

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 612.6.05:575.17

Кутявина С.С.¹, Логинова М.А.^{1,2}, Черанев В.В.¹, Парамонов И.В.¹, Зарубин М.В.³, Верёвкина Л.Н.³

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ HLA-АЛЛЕЛЕЙ У БУРЯТ, ПРОЖИВАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ

¹ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови ФМБА России»,
610027, г. Киров, Российская Федерация;²ФГБУ «Российский медицинский научно-производственный центр «Росплазма» ФМБА России»,
610002, г. Киров, Российская Федерация;³ГБУЗ «Иркутская областная станция переливания крови», 664046, г. Иркутск, Российская Федерация.

Материал и методы. Проведено HLA-типирование по пяти HLA-локусам – A, B, C, DRB1 и DQB1 – у 403 потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток, самоопределившихся как буряты и проживающих на территории Иркутской области. Полученные данные проанализированы с помощью программного обеспечения Arlequin v.3.5.

Результаты. При проведении исследований в изучаемой популяции выявлен новый аллель, ранее не зарегистрированный международным Комитетом по номенклатуре факторов HLA-системы ВОЗ. В ходе проведенных исследований выявлены: 31 аллель по локусу HLA-A, 58 аллелей по локусу HLA-B, 33 аллеля по локусу HLA-C, 42 аллеля по локусу HLA-DRB1, 19 аллелей по локусу HLA-DQB1. Частотой встречаемости более 10% обладают следующие аллели – HLA-A*24:02 (22,08%), HLA-A*02:01 (13,65%), HLA-A*01:01 (10,92%), HLA-B*40:02 (12,66%), HLA-C*03:04 (17,62%), HLA-C*06:02 (15,51%), HLA-DRB1*07:01 (13,65%), HLA-DRB1*04:01 (10,92%), HLA-DQB1*03:01 (29,9%), HLA-DQB1*02:02 (11,29%). Наиболее часто встречающимся HLA-A-B-C-DRB1-DQB1 гаплотипом является A*24:02-B*40:02-C*03:04-DRB1*04:01-DQB1*03:01 (3,27%). Выявлены отклонения от закона Харди–Вайнберга для локусов HLA-A и HLA-DRB1.

К л ю ч е в ы е с л о в а: человеческие лейкоцитарные антигены; аллель; гаплотип; частота встречаемости; HLA-типирование.

Для цитирования: Кутявина С.С., Логинова М.А., Черанев В.В., Парамонов И.В., Зарубин М.В., Верёвкина Л.Н. Генетические особенности HLA-аллелей у бурят, проживающих на территории Иркутской области. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(3): 147-152. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-147-152>

Kutyavina S.S.¹, Loginova M.A.^{1,2}, Cheranev V.V.¹, Paramonov I.V.¹, Zarubin M.V.³, Verevkin L.N.³

HLA ALLELES IN BURYATS LIVING IN THE IRKUTSK REGION

¹Kirov Scientific-Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Kirov, 610027, Russian Federation;²"Rosplasma", Kirov, 610002, Russian Federation;³Irkutsk Regional Blood Transfusion Station, Irkutsk, 664046, Russian Federation

Material and methods. Sequence based typing was used to identify human leukocyte antigen HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1 alleles from 403 recruited volunteers in Irkutsk region (Buryats), Russia for unrelated hematopoietic stem cell registry.

Results. During the carried out research in the study population identified new allele, which were registered by The WHO Nomenclature Committee for Factors of the HLA System. In this population, 31 – HLA-A, 58 – HLA-B, 33 – HLA-C, 42 – HLA-DRB1, 19 – HLA-DQB1 alleles were selected. Allele frequencies more than 10% included HLA-A*24:02 (22.08%), HLA-A*02:01 (13.65%), HLA-A*01:01 (10.92%), HLA-B*40, HLA-C*03:04 (17.62%), HLA-C*06:02 (15.51%), HLA-DRB1*07:01 (13.65%), HLA-DRB1*04:01 (10.92%), HLA-DQB1*03:01 (29.9%), HLA-DQB1*02:02 (11.29%). Of the 425 five-locus HLA haplotypes were determined with software Arlequin v.3.1. The highest frequency extended five-locus haplotype – A*24:02-B*40:02-C*03:04-DRB1*04:01-DQB1*03:01 was observed with frequencies of 3,27%. Distribution of allele and haplotype analysis allowed to compare the population of Buryats with other Russian populations. Deviations from the Hardy-Weinberg law for the loci of HLA-A and HLA-DRB1 are revealed.

К е y w o r d s: human leukocyte antigens; allele; haplotype; allele frequency; HLA-typing.

For citation: Kutyavina S.S., Loginova M.A., Cheranev V.V., Paramonov I.V., Zarubin M.V., Verevkin L.N. HLA alleles in Buryats living in the Irkutsk region. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologia i transfusiologya)*. 2017; 62(3): 147-152. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-147-152>

Acknowledgments. This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant №. 16-04-00059).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 22 September 2017

Accepted 20 October 2017

Для корреспонденции:

Логинова Мария Александровна, кандидат биол. наук, заведующая научно-исследовательской лабораторией прикладной иммуногенетики. 610027, г. Киров, Россия. E-mail: mlogin2010@gmail.com.

For correspondence:

Loginova Maria A., BD, PhD, head of the Research Laboratory of Applied Immunogenetics. Kirov, 610027, Russian Federation. E-mail: mlogin2010@gmail.com.

Information about authors:

Kutyavina S.S., <http://orcid.org/0000-0002-2371-4044>; Loginova M.A., <http://orcid.org/0000-0001-7088-3986>; Cheranev V.V., <http://orcid.org/0000-0001-5294-3033>; Paramonov I.V., <http://orcid.org/0000-0002-7205-912X>; Zarubin M.V., <http://orcid.org/0000-0003-0569-207X>; Verevkin L.N., <http://orcid.org/0000-0003-4491-4448>.

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) – метод, применяющийся для лечения гематологических, онкологических, генетических и ряда других заболеваний [1]. Трансплантируемые ГСК способны полностью восстановить систему гемопоэза и иммунитета в организме после высокодозной химиотерапии.

Выживаемость реципиентов, риски отторжения трансплантата и возникновения реакции «трансплантат против хозяина» зависят от качества подбора донора, совместимого по HLA-системе [2]. HLA-аллели и мультилокусные гаплотипы характеризуются высокой вариабельностью в различных популяциях, что осложняет подбор генетически совместимых пар донор-реципиент [3–5].

С учетом того, что гены системы HLA наследуются и экспрессируются кодоминантно, шанс подобрать родственного донора существует лишь у 30% больных, нуждающихся в трансплантации костного мозга. Остальным же пациентам необходим поиск неродственного HLA-совместимого донора [6, 7].

Таким образом, существует необходимость создания базы данных генетически охарактеризованных, т.е. протипированных по HLA-локусам, потенциальных доноров ГСК, которая позволяла бы подобрать совместимого донора для российских пациентов с учетом относительно низкой частоты встречаемости у них HLA-аллелей и гаплотипов, наиболее специфичных для европейских и североамериканских популяций, широко представленных в международных базах данных [8]. При создании репрезентативного регистра доноров важно учитывать многонациональность (более 180 народов) Российской Федерации с населением более 146 млн человек и генетическое разнообразие в различных популяциях [9].

Целью данного исследования является изучение генетических особенностей HLA-аллелей у бурят, проживающих на территории Иркутской области.

Материал и методы

В исследование включены 403 образца цельной крови, полученных от здоровых (не имеющих тяжелых хронических заболеваний и жалоб на момент обследования) взрослых индивидуумов, самоопределившихся как буряты и проживающих на территории Иркутской области. Образцы были получены от кадровых доноров крови и ее компонентов ГБУЗ «Иркутская областная станция переливания крови» в марте – апреле 2016 г.

Исследование проводили сотрудники лаборатории прикладной иммуногенетики ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» в течение 2016 г.

Препараты ДНК для проведения HLA-типирования были получены из замороженных образцов цельной крови (антикоагулянт – ЭДТА) методом колоночной фильтрации с помощью наборов QIAamp DNA Blood Mini Kit («QIAGEN GmbH», Германия). Концентрация препаратов ДНК, определенная на спектрофотометре TECAN Infinite 200 («TECAN», Швейцария), составляла в среднем 30–70 нг/мкл при соотношении $A_{260}/A_{280}=1,7\div 1,9$.

HLA-типирование по локусам HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1 в высоком разрешении проводили по технологии секвенирования с использованием наборов реагентов HLAssure SE SBT Kit («TIBCO Diagnostics Limited», Тайвань).

Капиллярный электрофорез осуществляли с помощью 48-капиллярного генетического анализатора 3730 («Applied Biosystems», США), полученные сиквенсы анализировали в программном обеспечении AccuType TM («Texas Bio Genelnc.», США).

Для определения частот HLA-аллелей и частот их гаплотипов методом максимального правдоподобия с помощью EM-алгоритма для полилокусных данных использовали программное обеспечение Arlequin v.3.5 [10]. Стандартные отклонения рассчитывали при начальном значении итераций, равном 100. Распределение генов по закону Харди–Вайнберга с количеством шагов в цепи Маркова, равным 100 000 [10], определяли с помощью программного обеспечения Arlequin v.3.5 [10].

Результаты

При проведении исследования с локус-специфичными праймерами для образца №2415 не было найдено полного соответствия с библиотекой HLA-аллелей IMGT/HLA 3.25.0 по локусу HLA-C.

В результате HLA-типирования образца №2415 был определен генотип A*24:02, 30:01; B*07:02, 13:02; DRB1*07:01, 15:01; DQB1*02:02, 06:02; C*06, 07 с одним несоответствием базе данных HLA-аллелей. В позиции 408 экзона 3 локуса HLA-C вместо G был обнаружен R – четкий пик в прямом и обратном направлении.

Для разрешения неоднозначностей типирования, а также для выявления и описания нового аллеля были поставлены реакции амплификации с аллель-специфичными праймерами. Полученные данные показали, что образец № 2415 имеет по локусу C генотип C*07:02, 06:новый. При этом у нового аллеля в позиции 408 экзона 3 вместо G стоит A, что приводит к изменению кодона 112 с GGG на GGA, но не приводит к изменению аминокислоты – глицина.

Последовательности нуклеотидов, полученные при использовании аллель-специфичных праймеров, позволили подать данный аллель на регистрацию в международной номенклатуре (номер последовательности в базе данных EMBL – LT718450), и 28.02.2017 указанному аллелю был присвоен номер C*06:02:48.

Частоты встречаемости аллелей HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 и HLA-DQB1 с соответствующими стандартными отклонениями представлены в табл. 1 и 2. По результатам данного исследования выявлены: 31 аллель по локусу HLA-A, 57 – по локусу HLA-B, 33 – по локусу HLA-C, 42 – по локусу HLA-DRB1, 19 – по локусу DQB1.

Наибольшей частотой встречаемости среди аллелей локуса HLA-A является HLA-A*24:02 (22,08%), а затем в порядке убывания частоты встречаемости располагаются HLA-A*02:01 (13,65%), HLA-A*01:01 (10,92%), HLA-A*11:01 (8,8%), HLA-A*03:01 (7,44%), HLA-A*31:01 (6,7%), HLA-A*02:06 (5,58%), HLA-A*33:03 (4,84%), HLA-A*26:01 (3,85%), HLA-A*23:01 (3,72%). Наименьшей частотой встречаемости обладают аллели HLA-A*24:10, HLA-A*24:128, HLA-A*26:08, HLA-A*29:02, HLA-A*30:02, HLA-A*33:01, HLA-A*66:01, HLA-A*68:02 и HLA-A*68:24, выявленные по одному разу (см. табл. 1).

В локусе HLA-B наиболее часто встречались следующие 10 аллелей: HLA-B*40:02 (12,66%), HLA-B*51:01 (8,68%), HLA-B*37:01 (6,95%), HLA-B*07:02 (6,7%), HLA-B*15:01 (6,2%), HLA-B*13:02 (5,46%), HLA-B*58:01 (4,84%), HLA-B*40:01 (4,71%), HLA-B*44:03 (4,59%), HLA-B*35:01 (3,97%). Вместе они составляют 64,76% от общего числа выявленных аллелей локуса HLA-B.

В локусе HLA-C можно выделить 7 наиболее часто встречающихся аллелей: HLA-C*03:04 (17,62%), HLA-C*06:02 (15,51%), HLA-C*07:02 (9,68%), HLA-C*01:02 (8,06%), HLA-C*15:02 (8,06%), HLA-C*03:03 (7,69%), HLA-C*04:01 (7,2%).

Наиболее часто встречающимися аллелями в локусе HLA-DRB1 (частота более 10%) являются HLA-DRB1*07:01 (13,65%), HLA-DRB1*04:01 (10,92%); и далее в порядке убывания частоты располагаются HLA-DRB1*15:01, HLA-DRB1*09:01, HLA-DRB1*12:01, HLA-DRB1*03:01, HLA-DRB1*13:01, HLA-DRB1*11:01, HLA-DRB1*10:01, HLA-DRB1*13:02 (см. табл. 2).

Для локуса HLA-DQB1 было выявлено 19 аллелей. Из них наиболее частым является HLA-DQB1*03:01 (частота встречаемости 29,9%). К наиболее редким аллелям относятся HLA-DQB1*03:13 и HLA-DQB1*06:11, каждый из которых выявлен лишь в одном случае.

Таблица 1

Аллели локусов HLA-A, HLA-B, HLA-C и частота их встречаемости

| HLA-A | | | HLA-B | | | HLA-C | | |
|----------|-----------------------|------------------------|----------|-----------------------|------------------------|---------|-----------------------|------------------------|
| аллель | частота встречаемости | стандартное отклонение | аллель | частота встречаемости | стандартное отклонение | аллель | частота встречаемости | стандартное отклонение |
| A*01:01 | 0,109181 | 0,009068 | B*07:02 | 0,066998 | 0,008084 | C*01:02 | 0,080645 | 0,007677 |
| A*02:01 | 0,136476 | 0,011162 | B*07:05 | 0,007444 | 0,002619 | C*02:02 | 0,017370 | 0,004702 |
| A*02:03 | 0,003722 | 0,002339 | B*08:01 | 0,019851 | 0,004523 | C*03:02 | 0,048387 | 0,007514 |
| A*02:05 | 0,006203 | 0,002491 | B*13:01 | 0,021092 | 0,004001 | C*03:03 | 0,076923 | 0,008481 |
| A*02:06 | 0,055831 | 0,007588 | B*13:02 | 0,054591 | 0,010467 | C*03:04 | 0,176179 | 0,014396 |
| A*02:07 | 0,016129 | 0,005012 | B*14:02 | 0,001241 | 0,000868 | C*04:01 | 0,071960 | 0,009363 |
| A*02:17 | 0,002481 | 0,001582 | B*15:01 | 0,062035 | 0,008580 | C*04:03 | 0,008685 | 0,003412 |
| A*03:01 | 0,074442 | 0,009939 | B*15:02 | 0,001241 | 0,000827 | C*05:01 | 0,017370 | 0,004855 |
| A*03:02 | 0,012407 | 0,003908 | B*15:05 | 0,001241 | 0,001021 | C*05:02 | 0,001241 | 0,001181 |
| A*11:01 | 0,088089 | 0,009290 | B*15:08 | 0,002481 | 0,002512 | C*06:01 | 0,001241 | 0,001312 |
| A*11:02 | 0,002481 | 0,001790 | B*15:11 | 0,004963 | 0,002563 | C*06:02 | 0,155087 | 0,014252 |
| A*23:01 | 0,037221 | 0,006666 | B*15:13 | 0,001241 | 0,001013 | C*07:01 | 0,018610 | 0,005144 |
| A*24:02 | 0,220844 | 0,016572 | B*15:18 | 0,013648 | 0,003150 | C*07:02 | 0,096774 | 0,010468 |
| A*24:10 | 0,001241 | 0,001343 | B*15:220 | 0,001241 | 0,000837 | C*07:04 | 0,016129 | 0,004097 |
| A*24:128 | 0,001241 | 0,001160 | B*15:27 | 0,001241 | 0,001281 | C*07:08 | 0,001241 | 0,001201 |
| A*25:01 | 0,006203 | 0,002813 | B*18:01 | 0,004963 | 0,002693 | C*07:18 | 0,001241 | 0,001072 |
| A*26:01 | 0,038462 | 0,007146 | B*27:02 | 0,002481 | 0,001755 | C*08:01 | 0,038462 | 0,006575 |
| A*26:08 | 0,001241 | 0,001243 | B*27:04 | 0,002481 | 0,001553 | C*08:02 | 0,001241 | 0,001307 |
| A*29:01 | 0,011166 | 0,003875 | B*27:05 | 0,017370 | 0,002280 | C*08:03 | 0,003722 | 0,002382 |
| A*29:02 | 0,001241 | 0,001283 | B*35:01 | 0,039702 | 0,007054 | C*08:22 | 0,006203 | 0,003051 |
| A*30:01 | 0,018610 | 0,004849 | B*35:02 | 0,001241 | 0,001140 | C*08:44 | 0,001241 | 0,001241 |
| A*30:02 | 0,001241 | 0,001289 | B*35:03 | 0,016129 | 0,004494 | C*08:66 | 0,001241 | 0,001331 |
| A*30:04 | 0,003722 | 0,001977 | B*37:01 | 0,069479 | 0,006273 | C*12:02 | 0,016129 | 0,004520 |
| A*31:01 | 0,066998 | 0,007942 | B*37:02 | 0,001241 | 0,000599 | C*12:03 | 0,022333 | 0,005384 |
| A*32:01 | 0,004963 | 0,002727 | B*38:01 | 0,009926 | 0,002339 | C*14:02 | 0,013648 | 0,003860 |
| A*33:01 | 0,001241 | 0,001375 | B*38:02 | 0,003722 | 0,002553 | C*14:03 | 0,006203 | 0,002654 |
| A*33:03 | 0,048387 | 0,008342 | B*39:01 | 0,008685 | 0,002645 | C*14:06 | 0,001241 | 0,001351 |
| A*66:01 | 0,001241 | 0,001262 | B*40:01 | 0,047146 | 0,006455 | C*15:02 | 0,080645 | 0,009515 |
| A*68:01 | 0,024814 | 0,005653 | B*40:02 | 0,126551 | 0,014088 | C*15:05 | 0,008685 | 0,003402 |
| A*68:02 | 0,001241 | 0,001325 | B*40:03 | 0,001241 | 0,000915 | C*16:01 | 0,001241 | 0,001032 |
| A*68:24 | 0,001241 | 0,001347 | B*40:06 | 0,011166 | 0,004316 | C*16:02 | 0,003722 | 0,002190 |
| | | | B*41:01 | 0,002481 | 0,001365 | C*16:04 | 0,003722 | 0,002171 |
| | | | B*44:01 | 0,001241 | 0,000785 | C*17:01 | 0,001241 | 0,001103 |
| | | | B*44:02 | 0,019851 | 0,005646 | | | |
| | | | B*44:03 | 0,045906 | 0,005913 | | | |
| | | | B*44:05 | 0,001241 | 0,000837 | | | |
| | | | B*44:27 | 0,003722 | 0,002030 | | | |
| | | | B*45:01 | 0,001241 | 0,001234 | | | |
| | | | B*46:01 | 0,019851 | 0,003799 | | | |
| | | | B*48:01 | 0,037221 | 0,003793 | | | |
| | | | B*49:01 | 0,002481 | 0,001891 | | | |
| | | | B*50:01 | 0,013648 | 0,002971 | | | |
| | | | B*51:01 | 0,086849 | 0,012605 | | | |
| | | | B*51:02 | 0,001241 | 0,001340 | | | |
| | | | B*52:01 | 0,014888 | 0,004185 | | | |
| | | | B*53:01 | 0,001241 | 0,000704 | | | |
| | | | B*54:01 | 0,016129 | 0,004760 | | | |
| | | | B*55:01 | 0,008685 | 0,004290 | | | |
| | | | B*55:02 | 0,019851 | 0,006239 | | | |
| | | | B*55:07 | 0,002481 | 0,002109 | | | |
| | | | B*56:01 | 0,003722 | 0,002125 | | | |
| | | | B*56:03 | 0,001241 | 0,000915 | | | |
| | | | B*57:01 | 0,017370 | 0,004605 | | | |
| | | | B*58:01 | 0,048387 | 0,006212 | | | |
| | | | B*67:01 | 0,001241 | 0,001340 | | | |
| | | | B*73:01 | 0,001241 | 0,001439 | | | |
| | | | B*81:02 | 0,002481 | 0,002280 | | | |

Таблица 2

Аллели локусов HLA-DRB1, HLA-DQB1 и частота их встречаемости

| HLA-DRB1 | | | HLA-DQB1 | | |
|------------|-----------------------|------------------------|------------|-----------------------|------------------------|
| аллель | частота встречаемости | стандартное отклонение | аллель | частота встречаемости | стандартное отклонение |
| DRB1*01:01 | 0,031017 | 0,005285 | DQB1*02:01 | 0,052109 | 0,008770 |
| DRB1*01:02 | 0,001241 | 0,001182 | DQB1*02:02 | 0,112903 | 0,011116 |
| DRB1*03:01 | 0,052109 | 0,008490 | DQB1*03:01 | 0,299007 | 0,014879 |
| DRB1*04:01 | 0,109181 | 0,012671 | DQB1*03:02 | 0,066998 | 0,008327 |
| DRB1*04:02 | 0,008685 | 0,003018 | DQB1*03:03 | 0,079404 | 0,009048 |
| DRB1*04:03 | 0,011166 | 0,003475 | DQB1*03:04 | 0,002481 | 0,001821 |
| DRB1*04:04 | 0,019851 | 0,004641 | DQB1*03:05 | 0,003722 | 0,002318 |
| DRB1*04:05 | 0,032258 | 0,006632 | DQB1*03:13 | 0,001241 | 0,001403 |
| DRB1*04:06 | 0,002481 | 0,001532 | DQB1*04:01 | 0,032258 | 0,005306 |
| DRB1*04:07 | 0,001241 | 0,001241 | DQB1*04:02 | 0,026055 | 0,005604 |
| DRB1*04:08 | 0,004963 | 0,002599 | DQB1*05:01 | 0,076923 | 0,009871 |
| DRB1*04:10 | 0,003722 | 0,002564 | DQB1*05:02 | 0,013648 | 0,004596 |
| DRB1*04:13 | 0,002481 | 0,001514 | DQB1*05:03 | 0,014888 | 0,004462 |
| DRB1*07:01 | 0,136476 | 0,012692 | DQB1*06:01 | 0,050868 | 0,007945 |
| DRB1*08:01 | 0,018610 | 0,004756 | DQB1*06:02 | 0,081886 | 0,009863 |
| DRB1*08:02 | 0,021092 | 0,005736 | DQB1*06:03 | 0,048387 | 0,007535 |
| DRB1*08:03 | 0,026055 | 0,006127 | DQB1*06:04 | 0,009926 | 0,003315 |
| DRB1*08:04 | 0,001241 | 0,001241 | DQB1*06:09 | 0,026055 | 0,005045 |
| DRB1*09:01 | 0,059553 | 0,008325 | DQB1*06:11 | 0,001241 | 0,001257 |
| DRB1*10:01 | 0,043424 | 0,006744 | | | |
| DRB1*11:01 | 0,048387 | 0,006942 | | | |
| DRB1*11:03 | 0,003722 | 0,002063 | | | |
| DRB1*11:04 | 0,007444 | 0,002783 | | | |
| DRB1*11:06 | 0,001241 | 0,001487 | | | |
| DRB1*12:01 | 0,059553 | 0,009727 | | | |
| DRB1*12:02 | 0,017370 | 0,004709 | | | |
| DRB1*12:10 | 0,002481 | 0,001527 | | | |
| DRB1*13:01 | 0,049628 | 0,008513 | | | |
| DRB1*13:02 | 0,042184 | 0,042184 | | | |
| DRB1*13:03 | 0,002481 | 0,001577 | | | |
| DRB1*13:05 | 0,001241 | 0,001405 | | | |
| DRB1*14:03 | 0,021092 | 0,005163 | | | |
| DRB1*14:04 | 0,002481 | 0,001705 | | | |
| DRB1*14:05 | 0,004963 | 0,002427 | | | |
| DRB1*14:07 | 0,002481 | 0,001591 | | | |
| DRB1*14:12 | 0,014888 | 0,004576 | | | |
| DRB1*14:27 | 0,008685 | 0,003271 | | | |
| DRB1*14:54 | 0,014888 | 0,003880 | | | |
| DRB1*15:01 | 0,088089 | 0,010347 | | | |
| DRB1*15:02 | 0,014888 | 0,004086 | | | |
| DRB1*16:01 | 0,003722 | 0,002055 | | | |
| DRB1*16:02 | 0,001241 | 0,001189 | | | |

Гаплотипы HLA-A-B-C-DRB1-DQB1 были рассчитаны с помощью EM-алгоритма (Expectation-maximization algorithm) в программном обеспечении Arlequin v.3.5. В табл. 3 представлены гаплотипы, частота встречаемости которых более 1%.

В общей сложности было определено 425 из 8672 потенциально возможных гаплотипов. Наиболее часто встречающимся HLA-A-B-C-DRB1-DQB1 гаплотипом является A*24:02-B*40:02-C*03:04-DRB1*04:01-DQB1*03:01

(3,27%), а затем следуют A*01:01-B*37:01-C*06:02-DRB1*10:01-DQB1*05:01, A*23:01-B*44:03-C*04:01-DRB1*07:01-DQB1*02:02, A*02:01-B*13:02-C*06:02-DRB1*07:01-DQB1*02:02. На эти гаплотипы приходится 8,06% от общего числа.

Соответствие равновесному распределению Харди-Вайнберга выявляли с помощью программного обеспечения Arlequin 3.5. Результаты анализа для каждого локуса представлены в табл. 4.

Для локусов HLA-B, HLA-C и HLA-DQB1 значение $p > 0,05$ – следовательно, распределение генотипов данных локусов соответствует закону Харди-Вайнберга. Для локусов HLA-A и HLA-DRB1 выявлены отклонения от закона Харди-Вайнберга ($p < 0,05$) (см. табл. 4).

Отклонения от равновесного состояния объясняются генетической гетерогенностью выборки и ее малым размером, вследствие чего увеличивается число гомозигот и уменьшается число гетерозигот относительно ожидаемых показателей.

Обсуждение

В настоящее время известны данные о частотах встречаемости HLA-аллелей и гаплотипов в некоторых российских популяциях [2, 8, 11–14]. При этом в большинстве исследований представлены результаты HLA-типирования в низком разрешении [2, 3, 11] или только локусов II класса [15].

Данное исследование позволило получить данные о частотах встречаемости HLA-аллелей и гаплотипов в популяции бурят, проживающих на территории Иркутской области. В исследованной группе выявлены: 31 аллель по локусу A, 57 – по локусу B, 33 – по локусу C, 42 – по локусу DRB1, 19 – по локусу DQB1.

Полученные данные свидетельствуют о следующем профиле частоты распределения аллельных групп локуса HLA-A: HLA-A*24 (22,33%), HLA-A*02 (22,08%), HLA-A*01 (10,92%), который сильно отличается от профилей большинства российских популяций. Для популяции, проживающей на территории Кировской области, распределение частот выглядит как HLA-A*02, A*03, A*24 [2]; для татар, проживающих на территории Республики Татарстан, – HLA-A*02, A*03, A*24 [11]; для русских, проживающих на территории Челябинской области, – HLA-A*02, A*01, A*03 [12]. Это вполне ожидаемо, так как буряты относятся к монголоидной расе, а вышеперечисленные популяции – к европеоидной.

Три наиболее часто встречающихся в популяции бурят аллеля по локусу HLA-A – HLA-A*24:02 (22,08%), HLA-A*02:01 (13,65%), HLA-A*01:01 (10,92%), – по данным сайта The Allele Frequency Net Database [16], совпадают с аллелями в популяции монголов – HLA-A*24:02:01 (20%), HLA-A*02:01:01 (14,3%), HLA-A*01:01:01 (11,4%). Также аллельная группа HLA-A*24 является наиболее часто встречающейся в популяции этнической группы хотонов, относящихся к монголам [16].

Схожие профили распределения частот встречаемости аллелей локуса HLA-A наблюдаются у всех подгрупп монгольского народа [16].

Для локуса HLA-B распределение аллельных групп следующее: HLA-B*40 (18,61%), HLA-B*51 (8,81%), HLA-B*37 (7,07%). В популяции, проживающей на территории Республики Башкортостан, наибольшей частотой встречаемости обладают группы HLA-B*35 (11,51%), HLA-B*07 (10,76%), HLA-B*13 (9,3%), а на самый частый аллель из выявленных в данном исследовании HLA-B*40 приходится 6,39% – также, как и на аллель HLA-B*51 [8].

Для Кировской области наиболее часто встречающимися являются аллельные группы HLA-B*35, HLA-B*07, HLA-B*44. На аллель HLA-B*40 приходится лишь 2,91% [2].

В ходе исследования были выявлены аллельные группы HLA-B*67 (0,12%) и HLA-B*81 (0,25%), которые не обнаружены в популяциях Кировской области и Республики Башкортостан [2, 8].

У подгруппы халха-монголов HLA-B*40 также является наиболее частым вариантом (14,5%), на 2-м месте – HLA-B*51 (12,5%), а на 3-м – HLA-B*15 (11,5%), который занял 5-е место по частоте в популяции бурят [16]. Аллель HLA-B*58, имеющий в популяции бурят частоту встречаемости 4,84%, является наиболее часто встречающимся (19,4%) аллелем у популяции цаатанов – тюркоязычного народа Монголии [16].

Среди аллельных групп HLA-C наиболее часто встречающимися являются HLA-C*03 (30,15%), HLA-C*06 (15,63%), HLA-C*07 (13,4%). Схожий профиль распределения аллелей характерен для популяции халха-монголов – HLA-C*03 (31%), HLA-C*07 (16,5%), HLA-C*06 (10%) [16].

HLA-C*07, расположившийся на 3-м месте, является самым частым аллелем в популяции Кировской области [2], HLA-C*06 – третьим по частоте, а HLA-C*03 – пятым [2]. Похожий профиль выявлен для популяции, проживающей на территории республики Башкортостан: HLA-C*07, C*06, C*04, C*03 [8].

На данный момент объем данных о частотах встречаемости локуса HLA-C в российских популяциях невелик. Возможно, причина этого в том, что большинство исследований в российских популяциях так или иначе связаны с базами данных потенциальных доноров ГСК, а минимальным требованием для включения доноров в регистр является HLA-типирование только по локусам HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 [17, 18].

Среди аллельных вариантов локуса HLA-DRB1 наиболее часто встречаются HLA-DRB1*04 (19,59%), HLA-DRB1*07 (13,65%). Аллель HLA-DRB1*07 (17,25%) также является самым частым в популяции, проживающей на территории республики Башкортостан [8], и вторым по встречаемости на территории Кировской области [2].

Аллель HLA-DRB1*03:01, который занимает 1-е место по частоте выявления в популяции монгольских хотонов (14,3%), у изученной нами популяции представлен значительно реже и имеет частоту встречаемости 5,21% [16]. Аллель HLA-DRB1*07:01 так же, как и в изученной популяции, преобладает над другими вариантами у халха-монголов (12%) [16]. Наиболее часто встречающийся аллель в популяции оолд-монголов HLA-DRB1*11:01 (13,5%) [16] в популяции бурятов имеет частоту 4,83%.

Согласно исследованию популяции бурят ($n = 87$), проживающих на территории

Таблица 3

Гаплотипы HLA-A-B-C-DRB1-DQB1 в порядке уменьшения частоты встречаемости

| Гаплотипы HLA-A-B-C-DRB1-DQB1 | Частота встречаемости | Стандартное отклонение |
|---|-----------------------|------------------------|
| A*24:02-B*40:02-C*03:04-DRB1*04:01-DQB1*03:01 | 0,032653 | 0,006845 |
| A*01:01-B*37:01-C*06:02-DRB1*10:01-DQB1*05:01 | 0,029777 | 0,005578 |
| A*23:01-B*44:03-C*04:01-DRB1*07:01-DQB1*02:02 | 0,028477 | 0,005783 |
| A*02:01-B*13:02-C*06:02-DRB1*07:01-DQB1*02:02 | 0,022333 | 0,005155 |
| A*33:03-B*58:01-C*03:02-DRB1*13:02-DQB1*06:09 | 0,018610 | 0,004566 |
| A*24:02-B*07:02-C*07:02-DRB1*15:01-DQB1*06:02 | 0,018557 | 0,005649 |
| A*01:01-B*37:01-C*06:02-DRB1*15:01-DQB1*06:02 | 0,013638 | 0,004164 |
| A*33:03-B*58:01-C*03:02-DRB1*03:01-DQB1*02:01 | 0,011166 | 0,003684 |
| A*02:01-B*51:01-C*15:02-DRB1*12:01-DQB1*03:01 | 0,011156 | 0,003561 |
| A*31:01-B*48:01-C*08:01-DRB1*12:01-DQB1*03:01 | 0,010859 | 0,003513 |

Гусино-Озерского района Бурятии, проведенному М.Н. Болдыревой и соавт. [16], выявлен схожий профиль распределения частот встречаемости аллелей локуса HLA-DRB1 – HLA-DRB1*04 (20,1%), DRB1*14 (14,4%) и DRB1*07 (13,2%).

Наиболее часто встречающийся в популяции бурят аллель HLA-DQB1*03:01 (29,9%) также значительно преобладает над другими выявленными аллелями в популяциях халха-монголов (25,5%) и оолд-монголов (44,2%). HLA-DQB1*02:02, занимающий в изученной нами популяции 2-е место (частота 11,29%), в популяции монголов выявлен значительно реже (6%) [16]. Несколько отличается профиль распределения частот встречаемости в популяции Тариланских хотонов: DQB1*02:01 (28,8%), DQB1*03:01 (24,6%), DQB1*05:01 (10,3%) [16].

В популяции Кировской области аллельная группа HLA-DQB1*03 также преобладает над всеми остальными – на нее приходится 32,48% [2].

Наиболее часто встречающийся в изученной популяции HLA-A-B-C-DRB1-DQB1 гаплотип – A*24:02-B*40:02-C*03:04-DRB1*04:01-DQB1*03:01 имеет частоту встречаемости 3,27%. Отсутствие данных о пятилокусных гаплотипах для изученных российских популяций и популяций монголов не позволяет провести сравнение полученных данных.

Проведенные исследования позволили выявить сходство профиля HLA-аллелей бурят, проживающих на территории Иркутской области, с большинством популяций монголов и бурят, проживающих на территории Республики Бурятия, и ряд генетических отличий от некоторых российских популяций – так, частоты встречаемости HLA-аллелей по локусам HLA класса I значительно

Таблица 4

Уровни соответствия закону Харди–Вайнберга и ожидаемая гетерозиготность изученных локусов

| Локус | Количество образцов | Гетерозиготность | | Достижимый уровень значимости (p -value) | Стандартное отклонение |
|----------|---------------------|-------------------------------|-----------|---|------------------------|
| | | обнаруженная экспериментально | ожидаемая | | |
| HLA-A | 403 | 0,90323 | 0,89402 | 0,02585 | 0,00009 |
| HLA-B | 403 | 0,94045 | 0,94782 | 0,14008 | 0,00005 |
| HLA-C | 403 | 0,90819 | 0,90631 | 0,59121 | 0,00023 |
| HLA-DRB1 | 403 | 0,92556 | 0,93883 | 0,01980 | 0,00005 |
| HLA-DQB1 | 403 | 0,87841 | 0,86493 | 0,11710 | 0,00022 |

отличаются от выявленных профилей частот встречаемости у потенциальных доноров, проживающих на территории Кировской области и Республики Татарстан [2, 11].

Выявленный новый аллель, а также отличия в HLA-профиле относительно некоторых российских популяций, обуславливают важность проведения дальнейших исследований популяций, проживающих на территории Иркутской области, что будет способствовать генетическому разнообразию национального регистра потенциальных доноров ГСК.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 16-04-00059).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мелкова К.Н. Аллогенная трансплантация костного мозга: ключевые аспекты и основные этапы развития. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика.* 2012; 5(1): 1–3.
2. Логинова М.А., Парамонов И.В., Трофимова Н.П. HLA-аллели I и II классов и гаплотипы у населения, проживающего на территории Кировской области. *Вестник службы крови России.* 2010; (3): 27–31.
8. Логинова М.А., Парамонов И.В., Павлов В.Н., Сафуанова Г.Ш. Генетические особенности популяции, проживающей на территории Республики Башкортостан. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2016; 18(1): 58–66.
9. Население России: численность, динамика, статистика. <http://www.statdata.ru/russia> (доступ 06.04.17)
13. Рудакова Г.А., Вавилов М.Н., Беляева С.В., Завьялова Т.М., Суздалева С.Л., Сулова Т.А. Опыт подбора совместимых доноров костного мозга из регистра Челябинской ОСПК. *Вестник гематологии.* 2015; 11(2): 27–8.
14. Преймачук Е.А., Степанов А.А., Коротаев Е.В., Пономарев С.А. Распределение аллелей HLA у жителей Ханты-Мансийского автономного округа. *Вестник гематологии.* 2015; 11(2): 26–7.
15. 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; 6: 324–9.
18. Павлова И.Е., Бубнова Л.Н., Реутова Н.В., Беляева Е.В. Международные требования к проведению иммуногенетического обследования при выполнении трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и аккредитации лабораторий тканевого типирования. *Медицинская иммунология.* 2011; 13(4–5): 541–3.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

1. Melkova K.N. Allogeneic bone marrow transplantation: key aspects and main stages of development. *Clinical oncohematology. Fundamental research and clinical practice. (Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamentalnye issledovaniya i klinicheskaya praktika).* 2012; 5 (1): 1–3. (in Russian)
2. Loginova M.A., Paramonov I.V., Trofimova N.P. HLA alleles of I and II classes and haplotypes in the population living in the territory of the Kirov region. *Bulletin of Blood Service of Russia (Vestnik sluzhby krovi Rossii).* 2010; (3): 27–31. (in Russian)

3. Kupatawintu P., Pheancharoen S., Srisuddee A., Tanaka H., Tadokoro K., Nathalang O. HLA-A, -B, -DR haplotype frequencies in the Thai Stem Cell Donor Registry. *Tissue Antigens.* 2010; 75(6): 730–6.
4. Mack S.J., Tu B., Lazaro A., Lankaster A.K., Cao K., Ng J., et al. HLA-A, -B, -C and -DRB1 allele and haplotype frequencies distinguish Eastern European Americans from the general European American population. *Tissue Antigens.* 2009; 73(1): 17–32.
5. Sulcebe G., Sanchez-Mazas A., Tiercy J.M., Shyti E., Mone I., Ylli Z., Kardhashi V. HLA allele and haplotype frequencies in the Albanian population and their relationship with the other European populations. *Int. J. Immunogenet.* 2009; 36(6): 337–43.
6. Mackay I., Rosen F.S. The HLA system. *N. Engl. J. Med.* 2000; 343(11): 782–7.
7. Petersdorf E.W., Hansen J.A., Martin P.J., Woolfrey A., Malkki M., Gooley T., et al. Major-histocompatibility-complex class I alleles and antigens in hematopoietic-cell transplantation. *N. Engl. J. Med.* 2001; 345(25): 1794–800.
8. Loginova M.A., Paramonov I.V., Pavlov V.N., Safuanova G.Sh. Genetic features of the population living on the territory of the Republic of Bashkortostan. *Bulletin of Transplantology and Artificial Organs. Russian Journal (Vestnik transplantologii i iskussvennyh organov).* 2016; 18(1): 58–66. (in Russian)
9. Population of Russia: number, dynamics, statistics. Available at: <http://www.statdata.ru/russia> (accessed 06 Apr 2017).
10. Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online.* 2007; 23(1): 47–50. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2658868/>. (accessed 06 Apr 2017).
11. Loginova M., Paramonov I. HLA class I and class II and haplotypes in Tatars, living in the Republic of Tatarstan, Russia. 28th Annual Meeting Abstracts. *Tissue Antigens.* 2014; 84(1): Abstr.136.
12. Suslova T.A., Burmistrova A.L., Chernova M.S., Khromova E.B., Lupar E.I., Timofeeva S.V. Et al. HLA gene and haplotype frequencies in Russians, Bashkirs and Tatars, living in the Chelyabinsk Region (Russian South Urals). *Inter. J. Immunogenetics.* 2012; 39(5): 394–408.
13. Rudakova G.A., Vavilov M.N., Belyaeva S.V., Zavyalova T.M., Suzdaleva S.L., Suslova T.A. Experience of selection of compatible bone marrow donors from the register of the Chelyabinsk ISPK. *Journal of Hematology. Russian Journal (Vestnik gematologii).* 2015; 11(2): 27–8. (in Russian)
14. Preimachuk E.A., Stepanov A.A., Korotaev E.V., Ponomarev S.A. Distribution of HLA alleles among residents of the Khanty-Mansiysk Autonomous Okrug. *Journal of Hematology. Russian Journal (Vestnik gematologii).* 2015; 11(2): 26–7. (in Russian)
15. Boldyreva M.N., Guskova 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. *Immunology. Russian Journal (Immunologiya).* 2006; 6: 324–9. (in Russian)
16. The Allele Frequency Net Database. Available at: <http://www.allelefrequencies.net/> (accessed 06 Apr 2017).
17. Standards for Histocompatibility and Immunogenetics Testing. Available at: <http://efiweb.eu/> (accessed 06 Apr 2017).
18. Pavlova I.E., Bubnova L.N., Reutova N.V., Belyaeva E.V. International requirements for conducting immunogenetic examination in the implementation of transplantation of hematopoietic stem cells and the accreditation of tissue typing laboratories. *Medical immunology. Russian Journal (Medicinskaya immunologiya).* 2011; 13(4–5): 541. (in Russian)

Поступила 22.09.17

Принята к печати 20.10.17