

**Основы иммуногенетики в
клинической иммунологии
Система лейкоцитарных антигенов
человека (HLA система)**

HLA – Human Leukocyte Antigens

MHC – Major Histocompatibility
Complex

Иммуногенетика – одно из важных направлений иммунологии, изучающее генетический контроль иммунного ответа.

Главный комплекс гистосовместимости – МНС (Major Histocompatibility Complex)

Ж.Снелл и П. Горер – открытие у мышей локуса тканевой совместимости (H-2)

Ж. Доссе (1952 г.) обнаружил в крови реципиента после гемотрансфузии изоантитела против лейкоцитов человека (HLA-B2)

Продукты генов МНС человека были названы HLA (Human Leukocyte Antigens)

История изучения антигенов гистосовместимости :

- 1952 г. - открыт первый антиген гистосовместимости человека (Ж.Доссэ);
- 1966 г. - доказана ведущая роль HLA антигенов в развитии реакции отторжения трансплантата (Дж. ван Рууд и др.);
- 1972 г. - установлена корреляция между аллельными вариантами HLA антигенов и определенными заболеваниями (З.Фалчук и др.);
- 1973 г. - установлена структура HLA антигенов класса I (К.Накамура и др.);
- 1974 г. - показана роль антигенов гистосовместимости в ограничении иммунного ответа (двойное распознавание, Р.Цинкернагель, П.Доэрти);

История изучения антигенов гистосовместимости :

- 1980 г. – Нобелевская премия по медицине вручена Жану Доссе, Баруху Бенасеррафу и Джорджу Снеллу за открытие системы гистосовместимости.
- 1981 г. - осуществлено выделение и определение аминокислотной последовательности антигенов HLA класса II (Г.Кратцин и др.);
- 1983 г. - продемонстрирован биохимический полиморфизм HLA антигенов (Р.Василов и др.);
- 1987 г. - определена пространственная структура HLA-A2 антигена (П.Беркман и др.);
- 1991-1993 г. - установлен характер распределения HLA антигенов в большинстве этнических групп планеты.

Система НЛА обеспечивает регуляцию иммунного ответа путем ряда функций:

- презентации антигена Т-лимфоцитам;
- селекции и обучении Т- и В-лимфоцитов в отношении «своего» и «не своего»;
- взаимодействия клеток иммунной системы;
- распознавания «своего» и «не своего», в т.ч. измененных собственных клеток;
- участия в реакциях «РХПТ» и «РТПХ»;
- запуске, реализации и контроле иммунного ответа;
- формировании иммунологической толерантности, в т.ч. в период беременности к полуаллогенному плоду;
- обеспечении выживаемости человека как вида в условиях экзогенной и эндогенной агрессии

Особенности HLA-системы

- Полигенность (включает 224 локуса);
- Гены HLA характеризуются высоким полиморфизмом;
- Наибольшим полиморфизмом обладают гены HLA 1 класса (HLA-A более 450 аллельных вариантов, HLA-B более 780 и HLA-C более 238) и 2 класса (HLA-DR – 440 аллельных вариантов, HLA-DP- 124);
- Благодаря полиморфизму HLA обеспечивается выживаемость человека в инфекционном окружении, т.к. микроорганизмы обладают высокой изменчивостью;
- Гены HLA наследуются кодоминантно, т.е. у потомков экспрессируются одновременно гены, полученные от обоих родителей.

HLA - система включает:

Гены гистосовместимости (расположены в коротком плече 6 хромосомы у человека).

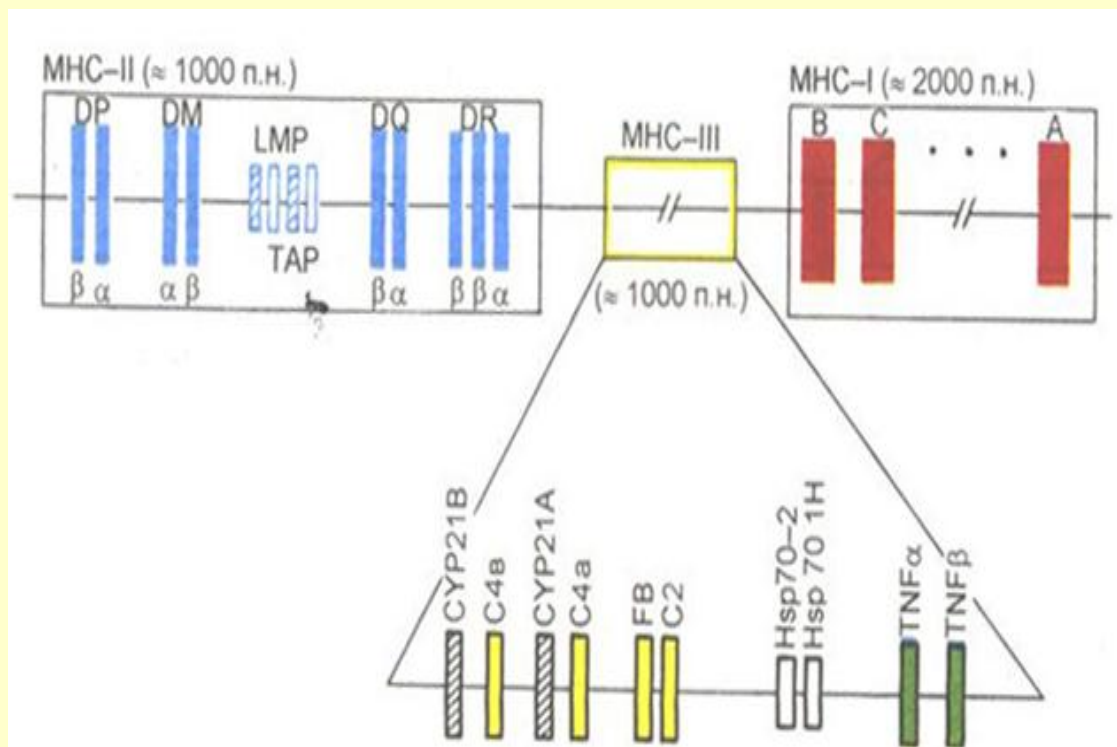
Аг гистосовместимости – это поверхностные структуры цитомембран клеток, индуцирующие реакцию отторжения, кодируемые генами гистосовместимости.

HLA включает 3 класса

ГЕНОВ:

- **Гены 1 класса** – (локусы HLA-A , HLA-B, HLA-C) отличаются высоким полиморфизмом и кодируют синтез молекул HLA 1 класса
- **Гены 2 класса** – (HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP) контролируют синтез молекул HLA 2 класса
- **Гены 3 класса** – кодируют молекулы врожденного иммунитета (компоненты комплемента C2, C4, ФНО, лимфотоксин, фактор В, белки теплового шока и др.)

Строение HLA – системы (локализуется на коротком плече 6 аутомосомной хромосомы между генами, кодирующими гипоксалазу (GLO) и мочевой пепсиноген-5 (Pg5))



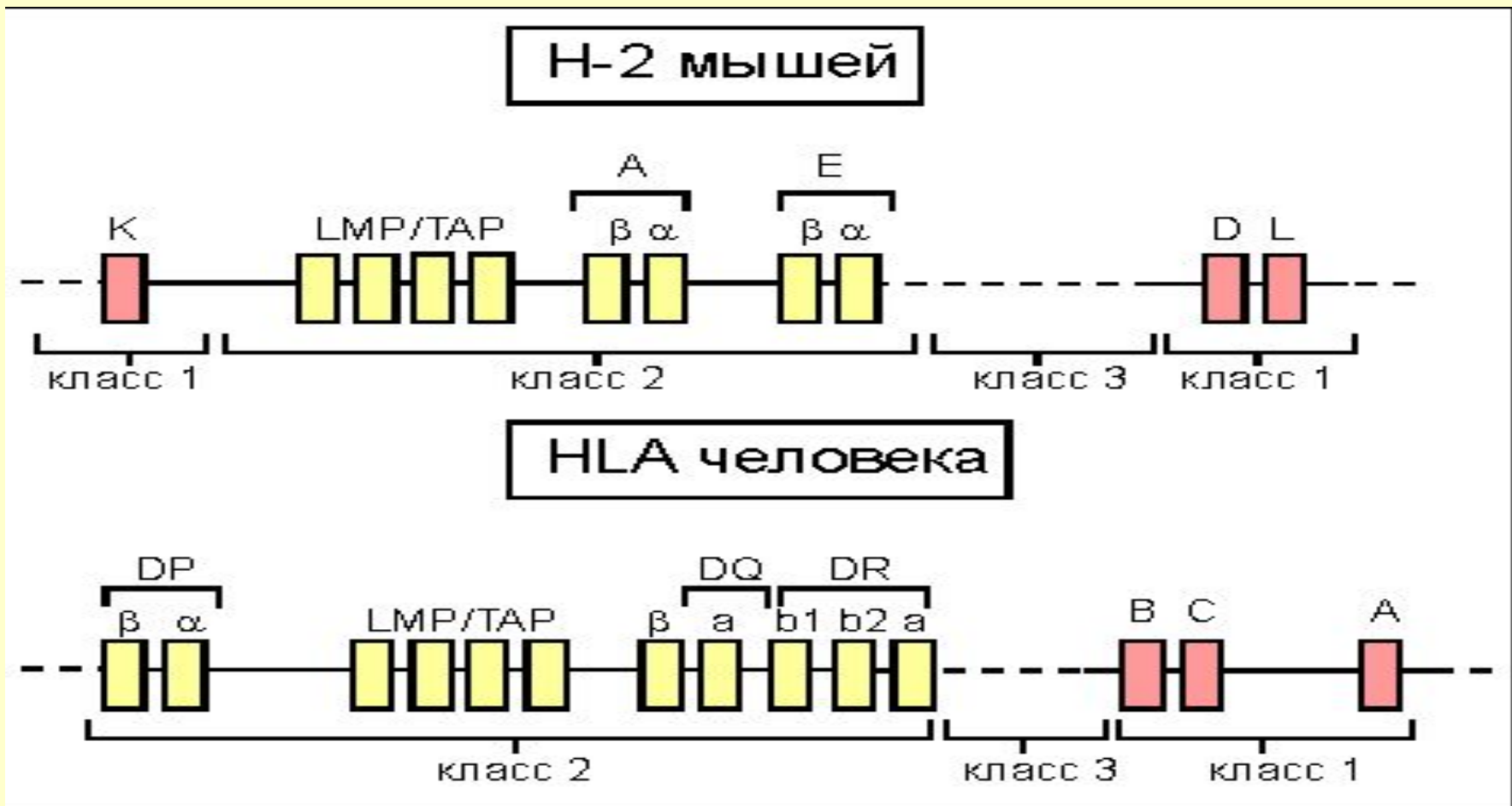
HLA – система состоит из следующих локусов:

A, B, C (I класс)

DP, DQ, DR (II класс)

Гены, кодирующие молекулы врожденного иммунитета (III класс)

Генная организация главного комплекса гистосовместимости у мышей и человека.



Характеристика генов и антигенов

HLA-системы

Гены 1 класса (локусы A, B, C) – контролируют экспрессию трансплантационных (SD) Ag

- SD- Ag экспрессируются на всех клетках
- Обладают консерватизмом, мало меняются в процессе филогенеза
- Отличаются постоянством набора генов для данного вида

Ag HLA 1 класса

- Присутствуют практически на всех клетках организма, за исключением ранних эмбриональных
- В наибольшем количестве представлены на лимфоцитах, клетках эпителия и эндотелия.
- Ag локусов 1 класса занимают около 1% клеточной поверхности
- Выступают в качестве рецепторов для чужеродных Ag
- Обеспечивают взаимодействие между ИКК и другими клетками организма
- Принадлежит ведущая роль во взаимодействии между клеткой-эффектором и клеткой-мишенью в процессе иммунного ответа.

Характеристика генов и антигенов HLA- системы

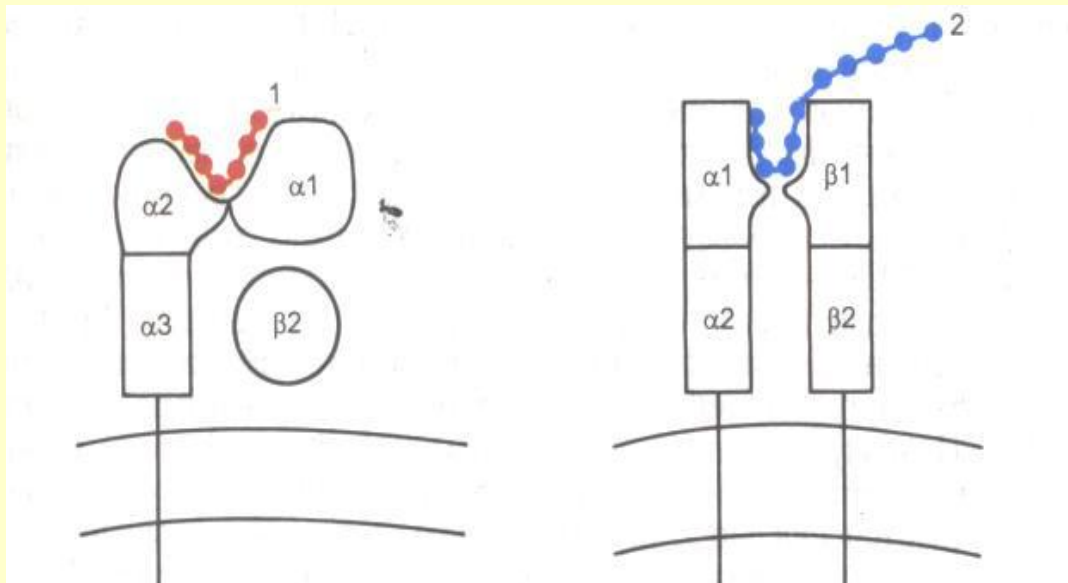
Гены 2 класса

- принадлежат к D/ DR локусам
- Связаны с генами иммунного ответа Ir (Immune response)

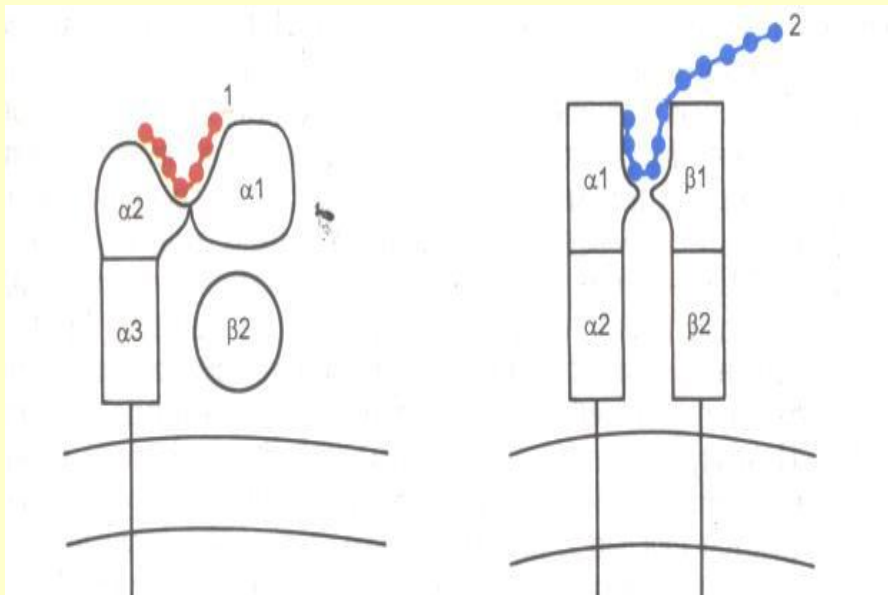
Аг HLA 2 класса

- Опосредуют взаимодействие Т- , В-лимфоцитов и макрофагов в иммунном ответе
- **HLA-DR** в наибольшем количестве представлены на В-лимфоцитах, макрофагах, клетках эпителия и эндотелия
- **Ir–Аг** синтезируются и секретируются макрофагами, экспрессируются на В-лимфоцитах (до 90%), Т-лимфоцитах (до 50%)
- Главная функция Ir–Аг - обеспечение взаимодействия АПК и ИКК в иммунном ответе
- Сцепленностью генов иммунного ответа (Ir-генов) с определенными гаплотипами HLA объясняют развитие различных иммунопатологий.

Строение НЛA-Аг (МНС 1 и 2 класса)



- *Состоят из гликополипептидных цепей α и β*
Каждая цепь включает два наружных домена, трансмембранную часть и цитоплазматический участок



*Молекула МНС I
состоит из 2-х
полипептидных цепей –
α и β2 микроглобулина*

*Молекула МНС II
состоит из 2-х
трансмембранных
гликопротеинов α и β
цепей*

Гены HLA 3 класса – это область генома внутри комплекса MHC 1 и 2 классов (локус ВF), в которой картированы гены, кодирующие синтез следующих белков:

- Компонентов комплемента (C2, C4a, C4b)
- Цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1)
- Гены 21-гидроксилазы – фермента, участвующего в биосинтезе стероидных гормонов

Ag HLA 3 класса – активация комплемента классическим и альтернативным путем.

Механизмы связи HLA- системы с болезнями

Генетическая детерминированность – истинное сцепление «патологического» гена с антигенами HLA, при котором «патологический» ген передается по наследству совместно с тем или иным локусом HLA (например, дефицит С2, С4)

Механизмы связи HLA- системы с болезнями

Генетические ассоциации – объясняют 3 гипотезами:

- **Рецепторная** – HLA-Аг рассматриваются как рецепторы, взаимодействующие с некоторыми вирусами, что облегчает их проникновение в клетку.
- **Молекулярная мимикрия** – структурное сходство HLA-Аг с Аг некоторых вирусов и бактерий, вследствие чего иммунная система остается толерантной к чужеродным Аг.
- **Модификация HLA-Аг** – изменение структуры собственных Аг под действием вирусов или др. чужеродных Аг, вследствие чего собственные Аг распознаются как чужеродные (индукция аутоиммунного процесса).

Ассоциация генов МНС с различными заболеваниями

Заболевание	Аллель HLA	Относительный риск развития заболевания
<i>Антигены HLA класса I (HLA-B27)</i>		
Анкилозирующий спондилит	B27	87,4
Болезнь Рейтера	B27	37,0
Постсальмонеллезный артрит	B27	29,7
Увеит	B27	14,6
Амилоидоз при ревматоидном артрите	B27	8,2
<i>Другие антигены HLA класса I</i>		
Подострый тиреоидит	B35	13,7
Обыкновенная пузырчатка	Cw6	13,3
Злокачественная миастения	B8	4,4
<i>Антигены HLA класса II</i>		
Болезнь Хашимото	DR11	3,2
Первичная микседема	DR17	5,7
Базедова болезнь	DR17	3,7
Инсулинзависимый диабет	DQ8	14,0
	DQ2/8	20,0
	DQ6	0,2
Болезнь Аддисона	DR17	6,3
Синдром Гудпасчера	DR2	13,1
Ревматоидный артрит	DR4	5,8
Ювенильный ревматоидный артрит	DR8	8,1
Синдром Шегрена	DR17	9,7
Рассеянный склероз	DR2, DQ6	12,0
Герпетиформный дерматит	Dr17	56,4

Связь генов HLA с болезнями

Большинство аутоиммунных заболеваний связано с генами HLA 2 класса (инсулинзависимый сахарный диабет – с аллелями DQ6 и DQ2, болезнь Бехтерева – с аллелями B27, выявляемого у 95% больных)

Полиморфизм генов врожденного иммунитета, например, TLR связан с развитием аллергических, аутоиммунных и инфекционных заболеваний

HLA типирование - *исследование антигенов главного комплекса гистосовместимости человека*

Задачи HLA типирования

- биологическая идентификация (HLA-тип наследуется вместе с родительскими генами),
- определение предрасположенности к различным заболеваниям,
- подбор доноров для пересадки органов
- диагностика иммунологических причин бесплодия и привычного невынашивания беременности.

Анализ полиморфизма HLA

- Серологический метод
(лимфоцитотоксический тест)
- Молекулярно-генетический метод (ПЦР - полимеразная цепная реакция).

Лимфоцитотоксический тест

- К сывороткам против разных антигенов HLA добавляют по 2000 исследуемых лимфоцитов.
- После инкубации добавляют комплемент (его источником может служить кроличья сыворотка).
- Лимфоциты, несущие антиген, против которого направлена сыворотка, под действием комплемента разрушаются.
- Затем к лимфоцитам добавляют краситель, который окрашивает только живые клетки.

Результат оценивают по относительному числу погибших лимфоцитов. Резко положительный результат свидетельствует о том, что лимфоциты несут исследуемый антиген.



Оценка результатов лимфоцитотоксического теста

Число погибших клеток, %	Балл	Результат
0—10	1	Отрицательный
11—20	2	Сомнительный
21—50	4	Слабо положительный
51—80	6	Положительный
81—100	8	Резко положительный

Типирование HLA

Номер сыворотки	Специфичность антител	Балл
1	A1	8
2	A1, A36	8
3	A1, A3, A11	6
4	A2	1
5	A2, A28	1
6	A3	8
7	A3, A1, 1B14	8
8	A23, A24	1
9	A24	1

Заключение: на исследуемых клетках присутствуют антигены HLA-A3 и HLA-A1

ПЦР

- Получение чистой геномной ДНК (из цельной крови, лейкоцитарной суспензии, тканей).
- Затем образец ДНК копируется - амплифицируется в пробирке с использованием праймеров (коротких одноцепочечных ДНК), специфичных к определенному HLA -локусу.
- После ПЦР, в ходе многократного копирования, получается большое количество фрагментов ДНК, которое можно оценить визуально. Для этого реакционные смеси подвергают электролизу или гибридизации, и определяют, произошла ли специфическая амплификация, при помощи программы или таблицы.

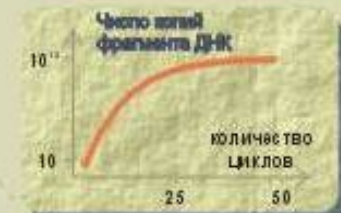
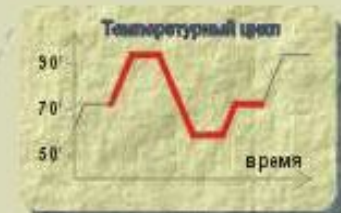


Стадии метода ПЦР

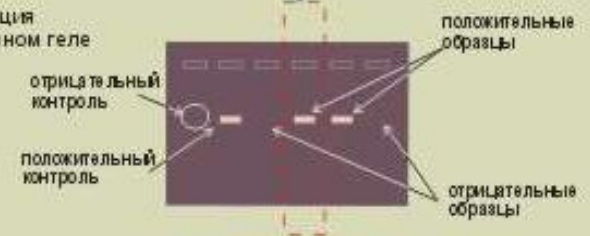
1. Выделение ДНК



2. Амплификация



3. Детекция в агарозном геле



Зоб Хашимото



Ревматоидный артрит



Системная склеродермия



Псориаз



Витилиго



Герпетический дерматит Дюринга



Системная красная волчанка



Бесплодие и привычное невынашивание беременности

