DOI: 10.15825/1995-1191-2016-1-58-66

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИИ, ПРОЖИВАЮЩЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

М.А. Логинова[1, 2], *И.В. Парамонов*[2], *В.Н. Павлов*[3], *Г.Ш. Сафуанова*[3]

[1] Отдел донорства гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «Российский медицинский научно-производственный центр «Росплазма» ФМБА России, Киров, Российская Федерация
[2] ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» ФМБА России, Киров, Российская Федерация
[3] ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, Российская Федерация

Проведено HLA-типирование 1064 потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток, проживающих на территории Республики Башкортостан, по локусам (HLA)-A, -B, -C, -DRB1. В ходе проведенных исследований в изучаемой популяции выявлено два новых аллеля, один из которых зарегистрирован в Комитете по номенклатуре факторов HLA-системы ВОЗ, второй подан на регистрацию. При изучении частоты распределения HLA-аллелей и гаплотипов выявлено 17 аллельных вариантов локуса HLA-A, 29 – HLA-B, 13 – HLA-C, 13 – HLA-DRB1. Частотой встречаемости более 10% обладают следующие аллельные варианты: HLA-A*02 (29,37%), 24 (12,92%), 01 (11,84%), 03 (11,61%), HLA-B*35 (11,51%), 07 (10,76%), HLA-C*07 (22,56%), 06 (15,51%), 04 (13,06%), 03 (10,43%), 12 (10,24%), HLA-DRB1*07 (17,25%), 15 (12,73%), 13 (11,98%), 01 (11,84%), 04 (11,61%). С использованием программного обеспечения Arlequin v.3.1 был выявлен 771 HLA-A-B-C-DRB1 возможный гаплотип. Наиболее часто встречающимися оказались гаплотипы A*02-B*13-C*06-DRB1*07, A*03-B*35-C*07-DRB1*15, A*02-B*07-C*07-DRB1*15 с частотами встречаемости 2,89; 2,18 и 1,93% 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.

GENETIC CHARACTERISTICS OF THE POPULATION LIVING IN THE TERRITORY OF THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN

M.A. Loginova[1, 2], *I.V. Paramonov*[2], *V.N. Pavlov*[3], *G.Sh. Safuanova*[3]

[1] Department of donor of hematopoietic stem cells, Federal State Budgetary Institution «Russian medical scientific and production center «Rosplasma», Federal Medical-Biological Agency, Kirov, Russian Federation
[2] Federal State Budgetary Institution of Science «Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion», Federal Medical-Biological Agency, Kirov, Russian Federation
[3] State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «Bashkir State Medical University», Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ufa, Russian Federation

Sequence based typing was used to identify human leukocyte antigen (HLA)-A, -B, -C, -DRB1 alleles in 1,064 recruited volunteers in the Republic of Bashkortostan of the Russian Federation for unrelated hematopoietic stem cell registry. During the carried out research two new alleles were identified in the studied population; one was registered in the WHO Nomenclature Committee for Factors of the HLA System, the other one was submitted for registration. In this population 17 HLA-A, 29 – HLA-B, 13 – HLA-C, 13 – HLA-DRB1 groups

Для корреспонденции: Логинова Мария Александровна. Адрес: 610002, г. Киров, ул. Ленина, д. 104. Тел. +7 (912) 734-09-15. E-mail: loginova-ma@rosplasma.ru.

For correspondence: Loginova Maria Alexandrovna. Address: 104, Lenin st., Kirov, 610002, Russian Federation. Tel. + 7 (912) 734-09-15. E-mail: loginova-ma@rosplasma.ru.

of alleles were selected. Allele frequencies of more than 10% included HLA-A*02 (29.37%), 24 (12.92%), 01 (11.84%), 03 (11.61%), HLA-B*35 (11.51%), 07 (10.76%), HLA-C*07 (22.56%), 06 (15.51%), 04 (13.06%), 03 (10.43%), 12 (10.24%), HLA-DRB1*07 (17.25%), 15 (12.73%), 13 (11.98%), 01 (11.84%), 04 (11.61%). 711 HLA-A-B-C-DRB1 four-locus haplotypes were determined using the software Arlequin v.3.1. The most frequently observed four-locus haplotypes were A*02-B*13-C*06-DRB1*07, A*03-B*35-C*07-DRB1*15, A*02-B*07-C*07-DRB1*15 with frequencies of 2.89%, 2.18% and 1.93%, respectively. The distribution of alleles and haplotype analysis allowed comparing the populations of the Republic of Bashkortostan with the other Russian populations.

Key words: human leukocyte antigen, alleles, haplotypes, frequency, new alleles.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) – метод клеточной терапии, применяющийся для лечения гематологических, онкологических, генетических и ряда других заболеваний. Существуют два основных типа трансплантации гемопоэтических стволовых клеток – аутологичная, когда пациенту вводят собственные гемопоэтические стволовые клетки, взятые заранее и хранящиеся при определенных условиях, и аллогенная, когда используются донорские гемопоэтические стволовые клетки. В качестве донора может выступать близкий родственник, чаще всего брат или сестра, однако вероятность совпадения сибсов по HLA-генотипу составляет не более 25%, для остальных пациентов требуется поиск неродственного донора [1].

В настоящее время число потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток, зарегистрированных в международном регистре доноров костного мозга (BMDW), уже превысило 25 000 000 человек [2]. В международный регистр включены данные 72 регистров из 52 стран мира [2]. Крупнейшими из них являются NMDP в США, DKMS в Германии, Фонд Энтони Нолана в Великобритании и другие. Такое количество безвозмездных доноров позволяет трансплантационным центрам, в том числе российским, осуществлять эффективный поиск совместимых доноров ГСК для пациентов, нуждающихся в трансплантации.

Вместе с этим 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 северо-американским популяциям, для которых характерна относительно низкая частота встречаемости HLA-аллелей и гаплотипов, специфичных для населения Российской Федерации. С другой стороны, многонациональное (более 180 народов) государство Российская Федерация с населением более чем 143 миллиона 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 [2].

С августа 2013 года на территории Российской Федерации функционирует Национальный регистр доноров костного мозга имени Васи Перевощикова с числом потенциальных доноров ГСК по состоянию на 17.08.2015 – 36 161 [3], привлеченных Санкт-Петербургским, Кировским, Челябинским, Новосибирским, Екатеринбургским, Самарским, Карельским регистрами, а также регистром Казахстана. За два года существования указанного регистра состоялось 65 донаций ГСК, что соответствует одной донации на 600 типированных доноров [3].

Это свидетельствует о достаточно высокой вероятности подбора совместимого донора даже в небольшом, но репрезентативном регистре, учитывающем популяционные особенности HLA-аллелей и гаплотипов представителей российских популяций. Исходя из этого должно осуществляться дальнейшее развитие региональных регистров потенциальных доноров ГСК.

Целью данного исследования является изучение генетических особенностей популяции, проживающей на территории Республики Башкортостан.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование включает в себя анализ 1064 образцов цельной крови, полученных от потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток, проживающих на территории Республики Башкортостан. Все доноры были рекрутированы в мае 2014 года из числа студентов Башкирского государственного медицинского университета, Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы, Башкирского государственного аграрного университета, Башкирского государственного университета.

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 QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN). Концентрация препаратов ДНК, определенная на спектрофотометре UV-

1800 (Shimadzu, Япония), составляла 25–40 нг/мкл при соотношении A_{260}/A_{280} = 1,75–1,95.

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.

Капиллярный электрофорез осуществляли с использованием генетического анализатора 3500xl (Applied Biosystems, США). Полученные сиквенсы просматривали в программном обеспечении Sequencing Analysis v.5.2, анализировали в программном обеспечении SBTEngine v.3.6.1 с использованием библиотек HLA-аллелей – IMGT/HLA 3.17.1.0, 3.18.0.

Реагенты для уточнения гетерозиготных неоднозначностей выбирали с использованием программного обеспечения HARPs Finder, доступного в режиме он-лайн в глобальной сети Интернет [4].

Для подтверждения и описания новых аллелей использовали наборы реагентов PROTRANS HLA-A, -B S4 (Protrans, Германия), основанные на технологии моноаллельного секвенирования. Анализ полученных сиквенсов проводили с использованием программного обеспечения SeqPilot.

Частоты HLA-аллелей и частоты 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 не было найдено полного соответствия с библиотекой HLA-аллелей IMGT/HLA 3.17.1.0/3.18.0 по одному из типируемых локусов: для образца № 29714 – по локусу HLA-A и для образца № 30387 – по локусу HLA-B.

В ходе проведения HLA-типирования образца № 29714 был определен следующий генотип – B*44:AMUT, 44:27, C*05:NRVV, 07:MRTH, DRB1*12:DUKV, 16:01, A*01, 02 с одним несоответствием базе данных HLA-аллелей в позиции 477 третьего экзона, где вместо G стоит K, четкий двойной пик выявлен в прямом и обратном направлении, что представлено на рис. 1.

Для определения того, какой из пары аллельных вариантов является уже известным, а какой новым, провели сравнение последовательностей с помощью инструмента Sequence Alignment, доступного в режиме он-лайн в глобальной сети Интернет [7]. Результаты сравнения последовательностей представлены на рис. 2.

Из данных, представленных на рис. 2, следует, что использование постановки двух дополнительных сиквенсовых реакций с применением реагентов для уточнения гетерозиготных неоднозначностей – A3F363A и A3F363G – позволит определить, какой из аллельных вариантов является новым. Результаты постановки сиквенсовых реакций с указанными реагентами для уточнения гетерозиготных неоднозначностей представлены на рис. 1. Реагент для уточнения гетерозиготных неоднозначностей A3F363G, отжигающийся только на последовательность аллеля A*02:01:01:01, дает в позиции 477 третьего экзона G, в то время как A3F363A, отжигающийся только на последовательность аллеля A*01:01:01:01, дает T. На основании этого был сделан вывод о том, что образец № 29714 содержит новый аллель в локусе A и его генотип может быть обозначен как A*02, 01:новый. При этом 135 кодон аллеля A*01:новый меняется с GCG на GCT, что, однако, не приводит к изменению аминокислоты, кодируемой данным кодоном (аланин).

Для подтверждения нового аллеля и его описания для последующей регистрации в международной базе данных HLA-аллелей использовали технологию моноаллельного секвенирования с применением наборов реагентов PROTRANS HLA-A S4. Полученные данные подтвердили наличие нового аллеля и позволили представить данный аллель на регистрацию (номер последовательности в базе данных EMBL – LN830754). 29 мая 2015 года указанному аллелю был присвоен номер A*01:01:70.

Для образца № 30387 выявлен следующий генотип – A*03:XVRK, 24:YYFJ, C*02:ABXYK, 07:ABXZK, DRB1*04:ADAAZ, 15:UPVA, B*07, 27 с одним несоответствием базе данных HLA-аллелей в позиции 411 третьего экзона, где вместо Y представлен T (рис. 3).

Как и в первом случае, для определения того, какой из пары аллельных вариантов является уже известным, а какой новым, провели сравнение последовательностей с помощью инструмента Sequence Alignment, доступного в режиме он-лайн в глобальной сети Интернет [7]. Полученные результаты сравнения последовательностей представлены на рис. 4.

Использование постановки двух дополнительных сиквенсовых реакций с применением реагентов для уточнения гетерозиготных неоднозначностей – A2F261C и C3R539T – позволит определить, какой из аллельных вариантов является новым. Для получения результата в высоком разрешении так-

Рис. 1. Результат анализа образца № 29714 по локусу А в программном обеспечении SBTEngine v.3.6.1

Fig. 1. The result of HLA-typing the sample № 29714 for locus A in software SBTEngine v.3.6.1

```
cDNA                  350        360        370        380        390        400        410        420        430        440
A*01:01:01:01     GTTCTCA CACCATCCAG ATAATGTATG GCTGCGACGT GGGGCCGGAC GGGCGCTTCC TCCGCGGGTA CCGGCAGGAC GCCTACGACG GCAAGGATTA
A*02:01:01:01     ------- ----G----- -GG------- ---------- ----T----- T--------- ---------- --AC---T-- ---------- ----------

cDNA                 450        460        470        480        490        500        510        520        530        540
A*01:01:01:01 CATCGCCCTG AACGAGGACC TGCGCTCTTG GACCGCGGCG GACATGGCAG CTCAGATCAC CAAGCGCAAG TGGGAGGCGG TCCATGCGGC GGAGCAGCGG
A*02:01:01:01 ---------- --A------- ---------- ---------- ---------- ------C--- -----A---- ---------- C-----T--- --------TT-

cDNA                 550        560        570        580        590        600        610
A*01:01:01:01 AGAGTCTACC TGGAGGGCCG GTGCGTGGAC GGGCTCCGCA GATACCTGGA GAACGGGAAG GAGACGCTGC AGCGCACGG
A*02:01:01:01 ----C----- --------AC ---------G T--------- ---------- ---------- ---------- ---------
```

Рис. 2. Сравнение последовательностей аллелей A*01:01:01:01 и A*02:01:01:01 (в нуклеотидах)

Fig. 2. The comparison of sequences of alleles A*01:01:01:01 and A*02:01:01:01 (in nucleotides)

же дополнительно была поставлена сиквенсовая реакция с использованием праймера – B3R603G. Результаты постановки сиквенсовых реакций с указанными реагентами для уточнения гетерозиготных неоднозначностей представлены на рис. 3. Реагент для уточнения гетерозиготных неоднозначностей A2F261C, отжигающийся только на последовательность аллеля B*07:02:01, дает в позиции 411 третьего экзона T, в то же время C3R539T, отжигающийся только на последовательность аллеля B*27:05:02, также дает T. На основании этого был сделан вывод о том, что образец № 30387 содержит новый аллель в локусе B и его генотип может быть обозначен как B*07:02, 27:новый. Необходимо отметить, что указанная замена в позиции 411 третьего экзона в аллеле B*27:05:02, так же, как и в первом случае, не приводит к замене аминокислоты в кодоне 113 (и TAC, и TAT кодируют аминокислоту тирозин).

Рис. 3. Результат анализа образца № 30387 по локусу В в программном обеспечении SBTEngine v.3.6.1

Fig. 3. The result of HLA-typing the sample № 30387 for locus B in software SBTEngine v.3.6.1

```
cDNA                80         90        100        110        120        130        140        150        160        170
B*07:02:01     GCTCCCA CTCCATGAGG TATTTCTACA CCTCCGTGTC CCGGCCCGGC CGCGGGGAGC CCCGCTTCAT CTCAGTGGGC TACGTGGACG ACACCCAGTT
B*27:05:02     ------- ---------- ------C--- ---------- ---------- ---------- ---------- -A-C------ ---------- ----G-T---

cDNA               180        190        200        210        220        230        240        250        260        270
B*07:02:01  CGTGAGGTTC GACAGCGACG CCGCGAGTCC GAGAGAGGAG CCGCGGGCGC CGTGGATAGA GCAGGAGGGG CCGGAGTATT GGGACCGGAA CACACAGATC
B*27:05:02  ---------- ---------- ---------- ---------- ---------- ---------- ---------- ---------- --------G- G---------

cDNA               280        290        300        310        320        330        340        350        360        370
B*07:02:01  TACAAGGCCC AGGCACAGAC TGACCGAGAG AGCCTGCGGA ACCTGCGCGG CTACTACAAC CAGAGCGAGG CCG|GGTCTCA CACCCTCCAG AGCATGTACG
B*27:05:02  -G-------A ---------- ---------- GA-------- C-----T-C- ---------- ---------- ---|------- ---------- -AT-----T-

cDNA               380        390        400        410        420        430        440        450        460        470
B*07:02:01  GCTGCGACGT GGGGCCGGAC GGGCGCCTCC TCCGCGGGCA TGACCAGTAC GCCTACGACG GCAAGGATTA CATCGCCCTG AACGAGGACC TGCGCTCCTG
B*27:05:02  ---------- ---------- ---------- --------T- CC-----G-- ---------- ---------- ---------- ---------- --A-------

cDNA               480        490        500        510        520        530        540        550        560        570
B*07:02:01  GACCGCCGCG GACACGGCGG CTCAGATCAC CCAGCGCAAG TGGGAGGCGG CCCGTGAGGC GGAGCAGCGG AGAGCCTACC TGGAGGGCGA GTGCGTGGAG
B*27:05:02  ---------- ---------- ---------- ---------- ---------- ------T--- --------T- ---------- ---------- ----------

cDNA               580        590        600        610
B*07:02:01  TGGCTCCGCA GATACCTGGA GAACGGGAAG GACAAGCTGG AGCGCGCTG
B*27:05:02  ---------- ---------- ---------- --G-C----C -------G-
```

Рис. 4. Сравнение последовательностей аллелей B*07:02:01 и B*27:05:02 (в нуклеотидах)

Fig. 4. The comparison of sequences of alleles B*07:02:01 и B*27:05:02 (in nucleotides)

Для подтверждения нового аллеля и его описания для последующей регистрации в международной базе данных HLA-аллелей была использована технология моноаллельного секвенирования с применением наборов реагентов PROTRANS HLA-B S4. Полученные данные подтвердили наличие нового аллеля и позволили представить данный аллель на регистрацию (номер последовательности в базе данных EMBL – LN830753). Однако данных, полученных с использованием наборов реагентов PROTRANS HLA-B S4, оказалось недостаточно для регистрации данного аллеля, так как они не позволили получить последовательность первого экзона для образца 30387. В ходе проведения HLA-типирования образцов ДНК у доноров, проживающих на территории республики Удмуртия, было выявлено еще два образца с такой же нуклеотидной заменой. Для завершения процедуры регистрации целесообразно секвенировать первый экзон данного образца другим методом. Нами запланированы исследования по секвенированию ДНК этих образцов методом NGS (Next Generation Sequence).

Аллельные варианты HLA-локусов I класса, частоты их встречаемости с соответствующими стандартными отклонениями представлены в табл. 1. Были выявлены 17 аллельных вариантов по локусу HLA-A, 29 – по локусу HLA-B, 13 – по локусу HLA-C.

Наибольшей частотой встречаемости обладает аллельный вариант A*02 – 29,37%, далее следуют аллельные варианты A*24, A*01 и A*03 с частотами встречаемости 12,92; 11,84 и 11,61% соответственно. Наименьшей частотой встречаемости обладают аллельные варианты A*69 и A*74, выявленные в трех и одном случае соответственно.

Среди аллельных вариантов локуса HLA-B наибольшей частотой встречаемости обладают варианты B*35 (11,51%), B*07 (10,76%), B*13 (9,30%) и B*44 (8,93%), наименьшей – B*47 (0,09%) и B*73 (0,09%), последние выявлены всего в двух случаях.

Среди аллельных вариантов локуса HLA-C наибольшей частотой встречаемости обладает аллельный вариант – C*07 (22,56%), далее в поряд-

Таблица 1

Аллельные варианты HLA-локусов I класса и частоты их встречаемости

HLA class I alleles and their allele frequencies

HLA-A			HLA-B			HLA-C		
Аллельный вариант	Частота встречаемости	Стандартное отклонение	Аллельный вариант	Частота встречаемости	Стандартное отклонение	Аллельный вариант	Частота встречаемости	Стандартное отклонение
01	0,118421	0,007755	07	0,107613	0,007324	01	0,043233	0,004643
02	0,293703	0,009505	08	0,047932	0,004731	02	0,057331	0,004543
03	0,116071	0,006712	13	0,093045	0,005783	03	0,104323	0,005538
11	0,060620	0,004981	14	0,020677	0,002890	04	0,130639	0,006465
23	0,022086	0,003432	15	0,048402	0,004738	05	0,034305	0,004022
24	0,129229	0,007232	18	0,052632	0,004385	06	0,155075	0,006861
25	0,033835	0,003996	27	0,049342	0,005112	07	0,225564	0,008707
26	0,039474	0,004334	35	0,115132	0,006995	08	0,054981	0,004803
29	0,011278	0,002230	37	0,015508	0,002506	12	0,102444	0,007269
30	0,024436	0,003540	38	0,033365	0,003512	14	0,009868	0,002039
31	0,037124	0,004131	39	0,017857	0,003252	15	0,047932	0,004491
32	0,032425	0,003872	40	0,063910	0,005438	16	0,018327	0,003092
33	0,028665	0,003641	41	0,019737	0,003005	17	0,015977	0,002733
66	0,006579	0,001819	44	0,089286	0,006258			
68	0,044173	0,004716	45	0,001880	0,000945			
69	0,001410	0,000804	46	0,002820	0,001158			
74	0,000470	0,000435	47	0,000940	0,000775			
			48	0,030545	0,003670			
			49	0,023496	0,003282			
			50	0,021617	0,003197			
			51	0,063910	0,005419			
			52	0,019737	0,003191			
			53	0,001410	0,000787			
			54	0,003759	0,001418			
			55	0,007989	0,001870			
			56	0,003759	0,001338			
			57	0,024436	0,003772			
			58	0,018327	0,002868			
			73	0,000940	0,000630			

ке убывания частоты встречаемости следуют C*06 (15,51%), C*04 (13,06%), C*03 (10,43%) и C*12 (10,24%).

Аллельные варианты локуса HLA-DRB1 с частотами встречаемости и соответствующими стандартными отклонениями представлены в табл. 2. В изучаемой популяции выявлено 13 аллельных вариантов локуса HLA-DRB1, наибольшей частотой встречаемости из которых обладает аллельный вариант DRB1*07 (17,25%), далее следует DRB1*15 (12,73%), а затем аллельные варианты DRB1*13, DRB1*01 и DRB1*04, обладающие примерно одинаковой частотой встречаемости – 11,98; 11,84 и 11,61% соответственно.

Гаплотипы HLA-A-B-C-DRB1 были рассчитаны с помощью EM-алгоритма в программном обеспечении Arlequin. В табл. 3 представлены гаплотипы, частота встречаемости которых более 1%.

Таблица 2

Аллельные варианты локуса HLA-DRB1 и частоты их встречаемости

HLA-DRB1 alleles and their allele frequencies

Аллельный вариант	Частота встречаемости	Стандартное отклонение
01	0,118421	0,006892
03	0,073308	0,006250
04	0,116071	0,006555
07	0,172462	0,007840
08	0,029605	0,003546
09	0,035714	0,004022
10	0,021147	0,002865
11	0,099624	0,005814
12	0,018327	0,002810
13	0,119831	0,006994
14	0,029605	0,003375
15	0,127350	0,007123
16	0,038534	0,003369

Таблица 3

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

HLA-A-B-C-DRB1 haplotypes in order of decreasing haplotype frequency

Аллельный вариант	Частота встречаемости	Стандартное отклонение
A*02-B*13-C*06-DRB1*07	0,028957	0,004369
A*03-B*35-C*07-DRB1*15	0,021806	0,003273
A*02-B*07-C*07-DRB1*15	0,019275	0,003423
A*24-B*07-C*07-DRB1*15	0,015560	0,003336
A*03-B*07-C*07-DRB1*15	0,014981	0,003237
A*02-B*48-C*08-DRB1*07	0,010605	0,002014
A*30-B*13-C*06-DRB1*07	0,010185	0,002171

Наибольшей частотой встречаемости обладает гаплотип A*02-B*13-C*06-DRB1*07, далее следуют A*03-B*35-C*07-DRB1*15, A*02-B*07-C*07-DRB1*15, A*24-B*07-C*07-DRB1*15, A*03-B*07-C*07-DRB1*15, A*02-B*48-C*08-DRB1*07, A*30-B*13-C*06-DRB1*07.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование позволило получить данные о частотах встречаемости HLA-аллелей и гаплотипах в популяции, проживающей на территории Республики Башкортостан.

Согласно Всероссийской переписи населения 2010 года, национальный состав Республики Башкортостан следующий: русские – 36,1%, башкиры – 29,5%, татары – 25,4%, чуваши – 2,7%, марийцы – 2,6%, украинцы – 1%, лица других национальностей – 2,7%. Поэтому наибольший интерес представляет сравнение аллельных вариантов HLA-локусов и гаплотипов популяции, проживающей на территории Республики Башкортостан, с популяциями татар, башкир и русских.

Наиболее часто встречающимся аллельным вариантом по локусу HLA-A является аллельный вариант A*02 с частотой встречаемости 29,37%, как и во всех российских популяциях [1, 9–11]. На втором и третьем местах по частоте встречаемости расположены аллельный вариант A*24 и аллельный вариант A*01, с частотами встречаемости 12,92 и 11,84% соответственно; аналогичный профиль распределения наиболее часто встречающихся аллельных вариантов HLA-локуса A выявлен у башкир, проживающих на территории Челябинской области [10], в то время как данный профиль распределения аллельных вариантов локуса HLA-A для популяции, проживающей на территории Кировской области, выглядит как HLA-A*02, A*03, A*24 [1], для татар, проживающих на территории Республики Татарстан – HLA-A*02, A*03, A*24 [9], для русских, проживающих на территории Челябинской области – HLA-A*02, A*01, A*03 [10], для татар, проживающих на территории Челябинской области – HLA-A*02, A*03, A*01 [10]. Необходимо отметить, что в одном случае нами был выявлен аллельный вариант A*74, который не был выявлен ни в одной из вышеуказанных популяций [1, 9, 10].

Наиболее распространенными аллельными вариантами локуса HLA-B в популяции, проживающей на территории Республики Башкортостан, в порядке уменьшения частоты встречаемости являются HLA-B*35, B*07, B*13, аналогичный профиль распределения был выявлен у татар, проживающих на территории Челябинской области [10]. Похожий профиль был выявлен у татар, проживающих на территории Республики Татарстан, с тем отличием, что на третьем месте располагается аллельный вариант B*44 [10]. Для популяции Кировской области и русских, проживающих на территории Челябинской области, этот профиль выглядел как HLA-B*07, B*35, B*44 и HLA-B*07, B*44, B*35 соответственно [1, 10]. Наибольшее различие в распределении HLA-аллелей локуса B было выявлено с популяцией башкир Челябинской области, у которой этот профиль выглядел как HLA-B*13, B*51, B*07/40 [10]. Необходимо отметить, что аллельный вариант B*73, обладающий наименьшей частотой встречаемости, не был выявлен в популяциях Кировской области и Республики Татарстан, однако был выявлен во всех популяциях Челябинской области [1, 9, 10].

Аллельный профиль наиболее часто встречающихся аллельных вариантов по локусу HLA-C следующий – HLA-C*07, C*06, C*04, C*03, C*12. Похожий профиль был выявлен у татар Республики Татарстан, с той разницей, что аллельный вариант C*04 находится на втором месте, а C*06 – на третьем [9]. В настоящее время известно 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, для которых минимальными требованиями, предъявляемыми к таким донорам, является обязательное типирование только по локусам HLA-A, -B, -DRB1 [12].

Среди аллельных вариантов локуса HLA-DRB1 наиболее часто встречающимися являются DRB1*07 (17,25%), DRB1*15 (12,73%) и DRB1*13 (11,98%). Различия в профиле наблюдаются с популяцией татар Республики Татарстан, где на третьем месте расположен аллельный вариант DRB1*01 [9], с популяцией Кировской области, где на первом месте расположен аллельный вариант DRB1*15, на втором – DRB1*07, а на третьем – DRB1*01 [1], с популяцией русских Челябинской области, где на первом месте расположен аллельный вариант DRB1*01, на втором – DRB1*15, а на третьем – DRB1*07 [10]. Наибольшее различие в профиле распространенности аллельных вариантов локуса HLA-DRB1 наблюдается с башкирами Челябинской области, для которых профиль выглядит как DRB1*07, DRB1*13, DRB1*04 [10].

Анализ гаплотипов является также информативным при популяционных исследованиях. В общей сложности был выявлен 771 гаплотип HLA-A-B-C-DRB1 из 6848 возможных. Наибольшей частотой встречаемости обладает гаплотип HLA-A*02-B*13-C*06-DRB1*07 (2,89%), несмотря на то что аллельные варианты HLA-A*02, HLA-B*13, HLA-C*06, HLA-DRB1*07 по частоте встречаемости занимают первое, третье, второе и первое место в соответствующем локусе, что, вероятнее всего, связано с неравновесием по сцеплению. Провести сравнение гаплотипов HLA-A-B-C-DRB1 популяции, проживающей на территории Республики Башкортостан, с другими популяциями не представляется возможным в связи с отсутствием указанных гаплотипов.

Проведенные исследования выявили, с одной стороны, некоторые сходства в распределении HLA-аллелей в популяции, проживающей на территории Республики Башкортостан, с популяциями Челябинской области и Волго-Вятского региона, а с другой стороны, выявленные новые аллели (2 на 1064 потенциальных донора ГСК), указывают на уникальность исследованной популяции. Это свидетельствует о необходимости дальнейшего расширения пула потенциальных доноров ГСК, привлеченных в указанном регионе, и подтверждает необходимость изучения российских популяций, проживающих в других субъектах Российской Федерации, прежде всего в тех, которые в настоящий момент совсем не представлены в национальном и международном регистрах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Wingard JR, Gastineau DA, Leather HL, Snyder EL, Szczepiorkowski ZM.* Hematopoietic Stem Cell Transplantation. A Handbook for Clinicians. 2nd Edition. AABB, Bethesda, Maryland. 2015; 970.
2. Bone Marrow Donor Worldwide (2015). Available at: http://www.bmdw.org/index.php?id=home.
3. Счетчик регистра (2015). Доступен: http://www.rusfond.ru/registr/009#counter (обновление 28.10.2015). The counter register (2015). Available at: http://www.rusfond.ru/registr/009#counter (update 28.10.2015).
4. HARPs Finder (2015). Availbale 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. *Evolutionary Bioinformatics Online*. 2005; 1: 47–50.
6. *Excoffier L, Slatkin M.* Maximum-Likelihood Estimation of Molecular Haplotype Frequencies in a diploid population. *Molecular Biology and Evolution*. 1995; 12: 921–927.
7. Sequence Alignment Tool. Available at: http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/align.html.
8. *Логинова МА, Трофимова НП, Парамонов ИВ.* Генетические особенности популяции, проживающей на территории Кировской области. *Вестник службы крови России*. 2012; 1: 24–28. *Loginova MA, Trofimova NP, Paramonov IV.* The genetic characteristics of the population living on the territory of the Kirov region. *Vestnik sluzhby krovi Rossii*. 2012; 1: 24–28.
9. *Loginova M, Paramonov I.* HLA class I and class II and haplotypes in Tatars, living in the Republic of Tatarstan, Russia. 40th Annual Meeting Abstracts. *Tissue Antigens*. 2014; 84: 136.

10. *Suslova TA, Burmistrova AL, Chernova MS, Khromova EB, Lupar EI, Timofeeva SV et al.* HLA gene and haplotype frequencies in Russians, Bashkirs and Tatars, living in the Chelyabinsk Region (Russian South Urals). *International Journal of Immunogenetics*. 2012; 39: 394–408.
11. *Toropovskiy A, Tyumina O, Trusova L.* Estimation of HLA alleles and haplotypes frequencies distribution in population of the Samara Region. 36th Annual Meeting Abstracts. *Human Immunology.* 2010; 71 (Suppl. 1): S84.
12. EFI standards version 6.2. Available at: http://www.efi-web.eu/efi-committees/standards-committee.html.

Статья поступила в редакцию 12.11.2015 г.
The article was submitted to the journal on 12.11.2015

УВАЖАЕМЫЕ ЧИТАТЕЛИ!

Подписку на журнал «Вестник трансплантологии и искусственных органов» можно оформить в ближайшем к вам почтовом отделении.

Подписной индекс нашего издания в каталоге «**Газеты и журналы**» – **80248**

Ф. СП-1

ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

80248 (индекс издания)

количество комплектов

на 2016 год по месяцам

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Куда (почтовый индекс) (адрес)

Кому (фамилия, инициалы)

Ф. СП-1

пв место ли-тер

ДОСТАВОЧНАЯ КАРТОЧКА

на журнал 80248 (индекс издания)

ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

стоимость	подписки	руб.	коп.	количество комплектов	
	переадресовки	руб.	коп.		

на 2016 год по месяцам

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Куда (почтовый индекс) (адрес)

Кому (фамилия, инициалы)