

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

«УТВЕРЖДАЮ»

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц

«*12*» *декабря* 2016г.

Регистрационный № *120-1216*



МЕТОД ПОДБОРА ПАР ДОНОР-РЕЦИПИЕНТ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ  
АЛЛОГЕННЫХ ТРАНСПЛАНТАЦИЙ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ  
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА КЛИНИЧЕСКИ  
ЗНАЧИМЫХ ЛОКУСОВ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА  
ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

Учреждение здравоохранения «9-я городская клиническая  
больница» г. Минска

АВТОРЫ: д.м.н. А.Л.Усс, к.м.н.Левин В.И., к.м.н. И.А. Искров,  
Старцева А.Ю., Горельская Ю.С.

Минск, 2016

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ  
Первый заместитель министра

\_\_\_\_\_ Д.Л. Пиневиц  
16.12.2016  
Регистрационный № 120-1216

**МЕТОД ПОДБОРА ПАР ДОНОР-РЕЦИПИЕНТ  
ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ АЛЛОГЕННЫХ ТРАНСПЛАНТАЦИЙ  
ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК  
НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ЛОКУСОВ  
ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: УЗ «9-я городская клиническая больница»  
г. Минска

АВТОРЫ: д-р мед. наук А.Л. Усс, канд. мед. наук В.И. Левин, канд. мед. наук  
И.А. Искров, А.Ю. Старцева, Ю.С. Горельская

Минск 2016

## **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

Алло-ТГСК — аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

ГСК — гемопоэтические стволовые клетки

СКК — стволовые клетки крови

ТГСК — трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

ГКГС — главный комплекс гистосовместимости

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота

ПЦР — полимеразная цепная реакция

РТПХ — реакция трансплантат против хозяина

HLA — human leukocyte antigens

IMGT — the international ImMunoGeneTics information system

SSO — Sequence Specific Oligonucleotide

SSP — Sequence Specific Priming

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен метод оказания медицинской помощи для использования врачами-гематологами при трансплантации костного мозга, участвующими в поиске и подборе доноров ГСК.

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток сегодня является признанным и широко используемым в мире методом терапии онкогематологических заболеваний и некоторых состояний, связанных с дефицитом кроветворения и иммуногенеза.

Успех лечения с использованием трансплантации ГСК в большой мере зависит от подбора донора, т. е. от степени соответствия антигенов по системе HLA донора и реципиента.

#### **Подбор HLA-идентичного донора при типировании сиблингов**

При поиске родственного донора целью HLA-типирования является определение сиблингов, получивших одни и те же HLA-гаплотипы от матери и отца. Это требует идентификации двух материнских и двух отцовских гаплотипов.

Для решения вопроса о совместимости сиблингов недостаточно провести типирование первого класса или только по локусам HLA-A, HLA-B и HLA-DRB1.

1. Поиск родственного донора начинается с HLA-типирования пациента и возможных доноров. Оно проводится по локусам HLA-A, HLA-B и HLA-DRB1 на низком разрешении. Локусы HLA-A, HLA-B наиболее полиморфны, а вследствие этого данные такого типирования будут наиболее информативны. Первичное типирование локуса HLA-DRB1 позволит уже на первом этапе исключить наличие рекомбинантного по 2 классу гаплотипа у реципиента и его потенциальных доноров, выявляемого на низком разрешении.

2. В случае несовпадения фенотипов пациента и предполагаемого донора по доступным локусам выдается заключение о несовместимости.

3. При нахождении подходящего по доступным локусам донора проводится типирование недостающих локусов по низкому разрешению молекулярно-генетическими методами.

4. В случае нахождения подходящего по доступным локусам донора проводится типирование недостающих локусов по низкому разрешению молекулярно-генетическими методами. Имеющиеся серологические результаты при необходимости нужно дополнительно проверить с помощью молекулярно-генетических методов.

5. Если найден подходящий на антигенном уровне потенциальный донор, учитывая вышеописанные возможные неклассические варианты, целесообразно провести дополнительные исследования для установления всех четырех родительских гаплотипов. Это достигается путем типирования всех доступных близких родственников больного (мать, отец, все сиблинги) либо с помощью типирования высокого разрешения пары донор–реципиент по пяти ключевым локусам. Во многих случаях типирование высокого разрешения – единственно возможный путь точного установления HLA-совместимости при поиске родственного донора, особенно если возможность HLA-типирования близких родственников отсутствует.

6. Перед трансплантацией должно быть выполнено подтверждающее типирование из образцов свежей крови пары донор–реципиент по локусам HLA A, HLA B и HLA DRB1.

Алгоритм выявления серологически неидентифицируемых антигенов системы HLA представлен в приложении А.

#### **Алгоритм подбора неродственного донора в национальном и международном регистрах**

1. Поиск неродственного донора начинается с HLA-типирования пациента. Оно обязательно проводится до аллельного уровня локусов HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1. После этого делается заключение о HLA-фенотипе пациента.

2. В случае нахождения подходящего по доступным локусам донора проводится типирование недостающих локусов по низкому разрешению молекулярно-генетическими методами. Имеющиеся серологические результаты при необходимости нужно дополнительно проверить с помощью молекулярно-генетических методов.

3. Если найден подходящий на антигенном уровне потенциальный донор, необходимо провести типирование высокого разрешения последовательно по локусам HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 до выявления несовместимости по одному из них или до выявления аллельной совместимости реципиента и потенциального донора по всем 5 локусам.

4. В случае выявления несовместимости по одному или нескольким локусам необходимо продолжить поиск неродственного донора в международном регистре с целью нахождения 10/10 HLA-совместимого донора.

5. Если совместимый донор найден выполняется подтверждающее типирование, призванное дать окончательный ответ, достигнута ли та степень совместимости между донором и реципиентом, которая требуется при осуществлении алло-ТПСК. Подтверждающее типирование для алло-ТПСК должно быть высокоразрешающим по локусам HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 и выполнено из образцов свежей крови. После завершения исследования лабораторией выдается заключение о подтверждающем типировании пары донор-реципиент.

Разработанный нами алгоритм подбора неродственного донора в национальном и международном регистрах представлен в приложении Б.

#### **Принятие решения на основе выделения клинически значимых локусов главного комплекса гистосовместимости**

1. Доказано отсутствие разницы между аллельными (по первым четырем цифрам) и антигенными (по первым двум цифрам) несовместимостями. Эти несовместимости вносят равноценный вклад в риск развития РТПХ, поэтому аллельные несовместимости необходимо рассматривать как клинически важные факторы подбора донора. Это подтверждает необходимость высокоразрешающего HLA-типирования при подборе пар для неродственной трансплантации.

2. При проведении HLA-типирования DQB1-несоответствия незначительно влияют на исход трансплантации и допустимы в отсутствие альтернативы. Но DQB1-несоответствия встречаются редко, так как существует сильное неравновесное сцепление между локусами DRB1 и DQB1. Соответственно

пациент, совместимый с донором по локусу DRB1 с очень большой долей вероятности так же будет совместим и по локусу DQB1.

3. Анализ комбинаций несовместимостей выявил аддитивный эффект, который появляется в результате наличия более чем одной несовместимости.

4. Наибольший риск развития РТПХ показан для пациентов, которым была проведена ТГСК с двумя несовместимостями в аллелях разных классов HLA (I+II). По сравнению с этой группой пациенты с двумя неоднозначностями, находящимися в I или во II классе, имели лучшие показатели выживаемости, поэтому DQB1-неоднозначности, которые являются наиболее предпочтительными среди остальных и вызывают отрицательные эффекты в редких случаях, могут сыграть большую роль при наличии дополнительной неоднозначности и в I классе HLA.

5. Неоднозначности в локусах HLA-A, HLA-B и HLA-DRB1 ассоциированы с худшим исходом, нежели неоднозначности в локусах HLA-C и HLA-DQB1.

6. Не все несовместимости на аллельном уровне считаются недопустимыми. Существуют группы аллелей – «G-группы», различия внутри которых не являются препятствием для проведения ТГСК. Аллели в таких группах имеют одинаковые нуклеотидные последовательности в экзонах, кодирующих антиген-связывающие домены (экзон 2 и 3 для HLA класса I и только экзон 2 для HLA аллелей класса II).

7. G-группы для локусов HLA-A, -B, -C, -DRB1 представлены в приложении В.

Пациенту, для которого результат поиска полностью совместимого неродственного донора оказался отрицательным, есть возможность осуществить частично совместимую трансплантацию от донора, имеющего в своем фенотипе аллель, входящую в одну с соответствующей аллелью пациента «G-группу». Такие трансплантации идентичны полностью совместимым. Вышеописанные алгоритмы представлены в приложении Б.

На основе полученных данных международных и собственных исследований нами были разработаны рекомендации по подбору донора для проведения алло-ТГСК.

### **Общие рекомендации для HLA-типирования при проведении неродственного подбора**

1. Высокоразрешающее HLA-типирование локусов A, B, C, DRB1, DQB1 является обязательным.

2. Аллельные и антигенные несовместимости должны считаться эквивалентными.

3. 9/10 или даже 8/10 совместимые доноры могут быть рассмотрены в качестве альтернативы при отсутствии полностью совместимого донора, если различия находятся в локусе DQB1.

4. Если необходимо провести несовместимую более чем по 1 локусу ТГСК, следует избегать комбинации несовместимостей в аллелях разных классов.

5. Необходимо учитывать вероятность нахождения донора для пациента с различиями внутри G-группы и такие различия следует считать эквивалентом совместимости.

### Алгоритм выявления серологически неидентифицируемых антигенов системы HLA



### Алгоритм подбора неродственного донора в национальном и международном регистрах







Таблица В.2. — G-группы локуса HLA-B

*Sequences identical over exons 2+3*

Code in table	Allele 1	Allele 2	Allele 3	Allele 4	Allele 5	Allele 6	Allele 7	Allele 8	Allele 9	Allele 10
B*07:02:01G	B*07:02:01	B*07:02:06	B*07:02:09	B*07:44	B*07:49N	B*07:58	B*07:59	B*07:81	B*07:120	B*07:128
	B*07:129	B*07:130	B*07:156	B*07:161N	B*07:169					
B*07:05:01G	B*07:05:01	B*07:06								
B*08:01:01G	B*08:01:01	B*08:01:14	B*08:01:20	B*08:19N	B*08:109					
B*13:01:01G	B*13:01:01	B*13:01:05	B*13:52	B*13:61						
B*13:02:01G	B*13:02:01	B*13:02:05	B*13:02:09	B*13:36	B*13:69					
B*15:01:01G	B*15:01:01:01	B*15:01:01:02N	B*15:01:06	B*15:01:07	B*15:01:20	B*15:01:22	B*15:102	B*15:104	B*15:140	B*15:146
	B*15:201	B*15:227	B*15:228	B*15:247						
B*15:02:01G	B*15:02:01	B*15:02:06	B*15:214							
B*15:03:01G	B*15:03:01	B*15:103	B*15:220							
B*15:07:01G	B*15:07:01	B*15:07:02								
B*15:11:01G	B*15:11:01	B*15:11:05	B*15:284							
B*15:12:01G	B*15:12	B*15:19	B*15:270							
B*15:123:01G	B*15:123	B*15:151								
B*15:17:01G	B*15:17:01:01	B*15:17:01:02								
B*15:18:01G	B*15:18:01	B*15:198	B*15:263							
B*15:25:01G	B*15:25:01	B*15:25:03	B*15:271							
B*18:01:01G	B*18:01:01:01	B*18:01:01:02	B*18:01:03	B*18:17N	B*18:53	B*18:81				
B*27:04:01G	B*27:04:01	B*27:88	B*27:69							
B*27:05:02G	B*27:05:02	B*27:05:04	B*27:13							
B*27:07:01G	B*27:07:01	B*27:07:02								
B*35:01:01G	B*35:01:01:01	B*35:01:01:02	B*35:01:03	B*35:01:23	B*35:01:25	B*35:01:28	B*35:40N	B*35:42:01	B*35:57	B*35:94
	B*35:134N	B*35:161	B*35:227							
B*35:02:01G	B*35:02:01	B*35:02:05	B*35:220							
B*35:03:01G	B*35:03:01	B*35:70								
B*35:137:01G	B*35:137	B*35:147								
B*35:43:01G	B*35:43:01	B*35:67	B*35:79							
B*37:01:01G	B*37:01:01	B*37:23								
B*38:02:01G	B*38:02:01	B*38:02:05	B*38:18							
B*39:01:01G	B*39:01:01:01	B*39:01:01:02L	B*39:01:01:03	B*39:01:03	B*39:46	B*39:59	B*39:77			
B*40:01:01G	B*40:01:01	B*40:01:02	B*40:01:25	B*40:55	B*40:141	B*40:150	B*40:151	B*40:179	B*40:221	B*40:236
	B*40:241	B*40:247								
B*40:02:01G	B*40:02:01	B*40:56	B*40:97	B*40:144N	B*40:178					
B*40:06:01G	B*40:06:01:01	B*40:06:01:02	B*40:06:03	B*40:06:04						
B*40:40:01G	B*40:40	B*40:229								
B*44:02:01G	B*44:02:01:01	B*44:02:01:02S	B*44:02:01:03	B*44:02:25	B*44:02:27	B*44:19N	B*44:27:01	B*44:86	B*44:118	
B*44:03:01G	B*44:03:01	B*44:03:03	B*44:03:04							
B*46:01:01G	B*46:01	B*46:07	B*46:13							
B*46:01:01G	B*46:01:01	B*46:01:08	B*46:01:09	B*46:15N	B*46:24	B*46:34	B*46:38	B*46:39		
B*47:01:01G	B*47:01:01:01	B*47:01:01:02	B*47:01:02							
B*48:01:01G	B*48:01:01	B*48:01:03	B*48:09							
B*49:01:01G	B*49:01:01	B*49:01:04								
B*51:01:01G	B*51:01:01	B*51:01:05	B*51:01:07	B*51:01:23	B*51:01:35	B*51:11N	B*51:30	B*51:32	B*51:48	B*51:51
	B*51:142									
B*52:01:01G	B*52:01:01:01	B*52:01:01:02	B*52:01:08	B*52:07						
B*54:01:01G	B*54:01:01	B*54:17								
B*55:01:01G	B*55:01:01	B*55:01:03								
B*55:02:01G	B*55:02:01	B*55:02:05								
B*56:01:01G	B*56:01:01	B*56:24	B*56:40							
B*57:01:01G	B*57:01:01	B*57:01:11	B*57:29	B*57:37	B*57:55					
B*58:01:01G	B*58:01:01	B*58:01:04	B*58:01:06	B*58:01:07	B*58:11	B*58:31N				
B*59:01:01G	B*59:01:01:01	B*59:01:01:02								
B*67:01:02G	B*67:01:02	B*67:01:03								
B*81:01:01G	B*81:01	B*81:02	B*81:03							

Таблица В.3. — G-группы локуса HLA-C

*Sequences identical over exons 2+3*

<b>Sequences identical over exons 2</b>					
<i>Code in table</i>	<i>Allele 1</i>	<i>Allele 2</i>	<i>Allele 3</i>	<i>Allele 4</i>	<i>Allele 5</i>
DRB1*01:01:01G	DRB1*01:01:01	DRB1*01:50			
DRB1*03:01:01G	DRB1*03:01:01:01	DRB1*03:01:01:02	DRB1*03:01:08		
DRB1*04:06:01G	DRB1*04:06:01	DRB1*04:06:02			
DRB1*04:07:01G	DRB1*04:07:01	DRB1*04:92			
DRB1*07:01:01G	DRB1*07:01:01:01	DRB1*07:01:01:02			
DRB1*08:01:01G	DRB1*08:01:01	DRB1*08:01:03			
DRB1*11:01:01G	DRB1*11:01:01	DRB1*11:01:08	DRB1*11:97		
DRB1*11:06:01G	DRB1*11:06:01	DRB1*11:129			
DRB1*11:11:01G	DRB1*11:11:01	DRB1*11:11:02			
DRB1*11:13:01G	DRB1*11:13:01	DRB1*11:13:02			
DRB1*12:01:01G	DRB1*12:01:01	DRB1*12:06	DRB1*12:10	DRB1*12:17	
DRB1*13:01:01G	DRB1*13:01:01	DRB1*13:117			
DRB1*14:01:01G	DRB1*14:01:01	DRB1*14:54:01			
DRB1*15:01:01G	DRB1*15:01:01:01	DRB1*15:01:01:02	DRB1*15:01:01:03	DRB1*15:01:01:04	DRB1*15:01:17
DRB1*15:03:01G	DRB1*15:03:01:01	DRB1*15:03:01:02			
C*16:01:01G	C*16:01:01	C*16:58			
C*16:02:01G	C*16:02:01	C*16:02:06			
C*17:01:01G	C*17:01:01:01	C*17:01:01:02	C*17:01:01:03	C*17:02	C*17:03
C*18:01:01G	C*18:01	C*18:02			

Таблица В.4. — G-группы локуса HLA-DRB1

**Sequences identical over exons 2**

<i>Code in table</i>	<i>Allele 1</i>	<i>Allele 2</i>	<i>Allele 3</i>	<i>Allele 4</i>	<i>Allele 5</i>
DRB1*01:01:01G	DRB1*01:01:01	DRB1*01:50			
DRB1*03:01:01G	DRB1*03:01:01:01	DRB1*03:01:01:02	DRB1*03:01:08		
DRB1*04:06:01G	DRB1*04:06:01	DRB1*04:06:02			
DRB1*04:07:01G	DRB1*04:07:01	DRB1*04:92			
DRB1*07:01:01G	DRB1*07:01:01:01	DRB1*07:01:01:02			
DRB1*08:01:01G	DRB1*08:01:01	DRB1*08:01:03			
DRB1*11:01:01G	DRB1*11:01:01	DRB1*11:01:08	DRB1*11:97		
DRB1*11:06:01G	DRB1*11:06:01	DRB1*11:129			
DRB1*11:11:01G	DRB1*11:11:01	DRB1*11:11:02			
DRB1*11:13:01G	DRB1*11:13:01	DRB1*11:13:02			
DRB1*12:01:01G	DRB1*12:01:01	DRB1*12:06	DRB1*12:10	DRB1*12:17	
DRB1*13:01:01G	DRB1*13:01:01	DRB1*13:117			
DRB1*14:01:01G	DRB1*14:01:01	DRB1*14:54:01			
DRB1*15:01:01G	DRB1*15:01:01:01	DRB1*15:01:01:02	DRB1*15:01:01:03	DRB1*15:01:01:04	DRB1*15:01:17
DRB1*15:03:01G	DRB1*15:03:01:01	DRB1*15:03:01:02			