

6. Grimshaw J., Russell I.T. // Lancet. – 1993. – ii: 1317–1322.
7. Carruthers S.G. // CMAJ. – 1999. – Vol.161, No.1. – P.58–61.
8. WHO Model List of Essential Medicines, 17<sup>th</sup> List, March 2011. – Режим доступа: <http://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/en/>. – Дата доступа: 01.02.2012.
9. Распоряжение Правительства Российской Федерации от 07.12.2011г. №2199-р «Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов на 2012 год». – Режим доступа: <http://www.minzdravsoc.ru/docs/government/72>. – Дата доступа: 01.02.2012.
10. Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 26.03.2012г. №25 «О внесении изменения в постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 16 июля 2007г. №65» // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. – 2012. – №38. – 8/25119.
11. Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 30 ноября 2007г. №1650 «О некоторых вопросах бесплатного и льготного обеспечения лекарственными средствами и перевязочными материалами отдельных категорий граждан» // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. – 2007. – №303. – 5/26369; 2009. – №262. – 5/30656).

## COMPARATIVE ANALYSIS OF RESTRICTED LIST OF MEDICINES OF THE WORLD HEALTH ORGANIZATION, THE RUSSIAN FEDERATION AND THE REPUBLIC OF BELARUS

M.M.Sachek, N.Ye.Kheifets, T.I.Kot, S.N.Nikolaeva, S.A.Vanagel, A.S.Rogatsevich

Methodological approaches to the formation of the restricted lists of medicines were studied from the view point of history of this issue, assessment of its current state and main areas for improvement. A comparative analysis on the restricted lists of medicines of WHO (WHO Model List of Essential Medicines), the Russian Federation (List of Vital and Essential Medicines) and the Republic of Belarus (List of Essential Medicines, LEM) was carried out. It was noted that there was an urgent need for implementation of WHO recommendations on the procedure of formation of these lists in the Republic of Belarus. It was emphasized that the current list of the essential medicines in Belarus included, mainly, medicines for rendering medical care at outpatient health care institutions (or at day hospitals) and was, in fact, the list of medicines prescribed to certain categories of patients on preferential terms and free of charge. Therefore it is advisable, in addition to LEM, to elaborate the republican national formulary of medicines as well as to establish and introduce the vertically constructed formulary system.

## МЕТОДОЛОГИЯ HLA-ТИПИРОВАНИЯ ПРИ СОЗДАНИИ РЕСПУБЛИКАНСКОГО РЕГИСТРА ДОНОРОВ КОСТНОГО МОЗГА

Г.В.СЕМЕНОВ, Т.В.БЕЛЯВСКАЯ, Л.А.ВЕСЕЛУХА, Е.Л.ЗЕЛЕНЕВСКАЯ,  
З.И.КРАВЧУК, З.В.ПЕРЕХОД, Н.Н.РАДЧЕНКО, С.В.СЕМЕНОВА,  
М.П.ПОТАПНЕВ

Республиканский научно-практический центр трансфузиологии  
и медицинских биотехнологий, г. Минск

**Цель исследования.** Определить методологические подходы к формированию контингентов доноров гемопоэтических клеток и алгоритм их иммуногенетического обследования для включения в регистр доноров костного мозга.

**Материалы и методы.** Из контингента доноров крови отобраны 3950 потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток. У 3950 доноров серологически в микролимфоцитотоксическом тесте идентифицировали HLA-антигены I класса HLA-A, -B, -Cw, в том числе 1004 донора генотипировали методом ПЦР-SSO по II классу HLA-DRB1\*. HLA-типирование проводили в соответствии с инструкциями по применению производителя.

**Результаты.** В рамках создания Республиканского регистра определен порядок отбора потенциальных доноров гемопоэтических клеток. Разработана форма “Информированного согласия” для доноров костного мозга. Представлен алгоритм HLA-фенотипирования и генотипирования доноров гемопоэтических клеток. Сформирована компьютерная база данных типированных доноров костного мозга. Определены параметры встречаемости антигенов и генов HLA локусов -A, -B, -Cw, -DRB1\*. Сделан вывод о

том, что выбор потенциальных доноров гемопоэтических клеток преимущественно должен проводиться среди доноров крови. Стратегия HLA-типирования образцов крови доноров регистра должна включать серологические методы для идентификации HLA класса I класса и генотипические (SSO и SSP) для получения достоверных и однозначных результатов.

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток является важным компонентом специализированной терапии при онкогематологических, иммунологических и других заболеваниях [3]. Однако родственный совместимый донор обнаруживается только у 30% пациентов, нуждающихся в этом виде лечения. Для 70% пациентов требуется поиск неродственного HLA-совместимого донора, который осуществляется в национальных и международных регистрах HLA-типированных доноров [1, 2]. Необходимо также учитывать, что генетические различия между представителями разных этнических групп населения отражаются и на частоте встречаемости HLA-параметров [5, 6]. Таким образом, необходимость создания в Республике Беларусь Республиканского регистра доноров костного мозга диктуется как генетическими национальными особенностями, не всегда позволяющими найти совместимых доноров в иностранных регистрах, так и высокой стоимостью поиска и активации доноров в иностранных регистрах.

При создании Республиканского регистра доноров костного мозга возникла необходимость решения ряда методологических вопросов, относящихся к:

- рекрутированию потенциальных доноров гемопоэтических клеток;
- первичному иммуногенетическому обследованию рекрутированных доноров гемопоэтических клеток;
- обследованию потенциального донора регистра доноров костного мозга при поступлении заявки на подбор неродственного донора.

Рекрутирование доноров гемопоэтических стволовых клеток включает выбор контингента (доноры крови, волонтеры) и методы привлечения к донорству гемопоэтических клеток. При выборе контингента предпочтение отдается донорам крови. Они состоят на учете на станции переливания крови, состояние их здоровья периодически контролируется, а кровь регулярно тестируется на инфекции. Привлечение к донорству гемопоэтических клеток осуществлялось с использованием средств наглядной агитации, индивидуальных бесед с донорами и заполнением бланка "Информированного согласия". С этой целью разработано "Обращение к донору крови" и "Информированное согласие" для доноров костного мозга. Форма согласия соответствует международным требованиям. В "Информированном согласии" оговаривается добровольность участия в регистре и возможность расторжения согласия донором в одностороннем по-

рядке. Согласие предусматривает конфиденциальность всех получаемых данных.

Первичное иммуногенетическое обследование рекрутированных доноров гемопоэтических клеток заключается в определении антигенов I класса и генов II класса системы HLA и внесении в электронную базу регистра доноров костного мозга их личных данных, HLA-A, B, C фенотипа и HLA-DRB1 генотипа под идентификационным номером.

Алгоритм базового иммуногенетического обследования потенциального донора гемопоэтических стволовых клеток включает:

идентификацию антигенов I класса системы HLA (локусов A, B и Cw), осуществляемую методом серологического типирования в стандартном лимфоцитотоксическом тесте с использованием "Наборов сывороток антилейкоцитарных HLA гистотипирующих, TY BY 190572781.015-2007" производства ГУ "Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий". В отдельных, редких случаях уточнения результатов возникает необходимость в проведении молекулярного типирования;

определение генов II класса системы HLA локуса DRB1\* методами молекулярно-генетического типирования. Технология с использованием метода обратной гибридизации с олигонуклеотидными зондами (PCR-SSO), позволяет проводить скрининговое HLA генотипирование в автоматическом режиме. С 2011 года в лаборатории иммунологического типирования органов и тканей РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий проводится генотипирование образцов крови потенциальных доноров гемопоэтических клеток на платформе "BeeBlot, AutoRELI 48" реагентами "Innogenetics NV", Бельгия локуса HLA-DRB1\* с уровнем разрешения от "низкого" к "среднему". Интерпретация результатов и управление системой обеспечивается сканирующим устройством RELI-Scan и компьютерной программой LIRAS. При неоднозначных результатах генотипирования проводили подтверждающее типирование с использованием аллель-специфических праймеров (PCR-SSP). С 2006 г. в лаборатории иммунологического типирования органов и тканей выполняется молекулярное типирование HLA I и II класса с использованием ПЦР-SSP технологии. В работе использовались наборы AllSet Gold SSP ("Invitrogen", США) с лиофилизированными праймерными смесями "низкого" и "высокого" разрешения, термоциклер "Gradient Palm-

Cycler”, устройство для электрофореза УЭФ-01 (“Хеликон”), транс-иллюминатор UVТ-1 (“Биоком”) и система обработки изображений “ViTran Photo”.

Немаловажное значение имеет и технология получения геномной ДНК, учитывающая как качество выделенной ДНК, так и производительность используемых методов. Мануальное выделение ДНК с использованием набора Dynabeads DNA DIRECT Blood (“Invitrogen”) эффективно, но малопродуктивно. Поэтому экстракцию ДНК из образцов крови потенциальных доноров гемопоэтических клеток осуществляли на автоматическом анализаторе для выделения ДНК “iPrep Purification Instrument” (США) и картриджных наборах iPrep™ PureLink gDNA Blood (США), позволяющих получать качественную ДНК одновременно из 13 проб в течение 35 минут.

Хранение информации HLA-типирования потенциальных доноров осуществляется с использованием программного продукта “Подбор донора” (Donor Search), любезно предоставленного УЗ “9-я ГКБ” г. Минска для последующего совместного использования.

При поступлении заявки от учреждения, планирующего выполнение трансплантации гемопоэтических клеток, проводится целенаправленный поиск гистосовместимого неродственного донора в базе данных регистра доноров костного мозга для конкретного реципиента. В результате поиска выявляют потенциальных доноров, совпадающих с реципиентом по антигенам локусов А и В и максимально совпадающих по генам локуса DRB1 системы HLA. Число таких доноров может быть различным и зависит от частоты встречаемости фенотипа (генотипа). Этих доноров приглашают для углубленного обследования по следующему алгоритму:

- подтверждение донором согласия на донорство гемопоэтических клеток;

- медицинское обследование донора согласно “Инструкции о порядке медицинского осмотра доноров крови” (приложение к постановлению Министерства здравоохранения Республики Беларусь 19.05.2011 № 37);

- молекулярное типирование “low resolution” потенциального донора по генам II класса HLA-DRB1\*, -DQB1\* методом PCR-SSP. При HLA типировании генов II класса число потенциальных доноров сокращается ввиду того, что часть из доноров, совпадающих с реципиентом по I классу, отсеивается как несовпадающие с реципиентом по генам HLA-DRB1\*, -DQB1\*.

- в случае идентичности донора и реципиента на уровне “low resolution” проводится генотипирование I и II классов HLA-A\*, -B\*, -C\*, -DRB1\*, -DQB1\* локусов на уровне “high resolution”.

В настоящее время в Республиканском регистре доноров костного мозга состоит на учете 3950 потенциальных доноров гемопоэтических клеток, оттипированных по антигенам HLA I класса, в том числе 1004 донора генотипированных по II классу (локус DRB1\*). Нами выявлены 16 специфичностей локуса HLA - A, 33 варианта локуса HLA - B, 8 специфичностей локуса HLA - Cw, 13 аллельных вариантов локуса HLA - DRB1\*. По результатам проведенных исследований определены наиболее часто встречаемые антигены и гены в белорусской популяции по локусу HLA - A - A 2 (52,2%), A 3 (25,6%), A 1 (20,0%), A 24 (16,4%), A 11 (12,0%); по локусу HLA - B - B 7 (24,4%), B 44 (19,8%), B 35 (19,7%), B 18 (16,1%), B 13 (11,8%), в 8 (11,7%); по локусу HLA - Cw - Cw 7 (43,7%), HLA - Cw 4 (23,6%), Cw 6 (22,6%), Cw 2 (13,2%); по локусу DRB1\* - DRB1\* 15 (30,9%), DRB1\* 07 (26,3%), DRB1\* 11 (26,1%), DRB1\* 01 (22,0%), DRB1\* 13 (20,7%), DRB1\* 04 (17,2%).

Аналогичную работу проводит УЗ “9-я ГКБ” г. Минска в рамках создания городского регистра HLA-типированных доноров костного мозга. В последующем планируется объединение данных обоих регистров для использования организациями здравоохранения Республики Беларусь и для международного обмена [4].

Таким образом, на основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Выбор потенциальных доноров гемопоэтических клеток преимущественно должен проводиться среди доноров крови, состоящих на учете на станциях переливания крови.

2. Стратегия HLA-типирования образцов крови доноров регистра должна быть представлена тремя методами: серологическим для идентификации антигенов I класса (HLA-A, -B, -Cw) и двумя методами генотипирования (SSO и SSP), в совокупности позволяющими получить достоверные и однозначные результаты.

#### Литература

1. Зарецкая Ю.М., Леднев Ю.А. HLA 50 лет: 1958–2008. – Тверь: ООО “Издательство “Триада”, 2008.
2. Зарецкая Ю.М., Хамаганова Е.Г., Алещенко С.М. Поиск неродственного донора для трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: пособие для врачей. – М., 2002.
3. Клиническая гематология / Под ред. А.Ф.Романовой. – Киев, 2006. – С. 416–440.
4. Усс А.Л., Пиневиц Д.Л., Кушниренко В.С. [и др.] // Медицинские новости. – 2011. – №9. – С.69–70.
5. Bodmer J., Marsh S., Albert E. et al. Nomenclature for factors of HLA-system // European J. Immunogenetics. – 1999. – V. 26. – № 2/3. – P. 81–116.
6. Gonzalez-Galarza F.F., Christmas S., Middleton D. [et al.] // Nucleic Acid Research. – 2011. – V.39. – D.913–919.

## METHODOLOGY OF HLA TYPING FOR CREATION OF THE BELARUSIAN REPUBLICAN REGISTER OF BONE MARROW DONORS

G.V.Semenov, T.V.Belaywskaya, L.A.Weseluha, E.L.Zelenevskaya, Z.I.Kravchuk, Z.V.Perekhod, N.N.Radchenko, S.V.Semenova, M.P.Potapnev

The study aimed at elaboration of the methodological approaches for selection of the donors of haematopoietic stem cells and algorithm of their HLA-typing for inclusion in the register of bone marrow donors was conducted. Whole blood and blood component donors were chosen as donors of haematopjetic stem cells. HLA antigens I class HLA-A, - B, - Cw typing was performed using standard microlymphocytic serological test. HLA antigen class II HLA-DRB1\* were genotyped using PCR-SSO method according to manufacturer instruction. To form of the Republican register of HLA-typed bone marrow

donors we selected 3950 donors, giving blood in RSPC of Transfusiology & Medical BioTechnologies. The form of «Informed consent» for obligatory signing by potential bone marrow donors was elaborated. Altogether 3950 bone marrow donors were serotyped for HLA class I antigens and 1004 donors were genotyped for HLA class II antigens using amplified techniques SSO and SSP. Algorithm of laboratory assessment of the donor' blood samples was elaborated. The computer database of typed bone marrow donors was implicated. Parameters of occurrence the antigenes and genes of HLA of loci – A, - B, - Cw, - DRB1\* in cohort of HLA-typed bone marrow donors was defined. It was concluded that the strategy of HLA typing the potential bone marrow donors for Belarusian national register should include serotyping and genotyping (SSO and SSP) of blood samples for (anti)genes HLA class I and II respectively.

## ОКАЗАНИЕ УРОЛОГИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ ДЕТЯМ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

И.А.СКОБЕЮС, В.И.ДУБРОВ

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск  
УЗ «2-я городская детская клиническая больница», г. Минск

Оказание урологической помощи детям на современном уровне включает ряд связанных и дополняющих друг друга элементов:

- тесное взаимодействие врачей поликлинического звена, детских нефрологических, соматических, хирургических и урологических стационаров;
- применение малоинвазивных диагностических методов исследования и оперативного лечения детей с пороками развития органов мочеполовой системы;
- обновление основных методов исследования и лечения по мере их появления с внедрением в клиническую практику.

В Республике Беларусь создана и функционирует служба по оказанию урологической помощи детскому населению, начиная с амбулаторно-поликлинического звена, стационарных межрайонных и областных учреждений и заканчивая республиканским центром детской урологии на базе 2-ой городской детской клинической больницы г. Минска.

Служба детской урологии Республики Беларусь представлена следующими этапами:

- 1-й этап оказания детской урологической помощи включает в себя участковых педиатров и детских хирургов поликлиники. Основная задача этого этапа

– выявление детей с урологической патологией и лечение неосложненных инфекций мочевых путей;

- 2-й этап – детские урологи городских поликлиник, в задачи которых входит оказание специализированной консультативно-диагностической помощи. В некоторых районных городах (Барановичи, Лида, Бобруйск, Новополоцк) в составе межрайонных детских хирургических или урологических отделений выделены койки для детей с урологической патологией, где выполняются несложные оперативные вмешательства;

- 3-й этап – областные больницы, где созданы консультативные центры и развернуты койки для детей с урологической патологией в составе детских хирургических и урологических отделений. В каждой области имеется главный внештатный специалист по детской урологии. На этом этапе проводятся все необходимые клиничко-лабораторные, функциональные и рентгенологические методы исследования, выполняются операции при врожденных пороках развития мочеполовой системы;

- 4-й этап – это республиканский центр детской урологии. В центр направляются пациенты, нуждающиеся в сложных методах диагностики и лечения, которые невозможно выполнить на предыдущих этапах.