

СИСТЕМА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

Дмитриева Н.Г., Яковчик О.Н., Ватазин А.В., Зулькарнаев А.Б., Федулкина В.А.

ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» (МОНИКИ); 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация

Изложено современное представление об организации генов главного комплекса гистосовместимости, их белковых продуктах и номенклатуре лейкоцитарных антигенов человека.

Ключевые слова: главный комплекс гистосовместимости, лейкоцитарные антигены человека, белки, гены, трансплантация почки.

HISTOCOMPATIBILITY SYSTEM IN RENAL TRANSPLANTATION

Dmitrieva N.G., Jakovchik O.N., Vatazin A.V., Zul'karnaev A.B., Fedulkina V.A.

Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., 129110 Moscow, Russian Federation

The paper presents a contemporary view on organization of genes in the major histocompatibility complex, their protein products, and nomenclature of human leukocyte antigens.

Key words: major histocompatibility complex, human leukocyte antigens, proteins, genes, renal transplantation.

В соответствии с современными представлениями о природе иммунитета основным назначением иммунной системы является иммунный ответ, т.е. реакция на агенты, биологически чуждые и потенциально опасные для организма. В основе реакции данной системы лежит распознавание антигенов, которые несут чужеродные агенты, специфическими клонами лимфоцитов с последующей их активацией, размножением и созреванием в клетки-эффекторы (киллеры), ответственные за удаление упомянутых агентов из организма. Поскольку на антигены реагируют лишь те клоны, которые способны распознать их с помощью специальных рецепторов, в иммунный ответ вовлекается относительно небольшая часть клеток системы. После удаления антигенных субстанций иммунная система возвращается к исходному состоянию обогащенная клетками памяти. Наличие иммунологической памяти способствует ускорению реакций на повторное поступление тех же антигенов.

Основой иммунного ответа является активация В-лимфоцитов, ответственных за образование антител, а также Т-лимфоцитов и макрофагов, обеспечивающих клеточный иммунитет. В реакциях обоих типов участвуют вспомогательные клетки – антигенпрезентирующие (АПК) и Т-хелперы. Антиген может быть опознан иммунной системой и спосо-

бен индуцировать ответ лишь при условии его связывания и обработки АПК. Система гистосовместимости (тканевой совместимости) и существует для распознавания «своего» и «чужого».

Важнейшую роль в распознавании чужеродного биологического материала играет главный комплекс гистосовместимости (major histocompatibility complex, МНС) – большая группа тесно сцепленных генов, обладающих крайне выраженным полиморфизмом. Эти гены кодируют специфические мембранные белки – главные человеческие лейкоцитарные антигены (human leucocyte antigens, HLA) [1].

В 1952 г. группой ученых под руководством J. Dausset были обнаружены антилейкоцитарные аллоантитела, проявляющие активность против лейкоцитов неродственных индивидуумов. В 1958 г. была выявлена первая специфичность HLA на лейкоцитах, получившая название МАС (в настоящее время – HLA-A2). Следующим этапом исследований явилось обнаружение высокого титра антилейкоцитарных антител в сыворотке крови многократно рожавших женщин.

С 1964 г. началось широкое международное сотрудничество по изучению системы HLA, продолжающееся и сегодня. С этого времени проводятся регулярные рабочие конференции (Workshop and Con-

ference of Histocompatibility). На конференции 1965 г. было постулировано, что открытые специфичности принадлежат одной сложной иммунной системе.

ГЕНЫ СИСТЕМЫ МНС

Специальной комиссией ВОЗ была установлена стандартная номенклатура. Весь комплекс называется HLA. На сегодняшний день представлена полная карта генов короткого плеча 6-й хромосомы, где находятся гены, кодирующие пептиды системы HLA. Эти гены объединены в локусы и составляют три региона, каждый из которых имеет характерные генные продукты и функции. Продуктами данных регионов являются белки HLA классов I, II и III.

К классу I относятся классические HLA-A, -B, -C гены и их серологически выявляемые антигены, неклассические гены: HLA-E, -F, -G; гены, связанные классом I, – MICA и MICB, а также псевдогены. Продуктом классических генов класса I являются гликопротеиновые молекулы, экспрессированные на мембранах почти всех ядросодержащих клеток организма. Особенно плотно они представлены на мембранах Т-лимфоцитов.

Регион класса II (D-регион) состоит из пяти субрегионов: классические гены DR, DQ, DP, неклассические гены, кодирующие минорные антигены, – DO и DM, а также псевдогены. Более плотно продукты этих генов представлены на мембранах В-лимфоцитов и АПК. Продукты генов HLA, расположенные на клеточных мембранах вместе с HLA-рецепторами, составляют эпитопы.

Семейство генов HLA II класса DR включает один ген, кодирующий α -цепь, и до девяти (в том числе и псевдогены), кодирующих цепь β : DRB1-9. При этом все HLA-DR содержат продукты гена DRB1, однако некоторые варианты также включают добавочную β -цепь.

Регион класса III содержит гены структуры компонентов комплемента C2 и C4, а также факторов некроза опухоли и белков теплового шока, вовлеченных в иммунологическую функцию. На схеме строения системы HLA показаны псевдогены и не-

экспрессирующиеся гены с неизвестной функцией (рис. 1).

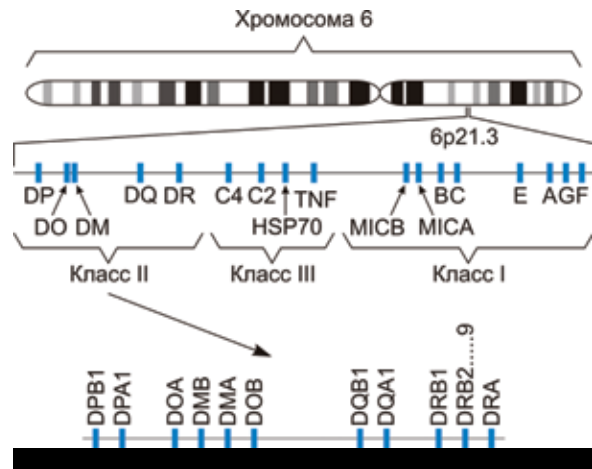


Рис. 1. Главный комплекс гистосовместимости

В развитии реакции отторжения наибольшее значение имеют молекулы МНС I и II классов. Гены, содержащиеся в ядре клетки и кодирующие белки HLA, составляют генотип системы МНС, в то время как HLA-специфичности, выявляемые на клеточных мембранах, образуют фенотип.

Помимо крайне выраженного полиморфизма гены HLA обладают еще одной особенностью. Наследование таких генов происходит по кодоминантному типу, т.е. у потомства в одинаковой степени проявляются HLA-аллели, полученные от каждого из родителей (рис. 2). Комбинация аллелей из разных локусов на одной хромосоме называется гаплотипом и наследуется блоком. В ряде случаев кроссинговера блоковое наследование нарушается и образуется рекомбинантный гаплотип. Такие случаи крайне редки из-за близкого расположения генов на хромосоме [2, 3, 4].

БЕЛКИ СИСТЕМЫ HLA

Строение и функции белковых продуктов экспрессии генов МНС изучены весьма хорошо. Молекула HLA I класса состоит из полиморфной α -цепи, име-

Дмитриева Надежда Григорьевна – канд. мед. наук, врач клинической лаборатории МОНИКИ. **Яковчик Ольга Николаевна** – врач клинической лаборатории МОНИКИ. **Ватазин Андрей Владимирович** – д-р мед. наук, профессор, руководитель отдела трансплантологии, нефрологии и хирургической гемокоррекции МОНИКИ. **Зулькарнаев Алексей Батыргараевич** – канд. мед. наук, доцент кафедры трансплантологии, нефрологии и хирургической гемокоррекции МОНИКИ. **Федулкина Вероника Андреевна** – канд. мед. наук, мл. науч. сотр. хирургического отделения трансплантологии и диализа.

Для корреспонденции: Зулькарнаев Алексей Батыргараевич – 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация. Тел.: (+7) 916 705 98 99. E-mail: 7059899@gmail.com

Dmitrieva Nadezhda Grigor'evna – MD, PhD, physician of the Clinical Laboratory, MONIKI. **Jakovchik Ol'ga Nikolaevna** – MD, physician of the Clinical Laboratory, MONIKI. **Vatazin Andrey Vladimirovich** – PhD, Professor, Head of the Department of Transplantology, Nephrology and Surgical Hemocorrection, MONIKI. **Zul'karnayev Aleksey Batyrgaraevich** – PhD, Assistant Professor, the Chair of Transplantology, Nephrology and Surgical Hemocorrection, MONIKI. **Fedulkina Veronika Andreevna** – PhD, junior scientific worker, Surgical Department of Transplantology and Dialysis, MONIKI.

Correspondence to: Zul'karnayev Aleksey Batyrgaraevich – 61/2 Shchepkina ul., 129110 Moscow, Russian Federation. Tel.: (+7) 916 705 98 99. E-mail: 7059899@gmail.com

ющей три внеклеточных домена, а также трансмембранный и цитоплазматический сегменты. Эта цепь связана с инвариабельной молекулой β_2 -микроглобулина. Структура α -цепи такова, что ее домены α_1 и α_2 образуют антигенсвязывающую область. В качестве антигенов выступают аминокислотные последовательности определенной длины. Строение молекул HLA II класса сходно с I с той лишь разницей, что переменными являются обе цепи – и α , и β , имеющие по два внеклеточных домена, а также трансмембранный и цитоплазматический сегменты.

В комплексе с молекулами I класса (A, B, C), присутствующими на мембране практически всех клеток (кроме эритроцитов и клеток трофобласта), осуществляется презентация антигенов клеткам CD8+ (цитотоксическим лимфоцитам). В ассоциации с молекулами MHC II класса (DR, DQ, DP и др.), экспрессированными на поверхности АПК (дендритные клетки, моноциты/макрофаги, В-лимфоциты), происходит презентация антигенов Т-клеткам CD4+ (Т-хелперам).

Молекулы HLA различаются не только по размеру связываемых пептидов, но и по типу этих пеп-

тидов. Как правило, молекулы I класса участвуют в презентации цитозольных (внутриклеточных) пептидов, синтезированных внутри клетки, например, вирусных. Молекулы II класса чаще всего связывают экстрацеллюлярные и экзогенные пептиды, попавшие в клетку путем фагоцитоза или пиноцитоза.

Экспрессия HLA на мембране клеток непостоянна и может меняться в зависимости от влияния различных факторов. Так, в результате действия ИФН γ повышается плотность экспрессии HLA I и II классов на клетках, не являющихся «профессиональными» АПК и обычно не экспрессирующими эти молекулы, – например, эндотелиоцитах и эпителиальных клетках почечных канальцев. Таким образом, большое количество клеток почечного аллотрансплантата способно экспрессировать HLA обоих классов и быть мишенью клеточных реакций иммунной системы реципиента.

Молекулы HLA экспрессируются на поверхности АПК – макрофагов, дендритных клеток, В-лимфоцитов, а также эндотелиальных и мезангиальных клеток почечного аллотрансплантата – и обеспечивают презентацию фрагментов аллоантигенов эффекторным Т-клеткам. Таким образом, реализуется генетическая рестрикция: для взаимодействия с Т-клеточным рецептором чужеродный антиген должен быть представлен в виде комплекса с продуктами HLA I или II класса собственных АПК. Взаимодействующие клетки одновременно распознают «свое» и «чужое» [3, 5].

НОМЕНКЛАТУРА СИСТЕМЫ HLA И МЕТОДЫ ТИПИРОВАНИЯ

HLA-специфичности обозначаются следующим образом: сначала записывается буква, определяющая локус (A, B, C, DR и т.д.), а затем – номер специфичности. Некоторые малоизученные специфичности обозначаются буквой «W» (Workshop) и номером. Такие фенотипы соответственно записываются как HLA-A1,2; B7,35; Cw1,2. Термином «гаплотип» обозначают набор генов одной хромосомы: A1, B7, Cw1.

HLA-специфичности могут быть выявлены с помощью типизирующих сывороток, полученных из крови многократно рожавших женщин. Метод называется «серологическое HLA-типирование», выполняется в микролимфоцитотоксическом тесте с последующим микроскопированием. С разработкой и внедрением новых биотехнологий, а именно получения моноклональных сывороток, были выявлены как новые HLA-специфичности, так и аллели уже известных генов. Поэтому иногда фенотип записывается так: A29(19), 26(10); B44(12), 62(15); DRB1:13(6), 17(3). Цифры в скобках соответствуют

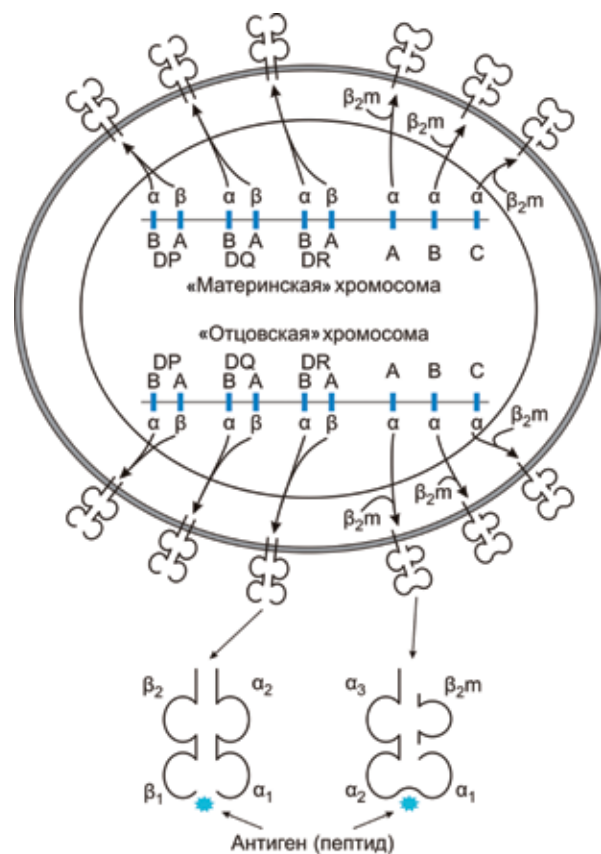


Рис. 2. Гены системы HLA и их продукты

номеру аллеля по старой номенклатуре, т.е. ген A19 имеет аллели 29, 30, 31, 32, 33; A10 – 25, 26, 34, 66; B12 – 44, 45; B15 – 62, 70, 75, 76, 77; DRB1-3 – 17, 18. Цифры без скобок присваиваются аллелям, которые выявляются серологически, еще их называют сплитами. Для HLA-A19 сплиты – это 29, 30, 31 и т.д., для HLA-B12 – 44 и 45, для HLA-DRB1-3 – 17 и 18.

Существуют специфичности, которые не выявляются с помощью сывороток. Они были обнаружены при использовании полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для специфичности HLA-DRB1-17 (3) существует 8 аллелей, для 18 – 3, для 13 – 25 и т.д.

Следующим этапом исследования HLA-специфичностей было внедрение ПЦР. Принципиальное отличие данного метода в том, что выявляются непосредственно гены системы HLA. Метод значительно более чувствительный по сравнению с серологическим, т.к. сыворотки, содержащие антитела, зачастую дают ложноположительные реакции, поскольку могут содержать и другие антитела, а процесс получения моносывороток сложен и трудоемок. Данный метод позволяет открывать не только новые гены HLA, но и аллели уже известных генов. Так, ген HLA-A1 имеет более 80 аллелей, A2 – более 120, B27 – более 60, DRB1-13 – 25. Аллелям, выявляемым при помощи ПЦР, присваиваются четырех- и пятизначные номера. Типирование до этих аллелей называется типированием высокого разрешения (high resolution) и применяется при пересадке костного мозга. При HLA-типировании реципиентов, нуждающихся в трансплантации аллогенной почки, и потенциальных доноров используются наборы низкого разрешения (low resolution) – этого достаточно для трансплантации солидных органов: почки, печени, сердца и др.

Полиморфизм генов HLA является главной причиной развития иммунной реакции и отторжения при пересадке солидных органов и гемопоэтических клеток костного мозга. Подбор максимально генетически совместимого донора был и остается основой для успешного приживления

трансплантата и длительности его функции, несмотря на определенные успехи в области иммуносупрессивной терапии, хирургии и криоконсервации донорских органов. В HLA-номенклатуре в пределах каждого локуса (A, B, DR) различают три уровня генетического полиморфизма: базовый (broad), расщепленный (split) и аллельный (allelic) (рис. 3).

Базовый уровень получил название серологического, поскольку первоначально полиморфизм HLA изучался при помощи лимфоцитотоксического теста или серологического типирования лейкоцитов. Позднее при анализе ДНК было обнаружено, что в пределах одной серологической группы существует широкая генетическая вариабельность. Полиморфные участки ДНК в пределах одной группы называют аллелями. Таблицы HLA-антигенов ежегодно обновляются, поскольку открываются новые аллельные варианты генов.

Хотя генетические различия в пределах одного аллеля не ограничиваются четырехзначными цифрами, дальнейшее расщепление гена не приводит к значимой иммунной атаке со стороны иммунокомпетентных клеток. Поэтому даже при трансплантации костного мозга обычно достаточно генотипирования с точностью до четвертого знака (или аллельного уровня). В случае же трансплантации солидных органов надежная удовлетворительная приживаемость трансплантата достигается при подборе совместимого донора по пяти основным локусам – A, B, Cw, DR, DQ – на уровне серологической группы [4, 5, 6, 7]. Всего на данный момент известно около 8,5 тыс. аллелей, 6725 из которых относятся к HLA I класса, а 1771 – II класса.

МИНОРНЫЕ АНТИГЕНЫ ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ

Помимо главных HLA существуют и минорные антигены клеточных мембран, роль которых в развитии отторжения менее значима. Минорные антигены гистосовместимости (minor histocompatibility antigens, miHA) – крайне полиморфные по функ-



Рис. 3. Принцип организации номенклатуры HLA

ции и строению белки, которые различаются даже у монозиготных близнецов. Они также способны активировать клетки CD4 и CD8, вызывая иммунный ответ, проявляющийся в виде реакции отторжения. Даже в случае гендерных различий в паре «донор – реципиент» минорные антигены, кодируемые генами Y-хромосомы, могут играть роль в повышении риска развития острого отторжения [8]. При этом известно, что несовпадение по минорным антигенам гистосовместимости также может приводить к развитию иммунологически обусловленной трансплантационной нефропатии.

Таким образом, гены главного комплекса гистосовместимости и кодируемые ими лейкоцитарные антигены – ключевые факторы, определяющие выживаемость почечных трансплантатов. Выявление новых аллелей продолжается несколько десятков лет. Дальнейшее развитие тканевого ДНК-типирования может способствовать более точному подбору пары «донор – реципиент», что позволит улучшить результаты трансплантации органов.

Литература

1. Thorsby E. A short history of HLA. *Tissue Antigens* 2009;74(2): 101-16.
2. Шумаков В.И., ред. Трансплантология. Руководство. М.: Медицина – Тула: Репроникс Лтд; 1995. [Shumakov V.I., editor. *Transplantology. Manual*. Moscow: Meditsina – Tula: Reproniks Ltd; 1995 (in Russian)].
3. Klein J., Sato A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med* 2000;343(10):702-9.
4. Marsh S.G., Albert E.D., Bodmer W.F., Bontrop R.E., Dupont B., Erlich H.A., Fernández-Viña M., Geraghty D.E., Holdsworth R., Hurley C.K., Lau M., Lee K.W., Mach B., Maiers M., Mayr W.R., Müller C.R., Parham P., Petersdorf E.W., Sasazuki T., Strominger J.L., Svejgaard A., Terasaki P.I., Tiercy J.M., Trowsdale J. Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. *Tissue Antigens* 2010;75(4):291-455.
5. Данович Г.М. Трансплантация почки. Пер. с англ. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013. [Danovich G.M. *Renal transplantology*. Moscow: GEOTAR-Media; 2013 (in Russian)].
6. Erlich H. HLA DNA typing: past, present, and future. *Tissue Antigens* 2012;80(1):1-11.
7. McCluskey J., Kanaan C., Diviney M. Nomenclature and serology of HLA class I and class II alleles. *Curr Protoc Immunol* 2003; Appendix 1:Appendix 1S.
8. Pabón M.A., Navarro C.E., Martín R., Rodríguez M., Martín I., Gaitán L., Gómez A., Lozano E. Minor histocompatibility antigens as risk factor for poor prognosis in kidney transplantation. *Transplant Proc* 2011;43(9):3319-23.