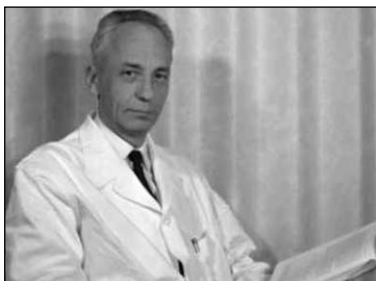


Смолянинов А.Б., Жаров Е.В., Волкова О.Я., Котелевская Е.А., Коровина К.В.

HLA-типирование и банкирование стволовых клеток пуповинной крови

СПб Государственный университет, Медицинский факультет
Покровский банк стволовых клеток,
Центр клеточной и генной терапии, Санкт-Петербург
Институт восстановительной медицины, Москва,

Главный комплекс гистосовместимости (major histocompatibility complex, МНС) – это группа генов и кодируемых ими антигенов клеточной поверхности, которые играют важнейшую роль в распознавании чужеродного и развитии иммунного ответа. Открытие МНС произошло при исследовании вопросов внутривидовой пересадки тканей. Главный комплекс гистосовместимости человека получил название HLA (human leukocyte antigen). HLA был открыт в 1952 г. при изучении антигенов лейкоцитов [1, 4].



Профессор Жан Доссе в 1980 г. получил Нобелевскую Премию за открытие HLA-главного комплекса гистосовместимости человека совместно с Барухом Бенасеррафом и Джорджем Снеллом.

Основной функцией белков МНС является регуляция иммунного ответа. Именно молекулы антигенов HLA обеспечивают представление чужеродных антигенов Т-лимфоцитам. Они образуют комплекс с пептидами, полученными в результате внутриклеточного протеолиза. По современным представлениям система HLA, обеспечивая регуляцию иммунного ответа, осуществляет такие важнейшие физиологические функции, как взаимодействие иммунокомпетентных клеток организма, распознавание клеток, запуск и реализация иммунного ответа [2, 3].

В 1952 г. профессор Жан Доссе открыл HLA – главный комплекс гистосовместимости человека. Мировую известность французскому ученому принесли исследования в области иммунологии, в первую очередь – совершенное им совместно с Барухом Бенасеррафом и Джорджем Снеллом открытие человеческих лейкоцитарных антигенов (HLA), входящих в главный комплекс гистосовместимости. Благодаря этому открытию ученые получили возможность предсказывать вероятность реакции отторжения при пересадке органов и

тканей, что сделало возможным развитие современной трансплантологии [3, 4].

Последующие исследования Жан Доссе были посвящены генетическим причинам развития ряда хронических заболеваний. В 1980 г. Доссе, Бенасерраф и Снелл были удостоены Нобелевской премии по медицине и физиологии «за открытия, касающиеся генетически детерминированных структур на клеточной поверхности, регулирующих иммунологические реакции».

Антигены HLA подразделяются на антигены класса I и антигены класса II. Антигены HLA класса I необходимы для распознавания трансформированных клеток цитотоксическими Т-лимфоцитами. Важнейшая функция антигенов HLA класса II – обеспечение взаимодействия между Т-лимфоцитами и макрофагами в процессе иммунного ответа.

Гены MHC у человека расположены на 6 хромосоме и занимают значительный участок ДНК, включающий до 4×10^6 пар оснований или около 50 генов. Они обладают самым высоким полиморфизмом, который определяет антигенную индивидуальность каждого человека. Это свойство антигенов HLA, а также способность каждой антигенпрезентирующей клетки экспрессировать несколько разных молекул MHC обеспечивают возможность презентации Т-клеткам множества самых различных антигенных пептидов. Проведение HLA-типирования очень важно при создании регистра доноров пуповинной крови [1, 2].

При трансплантации стволовых клеток пуповинной крови в результате различий по антигенам MHC возникает иммунологическая несовместимость клеток донора с тканями реципиента, которая является причиной отторжения трансплантируемого материала и реакции «трансплантат против хозяина». Поэтому определение антигенов HLA классов I и II имеет огромное значение в клинической иммунологии при подборе пар донор-реципиент перед трансплантацией стволовых клеток пуповинной крови.

Подобрать донора пуповинной крови, полностью совместимого с реципиентом по антигенам HLA, очень сложно, поскольку число комбинаций, составленных более чем из 100 антигенов этого семейства, чрезвычайно велико. Вероятность найти полностью совместимого донора составляет от 1:1000 до 1:1000000 в зависимости от распространенности того или иного антигена HLA. Вероятность подбора полностью совместимого донора среди родных братьев и сестер составляет 1:4, так как гены HLA наследуются по законам генетики.

Типирование антигенов HLA у родственников реципиента проводят для подбора донора, совместимого с реципиентом по одному или обоим гаплотипам. Обычно, если не произошла рекомбинация, родители совместимы с детьми по одному из гаплотипов. Если гаплотипы HLA двух родственников совпадают хотя бы по нескольким антигенам HLA классов I и II, с высокой вероятностью можно предположить, что остальные гены, входящие в гаплотипы HLA этих родственников, также идентичны. При совместимости донора и реципиента по антигенам HLA отторжение трансплантата можно предотвратить с помощью минимальной иммуносупрессивной терапии, необходимой для подавления иммунного ответа на слабые антигены гистосовместимости, не относящихся к антигенам HLA.

Найти донора, полностью совместимого с реципиентом по антигенам HLA, среди людей, не являющимися его родственниками, почти невозможно, поэтому доноров чаще подбирают среди братьев и сестер реципиента.

HLA-типирование выполняют и при беременности. При беременности выполняется HLA-генотипирование аллелей I и II класса супругов. Для нормального протекания беременности необходимо, чтобы супруги отличались HLA-антигенами. Каждый HLA-антиген у человека представлен 2-мя аллелями, одна аллель достается от матери, другая от отца. Если аллель, унаследованная от отца, отличается от аллели матери, то у плода HLA-антигены отличаются от HLA-антигенов матери, из-за присутствия отцовской компоненты. В результате чего на ранних стадиях развития беременности HLA-антигены плода, отличающиеся от антигенов матери, вызывают антигенную стимуляцию иммунной системы матери. В организме матери возникает иммунный ответ, заключающийся в том, что В-лимфоциты эндометрия вырабатывают «защитные» антитела против отцовской компоненты HLA-антигенов плода. Антитела связываются с HLA-антигенами плода, и защищают плод от натуральных киллеров матери, способствующих отторжению эмбриона.

Если же аллель, унаследованная от отца не отличается от аллели матери, то у плода HLA-антигены не отличаются от HLA-антигенов матери. В результате чего на ранних стадиях развития беременности не происходит антигенной стимуляции иммунной системы матери, или происходит слабая стимуляция. В результате зародыш не распознается организмом матери как плод, а воспринимается как измененные (опухолевые) клетки собственного организма. На такие клетки реагируют натуральные киллеры и происходит самопроизвольное прерывание беременности.

Следовательно, для нормального протекания беременности HLA-антигены отца должны отличаться от HLA-антигенов матери. При возникновении проблем с зачатием ребенка, супругам следует провести HLA-генотипирование аллелей I и II класса: A, B, Cw, DR и DQ.

Важным фактором среди маркеров, с помощью которых можно достоверно определить отцовство, является HLA-комплекс. HLA-антигены – это индивидуальный (биометрический!) паспорт клетки, весьма точно обозначающий принадлежность к конкретному организму.

В последнее десятилетие благодаря достижениям молекулярной биологии и генетики появилась возможность изучения не только антигенов HLA, но и кодирующих их генов. Разработанный несколько лет назад метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) и применение его в ДНК-генотипировании аллелей HLA открыл перспективы в повышении эффективности изучения генетической предрасположенности к заболеваниям, что позволяет выявлять случаи более высокого относительного риска развития патологии, быстро и объективно проводить обследование значительных контингентов населения, проживающих в различных регионах России и СНГ, а также проводить обследование здоровых sibсов с целью прогноза развития целого ряда заболеваний, например, инсулинзависимого сахарного диабета в семьях с высокой заболеваемостью. В то же время идентификация, например, аллелей HLA II класса может привести к обнаружению новых, не известных до настоящего времени, но тесно ассоциированных с HLA-маркеров.

При определении различных HLA антигенов этого комплекса можно рассчитать относительный риск возникновения ряда заболеваний, таких как – артриты, системная красная волчанка, ИБС, гипертоническая болезнь, сахарный диабет, псориаз, лейкозы, заболевания щитовидной железы, рассеянный склероз и многие другие.

Гемопозитические стволовые клетки пуповинной крови имеют свои преимущества и недостатки, самым значимым детерминантом результатов трансплантации пуповинной крови является иммунологическое происхождение донорских клеток. Клинические результаты зависят от адекватности выбора донора по антигенам HLA-системы, чем меньше совместимость, тем более риск отторжения, болезни трансплантат против хозяина и замедления иммунного восстановления [2]. Дополнительным критерием выбора

источника гемопоэтических стволовых клеток является заболевание, так как генетически детерминированные болезни ограничивают жизнеспособность аутологичного трансплантата.

Литература:

1. Введение в молекулярную медицину (Под ред. Пальцева М. А.). – М., «Медицина». – 2004. – С. 319–337.
2. Смолянинов А.Б., Жаров Е.В., Козлов К.А., Кириллов К.А. Основы клеточной и генной терапии сердечно-сосудистых заболеваний. – М., 2005. – 192 с.
3. De Wynter E., Testa N. Interest of cord blood stem cells // Biomed Pharmacother. – 2001. – № 98. – P.3486–8.
4. Steinbrook R. The cord-blood-bank controversies // N. Engl. J. Med. – 2004. – Vol.351, № 22. – P.2255–2257.