

Бутина Е.В., Шерстнев Ф.С., Максимов О.Д., Йовдий А.В., Парамонов И.В.

## РОЛЬ ГЕНОВ HLA В РАЗВИТИИ HLA-АЛЛОИММУНИЗАЦИИ У РЕЦИПИЕНТОВ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ

ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови ФМБА, 610027, Киров, Россия

*Установлена генетически обусловленная предрасположенность к развитию HLA-аллоиммунизации при проведении ге-мокомпонентной терапии, ассоциированная с наличием в генотипах реципиентов HLA-аллелей DRB1\*04, DQA1\*03:01, DQA1\*05:01 и трехлокусного гаплотипа DRB1\*04-DQA1\*03:01-DQB1\*03:02. Риск образования антилимфоцитар-ных антител снижен у пациентов с HLA аллелями DRB1\*16, DQA1\*01:02, DQB1\*05:02 и HLA-гаплотипом DRB1\*16-DQA1\*01:02-DQB1\*05:02.*

**Ключевые слова:** HLA; гены; антигены; аллоантитела; аллоиммунизация; трансфузии тромбоцитов.

**Для цитирования:** Бутина Е.В., Шерстнев Ф.С., Максимов О.Д., Йовдий А.В., Парамонов И.В. Роль генов HLA в раз-витии HLA-аллоиммунизации у реципиентов компонентов крови. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2022; 67 (5): 292-295. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-5-292-295>

**Для корреспонденции:** Бутина Елена Владимировна, д-р мед. наук, зав. лаб. иммуногематологии; e-mail: butinalena@yandex.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Поступила 14.12.2021

Принята к печати 15.01.2022

Опубликовано 21.05.2022

*Butina E.V., Sherstnev F.S., Maksimov O.D., Yovdiy A.V., Paramonov I.V.*

ROLE OF HLA GENES IN DEVELOPMENT OF HLA-ALLOIMMUNIZATION IN BLOOD RECIPIENTS

Federal State Budget Institution of Science «Kirov Scientific Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Federal Medical-Biological Agency», 610027 Kirov, Russian Federation

*A genetically determined predisposition to the development of HLA-alloimmunization as a result of blood transfusions is as- sociated with the presence of HLA-alleles DRB1\*04, DQA1\*03:01, DQA1\*05:01 and HLA-haplotype DRB1\*04-DQA1\*03:01- DQB1\*03:02 in the genotypes of recipients. The risk of antibody production is reduced in patients with HLA-alleles DRB1\*16, DQA1\*01:02, DQB1\*05:02 and HLA-haplotype DRB1\*16-DQA1\*01:02-DQB1\*05:02.*

**Key words:** HLA; gens; antigens; alloantibodies; alloimmunization; platelet transfusion.

**For citation:** Butina E.V., Sherstnev F.S., Maksimov O.D., Yovdiy A.V., Paramonov I.V. Role of HLA genes in development of HLA-alloimmunization in blood recipients. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnos- tics).* 2022; 67 (5): 292-295 (in Russ.). DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-5-292-295>

**For correspondence:** Butina E.V., Dr. Sci. Med., head of the Laboratory of Immunohematology; e-mail: butinalena@yandex.ru

### Information about authors:

Butina E.V., <https://orcid.org/0000-0002-7474-7559>;

Sherstnev F.S., <https://orcid.org/0000-0002-1751-8522>;

Maksimov O.D., <https://orcid.org/0000-0003-4011-8428>;

Yovdiy A.V., <https://orcid.org/0000-0003-2496-0308>;

Paramonov I.V., <https://orcid.org/0000-0002-7205-912X>.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflicts of interest.

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

Received 14.12.2021

Accepted 15.01.2022

Published 21.05.2022

**Введение.** Основными неблагоприятными послед-ствиями HLA-аллоиммунизации являются неэффе-ктивность трансфузий концентратов тромбоцитов, необхо-димность дополнительных переливаний тромбоцитов, фебрильные реакции и угроза развития фатального кровотечения [1-3]. Наиболее эффективным методом профилактики считается лейкофильтрация компонентов крови, однако уровень лейкоцитов  $1 \times 10^6$  и менее, до-стигнутый в результате этой процедуры, не полностью предотвращает образование анти-HLA антител у пациен-

тов. [4-6]. Установлено несколько факторов, влияющих на развитие аллоиммунизации: количество лейкоцитов в компоненте крови, количество трансфузий в анамнезе, наличие беременностей у женщин [7-9]. Тем не менее, индивидуальное прогнозирование риска возникновения аллоантител до настоящего времени остается нерешен-ной проблемой [10-12]. В связи с этим представляется актуальным изучить взаимосвязь HLA-генотипа с веро-ятностью аллоиммунизации реципиентов в результате интенсивной ге-мокомпонентной терапии.

Цель исследования – оценить генетическую предрасположенность реципиентов к развитию HLA-аллоиммунизации.

**Материал и методы.** Иммуногематологические и генетические исследования выполнены у 61 пациента (22 мужчины и 39 женщин), получивших в течение предшествующего лечения от 4 до 32 трансфузий компонентов крови (медиана – 11) в гематологической клинике института в 2019-2021 гг. Все компоненты крови были лейкоредуцированы в процессе заготовки. Возраст пациентов от 3 до 78 лет (медиана – 48 лет). Острый лейкоз (ОЛ) диагностирован у 34 больных, миелодиспластический синдром (МДС) – у 10, апластическая анемия (АА) – у 8, лимфома Ходжкина (ЛХ) – у 3, хронический миелолейкоз (ХМЛ) – у 2, саркома – у 2, неходжкинская лимфома (НХЛ) – у 1, множественная миелома (ММ) – у 1 больного. Исследование антилимфоцитарных антител проводили в стандартном микролимфоцитотоксическом тесте. Типирование генов HLA локусов DRB1, DQA1, DQB1 выполняли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием оборудования и реактивов ООО «ДНК-технология» (Россия).

Информированное согласие пациентов на обследование и лечение получено. Материалы исследования одобрены локальным этическим комитетом при ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России.

Статистический анализ осуществляли с помощью критерия хи-квадрат. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** На основании результатов исследования антилимфоцитарных антител, пациенты, которым проводилась интенсивная гемокомпонентная терапия, разделены на две группы: HLA-неиммунизированные ( $n=31$ ) и HLA-иммунизированные ( $n=30$ ). Широта спектра реагирования антител у 3 из 30 аллоиммунизированных пациентов составила 25-49%, у 12 – 50-74%, у 15 – 75-100%. Медицинские и демографические характеристики пациентов представлены в табл.1. Группы больных сопоставимы по возрасту (медиана 49 и 45 лет, соответственно). Женщины составили 48,4% в группе HLA-неиммунизированных и 73,3% им-

мунизированных. Количество беременностей у женщин в первой группе – от 0 до 8 (медиана – 4), родов от 0 до 4 (медиана – 1,5), во второй группе – число беременностей от 0 до 7 (медиана – 2,5), родов – от 0 до 6 (медиана – 2). У 83,9% неиммунизированных больных поставлен диагноз острый лейкоз. В группе аллоиммунизированных пациентов острый лейкоз диагностирован у 26,7%, апластическая анемия – у 23,3%, миелодиспластический синдром – у 33,3% больных.

В результате иммуногенетического обследования реципиентов установлено, что в генотипах аллоиммунизированных больных достоверно чаще, чем в генотипах неиммунизированных, встречались HLA аллели DRB1\*04, DQA1\*03:01, DQA1\*05:01; реже – DRB1\*16, DQA1\*01:02, DQB1\*05:02 (табл. 2).

У HLA-иммунизированных больных достоверно чаще, чем у не- иммунизированных, встречался трехлокусный гаплотип DRB1\*04-DQA1\*03:01-DQB1\*03:02; реже – DRB1\*16-DQA1\*01:02-DQB1\*05:02 (табл. 3).

**Обсуждение.** Аллоиммунизация к антигенам клеток крови существенно осложняет проведение гемокомпонентной терапии. Наличие антител к антигенам тромбоцитов не позволяет достигнуть адекватного прироста числа тромбоцитов после переливания, что делает необходимым проведение дополнительных трансфузий и несет опасность развития фатального кровотечения у реципиента. Известно, что при относительно равных клинических факторах только часть пациентов отвечает образованием антител на введение чужеродных антигенов – реципиенты-респондеры. Выявление «респондерной» до начала проведения интенсивной гемокомпонентной терапии позволяет службе крови предоставлять фенотипически совместимые компоненты крови и предотвращать иммунизацию. Целью настоящего исследования было определить взаимосвязь между аллелями HLA-DRB1, -DQA1, -DQB1 и HLA-аллоиммунизацией у пациентов гематологической клиники.

В результате иммуногенетического обследования 61 пациента с заболеваниями системы крови, получавших интенсивную гемокомпонентную терапию, было установлено, что помимо гендерных (женский пол) и медицинских факторов (апластическая анемия и ми-

Таблица 1

Демографические и медицинские характеристики пациентов, получавших интенсивную гемокомпонентную терапию

Характеристика пациентов		Количество пациентов, абс. (%)	
		HLA-неиммунизированные, $n=31$	HLA-иммунизированные, $n=30$
Пол:	Женщины	15 (48,4%)	22 (73,3%)
	Мужчины	16 (51,6%)	8 (26,7%)
Возраст, годы	Медиана (интервал)	49 (3-78)	45 (7-71)
Число беременностей	Медиана (интервал)	4 (0-8)	2,5 (0-7)
Число родов	Медиана (интервал)	1,5 (0-4)	2 (0-6)
Диагноз:	ОЛ	26 (83,9%)	8 (26,7%)
	МДС	0	10 (33,3%)
	АА	1 (3,2%)	7 (23,3%)
	ЛХ	0	3 (10,0%)
	ХМЛ	1 (3,2%)	1 (3,3%)
	Саркома	1 (3,2%)	1 (3,3%)
	НХЛ	1 (3,2%)	0
	ММ	1 (3,2%)	0

**Частота встречаемости аллелей локусов HLA- DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1 у HLA-аллоиммунизированных и HLA-неиммунизированных пациентов**

Локус	Аллель	Частота встречаемости HLA аллелей				p
		Неиммунизированные больные, n=31		Аллоиммунизированные больные, n=30		
		абс.	%	абс.	%	
HLA-DRB1	DRB1*01	13	41,9	9	30,0	0,48
	DRB1*03	2	6,5	8	26,7	0,07
	DRB1*04	2	6,5	10	33,3	<b>0,02</b>
	DRB1*07	10	32,3	6	20,0	0,42
	DRB1*08	0	0,0	2	6,7	0,46
	DRB1*09	2	6,5	1	3,3	0,97
	DRB1*11	4	12,9	4	13,3	0,74
	DRB1*12	0	0,0	2	6,7	0,56
	DRB1*13	4	12,9	8	26,7	0,30
	DRB1*14	2	6,5	1	3,3	0,97
	DRB1*15	17	54,8	9	30,0	0,07
	DRB1*16	6	19,4	0	0,0	<b>0,03</b>
	HLA-DQA1	DQA1*01:01	16	51,6	10	33,3
DQA1*01:02		24	77,4	9	30,0	<b>0,00</b>
DQA1*01:03		3	9,7	7	23,3	0,27
DQA1*02:01		10	32,3	6	20,0	0,42
DQA1*03:01		3	9,7	11	36,7	<b>0,03</b>
DQA1*04:01		0	0,0	2	6,7	0,45
DQA1*05:01		6	19,4	15	50,0	<b>0,02</b>
HLA-DQB1	DQB1*02:01	7	22,6	14	46,7	0,08
	DQB1*03:01	3	9,7	7	23,3	0,27
	DQB1*03:02	3	9,7	9	30,0	0,09
	DQB1*03:03	7	22,6	1	3,3	0,06
	DQB1*04:02	0	0,0	2	6,7	0,45
	DQB1*05:01	15	48,4	10	33,3	0,35
	DQB1*05:02	8	25,8	1	3,3	<b>0,03</b>
	DQB1*05:03	1	3,2	1	3,3	0,48
	DQB1*06:02-8	18	58,1	14	46,7	0,53

Примечание. Здесь и в табл. 3: жирным шрифтом выделены значения  $p < 0,05$ .

елодиспластический синдром) имеются генетические причины, предрасполагающие к выработке анти-HLA антител – наличие в генотипах пациентов HLA-аллелей DRB1\*04, DQA1\*03:01, DQA1\*05:01 и гаплотипа DRB1\*04-DQA1\*03:01-DQB1\*03:02.

Несмотря на растущее количество данных, подтверждающих взаимосвязь между аллоиммунизацией и генотипом системы HLA, точный механизм, лежащий в основе ассоциации между HLA-аллелями и образованием антител против множественных аллоантигенов, неизвестен. Некоторые авторы предполагают, что предрасположенность к аллоиммунизации связана с более эффективной презентацией аллоантигенов, другие исследователи считают, что определенные HLA-аллели являются лишь индикаторами генетического контроля организма над активностью

иммунной системы, в частности над гуморальным иммунным ответом.

**Выводы:**

1. Установлена генетически обусловленная предрасположенность к развитию HLA-аллоиммунизации, ассоциированная с наличием в генотипах реципиентов HLA-аллелей DRB1\*04, DQA1\*03:01, DQA1\*05:01 и трехлокусного гаплотипа DRB1\*04-DQA1\*03:01-DQB1\*03:02. Риск образования антилимфоцитарных антител снижен у пациентов с HLA аллелями DRB1\*16, DQA1\*01:02, DQB1\*05:02 и HLA-гаплотипом DRB1\*16-DQA1\*01:02-DQB1\*05:02.

2. Факторами риска развития HLA-аллоиммунизации в процессе гемокомпонентной терапии являются: женский пол, апластическая анемия, миелодиспластический синдром.

**Частота встречаемости гаплотипов HLA-DRB1-DQA1-DQB1 у HLA-аллоиммунизированных и HLA-неаллоиммунизированных пациентов**

Гаплотипы HLA-DRB1-DQA1-DQB1	Частота встречаемости HLA гаплотипов				p
	Неиммунизированные больные, n=31		Аллоиммунизированные больные, n=30		
	абс.	%	абс.	%	
DRB1*15-DQA1*01:02-DQB1*06:02-8	14	45,2	7	23,3	0,12
DRB1*01-DQA1*01:01-DQB1*05:01	12	38,7	9	30,0	0,65
DRB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01	2	6,5	8	26,7	0,07
DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02	1	3,2	9	30,0	<b>0,01</b>
DRB1*07-DQA1*02:01-DQB1*02:01	4	12,9	6	20,0	0,69
DRB1*13-DQA1*01:03-DQB1*06:02-8	3	9,7	7	23,3	0,27
DRB1*16-DQA1*01:02-DQB1*05:02	6	19,4	0	0,0	<b>0,03</b>
DRB1*11-DQA1*05:01-DQB1*03:01	3	9,7	4	13,3	0,96

ЛИТЕРАТУРА (пп.1, 7-11 см. REFERENCES)

- Минеева Н.В., Кробинец И.И., Блинов М.Н., Капустин С.И. Антигены и антитела к тромбоцитам (обзор литературы). *Онкогематология*. 2013; 8(3): 60-8.
- Бутина Е. В., Шерстнев Ф. С., Максимов О. Д., Зайцева Г. А., Попонина Е. А., Йовдий А. В. и др. Технические и организационные аспекты профилактики HLA-аллоиммунизации и рефрактерности к трансфузиям тромбоцитов у гематологических больных. *Трансфузиология*. 2018; 19(4): 59-66.
- Чечеткин А.В., Бессмельцев С.С., Киселева Е.А., Касьянов А.Д., Данильченко В.В. Качество тромбоцитных концентратов и эритроцитной взвеси, полученных методом афереза, при сочетанном донорстве. *Medline.ru. Российский биомедицинский журнал*. 2019; 20(1): 156-65.
- Эйхлер О.В., Чечеткин А.В., Аджигитова Е.В., Данильченко В.В., Минеева Н.В., Кробинец И.И. и др. Характеристика реакций и осложнений, возникших в связи с трансфузией донорской крови и ее компонентов, в медицинских организациях Российской Федерации в 2019 году. *Трансфузиология*. 2020; 21(4): 304-12.
- Рахмани А.Ф., Михайлова Е.А., Дубинкин И.В., Калмыкова О.С., Галузьяк В.С., Троицкая В.В. и др. Рефрактерность к трансфузиям тромбоцитов у больных апластической анемией и гемобластозами. *Онкогематология*. 2018; 13(2): 62-72.
- Butina E.V., Sherstnev F.S., Maksimov O.D., Zaytseva G.A., Poponina E.A., Yovdiy A.V. et al. Technical and organizational aspects of prophylaxis of HLA-alloimmunization and platelet refractoriness in hematological patients. *Transfuziologiya*. 2018; 19(4): 59-66. (in Russian)
- Chechetkin A.V., Bessmeltsev S.S., Kiseleva E.A., Kasyanov A.D., Danilchenko V.V. The quality of platelet concentrates and erythrocyte suspension obtained by apheresis method with a multicomponent donation. *Medline.ru. Rossiyskiy biomeditsinskiy zhurnal*. 2019; 20(1): 156-65. (in Russian)
- Eihler O.V., Chechetkin A.V., Ajigitova E.V., Danilchenko V.V., Mineeva N.V., Krobinecs I.I. et al. Characteristics of transfusion reactions and complications in medical organizations of the Russian Federation in 2019. *Transfuziologiya*. 2020; 21(4): 304-12. (in Russian)
- Rakhmani A.F., Mikhaylova E.A., Dubinkin I.V., Kalmykova O.S., Galuziyak V.S., Troitskaya V.V. et al. Refractoriness to donor platelets transfusion in patients with aplastic anemia and hemoblastosis. *Onkogematologiya*. 2018; 13(2): 62-72. (in Russian)
- Murphy M., Roberts D., Yazer M. *Practical Transfusion Medicine*. 5<sup>th</sup> ed. Oxford, UK: Wiley-Blackwell; 2017.
- Weinstock C., Schnaidt M. Human Leucocyte Antigen sensitisation and its impact on transfusion practice. *Transfus. Med. Hemother.* 2019; 46(5): 356-69.
- Wang J., Xia W., Deng J., Xu X., Shao Y., Ding H. et al. Analysis of platelet-reactive alloantibodies and evaluation of cross-match-compatible platelets for the management of patients with transfusion refractoriness. *Transfus. Med.* 2018; 28(1):40-6.
- Basire A., Picard C. Platelet allo-antibodies identification strategies for preventing and managing platelet refractoriness. *Transfus. Clin. Biol.* 2014;21(4-5):193-206.
- Delbos F., Cesbron A. Characterization of HLA allo-immunization and clinical impact in transfusion and organ transplantation. *Transfus. Clin. Biol.* 2017; 24(3):131-7.

REFERENCES

- Shaz B.H., Hillyer C.D., Reyes G.M. *Transfusion Medicine and Hemostasis: Clinical and Laboratory Aspects*. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2018.
- Mineeva N.V., Krobinecs I.I., Blinov M.N., Kapustin S.I. Platelet antigens and antibodies. Literature review. *Onkogematologiya*. 2013; 8(3): 60-8. (in Russian)