

12. Поletaev A.B. *Иммунофизиология и иммунопатология*. М.: МИА; 2008.
19. Бейум А. *Лимфоциты: выделение, фракционирование и характеристика*. Перевод с английского. М.: Медицина; 1980.
20. Маркушева Л.И., Савина М.И., Тогузов Р.Т., Решина В.М. Ядерные белки хроматина в оценке эффективности лечения больных псориазом. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2000; (7): 18—20.

Поступила 12.12.15

## REFERENCES

1. Makarov O.V., Kozlov P.V., Nikolaev N.N., Lutsenko N.N., Rudenko A.V. Ways to improve perinatal morbidity and mortality in preterm pregnancy. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal*. 2007; (2): 3—6. (in Russian)
2. Nikitina L.A., Demidova E.M., Sadekova O.Yu., Azarova O.Yu., Bochkov V.N., Samokhodskaya L.M. The role of genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase C677T, PIA1/PIA2 glycoprotein IIIa, 4G/5G plasminogen activator inhibitor type 1 and R353Q VII factor in the formation of miscarriage. *Problemy reproduktivnoy meditsiny*. 2007; (6): 83—9. (in Russian)
3. Radzinskiy V.E., Mironov A.V., Zapertova E.Yu. Forecasts treatment of miscarriage in I trimester progestogens. *Ginekologiya*. 2006; 8(4): 15—9. (in Russian)
4. Hoesli I.M., Walter-Gobel I., Tercanli S., Holzgreve W. Spontaneous fetal loss rates in a non-selected population. *Am. J. Med. Genet*. 2001; 100(2): 106—9.
5. Osipenko L. *System Dynamics in Early Health Technology Assessment: Prenatal Screening Technology*: Diss. Hoboken; 2005.
6. Hoek A., Schoemaker J., Drexhage H.A. Premature ovarian failure and ovarian autoimmunity. *Endocr. Rev*. 1997; 18(1): 107—35.
7. Gleicher N., Pratt D., Dudkiewicz A. What do we really know about autoantibody abnormalities and reproductive infertility? *Contracept. Fertil. Sex*. 1995; 23: 239—54.
8. Sukhikh G.T., Van'ko L.V. *Immunology of Pregnancy [Immunologiya beremennosti]*. Moscow: RAMN; 2003. (in Russian)
9. Talwar G.P. Fertility regulating and immunotherapeutic vaccines reaching human trials stage. *Hum. Reprod. Update*. 1997; 3(4): 301—10.
10. Poletaev A., Osipenko L. General network of natural autoantibodies as Immunological Homunculus (Immunculus). *Autoimmun. Rev*. 2003; 2(5): 264—71.
11. Burmenskaya O.V., Bayramova G.R., Nepsha O.S., Trofimov D.Yu., Mullabaeva C.M., Donnikov A.E. et al. State of local immunity in chronic recurrent vulvovaginal candidiasis. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2011; (1): 52—6. (in Russian)
12. Poletaev A.B. *Immunophysiology and Immunopathology [Immunofiziologiya i immunopatologiya]*. Moscow: MIA; 2008. (in Russian)
13. Radhupathy R. Th1-type immunity is incompatible with successful pregnancy. *Immunol. Today*. 1997; 18(10): 478—51.
14. Bu P., Evrard Y.A., Lozano G., Dent S.Y. Loss of Gcn5 acetyltransferase activity leads to neural tube closure defects and exencephaly in mouse embryos. *Mol. Cell Biol*. 2007; 27(9): 3405—16.
15. Bi Y., Lv Z., Wang Y., Hai T., Huo R., Zhou Z. et al. WDR82, a key epigenetics-related factor, plays a crucial role in normal early embryonic development in mice. *Biol. Reprod*. 2011; 84(4): 756—64.
16. Zha S., Sekiguchi J., Brush J.W., Bassing C.H., Alt F.W. Complementary functions of ATM and H2AX in development and suppression of genomic instability. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2008; 105(27): 9302—6.
17. Lemke H., Lange H. Is there a maternally induced immunological imprinting phase a la Konrad Lorenz. *Scand. J. Immunol*. 1999; 50: 348—54.
18. Ciccone D.N., Su H., Hevi S., Gay F., Lei H., Bajko J. et al. KDM1B is a histone H3K4 demethylase required to establish maternal genomic imprints. *Nature*. 2009; 461(7262): 415—8.
19. Beyum A. *Lymphocytes: Isolation, Fractionation and Characterization*. Baltimore; 1976.
20. Markusheva L.I., Savina M.I., Toguzov R.T., Reshina V.M. Nuclear chromatin proteins in evaluating the effectiveness of treatment of patients with psoriasis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2000; (7): 18—20. (in Russian)

Received 12.12.15

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 615.38:615.361.4-013.3:575.08

Логинова М.А.<sup>1,2</sup>, Парамонов И.В.<sup>2</sup>, Хальзов К.В.<sup>3</sup>, Моор Ю.В.<sup>3</sup>

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДОНОРОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ПРОЖИВАЮЩИХ В НОВОСИБИРСКЕ

<sup>1</sup>ФГБУ РМНПЦ «Росплазма» ФМБА России, 610002, г. Киров; <sup>2</sup>ФГБУН Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России, 610027, г. Киров; <sup>3</sup>ГБУЗ НСО «Новосибирский центр крови», 630054, г. Новосибирск, Российская Федерация

Проведено HLA-типирование 200 потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток, проживающих в Новосибирске, по локусам (HLA)-A, -B, -C, -DRB1. В ходе проведенных исследований в изучаемой популяции выявлены два новых аллеля, которые ранее не были зарегистрированы международным Комитетом по номенклатуре факторов HLA-системы ВОЗ. При изучении частот распределения HLA-аллелей и гаплотипов выявлено 16 аллельных вариантов локуса HLA-A, 24 — HLA-B, 13 — HLA-C, 13 — HLA-DRB1. Частотой встречаемости более 10% обладают следующие аллельные варианты: HLA-A\*02 (29,25%), 01 (14%), 03 (13,5%), 24 (10,75%), HLA-B\*35 (12,25%), 07 (12%), HLA-C\*07 (29,75%), 06 (13%), 04 (12,5%), 12 (11,5%), 03 (10,75%), HLA-DRB1\*13 (15,25%), 07 (13,75%), 01 (13%), 11 (12,75%), 15 (12,75%), 04 (10,5%). С использованием программного обеспечения Arlequin v.3.1 было выявлено 239 возможных гаплотипов HLA-A-B-C-DRB1. Наиболее часто встречающимися оказались гаплотипы A\*01-B\*08-C\*07-DRB1\*03, A\*02-B\*13-C\*06-DRB1\*07, A\*03-B\*35-C\*04-DRB1\*01 с частотами встречаемости 4,5; 2,75 и 2,75% соответственно. Распределение аллелей и анализ гаплотипов позволили сравнить изученную популяцию с другими российскими популяциями.

Ключевые слова: человеческие лейкоцитарные антигены; аллели; гаплотипы; частота встречаемости; новые аллели.

Для цитирования: Логинова М.А., Парамонов И.В., Хальзов К.В., Моор Ю.В. Генетические особенности доноров гемопоэтических стволовых клеток, проживающих в Новосибирске. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(7):422-428

Для корреспонденции: Логинова Мария Александровна, канд. биол. наук, нач. отд. донорства гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ РМНПЦ «Росплазма» ФМБА России, 610002, Киров, e-mail: loginova-ma@rosplasma.ru

DOI 10.18821/0869-2084-2016-61-7-422-428

Loginova M.A.<sup>1,2</sup>, Paramonov I.V.<sup>2</sup>, Khalzov K.V.<sup>3</sup>, Moor Yu.V.<sup>3</sup>

THE GENETIC CHARACTERISTICS OF NOVOSIBIRSK DONORS OF HEMATOPOIETIC STEM CELLS

<sup>1</sup>The Russian medical R&D production center "Rosplasma" of the Federal medical biological agency of Russia, 610027 Kirov, Russia; <sup>2</sup>The Kirovskii research institute of hematology and blood transfusion of the Federal medical biological agency of Russia, 610027 Kirov, Russia; <sup>3</sup>The Novosibirskii center of blood, 630054 Novosibirsk, Russia

The HLA-typing was carried out concerning of 200 residents of Novosibirsk, potential donors of hematopoietic stem cells on loci (HLA)-A, -B, -C, -BKIII. The study detected in mentioned population two new alleles non-registered previously by the WHO International Committee on nomenclature of factors of HLA-system. The analysis of distribution rates of HLA-alleles and haplotype revealed 16 alleles alternatives of locus HLA-A, 24-HLA-B, 13-HLA-C, 13-HLA-DRB1. The rate of frequency more than 10% is intrinsic to following allele alternatives: HLA-A\*02 (29.25%), 01 (14%), 03 (13.5%), 24 (10.75%), HLA-B\*35 (12.25%), 07 (12%), HLA-C\*07 (29.75%), 06 (13%), 04 (12.5%), 12 (11.5%), 03 (10.75%), HLA-DRB1\*13 (15.25%), 07 (13.75%), 01 (13%), 11 (12.75%), 15 (12.75%), 04 (10.5%). The application of software Arlequin v. 3.1 established 239 possible gaplotypes HLA-A-B-C-DRB1. The gaplotypes A\*01-B\*08-C\*07-DRB1\*03, A\*02-B\*13-C\*06-DRB1\*07, A\*03-B\*35-C\*04-DRB1\*01 with rate of frequency 4.5; 2.75 and 2.75% correspondingly. The distribution of alleles and analysis of gaplotypes permitted to compare analyzed population with other Russian populations.

**Key words:** human leukocyte antigen; allele; gaplotype; rate of frequency; new allele.

**For citation:** Loginova M.A., Paramonov I.V., Khalzov K.V., Moor Yu.V. The genetic characteristics of Novosibirsk donors of hematopoietic stem cells. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2016; 61 (7) : 422-428(in Russ.)*

DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-7-422-428

**For correspondence:** Loginova M.A., candidate of biological sciences, head of department of donorship of hematopoietic stem cells. e-mail: loginova-ma@rosplasma.ru

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interests.

**Financing.** The study had no sponsor support.

Received 31.03.2016  
Accepted 10.04.2016

**Введение.** Число потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), зарегистрированных в Международном регистре доноров костного мозга (BMDW), превышает 25 000 000 человек [1]. В Международный регистр включены данные 72 регистров из 52 стран мира [1]. Крупнейшими из них являются NMDP в США, DKMS в Германии, Фонд Энтони Нолана в Великобритании и др. Такое количество безвозмездных доноров позволяет трансплантационным центрам, в том числе российским, осуществлять эффективный поиск совместимых доноров гемопоэтических стволовых клеток для пациентов, нуждающихся в аллогенной трансплантации ГСК.

Вместе с тем зачастую для российского пациента не удается подобрать совместимого донора в международном регистре. С одной стороны, это обусловлено тем, что в этом регистре наиболее широко представлены доноры, относящиеся к европейским и североамериканским популяциям, для которых характерна относительно низкая частота встречаемости HLA-аллелей и гаплотипов, специфичных для населения Российской Федерации [2]. С другой стороны, многонациональное (более 180 народов) государство Российская Федерация с населением более чем 143 млн человек представлено в международной базе данных только тремя небольшими региональными регистрами потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток, не обеспечивающими репрезентативность HLA-гаплотипов, достаточную для эффективного подбора доноров [1].

Общее количество потенциальных доноров ГСК, привлеченных региональными российскими регистрами (Кировским, Санкт-Петербургским, Челябинским, Новосибирским, Екатеринбургским, Самарским и др.), составляет около 40 000. Данные об HLA-генотипах российских доноров экспонированы в специализированной компьютерной базе данных (BMDW), которая доступна трансплантационным центрам России и Казахстана для удаленного поиска совместимого донора через сеть Интернет [3].

С 2013 г. российские доноры предоставили свои ГСК

более чем для 70 неродственных трансплантаций. Однако для части российских пациентов совместимый донор ГСК по-прежнему не может быть найден, что связано с особенностями распределения HLA-аллелей и гаплотипов у представителей различных российских популяций. Это обуславливает необходимость рекрутирования новых потенциальных доноров ГСК в различных регионах РФ с целью увеличения генетического разнообразия донорских ресурсов, доступных для поиска неродственных доноров.

Целью данного исследования является изучение генетических особенностей потенциальных доноров ГСК, проживающих в Новосибирске.

**Материал и методы.** В исследование были включены 200 образцов цельной крови, полученных от потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток, проживающих в Новосибирске. Все доноры были привлечены из числа кадровых доноров крови и ее компонентов ГБУЗ НСО «Новосибирский центр крови» в марте-апреле 2015 г.

Препараты ДНК для проведения HLA-типирования были получены из замороженных образцов цельной крови (антикоагулянт — ЭДТА) методом колоночной фильтрации с помощью станции QIAcube с использованием наборов реагентов QIAampDNABloodMiniKit (QIAGEN). Концентрация препаратов ДНК, определенная на спектрофотометре UV-1800 (Shimadzu, Япония), составляла в среднем 25—40 нг/мкл при соотношении  $A_{260}/A_{280} = 1,75 \pm 1,95$ .

HLA-типирование по локусам HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 проводили по технологии SBT (Sequencing Based Typing) с использованием базовых наборов реагентов AlleleSEQR HLA Sequencing (Abbott, США). Для разрешения неоднозначностей типирования на уровне 2-го знака использовали реагенты для уточнения гетерозиготных неоднозначностей с использованием амплификатов, полученных на стадии амплификации при постановке HLA-типирования с базовыми наборами реагентов.

Капиллярный электрофорез осуществляли с использованием двадцати четырех капиллярного генетического ана-



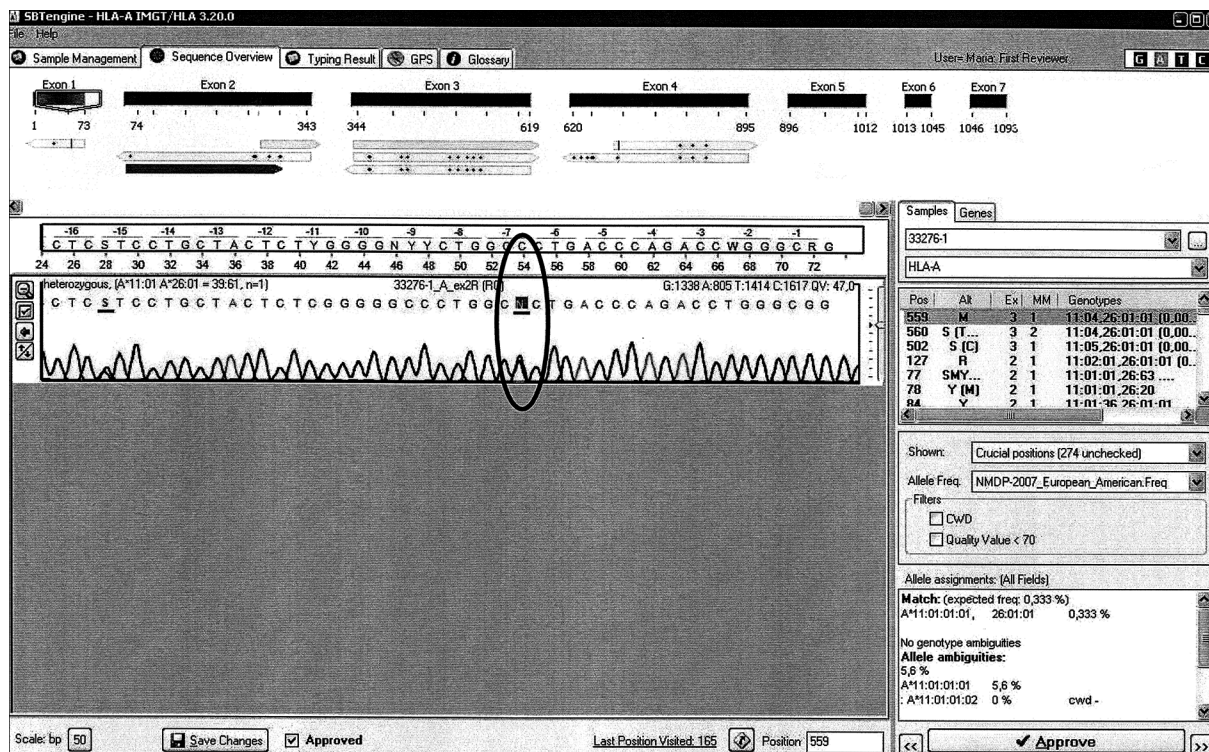


Рис. 1. Результат анализа образца № 33276 по локусу А в программном обеспечении SBTengine v.3.6.1.

лизатора 3500xl (AppliedBiosystems, США), полученные сиквенсы просматривали в программном обеспечении SequencingAnalysis v.5.2, анализировали в программном обе-

спечении SBTengine v.3.6.1 с использованием библиотеки HLA-аллелей — IMGT/HLA 3.20.0.

Реагенты для уточнения гетерозиготных неоднозначно-

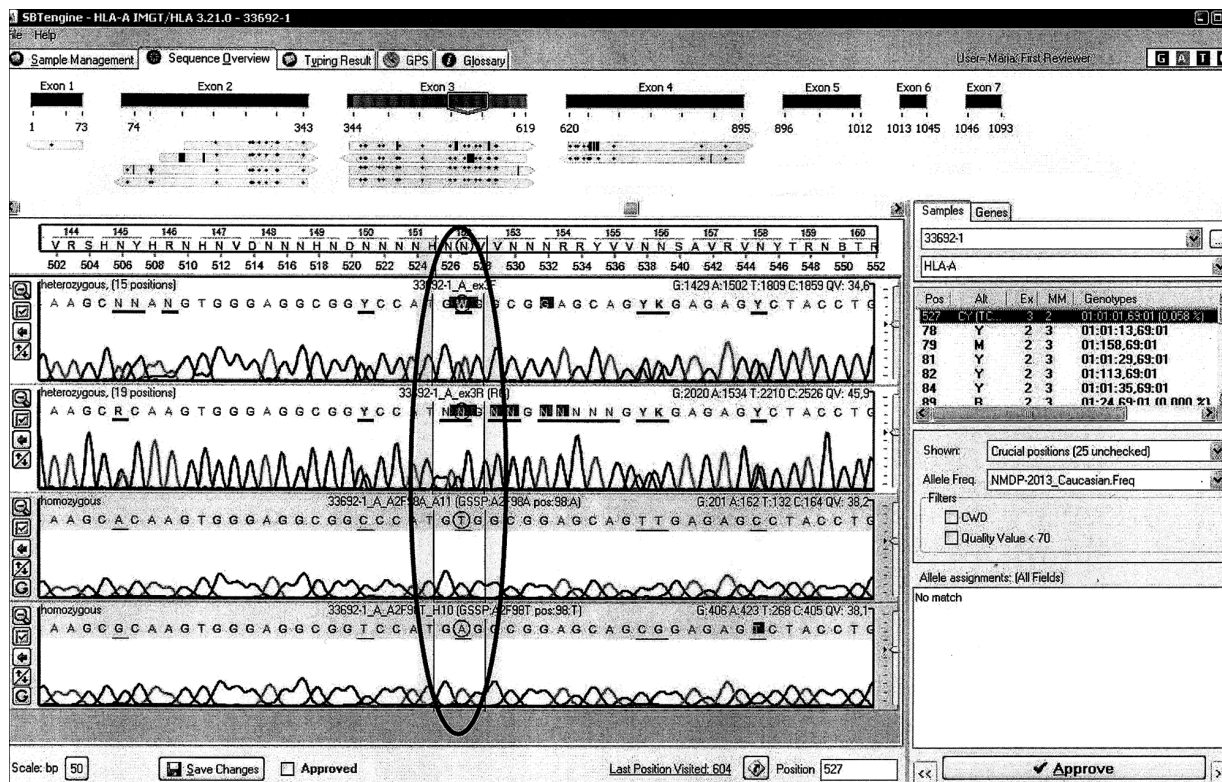


Рис. 2. Результат анализа образца № 33692 по локусу А в программном обеспечении SBTengine v.3.6.1.



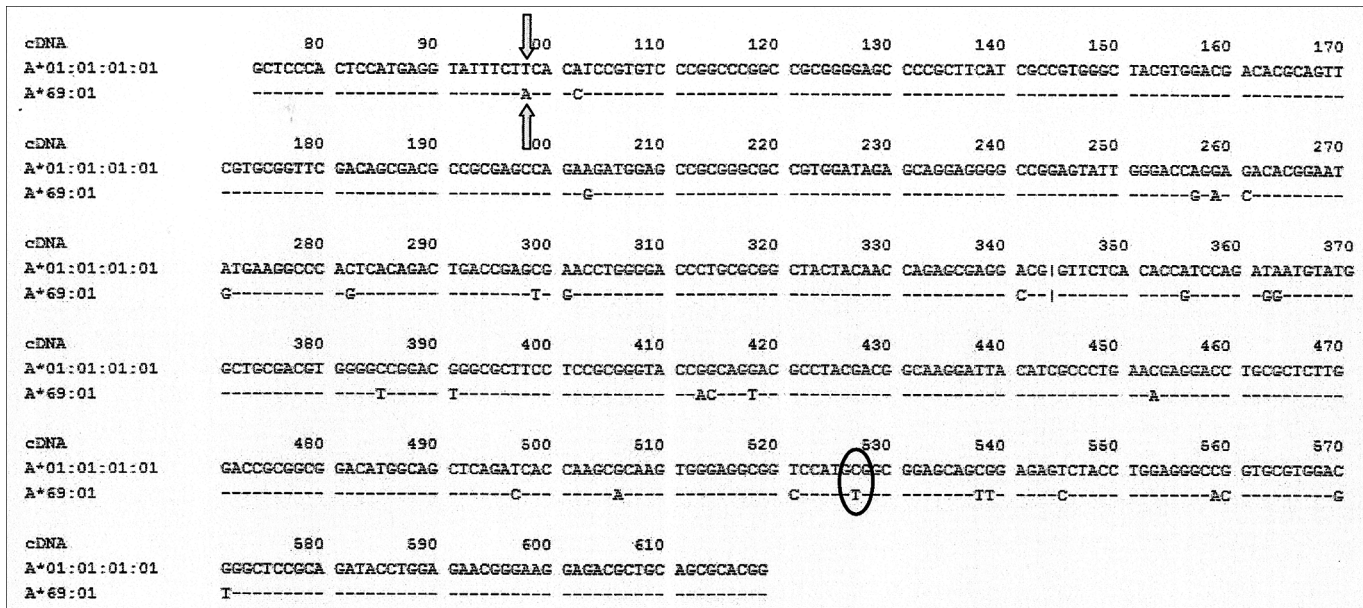


Рис. 3. Сравнение последовательностей аллелей A\*01:01:01:01 и A\*69:01 (в нуклеотидах).

стей выбирали с использованием программного обеспечения HARP's Finder, доступного в режиме онлайн в глобальной сети Интернет [4].

Для подтверждения и описания новых аллелей использовали набор реагентов PROTRANS HLA-A S4 (Protrans, Германия), основанный на технологии моноаллельного секвенирования. Анализ полученных сиквенсов проводили с использованием программного обеспечения Seq Pilot.

Частоты HLA-аллелей и их гаплотипов были определены методом максимального правдоподобия с помощью алгоритма максимизации ожидания для данных с неизвестной гаметической фазой [5, 6], реализованным в программном обеспечении Arlequin v.3.1. Стандартные отклонения рассчитывали при начальном значении итераций, равном 100. В случае определения одного аллеля индивидуум считали гомозиготным по данному аллелю.

**Результаты.** В ходе проведения исследования для двух образцов — № 33276 и № 33692 — не было найдено полного соответствия с библиотекой HLA аллелей IMGT/HLA 3.20.0 по локусу HLA-A.

В результате HLA-типирования образца № 33276 был определен следующий генотип: B\*39:BMFM, 51:01, C\*04:CXBM, 12:AFCTD, DRB1\*04:HTWY, 13:ADPGE, A\*11, 26 с одним несоответствием базе данных HLA-аллелей. В позиции 54 первого экзона локуса HLA-A вместо C был обнаружен Y. Как видно на рис. 1, четкий двойной пик был выявлен в прямом и обратном направлении.

Для выяснения того, какой из пары аллелей является уже известным, а какой — новым, использовали набор реагентов PROTRANS HLA-A S4, реализующий технологию моноаллельного секвенирования. Полученные данные подтвердили, что образец № 33276 имел по локусу A генотип A\*11:01, 26: новый. При этом у нового аллеля в позиции 54-го первого экзона вместо C стоит T. Это приводит к замене 7-го кодона аллеля A\*26: новый с GCC на GTC и соответствует замене аминокислоты, кодируемой данным коконом, с аланина на валин.

Последовательности нуклеотидов, полученные с использованием технологии моноаллельного секвенирования, позволили подать заявку о регистрации этого аллеля в между-

народной номенклатуре (номер последовательности в базе данных EMBL — LN878290). 30.09.2015 г. указанному аллелю был присвоен номер A\*26:117 и выдано свидетельство о регистрации нового аллеля.

Для образца № 33692 выявлен следующий генотип: B\*52:XX, 58:AJ, C\*03:02,12:02, DRB1\*11:CTPB, 15:02, A\*01, 69, с одним несоответствием базе данных HLA-аллелей в позиции 527 третьего экзона, где вместо Y стоит W, что представлено на рис. 2.

Для выяснения того, какой из пары аллелей является уже известным, а какой — новым, было проведено сравнение последовательностей с помощью инструмента Sequence Alignment, доступного в режиме онлайн в глобальной сети Интернет [7]. Результаты сравнения последовательностей представлены на рис. 3.

Из данных, представленных на рис. 3, следует, что использование постановки двух дополнительных сиквенсовых реакций с применением реагентов для уточнения гетерозиготных неоднозначностей — A2F98A и A2F98T — позволит определить, какой из аллельных вариантов является новым. Результаты постановки сиквенсовых реакций с указанными реагентами для уточнения гетерозиготных неоднозначностей представлены на рис. 3. Анализ данных, представленных на рис. 2, показывает, что реагент для уточнения гетерозиготных неоднозначностей A2F98A, отжигающийся только на последовательность аллеля A\*69:01, дает в позиции 527 третьего экзона T, в то время как A2F98T, отжигающийся только на последовательность аллеля A\*01:01:01:01, в указанной позиции дает A. На основании этого был сделан вывод о том, что образец № 33692 имеет по локусу A генотип A\*69:01, 01:новый. Указанная замена в позиции 527 третьего экзона в аллеле A\*01:01:01:01, так же как и в первом случае, приводит к замене аминокислоты. Кодон 152 изменяется с аланина (GCG) на глутаминовую кислоту (GAG).

Для подтверждения нового аллеля и его описания для дальнейшей регистрации в базе данных HLA-аллелей так же, как и в первом случае, использовали технологию моноаллельного секвенирования. Данные, полученные с помощью набора реагентов PROTRANS HLA-A S4, подтвердили наличие нового аллеля и позволили подать заявку на регистрацию

**Аллельные варианты HLA-локусов I класса и частоты их встречаемости**

A HLA			HLA-B			HLA-C		
Аллельный вариант	Частота встречаемости	Стандартное отклонение	Аллельный вариант	Частота встречаемости	Стандартное отклонение	Аллельный вариант	Частота встречаемости	Стандартное отклонение
01	0,140000	0,018110	07	0,120000	0,016945	01	0,032500	0,009280
02	0,292500	0,021035	08	0,082500	0,013934	02	0,050000	0,010502
03	0,135000	0,016868	13	0,072500	0,012926	03	0,107500	0,015455
11	0,057500	0,010955	14	0,027500	0,008964	04	0,125000	0,015257
23	0,027500	0,008872	25	0,047500	0,011010	05	0,030000	0,008680
24	0,107500	0,018025	18	0,077500	0,013329	06	0,130000	0,017163
25	0,047500	0,010760	27	0,040000	0,009710	07	0,297500	0,023265
26	0,037500	0,008283	35	0,122500	0,014724	08	0,035000	0,008582
29	0,015000	0,006494	37	0,002500	0,002390	12	0,115000	0,015301
30	0,025000	0,007504	38	0,032500	0,008781	14	0,005000	0,003789
31	0,027500	0,008145	39	0,027500	0,008313	15	0,027500	0,007397
32	0,025000	0,008063	40	0,057500	0,011247	16	0,012500	0,006296
33	0,017500	0,006754	41	0,030000	0,007547	17	0,032500	0,010468
66	0,012500	0,005859	44	0,075000	0,013286			
68	0,030000	0,009267	48	0,005000	0,003423			
69	0,002500	0,002633	49	0,012500	0,005528			
			50	0,010000	0,005510			
			61	0,062500	0,011668			
			52	0,022500	0,007477			
			54	0,002500	0,002928			
			55	0,005000	0,003258			
			56	0,015000	0,005939			
			57	0,042500	0,010289			
			58	0,007500	0,004059			

данного аллеля (номер последовательности в базе данных EMBL — LN878289). 30.09.2015 г. указанному аллелю был присвоен номер А\*01:196 и выдано свидетельство о регистрации нового аллеля.

Аллельные варианты HLA-локусов I класса, частоты их встречаемости с соответствующими стандартными отклонениями представлены в табл. 1. Были выявлены 16 аллельных вариантов по локусу HLA-A, 24 — по локусу HLA-B, 13 — по локусу HLA-C.

По данным, представленным в табл. 1, видно, что наибольшей частотой встречаемости обладает аллельный вариант HLA-A\*02 — 29,25%, далее следуют аллельные варианты HLA-A\*01, HLA-A\*03 и HLA-A\*24 с частотами встречаемости 14; 13,5 и 10,75% соответственно. Наименьшей частотой встречаемости обладает аллельный вариант HLA-A\*69, выявленный в одном случае.

Среди аллельных вариантов локуса HLA-B 6 наиболее часто встречаются HLA-B\*35, HLA-B\*07, HLA-B\*08, HLA-B\*18, HLA-B\*44 и HLA-B\*13. В сумме эти аллели составили 55% от общего числа выявленных аллельных вариантов локуса HLA-B.

Среди аллельных вариантов локуса HLA-C наибольшей частотой встречаемости обладает аллельный вариант HLA-C\*07 (29,75%), далее в порядке убывания частоты встречаемости следуют HLA-C\*06 (13%), HLA-C\*04 (12,5%), HLA-C\*12 (11,5%) и HLA-C\*03 (10,75%).

Аллельные варианты локуса HLA-DRB1 с частотами встречаемости и соответствующими стандартными отклонениями представлены в табл. 2. По данным, представленным в табл. 2, видно, что в изучаемой популяции выявлено 13 аллельных вариантов локуса HLA-DRB1, наибольшей частотой встречаемости из которых обладает аллельный вариант HLA-DRB1\*13 (15,25%), далее следуют аллельные варианты HLA-DRB1\*07, HLA-DRB1\*01, HLA-DRB1\*11 и HLA-DRB1\*15, обладающие примерно одинаковой частотой встречаемости — 13,75; 13, 12,75 и 12,75% соответственно.

Гаплотипы HLA-A-B-C-DRB1 были рассчитаны по EM-алгоритму с помощью программного обеспечения Arlequin. В табл. 3 представлены гаплотипы, частота встречаемости которых — более 1%.

Наибольшей частотой встречаемости обладает гаплотип А\*01-B\*08-C\*07-DRB1\*03, далее следуют А\*02-B\*13-C\*06-DRB1\*07, А\*03-B\*35-C\*04-DRB1\*01, А\*01-B\*57-C\*06-DRB1\*07, А\*25-B\*18-C\*12-DRB1\*15, А\*02-B\*18-C\*07-DRB1\*11, А\*02-B\*07-C\*07-DRB1\*15, А\*02-B\*15-C\*03-DRB1\*13, А\*02-B\*27-C\*02-DRB1\*16, А\*24-B\*13-C\*06-DRB1\*07, А\*30-B\*13-C\*06-DRB1\*07, А\*02-B\*41-C\*17-DRB1\*13.

*Обсуждение.* В настоящее время имеется мало данных о распространенности HLA-A, -B, -C, -DRB1-аллелей и HLA-гаплотипов в различных российских популяциях [8—14]. Большинство исследований по распространенности аллелей

Таблица 2

**Аллельные варианты локуса HLA-DRB1 и частоты их встречаемости**

Аллельный вариант	Частота встречаемости	Стандартное отклонение
01	0,130000	0,018953
03	0,075000	0,012937
04	0,105000	0,012809
07	0,137500	0,017875
08	0,040000	0,010909
09	0,012500	0,005446
10	0,005000	0,003415
11	0,127500	0,016878
12	0,022500	0,005122
13	0,152599	0,017686
14	0,022500	0,006887
15	0,127500	0,014669
16	0,042500	0,0009483

I класса в российских популяциях были проведены серологическим методом [10], а имеющиеся данные молекулярно-биологических исследований содержат информацию преимущественно о частотах встречаемости аллелей локусов II класса [8, 9, 14]. Это не позволяет оценить, насколько существенно доноры, относящиеся к той или иной российской популяции, должны быть представлены в российском регистре потенциальных доноров ГСК для обеспечения его генетической репрезентативности и обеспечения высокой вероятности успешного подбора неродственного донора для российских пациентов.

Данное исследование позволило получить сведения о частотах встречаемости HLA-аллелей и гаплотипов в популяции г. Новосибирска. В указанной популяции было выявлено 16 HLA-A, 24 HLA-B, 13 HLA-C и 13 HLA-DRB1 аллельных групп.

Таблица 3

**HLA-A-B-C-DRB1-гаплотипы в порядке уменьшения частоты встречаемости**

Аллельный вариант	Частота встречаемости	Стандартное отклонение
A*01-B*08-C*07-DRB1*03	0,044987	0,009841
A*02-B*13-C*06-DRB1*07	0,027500	0,009416
A*03-B*35-C*04-DRB1*01	0,027487	0,009698
A*01-B*57-C*06-DRB1*07	0,020000	0,006801
A*25-B*18-C*12-DRB1*15	0,020000	0,008186
A*02-B*18-C*07-DRB1*11	0,017500	0,007366
A*02-B*07-C*07-DRB1*15	0,014268	0,007894
A*02-B*15-C*03-DRB1*13	0,012500	0,006434
A*02-B*27-C*02-DRB1*16	0,012500	0,005957
A*24-B*13-C*06-DRB1*07	0,012500	0,006048
A*30-B*13-C*06-DRB1*07	0,012500	0,006700
A*02-B*41-C*17-DRB1*13	0,011250	0,005903

Примечание. В общей сложности было определено 239 гаплотипов из 1831 потенциально возможного.

Наиболее часто встречающимися аллельными вариантами локуса HLA-A являются HLA-A\*02, -A\*01, -A\*03, -A\*24, -A\*11, с максимальной частотой встречаемости у HLA-A\*02 (29,25%), так же как и во всех российских популяциях [10—12]. Вторым и третьим по распространенности аллельными вариантами являются HLA-A\*01 и HLA-A\*03; подобный профиль был выявлен в популяциях Северо-Запада, Самарской и Кировской областей, с тем отличием, что аллельный вариант HLA-A\*03 находится на втором месте по частоте встречаемости, а HLA-A\*01 — на третьем [11—13]. Также необходимо отметить, что аллельный вариант HLA-A\*34, выявленный в популяции Кировской области [11], не был найден в исследуемой популяции, что может быть связано с ее небольшим объемом.

Наиболее распространенными аллельными вариантами локуса HLA-B в популяции Новосибирска в порядке уменьшения частоты встречаемости являются HLA-B\*35, B\*07, B\*08. При этом среди 24 аллельных вариантов локуса HLA-B не обнаружено аллельного варианта, явно преобладающего по частоте встречаемости, как в случае с HLA-A\*02 для локуса HLA-A. Также необходимо отметить, что именно по данному локусу выявлены наибольшие различия в профиле распределения аллельных вариантов по частоте встречаемости с популяциями Северо-Запада, Кировской области (где профиль распределения — HLA-B\*07, B\*35, B\*44) [11, 13] и Самарской области (где профиль распределения - HLA-B\*35, B\*07, B\*44) [12].

Аллельный профиль наиболее часто встречающихся аллельных вариантов по локусу HLA-C следующий: HLA-C\*07, -C\*06, -C\*04, -C\*12, -C\*03. В настоящее время имеется мало данных о частотах встречаемости локуса HLA-C в российских популяциях, что, вероятно, связано с тем, что большинство исследований в российских популяциях так или иначе связаны с базами данных потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток, в которых минимальными требованиями, предъявляемыми к таким донорам, является обязательное типирование только по локусам HLA-A, -B, -DRB1 [15].

Среди аллельных вариантов локуса HLA-DRB1 наиболее часто встречающимися являются HLA-DRB1\*13 (15,25%), -DRB1\*07 (13,75%) и -DRB1\*01 (13%), аналогичный профиль был выявлен в популяции Самарской области [12]. Различия в профиле наблюдаются с популяцией Кировской области, где на 1-м месте расположен аллельный вариант HLA-DRB1\*15 [11], с популяцией Северо-Запада, где на 1-м месте расположен аллельный вариант DRB1\*15, на втором — DRB1\*07, а на третьем — DRB1\*13 [13], с популяцией Костромы, где HLA-DRB1-профиль следующий: HLA-DRB1\*01 (17,5%), HLA-DRB1\*07 (14,3%), HLA-DRB1\*15 (13,5%) [14], с популяцией Смоленска, где HLA-DRB1-профиль следующий: HLA-DRB1\*07 (17,3%), HLA-DRB1\*11 (17,3%), HLA-DRB1\*15 (15,4%) [14], с популяцией Вологды, где HLA-DRB1-профиль следующий: HLA-DRB1\*07 (14,9%), HLA-DRB1\*13 (14,9%), HLA-DRB1\*15 (14,4%) [14].

Анализ гаплотипов является также информативным при популяционных исследованиях. В общей сложности было выявлено 239 гаплотипов HLA-A-B-C-DRB1 из 1831 возможного. Наибольшей частотой встречаемости обладает гаплотип HLA-A\*01-B\*08-C\*07-DRB1\*03 (4,5%), несмотря на то, что аллельные варианты HLA-A\*01, HLA-B\*08, HLA-C\*07, HLA-DRB1\*03 по частоте встречаемости занимают второе, третье, первое и седьмое место в соответствующем локусе (вероятнее всего, это связано с неравновесием по сцеплению). Провести сравнение гаплотипов HLA-A-B-C-DRB1 популяции г. Новосибирска с другими популяциями не представляется возможным в связи с отсутствием частот встречаемости гаплотипов HLA-A-B-C-DRB1 в российских популяциях.



С одной стороны, проведенные исследования выявили некоторые сходства в распределении HLA-аллелей в популяции г. Новосибирска и популяциях Северо-Запада, Кировской и Самарской областей, а с другой стороны — выявленные новые аллели (2 на 200 потенциальных доноров ГСК) свидетельствуют об уникальности исследованной популяции. В связи с этим дальнейшие исследования целесообразно направить на расширение пула потенциальных доноров ГСК, привлеченных в указанном регионе. Это позволит увеличить генетическое разнообразие российских донорских ресурсов, доступных для поиска неродственного донора ГСК. С другой стороны, это поможет выяснить, являются ли вновь выявленные аллели редко встречающимися или же они циркулируют в исследованной популяции с существенной частотой и будут влиять на вероятность подбора совместимого неродственного донора ГСК.

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

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

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1—2, 4—7, 10, 12—15 см. REFERENCES)

3. Регистр против рака. Национальный регистр доноров костного мозга. Счетчик регистра. 2015. Available at: <http://www.rusfond.ru/registr/009#counter> (обновление 28.10.2015).
8. Болдырева М.Н., Гуськова И.А., Богатова О.В., Янкевич Т.Э., Хромова Н.А., Тегакто О.В. и др. HLA-генетическое разнообразие населения России и СНГ. II. Народы европейской части. *Иммунология*. 2006; 27(4): 198—202.
9. Болдырева М.Н., Гуськова И.А., Богатова О.В., Янкевич Т.Э., Хромова Н.А., Кабдулова Д.Д. и др. HLA-генетическое разнообразие населения России и СНГ. III. Народы Евразии. *Иммунология*. 2006; 27(6): 324—9.
11. Логинова М.А., Трофимова Н.П., Парамонов И.В. Генетические особенности популяции, проживающей на территории Кировской области. *Вестник службы крови России*. 2012; (1): 24—8.

Поступила 31.03.16

## REFERENCES

1. Bone Marrow Donor Worldwide. 2015. Available at: <http://www.bmdw.org/index.php?id = home>.

2. Allele frequency in World population. 2015. Available at: <http://www.allelefreqencies.net>.
3. Register of cancer. National Register of bone marrow donors. Register counter. 2015. Available at: <http://www.rusfond.ru/registr/009#counter>. (update 28 October 2015). (in Russian)
4. HARPs Finder. 2015. Available at: <http://www.harpsfinder.conexio-genomics.com/index.html>.
5. Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform. Online*. 2005; 1: 47—50.
6. Excoffier L., Slatkin M. Maximum-likelihood estimation of molecular haplotype frequencies in a diploid population. *Mol. Biol. Evol.* 1995; 12(5): 921—7.
7. Sequence Alignment Tool. Available at: <http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/align.html>.
8. Boldyreva M.N., Gus'kova I.A., Bogatova O.V., Yankevich T.E., Khromova N.A., Tegako O.V. et al. HLA-genetic diversity of the population of Russia and the CIS. II. The peoples of the European part. *Immunologiya*. 2006; 27(4): 198—202. (in Russian)
9. Boldyreva M.N., Gus'kova I.A., Bogatova O.V., Yankevich T.E., Khromova N.A., Kabdulova D.D. et al. HLA-genetic diversity of the population of Russia and the CIS. III. The peoples of Eurasia. *Immunologiya*. 2006; 27(6): 324—9. (in Russian)
10. Bubnova L.N., Zaitseva G.A., Erokhina L.V., et al. A comparative study of HLA-A and HLA-B antigens and haplotype distribution among donors of hematopoietic stem cells from Russia and German regions. *Cell. Ther. Transplantat.* 2008; 1: 28—34.
11. Loginova M.A., Trofimova N.P., Paramonov I.V. The genetic characteristics of the population living on the territory of the Kirov region. *Vestnik sluzhby krovi Rossii*. 2012; (1): 24—8. (in Russian)
12. Gragert L., Toropovskiy A., Volchkov S.E., Trusova L.M., Tyumina O.V. Estimation of HLA alleles and haplotypes frequencies distribution in population of the Samara Region. In: *36<sup>th</sup> Annual Meeting Abstracts «Human Immunology»*. 2010; 71(Suppl. 1): S84.
13. Russian Ministry of Health. HLA in Russian Northwest. In: *The Allele Frequency Database Net*. 2002. Available at: <http://www.allelefreqencies.net>.
14. Boldyreva M, Alexeev P, Khaitov R., Gouskova I, Bogatova O., Yankevich T. et al. HLA-genetic diversity among populations of Russia and FSU.I. Russians. In: *The Allele Frequency Database Net*. 2005. Available at: <http://www.allelefreqencies.net>.
15. EFI standards version 6.2. Available at: <http://www.efiweb.eu/efi-committees/standards-committee.html>.

Received 31.03.16