

## РЕГУЛИРОВАНИЕ HLA ТИПИРОВАНИЯ ДОНОРОВ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В СТРАНАХ G7, РОССИИ И КАЗАХСТАНА

Ж.К. Буркитбаев<sup>1</sup>, С.А. Абдрахманова<sup>1</sup>, С.Д. Раисов<sup>1</sup>, А.А. Турганбекова<sup>1</sup>,  
И.Р. Рамильева<sup>1</sup>, Е.Б. Жибурт<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения «Научно-производственный центр трансфузиологии» Минздравсоцразвития Республики Казахстан, 010000, Астана, Республика Казахстан;

<sup>2</sup>Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 105203, Москва, Россия

**Ключевые слова:** Гемопоэтические стволовые клетки, донорство, HLA типирование.  
**Keywords:** Hematopoietic stem cells, donorship, HLA typing.

Развитие трансплантологии в Республике Казахстан обозначено как одно из приоритетных направлений в области здравоохранения [1]. В России одной из основных трудностей, приведших к отставанию в области трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), являются проблемы административно-правового и организационного характера, без решения которых развитие ТГСК в России невозможно [2]. С подобной проблемой сталкиваются многие страны постсоветского пространства.

Одним из первых шагов для развития ТГСК в Казахстане было указание в Программе развития здравоохранения «Саламатты Казахстан» на необходимость внедрения ТГСК и молекулярного метода типирования системы Human Leukocyte Antigens (HLA) [3]. Несколько крупномасштабных исследований показали, что полное совпадение между донором и реципиентом по антигенам системы HLA способствует:

- улучшению общей выживаемости трансплантата [4];
- уменьшению частоты и тяжести острой и хронической реакции трансплантат против хозяина [5];
- улучшению показателей приживления [5–7].

**Цель исследования** – изучение нормативных документов стран «Большой семерки», России и Казахстана по применению методик HLA-типирования неродственных доноров ГСК и выбор оптимального метода типирования.

Проведен контент-анализ нормативных актов (требования, руководства по эксплуатации, стандарты, результаты исследований, справочники, доклады) в области регулирования вопросов HLA-типирования неродственных доноров гемопоэтических стволовых клеток (см. таблицу).

В Великобритании согласно руководству пользователей, для лабораторий гистосовместимо-

сти английского Регистра доноров ГСК – Регистр Энтони Нолана (Anthony Nolan) [8] в главе «Методы типирования на основе ДНК» 5.1.3, указано: «Мы стремимся, чтобы все вновь набранные доноры были протипированы по локусам HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1 и HLA-DPB1 методом Sequence specific oligonucleotide probing (SSOP)».

Виды методик HLA-типирования доноров гемоВ немецких стандартах для неродственного донорства ГСК от 01.09.13, версия 9 в главе 3.2 «Уровень и метод тестирования донора» указано, что донорский центр должен иметь возможность типировать донора по локусам HLA класса I и II ДНК-тестированием на основе молекулярной биологии, от низкого до высокого уровня разрешения [9].

В Италии при занесении донора в национальную базу данных проводят типирование по локусам HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 молекулярным методом на высоком и среднем разрешении [10].

В Казахстане согласно приказу Министра здравоохранения для формирования Национального Регистра доноров ГСК проводят типирование лиц, изъявивших желание войти в Регистр, по локусам HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1. Типирование проводят молекулярно-генетическим методом на высоком уровне разрешения (SBT) [11].

В Канаде доноры должны быть протипированы по локусам HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 на высоком уровне разрешения методами на основе ДНК [12].

В России, в Республиканском центре иммунологического типирования тканей ФГБУ Росийский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России (РЦИТТ ФГБУ РосНИИГТ ФМБА) проводят типирование HLA классов I и II методом молекулярного типирования как на базовом, так и на и высокоразрешающем уровнях [13].

Виды методик HLA-типирования доноров гемопоэтических стволовых клеток в странах «Большой семерки», России и Казахстана

Страна	Метод HLA-типирования доноров ГСК	Локусы HLA	Разрешение	Источник
Великобритания	ПЦР-SSOP (Sequence Specific Oligonucleotide Probe) *	HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1, HLA-DPB1.	Высокое	Руководство пользователя [8]
Германия	Молекулярно-биологический метод на основе ДНК	HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1	От низкого к высокому	Стандарты [9]
Италия	Молекулярно-биологический метод на основе ДНК	A, – B, – C, – DRB1.	Высокое или среднее	Стандарты [10]
Казахстан	ПЦР-SBT (Sequencing-based typing) **	HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1	Высокое	Приказ Министерства здравоохранения Республики от 27 декабря 2011 года № 928 Казахстан [11]
Канада	Молекулярно-биологический метод на основе ДНК	HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1, HLA-DPB1.	Высокое	Журнал «Cancer Control» October 2011, Vol. 18, No. 4 [12]
Россия	Молекулярно-биологический метод на основе ДНК	HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1, HLA-DPB1.	Низкое или высокое	Сайт РЦИТТ ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России [13]
США	ПЦР-SBT (Sequencing-based typing) **	HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1	Высокое	Требования [14]
Франция	Минимум серологический метод	HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1	Минимум низкое	Специальный доклад [15]
Япония	Молекулярно-биологический метод на основе ДНК	HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1	Высокое	Справочник [16]

Примечание:

\* Sequence Specific Oligonucleotide Probe – типирование методом секвенирования специфичных олигонуклеотидных праймеров последовательности дезоксирибонуклеиновой кислоты.

\*\* Sequencing-based typing – типирование методом секвенирования нуклеиновых кислот, путем определения нуклеотидной последовательности дезоксирибонуклеиновой кислоты.

В США все доноры перед забором ГСК должны быть протипированы на высоком разрешении по локусам HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 [14].

Во Франции согласно требованиям World Marrow Donor Association (WMDA) для внесения данных в Регистр, как минимум должно быть проведено типирование по локусам HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 серологическим методом или на низком разрешении [15].

В Японии после августа 2009 г. все доноры, вступающие в Регистр, должны быть протипированы по локусам HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 методом основанным на ДНК (см. таблицу).

Типирование, основанное на анализе ДНК, имеет несколько преимуществ по сравнению с серологическими методами: высокая чувствительность и специфичность, небольшие объемы проб, отсутствие необходимости использовать живые клетки и наличия антигенов на поверхности клетки. ДНК-анализы дали возможность определить намного больше аллельных вариантов антигенов HLA-системы [17–25].

В последнее десятилетие широко применяют секвенирование ДНК, т.е. определение нуклеиновой последовательности определенного участка хромосомы. В нашем случае, для изучения антигенов системы HLA исследуют последовательность

нуклеотидов, расположенных на короткой плече 6-й хромосомы [18].

Широкое применение метода секвенирования ДНК дало возможность открыть новые варианты антигенов системы HLA. Благодаря данной методике ежегодно описывают новые последовательности ДНК, которые дают новые виды белковых структур, экспрессированных на клеточную мембрану [21–25].

Таким образом, на основе представленной картины по применению методов типирования неродственных доноров для Регистра доноров

ГСК можно сделать следующие выводы: в развитых странах мира для типирования неродственных доноров ГСК наиболее часто используют молекулярно-биологический метод на основе ДНК с разрешением высокого уровня, который не требует «углубленного» подтверждающего типирования, позволяет при запросе на поиск неродственного донора ГСК понять уровень совместимости HLA-фенотипа донора и реципиента на аллельном уровне, тем самым сузить круг поиска донора и минимизировать время поиска донора.

**Резюме:** Цель работы – изучить нормативные документы стран «Большой семерки», России и Казахстана о применении методик HLA-типирования в Регистрах неродственных доноров гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) и выбрать оптимальный метод типирования. Наиболее оптимальным методом типирования является молекулярно-биологический метод на основе ДНК. В развитых странах мира для типирования неродственных доноров ГСК наиболее часто используют молекулярно-биологический метод на основе ДНК с разрешением высокого уровня. Данный метод не требует «углубленного» подтверждающего типирования, позволяет при запросе на поиск неродственного донора ГСК понять уровень совместимости HLA-фенотипа донора и реципиента на аллельном уровне, тем самым сузить круг поиска донора и минимизировать время поиска донора.

**Abstract:** Purpose – to study the regulations of the «Big Seven», Russia and Kazakhstan on the use of HLA-typing techniques in the Register of unrelated donors of hematopoietic stem cells (HSCs) and choose the best method for typing. The optimal method of typing is a molecular biology technique based on DNA. In the developed world for typing unrelated donors HSCs most commonly used molecular biological techniques based on DNA with a high level of resolution. This method does not require a «depth» confirmatory typing makes when prompted to search for an unrelated donor HSCs understand the level of HLA-compatible donor and recipient phenotype on the allelic level, thereby narrow down the search for the donor and minimize the search time of the donor.

#### Список литературы

1. Послание Главы государства народу Казахстана от 29.01.10 «Новое десятилетие – новый экономический подъем – новые возможности Казахстана». (in Russian) <http://www.parlam.kz/ru/presidend-speech/24>.
2. Хаитов Р.М., Хаманева Н.Ю., Алексеев Л.П., Рагимов А.А., Уткин К.В., Болдырева М.Н., Алексеева П.Л. Трансплантация кроветворных стволовых клеток в России. Причины отставания, медико-биологические, административно-правовые и организационные аспекты // Вестник службы крови России. – 2012. – № 2. – С. 9–10.
3. Постановление Правительства Республики Казахстан от 29.01.11 №41 «Об утверждении Плана мероприятий по реализации Государственной программы развития здравоохранения Республики Казахстан «Саламатты Қазақстан» на 2011–2015 годы». [http://online.zakon.kz/Document/?doc\\_id=30931814#pos=26;–1](http://online.zakon.kz/Document/?doc_id=30931814#pos=26;–1)
4. Spellman S.R., Eapen M., Logan B.R., Mueller C., Rubinstein P., Setterholm M.I., Woolfrey A.E., Horowitz M.M., Confer D.L., Hurley C.K. A perspective on the selection of unrelated donors and cord blood units for transplantation // *Blood*. – 2012. – 120 (2). – P. 59–65.
5. Petersdorf E.W. Risk assessment in haematopoietic stem cell transplantation // *Histocompatibility // Best Pract. Res. Clin. Haematol.* – 2007. – 20 (2). – P. 155–70.
6. Petersdorf E.W., Hansen J.A., Martin P.J. Major-histocompatibility-complex class I alleles and antigens in hematopoietic-cell transplantation // *N. Engl. J. Med.* – 2001. – 345 (25). – P. 1794–800.
7. Crocchiolo R., Ciceri F., Fleischhauer K., Oneto R., Bruno B., Pollichieni S., Sacchi N., Sormani M.P., Fanin R., Bandini G., Bonifazi F., Bosi A., Rambaldi A., Alessandrino P.E., Falda M., Bacigalupo A. HLA matching affects clinical outcome of adult patients undergoing haematopoietic SCT from unrelated donors: A study from the Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo and Italian Bone Marrow Donor Registry // *Bone Marrow Transplant.* – 2009. – 44 (9). – P. 571–7.
8. Histocompatibility laboratories service provision user guide. Doc 455. Jan 2014. Vers. 003. <http://www.anthonynolan.org/sites/default/files/Histocompatibility%20Laboratories%20Service%20Provision%20User%20Guide.pdf>
9. German standards for unrelated blood stem cell donations. 2013-09-01. Vers. 9. [http://www.zkrd.de/en/\\_pdf/ZKRD-Standards-V8\\_english.pdf](http://www.zkrd.de/en/_pdf/ZKRD-Standards-V8_english.pdf)
10. Italian national standards for unrelated haematopoietic stem cell donations. 20.01.2014. Vers.

