

Биология

УДК 616-055.5/7:575.17

Л. А. МАТЕВОСЯН

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ ТКАНЕВОЙ СОВМЕСТИМОСТИ НА ОСНОВЕ ДНК-ТИПИРОВАНИЯ В АРМЯНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

В настоящее время решение актуальных проблем медицины нуждается в молекулярно-биологическом обосновании. На стыке биологии и медицины возникла новая область науки – биомедицина. Выполнение программы «Геном человека» стало блестящим примером результативности ряда областей этих наук.

Столь же важной проблемой биомедицины является применение иммуногенетических данных в трансплантологии. С одной стороны, без знания аллелей генов тканевой совместимости невозможна характеристика донора и реципиента, с другой – банк данных, полученных в ходе работы по типированию изученной популяции, является бесценной информацией по структуре этой популяции.

История трансплантации кроветворной ткани [1] начинается с 1951 года, когда Лоренц показал, что аллогенный (от другого животного данного вида) костный мозг способен защищать получивших высокую дозу облучения животных от гибели вследствие остановки кроветворения. Последующими работами было показано, что пересадка аллогенного костного мозга способна обеспечить длительное приживание трансплантата только при совпадении донора и реципиента по антигенам главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) [2].

Изучение антигенов гистосовместимости человека стало развиваться с 1958 г., когда французский исследователь Досе открыл и описал первый антиген гистосовместимости Мас [3].

Исследования антигенов, открытых в разных лабораториях мира, обобщились в 1967 г. на конференции в Турине. Здесь были представлены четкие доказательства того, что изученные в разных странах антигены идентичны друг другу и присутствуют во всех человеческих популяциях, обследованных к тому времени.

Выяснилось, что основная генетическая информация, детерминирующая наиболее значительные антигены гистосовместимости человека, заключена в одном локусе, расположенном соответственно на одной паре аутосомных хромосом. Локус был назван HLA-human leucocyte antigen system [4].

Известно, что стволовые клетки, находящиеся в костном мозге, дают начало всем кровяным клеткам. Некоторые формы заболеваний поражают стволовые клетки, что может быть фатальным для пациента. Единственным лечением таких заболеваний, как лейкемия, апластическая анемия, миелодисплазия, лимфома, миелома, талассемия, является трансплантация костного мозга – последняя надежда для тех, кому прочие виды лечения ничего не дали [5]. Однако данная возможность предоставляется не каждому. Донора для трансплантации в семье больного иногда не удается найти. Подбор пар донор–реципиент для пересадки костного мозга труден, так как слишком высока антигенная индивидуальность среди людей. Наименьшее количество осложнений, связанных с расхождением по антигенам ГКГС в посттрансплантационном периоде, встречается у совместимых сиблингов родных братьев и сестер. В то же время сиблинги имеют вероятность совместимости по ГКГС только в 25% случаев, что осложняет проблему подбора неродственных доноров, так как совместимые доноры-родственники имеются далеко не у всех пациентов [6].

Известно, что есть много факторов, которые влияют на исход трансплантации: пол донора, возраст донора и пациента, степень и тип заболевания последнего, цитомегаловирусный (CMV) статус [7]. Однако наиболее важными остаются HLA-антигены. Значительная генетическая гетерогенность популяции жителей в Европе и США требует около миллиона типированных доноров для относительно гарантированного подбора костного мозга любому реципиенту. Это порождает технические и материальные проблемы. В конечном итоге даже полная совместимость по HLA-антигенам не дает абсолютной гарантии против развития реакции «трансплантат против хозяина» и до 25% пациентов погибает от трансплантационных осложнений. Клинически показано, что гистосовместимость донора и больного приводит к значительному снижению реакции отторжения трансплантата [2]. Экспрессируемые структурные различия антигенов гистосовместимости как доноров, так и больных являются основной причиной отторжения.

Что же представляют собой эти антигены и где они экспрессируются?

ГКГС (MHC, Major histocompatibility complex) контролирует различные функциональные проявления иммунной реактивности. Гены, кодирующие HLA-комплекс, находятся на коротком плече 6-ой хромосомы человека и на 17-ой хромосоме у мышей. HLA-комплекс охватывает приблизительно четыре миллиона пар оснований, что сопоставимо с геномом *E.Coli*. Основными особенностями комплекса являются его значительная полигенность (наличие нескольких неаллельных генов, белковые продукты которых сходны в структурном и функциональном отношении), а также ярко выраженный полиморфизм (присутствие многих аллельных форм одного и того же гена).

Все гены комплекса наследуются по кодоминантному типу [8]. В пределах HLA-комплекса распознаются 3 региона (рис. 1).

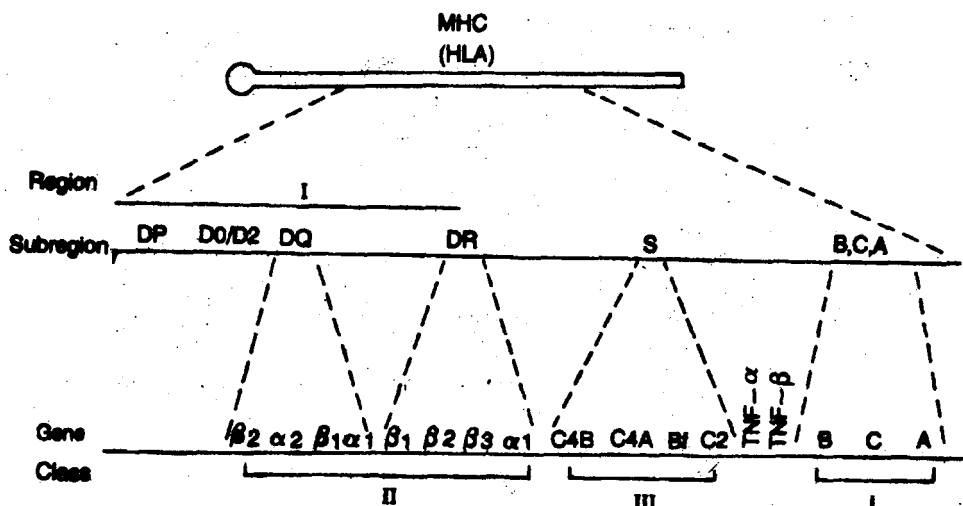


Рис. 1. Гены главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) [9].

Вся эта область включает приблизительно 75 генов, в том числе и те, функционально несвязанные с HLA-генами, которые принимают участие в других иммунологических реакциях (C4, C2 и фактор B) [9].

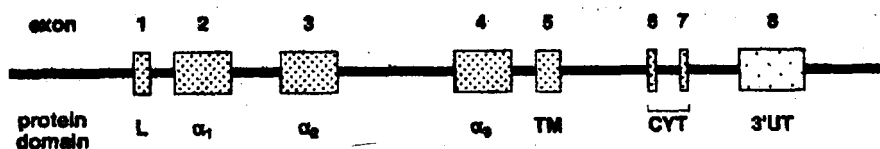


Рис. 2. Гены I класса главного комплекса гистосовместимости [10].

Гены I класса (рис. 2) ответственны за синтез тяжелой цепи (α -цепи) антигенов I класса. Сюда входят следующие изоформы данных генов: HLA-A, -B, -C, -E, -F, -G, а также HLA-H, -J, -K, -L, являющиеся псевдогенами. Гены HLA-X, -Y, -H имеют неизвестное нам пока предназначение.

Дополнительный однодоменный пептид - $\beta 2$ -микроглобулин ($\beta 2$ -M), ассоциированный с основной α -цепью, - контролируется геном, не входящим в HLA комплекс. У человека этот ген расположен на 15-ой хромосоме. Из-за хромосомного расположения $\beta 2$ -M гена ему не дают HLA обозначения.

Группа генов II класса (рис. 3) ответственна за синтез α - и β -цепей его антигенов. Гены α и β объединены в близкосцепленные пары для каждого определенного антигена II класса у человека: DP, DQ, DR. Кластер DR включает дополнительные β -гены, что обеспечивает образование нескольких антигенов: $\alpha\beta 1$, $\alpha\beta 2$ и так далее. Кроме того, ко II классу относятся

также неэкспрессируемые псевдогены: DR- β 2, - β 6, - β 9, DR-SX, DQ-DX и пары генов LMP (low molecular weight protein) и TAP (transporters associated with antigen processing). Белки, контролируемые LMP и TAP генами, принимают участие в подготовке чужеродного антигена к презентации Т-клеткам [9]. Различное расположение генов β -цепей называют гаплотипами [10].

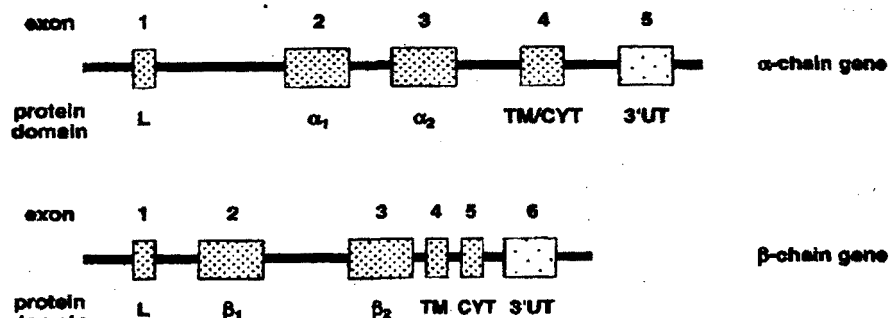


Рис. 3. Гены II класса главного комплекса гистосовместимости [10].

Группа генов III класса контролирует синтез белков, среди которых есть участники иммунных процессов: один из компонентов комплимента, факторы некроза опухоли (ФНО- α и ФНО- β).

Главный комплекс гистосовместимости – один из наиболее полиморфных генетических систем организма. На 1999 год известны около 95 аллелей HLA-A гена, 207 – HLA-B гена и 239 – HLA-DRB1 гена. Эти данные были получены благодаря исследованиям популяции кавказоидов. В настоящее время указанные числа можно удвоить [11].

Аллельные формы антигенов HLA могут отличаться друг от друга по 20 аминокислотным остаткам. Большинство аминокислотных замен локализованы в N-концевых частях молекул и главным образом в доменах, формирующих антигенсвязывающий участок. Именно в этой изменчивости аминокислотной последовательности антигенсвязывающего участка заключена потенциальная возможность взаимодействия с различными пептидами.

Крайне высокий уровень аллельных генов и доминирующее присутствие в популяции гетерозигот при условии кодоминантного наследования обуславливают индивидуальность особей вида по антигенам HLA [12].

Таким образом, практический успех трансплантации зависит от правильного подбора пар донор–реципиент по антигенам гистосовместимости.

Не имея возможностей найти совместимого донора, больные теряют шанс получить эффективное лечение. Поэтому созданы базы данных, так называемые регистры доноров костного мозга, где реципиент может найти неродственного донора. Система регистров (банков данных) распространена по всему миру и позволяет найти для больного совместимого донора. Национальные регистры доноров костного мозга объединены в международные, насчитывающие информацию о более чем 5 млн. потенциальных доноров. Необходимость создания подобных регистров продиктована тем,

что при пересадке гемопоэтических стволовых клеток учитывается множество факторов, выявляемых при типировании антигенов главного комплекса гистосовместимости. Таким образом, чем больше база данных, тем выше шанс найти реального донора для конкретного больного.

Были случаи обращения больных армянского происхождения для поиска доноров в международные регистры. Но такая процедура ничего не давала, так как существуют связанные с этнической принадлежностью донора и реципиента особенности при определении основных антигенов совместимости тканей [13], по которым и происходит отбор донора для трансплантации. Это послужило причиной тому, что в 1999 году в Армении был открыт Армянский регистр доноров костного мозга (по инициативе доктора Ф. Джордан и доктора С. Авакяна) [www.abmdr.com]. Таким образом, сделан важный шаг для успешного проведения работ по трансплантации не только костного мозга, но и других органов. Регистр снабжен лабораторией, где и проводится ДНК-типирование антигенов гистосовместимости доноров, а также больных.

Имеющаяся база данных представляет наиболее обширный охват генетического полиморфизма армянской популяции клинически здоровых доноров на уровне ДНК и создает крайне необходимую информационную базу для дальнейших генетико-популяционных и клинических исследований. А именно, мы получаем следующие возможности: определение наиболее часто встречающихся антигенов и трех локусных гаплотипов или групп генов в армянской популяции; определение генетических рас-

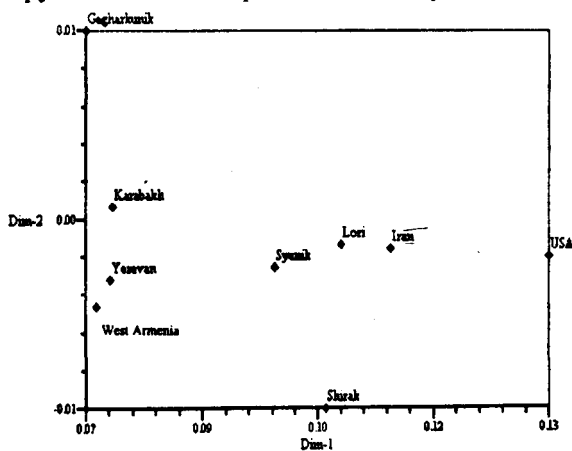


Рис. 4. Генетические расстояния между различными армянскими субпопуляциями, полученные методом основных координат и основанные на частотах встречаемости HLA-A, -B, -DRB1 аллелей в соответствующих субпопуляциях.

стояний армянского народа с другими этническими группами; выявление HLA-болезней, так как имеется определенная сцепленность HLA-аллелей с некоторыми заболеваниями.

На Первом международном медицинском конгрессе, проходившем в Ереване в 2003 г., уже были представлены наиболее часто встречающиеся гаплотипы антигенов гистосовместимости в обширной армянской популяции [14]. В группе доноров, проживающих в Республике Армения, проводилось сравнение частот встречаемости HLA-A, -B, -DR генов в популяциях из различных регионов (Ереван, Лори, Сюник, Ширак, Гегаркуник), а также в популяциях, проживающих за пределами нашей Респуб-

лики.

лики.

лики (Карабах, Иран, США, Западная Армения). В границах обследованных выборок не обнаружено достоверных различий между популяциями по частотам встречаемости HLA-A, -B, -DR генов (рис. 4). В настоящее время ведутся работы по определению генетических расстояний армянского народа с другими этническими группами и выявлению HLA-аллелей, сцепленных с некоторыми заболеваниями.

Кафедра генетики и цитологии

Поступила 13.11.2003

ЛИТЕРАТУРА

1. **Donnall E. Thomas, Karl G. Blume.** Historical markers in the development of allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. USA, 1999, 5, p. 341–345.
2. **Strom T.B., Carpenter C.B.** Transplantation: immunogenetic and clinical aspects – Part I: *Hosp Pract (Off Ed)*. USA, New York, 1982 Dec., 17(12), p. 125–34.
3. **Ryder L.P., Svejgaard A., Dausset J.** Genetics of HLA disease association, *Annu Rev Genet*. USA, Palo Alto Ca, 1981, 15, p.169–87.
4. **Strachan T., Andrew P.** Read: *Human Molecular Genetics*, Part 7.3, USA, 1999.
5. **Mehta A. & Hoffbrand V.** Stem cell transplantation in «*Hematology at a Glance*». UK, Oxford, 2000.
6. **Галактионов В.Г.** Основы иммунологии. М., 1998.
7. **Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson D.J.** – *Molecular Biology of the Cell*. New York and London, 1994.
8. **Зарецкая Ю.М.** Клиническая иммуногенетика. М., 1983.
9. **Herman N. Eisen.** *General Immunology*. USA, 1990.
10. **Steven G.E. Marsh, Peter Parham, Linda D. Barber.** *The HLA Facts Book*, USA, 2000.
11. **Charles A. Janeway, Travers P., Walport M.** *Immunobiology*. USA, 1999.
12. **Goldsby R.A., Kindt T.J., Osborne B.A., Kuby J.** *Immunology*. USA, New York, 2003.
13. **Mori M., Beatty P.G., Graves M., Boucher K.M., Milford E.L.** HLA gene and haplotype frequencies in the North American population: the National Marrow Donor Program Donor Registry, *Transplantation*. USA, Baltimore, 1997 Oct, 15, 64(7), p. 1017–27.
14. **Jordan F., Avagyan S., Matevosyan L., Hyussyan A., Vardapetyan E., Aroutiounjan R.** A Comparative Study of HLA class I and class II allele distribution in large Armenian population; *The First International Congress of Armenia*. Armenia, Yerevan, 2003, July 1–3, p. 88.

Լ. Ա. ՄԱԹԵՎՈՍՅԱՆ

ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՊՈՊՈՒԼՅԱՑԻԱՅՈՒՄԻ ԴՆԹ-ՏԻՊԱՎՈՐՄԱՆ ՀԻՄԱՆ ՎՐԱ
ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՆԵՐԻ ՀԱՄԱՏԵՂԵԼԻՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱԻՐՈՒԹՅԱՆ
ԳԵՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ԱՍՊԵԿՏՆԵՐԸ

Ամփոփում

Ներկայումս բժշկության ակտուալ պրոբլեմների լուծումը կարիք ունի մոլեկուլային կենսաբանական հիմնավորման: Կենսաբանության և բժշկության զարգացումը հանգեցրեց գիտության նոր ճյուղի՝ կենսաբժշկության

առաջացմանը: «Մարդու գենոմը» ծրագրի իրականացումը հանդիսացավ այդ գիտության արդյունավետության վառ օրինակ:

Կենսաբժշկության առավել կարևոր խնդիրն է իմունագենետիկական տվյալների կիրառումը փոխպատվաստման ժամանակ: Մի կողմից հնարավոր չէ դոնորի և ռեցիպիենտի բնութագրումը առանց հյուսվածքային համատեղելիության գեների ալելների իմացության, մյուս կողմից՝ տվյալ պոպուլյացիայի տիպավորման ժամանակ ստացված տվյալների բանկը հանդիսանում է անգնահատելի ինֆորմացիայի աղբյուր այդ պոպուլյացիայի կառուցվածքի մասին:

L. A. MATEVOSYAN

GENETIC ASPECTS OF HISTOCOMPATIBILITY STUDY ON THE BASIS OF DNA-TYPING IN THE ARMENIAN POPULATION

Summary

In the present time solution of actual medical problems needs a molecular biological basis. Biomedicine a new branch on the junction of such sciences as medicine and biology – is coming up into existence. Realization of «Human Genome Project» is a brilliant example of collaboration between these two big fields of science.

It is possible to apply immunogenetic data in biomedicine and particularly in transplantology. Without the knowledge of histocompatibility antigens it is impossible to characterize the donor and recipient on the one hand and on the other hand databank obtained during the DNA typing gives great opportunities and invaluable information in the study of population structure.