

## План

### Введение

- 1) Понятие HLA системы
- 2) HLA и беременность
- 3) История трансплантологии
- 4) Трансплантационный иммунитет: общая характеристика
- 5) ТРАНСПЛАНТАЦИОННЫЕ АНТИГЕНЫ
- 6) Механизмы трансплантационного иммунитета.
- 7) Иммунологические исследования после трансплантации
- 8) Иммунологическая толерантность к трансплантату.

### Заключение

### Литература

## Введение

Определение совместимости пациента и донора кроветворных клеток осуществляется с помощью системы HLA (это английская аббревиатура, которая расшифровывается как «human leucocyte antigens», а в дословном переводе - «человеческие лейкоцитарные антигены»). Другое ее название – «главный комплекс гистосовместимости» и она была открыта в 50-десятых годах XX века. Эта система представляет собой комплекс генов, выполняющих различные биологические функции, и в первую очередь обеспечивающих генетический контроль иммунного ответа и взаимодействие между собой клеток, которые реализуют этот ответ.

Система HLA является одной из наиболее изученных среди всех сложных генетических систем человека, поскольку именно она может помочь решить такие важные проблемы медицины, как трансплантация органов и тканей, борьба с онкологическими и аутоиммунными заболеваниями.

## Понятие HLA системы

HLA - human leucocyte antigens - антигены тканевой совместимости. (синоним: MHC - major histocompatibility complex - главный комплекс гистосовместимости).

На поверхности практически всех клеток организма представлены молекулы (белки), которые носят название антигенов главного комплекса гистосовместимости (HLA - антигены). Название HLA - антигены было дано в связи с тем, что эти молекулы наиболее полно представлены именно на поверхности лейкоцитов (клетки крови). Каждый человек обладает индивидуальным набором HLA - антигенов.

Молекулы HLA выполняют роль своеобразных "антенн" на поверхности клеток, позволяющих организму распознавать собственные и чужие клетки (бактерии, вирусы, раковые клетки и т.д.) и при необходимости запускать иммунный ответ, обеспечивающий выработку специфических антител и удаление чужеродного агента из организма.

Синтез белков HLA - системы определяется генами главного комплекса гистосовместимости, которые расположены на коротком плече 6-й хромосомы. Выделяют два основных класса генов главного комплекса гистосовместимости:

I класс включает гены локусов A, B, C;

II класс - D-область (сублокусы DR, DP, DQ).

HLA антигены I класса представлены на поверхности практически всех клеток организма, в то время, как белки тканевой совместимости II класса выражены преимущественно на клетках иммунной системы, макрофагах, эпителиальных клетках.

Антигены тканевой совместимости участвуют в распознавании чужеродной ткани и формировании иммунного ответа. HLA - фенотип обязательно учитывается при подборе донора для процедуры трансплантации. Благоприятный прогноз пересадки органа выше при наибольшем сходстве донора и реципиента по антигенам тканевой совместимости.

При наследовании антигенов тканевой совместимости ребенок получает по одному гену каждого локуса от обоих родителей, т.е. половина антигенов тканевой совместимости наследуется от матери и половина от отца. Таким образом, ребенок является наполовину чужеродным для организма матери. Эта "чужеродность" является нормальным физиологическим явлением, запускающим иммунологические реакции, направленные на сохранение беременности. Формируется клон иммунных клеток, вырабатывающий специальные "защитные" (блокирующие) антитела.

Несовместимость супругов по HLA-антигенам и отличие зародыша от материнского организма является важным моментом, необходимым для сохранения и вынашивания беременности. При нормальном развитии беременности "блокирующие" антитела к отцовским антигенам появляются с самых ранних сроков беременности. Причем, самыми ранними являются антитела к антигенам II класса гистосовместимости.

Для определения антигенов тканевой совместимости у супругов проводится HLA-типирование. Для проведения анализа берется кровь из вены, и из полученного образца выделяют лейкоциты (клетки крови, на поверхности которых наиболее широко представлены антигены тканевой совместимости). HLA-фенотип определяется методом цепной полимеразной реакции.

HLA включает три класса генов:

- гены класса I (HLA-A, HLA-B, HLA-C) наиболее удалены от центромеры, отличаются очень высоким полиморфизмом и кодируют синтез молекул HLA класса I. В дополнение к классическим локусам HLA-A, HLA-B, HLA-C к первому классу относят «неклассические» гены HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-H (см. рис. 7-1). Они менее полиморфны.

- гены класса II (HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR) контролируют синтез молекул HLA класса II. К этой же группе генов относят LMP и TAP, кодирующие белки, которые ответственны за процессирование эндогенных антигенов;
- гены класса III кодируют молекулы врожденного иммунитета (компоненты комплемента C2, C4, ФНО, лимфотоксин, фактор В, вовлекаемый в альтернативный путь активации комплемента, белки теплового шока и др.).

Система HLA обеспечивает регуляцию иммунного ответа, осуществляя важнейшие функции:

- презентацию антигена Т-лимфоцитам;
- селекцию и обучение Т- и В-лимфоцитов в отношении «своего» и «не своего»;
- взаимодействие клеток иммунной системы организма;
- распознавание «своего» и «не своего», в том числе измененных «своих» клеток;
- участие в реакциях «хозяин против трансплантата» и «трансплантат против хозяина»;
- запуск, реализацию и генетический контроль иммунного ответа;
- формирование иммунной толерантности, в том числе в период беременности, к полуаллогенному плоду;
- обеспечение выживания человека как вида в условиях экзогенной и эндогенной агрессии.

## HLA и беременность

Бесплодие в браке - актуальная и сложная медико-социальная проблема. Одной из причин бесплодия является наличие у супругов одинаковых вариантов (аллелей) генов главного комплекса гистосовместимости (этот вариант часто обозначается как «совпадение супругов по HLA-типированию», «сходство супругов по HLA-антигенам»).

Оплодотворённая яйцеклетка получает от родителей по половине их генетического набора. Таким образом, плод является частично «чужеродным» для матери. Эта «чужеродность» является нормальным и необходимым явлением. Только в случае «чужеродности плода» запускаются иммунологические реакции, направленные на его сохранение.

С самых ранних сроков беременности начинают вырабатываться специальные защитные (блокирующие) антитела. Эти антитела блокируют HLA-антигены отца от эффекторных клеток иммунной системы матери, они защищают плод от материнских «естественных киллеров», NK-клеток, способствующих отторжению эмбриона.

Если HLA-антигены матери и отца имеют большой процент сходства, то плод не будет достаточно «чужеродным». Это становится причиной недостаточной антигенной стимуляции иммунной системы матери и необходимые для сохранения беременности реакции не запускаются.

Зародыш воспринимается организмом матери не как плод, а как изменённые клетки собственного организма («неправильные», вроде опухоли), против которых начинает работать система уничтожения. В результате происходит прерывание беременности.

Таким образом для диагностики иммунных форм бесплодия и невынашивания беременности необходимо генотипировать супругов по локусу HLA для антигенов класса II (HLA-типирование). Генотипирование проводится по HLA-DR и HLA-DQ антигенам, так как эти антигены представлены на клетке в несравненно большем количестве и являются наиболее иммуногенно активными.

При наличии у супругов повышенного количества (более 3) общих HLA-антигенов (часто наблюдается при родственных браках) развивается невынашивание беременности.

Большой процент совпадений по HLA-аллелям у мужа и жены может расцениваться как абсолютная иммуногенетическая несовместимость – в таком случае даже зачатие невозможно.

Для преодоления проблемы сходства супругов по HLA-антигенам существует несколько видов терапии: иммунизация матери концентрированной культурой лимфоцитов мужа; иммунотерапия препаратами иммуноглобулинов человека и др. При абсолютной иммуногенетической несовместимости возможно использование донорской спермы.

## История трансплантологии

Пересадка органов и тканей является одной из сложных и актуальных медико-биологических, социальных проблем. Эта область знаний выделилась в самостоятельный раздел науки, получившей название – трансплантологии. Наряду с хирургическими аспектами трансплантология ставит на разрешение вопросы, связанные с заготовкой, хранением трансплантатов, изучение трансплантационного иммунитета, изучение закономерностей приживления тканей и органов и восстановление их функций.

Естественно, что современные успехи трансплантологии во многом обеспечены успехами стимулированных ею областей знаний. Особый интерес к трансплантологии сложился после первой пересадки сердца 3 декабря 1967 г., сообщение о которой по своей сенсационности было ничуть не меньшим, чем сообщение о первом полете человека в космос.

За прошедшие двадцать лет мир трансплантаций был исследован, освоен и заселен тысячами пациентов. На глазах общественности, исследователей и представителей прессы пересадки органов, некогда бывшие в диковинку, выдвинулись на авансцену медицины. В связи с пересадкой сердца многие темы, прежде обсуждавшиеся только врачами, стали достоянием мировой гласности.

В истории трансплантологии выделяют 2 периода:

I период – хирургический.

Издавна люди мечтали о возможности замещения пораженного органа другим здоровым органом или замещении дефектов тканей искусственными материалами. Раскопки курганов и захоронений подтверждают, что древние лекари делали «заплаты» на поврежденных черепах воинов из пластинок золота и серебра. В качестве пластического материала использовали даже скорлупу кокосовых орехов.

Пересадка тканей одного человека другому долгое время оставалась неразрешимой проблемой медицины. Но смелые опыты продолжались. Амбруаз Паре (XVII) пересадил французской принцессе на место больного зуба здоровый зуб ее камеристки.

II период – биолого-хирургический - с середины XX века.

Дальнейшему развитию трансплантологии способствовало совершенствование хирургической техники, разработка метода искусственного кровообращения, достижения реаниматологии. Большая заслуга в разработке аппарата искусственного кровообращения принадлежит советским ученым Брюхоненко и Чечулину. Ими был разработан автожелектор позволяющий осуществлять искусственное кровообращение, как всего тела, так и изолированного органа.

Разрабатывалась проблема получения трансплантатов для пересадки. И здесь весомый вклад внесен советскими исследователями. До 30-х годов нашего столетия врачи весьма скептически относились к использованию трупных тканей в качестве пластического материала, было распространено мнение, что кровь умершего непременно содержит быстро развивающиеся трупные яды, которые оказывают на больного смертельное действие.

В 1928 г. профессор В.Н. Шамов высказал мысль о возможности переливания трупной крови. Через год он доказал, что микробы из кишечника попадают в брыжеечные вены через 20-22 часа после смерти человека.

В 1934 г. Ю.Ю. Вороной пересадил почку от трупа женщине умиравшей от отравления ртутью, но пересаженная почка оказалась функционально неполноценной. Четыре последующие операции, выполненные им до 1950 г. также не принесли успеха.

Большого успеха в пересадке почки добился в 1954 г. американский хирург Д. Мюррей. Но донор и реципиент были однойцовыми близнецами, а их ткани абсолютно тождественны и не вызывают иммунологического конфликта. Правда Мюррею предстояло первому преодолеть «этический барьер» в связи с удалением нормальной почки у здорового донора.

Первые экспериментальные попытки пересадки сердца относятся к началу XX столетия и связаны с именами Корреля и Гутри, которые в 1905 г. осуществили трансплантацию сердца на шею собаки реципиента, сердце донора работало 2 часа.

В 1945-48 годах советский ученый А.П. Синицын, профессор нашего института, разработал собственный оригинальный метод трансплантации сердца у лягушек. Животные с трансплантатом жили длительной время и модель явилась уникальной для доказательства принципиальной возможности существования животного с пересаженным сердцем.

С 1946 г. начал свои исследования выдающийся отечественный ученый В.П. Демихов. Им впервые в 1955 г. показана возможность ортотонической трансплантации сердца в эксперименте.

В декабре 1967 г. Кристиан Барнард из Кейптауна осуществил первую в истории успешную операцию трансплантации сердца от человека к человеку. Первый больной прожил 18 дней и погиб от пневмонии. 2 января 1968 г. Барнард производит вторую пересадку. На этот раз значительно удачнее. Больной прожил около двух лет. Последующие два года явились годами так называемого «трансплантационного бума», охватившего все страны мира.

В ноябре 1968 г. профессор А.А. Вишневский произвел первую в СССР пересадку сердца. Бурный всплеск активности кардиохирургов привел к тому, что в 1969 г. в мире было сделано 100 операций пересадки сердца. Но энтузиазм быстро угас, так как итоги оказались неутешительными. Более года жило всего около 20% оперированных больных.

В 1978 г. хирурги стали применять новое эффективное лекарство – циклоsporин-A, предотвращающий реакцию отторжения. Препарат буквально произвел революцию.

#### Трансплантационный иммунитет: общая характеристика

Основные закономерности отторжения чужеродной ткани были выявлены при трансплантации кожных лоскутов между инбредными линиями мышей. При первичной пересадке аллотрансплантата в первые два дня устанавливается общее кровообращение между трансплантатом и реципиентом, края пересаженной кожи срастаются с кожей хозяина. Внешне в течение 4-5 дней трансплантат кажется прижившимся. Однако именно в этот внешне благополучный период формируются эффекторные механизмы отторжения.

При повторной пересадке трансплантата от того же донора реакция отторжения развивается приблизительно в два раза быстрее - за 6-8 дней. Первоначальная незначительная васкуляризация трансплантата быстро сменяется тромбозом сосудов и клеточным некрозом.

Иногда наблюдается особо острая форма вторичного отторжения ( second set rejection ) по типу " белого трансплантата ". При этой форме вторичного отторжения не происходит васкуляризации трансплантата. Процесс отмирания ткани начинается сразу после пересадки. Трансплантат остается тонким и депигментированным.

Реакция вторичного отторжения специфична и не наблюдается при пересадке трансплантата от постороннего донора на исходного реципиента. В этом случае аллотрансплантат отторгается по варианту первичной пересадки (first set rejection).

Гены МНС наследуются в соответствии с законами Менделя и экспрессируются кодоминантно. Иными словами, каждый индивид наследует два гаплотипа ("половинных набора") генов, по одному от каждого родителя; оба гаплотипа экспрессированы в равной степени.

Молекулы (антигены) МНС распределены неодинаково среди клеток разных типов. В обычных условиях молекулы МНС класса I экспрессирует большинство ядерных клеток (у некоторых видов также эритроциты и тромбоциты), тогда как экспрессия молекул МНС класса II ограничена антигенпрезентирующими клетками, такими как дендритные клетки и активированные макрофаги, и В-лимфоцитами.

## ТРАНСПЛАНТАЦИОННЫЕ АНТИГЕНЫ

Реакция отторжения трансплантата вызывается чужеродными антигенами гистосовместимости на поверхности клеток трансплантата. Точно также ксенотрансплантаты других биологических видов быстро отторгаются, поскольку тканевая несовместимость между большинством биологических видов настолько глубока, что в сыворотке хозяина еще до трансплантации могут циркулировать соответствующие тела. Аллоантигенная несовместимость между особями одного вида вариабельна, однако и сильные антигены могут вести к отторжению трансплантата через 8 дней, тогда как более слабые различия позволяют трансплантату выживать на протяжении более 100 дней.

Гены основного комплекса гистосовместимости (ОКГ) подразделяются на три класса: класс I, класс II, класс III. Только молекулы I и II классов играют существенную роль при трансплантации. Хотя детерминанты класса I и класса II некогда рассматривались как антигены, теперь известно, что они играют ключевую роль в активации Т- и В-лимфоцитов в дополнение к обеспечению распознавания гистосовместимости.

Молекулы класса I человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) могут быть обнаружены на поверхности почти всех содержащих ядра клеток. Напротив, молекулы класса II HLA обнаруживаются только на поверхности клеток иммунной системы — макрофагов, дендритических клеток, В-лимфоцитов и активированных Т-лимфоцитов.

Для демонстрации антигенного сходства тканей донора и реципиента перед трансплантацией были разработаны различные методы, чтобы можно было подобрать относительно гистосовместимые пары — донора и реципиента.

Наилучший из современных методов называется серологическим, или лейкоцитарным, типированием. Антигены системы HLA, экспрессируемые циркулирующими лимфоцитами, могут быть определены с помощью сывороток, полученных от пациентов, перенесших множественные гемотрансфузии, или от женщин, имевших множественные беременности. Используя лейкоциты пациента и ряд стандартных сывороток, можно охарактеризовать большинство сильных антигенов как у донора, так и у реципиента.

## Механизмы трансплантационного иммунитета.

Иммунный ответ на трансплантат обусловлен в первую очередь распознаванием антигенов HLA донора лимфоцитами реципиента. Это вызывает активацию Т-хелперов, которые, в свою очередь, стимулируют пролиферацию В-лимфоцитов и цитотоксических Т-лимфоцитов. Антитела к чужеродным антигенам HLA могут присутствовать в сыворотке реципиента и до трансплантации. Их выявление свидетельствует о предшествующей иммунизации антигенами HLA.

Она возможна при переливании цельной крови и во время беременности. Выявление в сыворотке реципиента антител к антигенам HLA донора свидетельствует о высоком риске сверхострого отторжения трансплантата. Оно обусловлено образованием комплексов, состоящих из антигенов трансплантата и антител реципиента,

которые активируют свертывание крови и приводят к тромбозу сосудов трансплантата. Поскольку отторжение трансплантата вызывают чужеродные антигены HLA, лучший способ его профилактики — подбор донора, совместимого с реципиентом по антигенам HLA. Если реципиент уже иммунизирован антигенами HLA, донор должен быть полностью совместим с реципиентом.

#### Иммунологические исследования после трансплантации

Диагностика отторжения трансплантата проводится регулярно у всех больных, перенесших трансплантацию. Надежных методов иммунологической диагностики отторжения трансплантата нет. Так, исследование показателей активации иммунного ответа, например определение цитокинов, малоинформативно, поскольку они изменяются при многих заболеваниях, в частности при инфекциях. Изменение соотношения лимфоцитов CD4 и CD8 также не отражает активности иммунного ответа на трансплантат.

Определение абсолютного числа Т-лимфоцитов в крови — лучший способ оценки эффективности муромонаба-CD3, антиtimoцитарного и антилимфоцитарного иммуноглобулинов. Число Т-лимфоцитов в крови определяют методом проточной цитофлуориметрии с помощью меченых антител к CD3.

В сыворотке реципиентов, получающих муромонаб-CD3, могут появляться антитела, инактивирующие его. Если при введении высоких доз муромонаба-CD3 число лимфоцитов CD3 не снижается, определяют содержание антител к препарату. Уровень антител к муромонабу-CD3 измеряют с помощью проточной цитофлуориметрии по следующей методике:

- 1) микросферы, покрытые муромонабом-CD3, обрабатывают сывороткой реципиента;
- 2) добавляют антитела к человеческим иммуноглобулинам, меченные флуоресцентной меткой.

Чтобы исключить предшествующую иммунизацию мышными антителами, уровень антител в сыворотке реципиента определяют и до лечения. При необходимости уровень антител к муромонабу-CD3 определяют во время первого курса лечения и обязательно перед повторным назначением препарата. Имеются коммерческие наборы для определения уровня муромонаба-CD3 и антител к нему.

#### Иммунологическая толерантность к трансплантату.

Идеальный способ, с помощью которого можно предупредить отторжение трансплантата, а также избежать иммуносупрессивной терапии, — индукция толерантности реципиента к антигенам донора. Теоретически иммунологическую толерантность можно вызвать следующими способами:

- 1) удалением всех клонов лимфоцитов, которые реагируют с антигенами донора;
- 2) активацией специфических Т-супрессоров, угнетающих иммунный ответ на антигены донора;
- 3) индукцией синтеза антиидиотипических антител, подавляющих гуморальный иммунный ответ на антигены донора;
- 4) угнетением экспрессии антигенов HLA на клетках трансплантата.

В настоящее время для индукции толерантности к антигенам донора перед трансплантацией применяют:

- 1) переливание реципиенту цельной крови донора;
- 2) переливание лейкоцитарной массы донора и облучение лимфоидных органов реципиента (неспецифическая иммуносупрессия);
- 3) комбинацию этих методов с иммуносупрессивной терапией. По некоторым сообщениям, описанные выше схемы лечения позволяют применять после трансплантации более щадящую иммуносупрессивную терапию.



## **Заключение**

Гены HLA передаются потомству двумя блоками - по одному от каждого родителя. Такой блок носит название гаплотипа HLA. Ребенок наследует по два аллеля каждого гена HLA: один из материнского гаплотипа, другой - из отцовского. Если удастся определить лишь одну аллельную форму какого-либо антигена HLA, то это значит, что либо 2-ая аллель аналогична первой, либо в типизирующем наборе нет сыворотки для определения другой аллельной формы антигена.

С помощью молекулярно-генетических методик ежегодно открываются новые аллели генов HLA. Для определения совместимости пациента и донора кроветворных клеток по системе HLA используется дорогостоящий молекулярно-генетический метод, как наиболее точный и надежный, позволяющий исключить какие-либо лабораторные ошибки и обеспечить наибольшую совместимость.

## **Литература**

- 1) Аллергология и Иммунология. Под ред. К.В. Никитин 1985
- 2) Клиническая иммунология: учебник. Земсков А.М., Земсков В.М., Караулов А.В. 2008
- 3) Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология 2006
- 4) <http://bmd.onego.ru>
- 5) <http://www.medicum.nnov.ru>