тип встречается у якутов в 3 раза (31,1%) чаще, чем у русских (11,6%). Трое больных (якуты — 2 чел., русские — 1 чел.) являются носителями сразу двух гаплотипов ассоциированных с целиакией (табл. 2). Первый человек (якут) имеет гаплотипы *DRB1*04 — DQA1*03:01 — DQB1*03:02* и *DRB1*07 — DQA1*02:01 — DQB1*02:02*, относящиеся к DQ8 типу и DQ2 типу, соответственно. Второй человек (якут) — *DRB1*03 — DQA1*05:01 — DQB1*02:01* и *DRB1*07 — DQA1*02:01 — DQB1*02:02* (оба гаплотипа DQ2 тип), а третий (русский) — *DRB1*04 — DQA1*03:01 — DQB1*03:02* и *DRB1*03 — DQA1*05:01 — DQB1*02:01* (DQ8 тип и DQ2 тип, соответственно). Последний больной, имеющий сразу два гаплотипа — DQ8 и DQ2 тип, имеет очень высокий риск целиакии.

Таблица 2.

Распределение гаплотипов, ассоциированных с целиакией, у больных в РС(Я).

№	Целиакия: гаплотипы по генам HLA, DRB1 — DQA1 — DQB1	Тип	Якуты (%)		Русские (%)		Всего гаплотипов найдено (%)	Риск	
			5***	31,1	1*	11,6		Высокий	Очень высокий
11.	<i>DRB1*04 — DQA1*03:01 — DQB1*03:02</i>	DQ8 тип	5***	31,1	1*	11,6	6 (30,0)	Высокий	Очень высокий
22.	<i>DRB1*03 — DQA1*05:01 — DQB1*02:01</i>	DQ2 тип	3**		3*		6 (30,0)	Высокий	
33.	<i>DRB1*07 — DQA1*02:01 — DQB1*02:02</i>	DQ2 тип	3** ***	49,8	2	69,3	5 (25,0)	Низкий	
44.	<i>DRB1*07 — DQA1*02:01 — DQB1*02:02</i>	} DQ2 тип	2		1		3 (15,0)	Высокий	
	<i>DRB1*11 — DQA1*05:05 — DQB1*03:01</i>								

Примечания: * — *DRB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01* и *DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02*; ** — *DRB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01* и *DRB1*07-DQA1*02:01-DQB1*02:02*; *** — *DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02* и *DRB1*07-DQA1*02:01-DQB1*02:02*.

В различных регионах мира частота встречаемости данных аллелей при целиакии имеет свои особенности и изменяется от 50 до 97%. В исследовании Е.Н. Касаткиной [6], проведенном среди группы детей г. Москвы, у 97,2% больных целиакией выявляются ассоциированные с глю-

теновой энтеропатией аллели. При этом основная доля (88,6%) приходится на молекулу DQ2 и 8,6% на гаплотип DQ8. В нашей работе специфичные аллели встречаются в 80,9% случаев, что сравнительно ниже данных, приведенных выше. У русских DQ2 тип встречается в 69,3%

случаев, а DQ8 тип в 11,6%. У якутов DQ2 тип найден в 49,8% случаев, а DQ8 тип — в 31,1%, что в 3 раза выше, чем у русских. Сравнивая с результатами, полученными при исследовании различных популяционных групп, можно отметить, что частоты встречаемости данных аллелей у лиц европеоидной и монголоидной рас существенно отличаются. Так, если в Европе частота встречаемости DQ2 составляет 90–95%, то у лиц

монголоидной расы значительно ниже. Например, в исследованиях А.Т. Камиловой, проведенных в Узбекистане, частота выявления DQ2 типа составила 69,2% (в соответствии с установленными аллельными локусами, ассоциированными с целиакией *DQA1*0501/DQB1*0201 — DQ2* тип), а в работах Т.К. Исабековой — 62% (табл. 3) [6].

Таблица 3

Распространенность HLA гаплотипов в различных популяциях.

Популяция	Гаплотипы	Частота встречаемости, %
Финляндия	DQ2 и/или DQ8	97,0
Северная Европа	<i>DQA1*0501</i> <i>DQB1*0201</i>	98,9
Израиль	<i>DQA1*0501</i> <i>DQB1*0201</i>	80,0
Казахстан	<i>DQA1*0501</i> <i>DQB1*0201</i>	62,0
Узбекистан	<i>DQA1*0501</i> <i>DQB1*0201</i>	69,2
Россия, Томск	DQ2 и/или DQ8	70,0
Результаты настоящего исследования	DQ2 и/или DQ8	80,9

Примечание — из работы (Захарова, Боровик, Рославцева и др., 2011).

Несмотря на сильную ассоциацию целиакии с генами *DQ2 (DQA1*05-DQB1*02)* и *DQ8 (DQA1*03-DQB1*0302)*, имеются данные, свидетельствующие о наличии других генов системы HLA, участвующих в развитии целиакии. По данным европейских исследователей известно, что 61 больной целиакией из 1008 (6,05%) не является носителем ни DQ2, ни DQ8 гетеродимера. В нашем исследовании 4 человека из 21 являются и DQ2-, и DQ8-отрицательными, что составляет 19,1%.

В то же время отдельные отечественные исследователи указывают на то, что генотип пациентов в различных регионах может иметь свои особенности и отсутствие характерных для европейской популяции аллелей не исключает возможность развития заболевания [2].

В связи с этим полученные результаты требуют проведения дальнейших исследований для установления особенностей генотипа больных целиакией в нашем регионе.

Заключение. Таким образом, на современном этапе исследований мнения большинства исследователей сходятся на том, что наличие генов

HLA-DQ2 и *HLA DQ-8* является обязательным, но недостаточным фактором развития целиакии. Отсутствие данных генов почти полностью исключает диагноз целиакии. Обнаружение у пациентов патологических аллелей в сочетании с серологическими маркерами позволяет с высокой вероятностью предсказать целиакию.

При проведении типирования пациентов с целиакией или подозрением на целиакию по генам HLA класса II с помощью трехлокусных гаплотипов *DRB1-DQA1-DQB1* было установлено 17 носителей гаплотипов, ассоциированных с целиакией. 4 человека не имеют данных гаплотипов, но имеют клинику целиакии. Трое больных (якуты — 2 чел., русские — 1 чел.) являются носителями сразу 2 гаплотипов. Обнаружена высокая частота носительства гаплотипа *DRB1*04 — DQA1*03:01 — DQB1*03:02* (DQ8 тип) у якутов (31,1%) по сравнению с русскими (11,6%) и с ранее проводившимися исследованиями (5–10%), что требует более тщательного популяционно-генетического исследования якутской популяции по генам HLA II класса *DRB1 — DQA1 — DQB1*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Celiac disease in children: solved and unsolved questions of aetiopathogenesis / I.N. Zakharova, T.E. Borovik, E.A. Roslavtseva et al. // Current Pediatrics — 2011. — Vol. 4. — № 9. — P. 30–35.
2. Kasatkina E.N. Clinical and laboratory characteristics of different forms of Celiac depending on the genetic markers of the disease: authors diss. ... candidate of medical sciences / E. N. Kasatkina — Moscow, 2009.
3. Loskova E.V. Genetic and immunological mechanisms of formation of the clinical manifestations of celiac disease in children and adolescents and their significance in rehabilitation: authors abstract diss. of candidate of medical sciences / E. V. Leskova — Tomsk, 2009.
4. Louka A. S. HLA in celiac disease: Unravelling the complex genetics of a complex disorder / A. S. Louka, L. M. Sollid // Tissue Antigens — 2003. — Vol. 61. — P. 105–117.
5. Ludvig M. Celiac Disease Genetics: Current Concepts and practical applications / M. ludvig, M. Soliid, A. Lie Benedicte / Clinical Gastroenterology and Hepatology. — 2005. — Vol. 3. — P. 843–851.
6. Organization of dynamic observation of children with celiac disease / N.V. Savvina, A.D. Savvina, G.M. Melchanova, N.N. Gryaznukhina // far East medical journal — 2009. — № 4. — S. 82–85.
7. Касаткина Е. Н. Клинико-лабораторная характеристика различных форм целиакии в зависимости от генетических маркеров заболевания: автореф. дис. ... канд. мед наук / Е. Н. Касаткина — Москва, 2009.
8. Лошкова Е. В. Генетические и иммунологические механизмы формирования клинических проявлений целиакии у детей и подростков и их значение в реабилитации: автореф. дис. ... канд. мед наук / Е. В. Лошкова — Томск, 2009.
9. Организация динамического наблюдения детей с целиакией / Н. В. Саввина, А. Д. Саввина, Г. М. Мельчанова, Н. Н. Грязнухина // Дальневосточный медицинский журнал — 2009. — № 4. — С. 82–85.
10. Целиакия у детей: решенные и нерешенные вопросы этиопатогенеза / И. Н. Захарова, Т. Э. Боровик, Е. А. Рославцева и др. // Вопросы современной педиатрии — 2011. — Т. 10. — № 9. — С. 30–35.

Абдулкадыров К. М.	56
Адамова Г. В.	29
Азизова Т. В.	29
Алянский А. Л.	5, 18, 19
Атрощенко Г. В.	10
Афанасьев Б. В.	5, 19
Бакай В. В.	6
Беляева Е. В.	6
Беляева С. В.	27, 32
Беркос А. С.	6
Бессмельцев С. С.	6, 22, 31
Бологов А. А.	12
Бондаренко С. Н.	18
Бубнова Л. Н.	6, 8, 22, 31
Бурмистрова А. Л.	32
Бутина Е. В.	9
Бутылин П. А.	14
Вавилов М. Н.	27, 32
Вавилов М. Н.	38
Валов А. Л.	12
Волкова О. Я.	24
Гапонова Т. В.	37
Глазанова Т. В.	6
Говоровская И. Ю.	38
Головкина Л. Л.	10, 11
Горелова А. К.	32
Грачева Л. А.	12
Данилова А. Л.	44
Евдокимов А. В.	32
Евсеева И.	13
Ермолина В. В.	5, 19
Ерохина Л. В.	6
Ершов Д. Е.	14
Завьялова Т. М.	27
Зайцева Г. А.	9
Зинкин В. Ю.	20, 21
Иванова Н. Е.	5, 18, 19
Иванов Д. О.	24
Иволгин Д. А.	23

Иоффе Ю. Г.	15
Каландаров Р. С.	10
Коротаев Е. В.	25
Котелевская Е. А.	16
Кузина М. В.	38
Кузьмина Л. А.	35
Кузьминова Е. П.	17, 35, 37
Кузьмич Е. В.	5, 18, 19
Куликов С. М.	35
Куртанов Х. А.	44
Лебедева Л. Л.	20, 21
Майорова О. А.	19, 20, 21
Макаренко О. А.	5
Максимова Н. Р.	44
Мерзлякова С. В.	5, 19
Михайлова Е. А.	11
Моисеева Л. М.	6
Павленко С. В.	20
Павленко С. В.	21
Павлова А. А.	22
Павлова И. Е.	6, 22, 31
Паровичникова Е. Н.	10, 11, 35
Петренко Ю. В.	24
Петрова Л. В.	12
Пирожков И. А.	23
Полякова А. П.	14, 24
Пономарев С. А.	25
Преймачук Е. А.	25
Пухликова Т. В.	20, 21
Пушкина Т. Д.,	10, 11
Розанова О. Е.	6
Рудакова Г. А.	27, 32
Румянцев А. Г.	12
Румянцева А. В.	29
Рыбкина В. Л.	29
Саввина А. Д.	44
Савченко В. Г.	11, 35
Семенов Г. В.	30
Силютин А. А.	14

Смирнова С. А.	16
Смолянинов А. Б.	16, 23
Соколова Ю. В.	22, 31
Сташкевич Д. С.	32
Степанов А. А.	25
Стремоухова А. Г.	10
Суздаева С. Л.	27
Сулова Т. А.	27, 32, 38
Теплякова О. В.	29
Трескина Н. А.	24
Тимофеева Н. П.	5
Хамаганова Е. Г.	17, 35, 37
Харламова Л. А.	12
Хорошайлова А. Е.	5
Храмова К. Ю.	38
Хромова Е. Б.	32, 38
Чечеткин А. В.	8, 23, 31
Чубукина Ж. В.	6
Чугреева Т. П.	17, 37
Чумак А. А.	20, 21
Шилова Е. Р.	56
Шунькина К. В.	16
Юшкова А. А.	17, 35, 37
Яковлева А. Е.	44
Abdulkadyrov K. M.	56
Avagyan S.	40
Danilova A. L.	44
Evseeva Irina.	40
Kurtanov H. A.	44
Maximova H. P.	44
MD	41
Naumova E.	41
Nazaretyan M.	40
Nezih Cereb	41
Savvina A. D.	44
Shilova E. R.	56
Sokourenko E.	40
Yakovleva A. E.	44
Yepiskoposyan L.	40