

УДК 612.017.1 + 616.61-089:843.076-037

Н. І. Ташевська, В. С. Недзвецкий, Л. К. Перстньова

*Дніпропетровська обласна клінічна лікарня ім. І. І. Мечникова
Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара*

ПЕРЕВАГА СЕЛЕКЦІЇ ПАР ДОНОР – РЕЦИПІЄНТ ЗА МНС АНТИГЕНАМИ II КЛАСУ HLA-DR

Вивчено перевагу селекції за антигенами II класу HLA-DR, які визначаються методом ДНК-типуювання, порівняно із селекцією за антигенами I класу HLA для трансплантації нирки. Проаналізовано співвідношення відсотка сприятливих результатів до кількості та типу антигенів гістосумісності. Генотипування має високу чутливість і специфічність, підбір за антигенами HLA-DR раціональніший.

Н. И. Ташевская, В. С. Недзвецкий, Л. К. Перстнева

*Днепропетровская областная клиническая больница им. И. И. Мечникова
Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара*

ПРЕИМУЩЕСТВО СЕЛЕКЦИИ ПАР ДОНОР – РЕЦИПИЕНТ ПО АНТИГЕНАМ II КЛАССА HLA-DR

Изучено преимущество селекции по антигенам II класса HLA-DR, определяемым методом ДНК-типирования по сравнению с селекцией по антигенам I класса HLA для трансплантации почки. Генотипирование обладает высокой чувствительностью и специфичностью, подбор по антигенам HLA-DR более рационален.

N. I. Tashevskaya, V. S. Nedzvetsky, L. K. Perstneva

*I. I. Mechnikov Dnipropetrovsk Regional Clinical Hospital
Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University*

ADVANTAGES OF THE DONOR – RECIPIENT PAIRS SELECTION ACCORDING TO ANTIGENS OF SECOND GRADES HLA-DR

The advantage of donor-recipient pairs' selection HLA for kidneys transplantation by the second grades HLA-DR determined by a method of DNA typing as compared with the selection based on the antigens of the first grade has been studied. It has been found that genetic typing is highly sensitive and specific. The results of the research show that the selection by the antigens HLA-DR is more efficient.

ВСТУП

За даними численних епідеміологічних досліджень, як вітчизняних, так і зарубіжних, щорічно відмічається 30–50 уперше виявлених випадків термінальної хронічної ниркової недостатності (ТХНН) на 1 млн. населення. Відомі методи лікування хронічної ниркової недостатності в термінальній стадії – програмний гемодіаліз, перитоніальний діаліз і трансплантація нирки [5]. Практично для всіх хворих із ТХНН переважний метод замісної ниркової терапії – трансплантація нирки. Основна проблема, незважаючи на зростаючу ефективність трансплантації нирки, – гостре та хронічне

відторгнення трансплантата [1]. Особливу біологічну роль при пересадках родинних і неродинних трансплантатів *postmortem* відіграє регіон HLA (Human Leucocyte Antigens), який є генетично детермінованим. Саме локуси генів HLA кодують антигени поверхні клітин, що відіграють вирішальну роль в ініціації та регуляції імунної відповіді реципієнта. Продукти алельних варіантів генів HLA виступають головним бар'єром для трансплантації органів і тканин.

Основний чинник тривалого функціонування донорської нирки – імунологічна сумісність донора та реципієнта за HLA-антигенами I (HLA-A і B) і II класів (HLA-DR). Унаслідок надзвичайно високого ступеня поліморфізму підбір за HLA – набагато складніше завдання, ніж підбір трансплантатів, сумісних за груповими антигенами системи ABO, поліморфізм якої відносно незначний [8].

Серологічне виявлення HLA-антигенів I і II класів – основа тканинного типування, що традиційно використовується для селекції пар донор – реципієнт при клінічній трансплантації [4]. Останнім часом, завдяки суттєвому прогресу методів молекулярної біології, у клінічних лабораторіях антигени HLA-системи II класу визначають методом ДНК-типівання. Порівняно із серологією ДНК-типівання має ряд принципових переваг. Селективність ДНК-типівання набагато вища, ніж серологічного. Дослідження ДНК донора та реципієнта дозволяє виявити тонкі та складні відмінності структури HLA-локусів, тобто ті розбіжності структури антигенів MHC, які можуть бути ідентифіковані кожною антисироваткою або важкодоступними алоантисироватками з високою специфічністю [8].

Мета даного дослідження – оцінити переваги селекції за антигенами II класу HLA-DR порівняно із селекцією за антигенами I класу HLA (A і B локуси).

Матеріал і методи досліджень

Проведено обстеження 189 реципієнтів із ТХНН, що перебували на гемодіалізі, та 65 донорів. Визначення антигенів MHC проводили методом ДНК-типівання. Генотипування проводили методом ПЛР із використанням діагностичних наборів для HLA ДНК-типівання (НВФ «ДНК-технологія», Москва). Ампліфікацію проводили на генному ампліфікаторі «Gene Amp PCR System 2400» («Applied Biosystems», США) у режимі активного регулювання температури реакційної суміші. Детекцію ампліфікованої ДНК проводили електрофорезом у 3 % агарозному гелі з візуалізацією її на транслюмінаторі «Vilber Lourmat» (Франція). Антигени A та B-локусів визначали лімфоцитотоксичним тестом [5]. Як матеріал для дослідження використовували кров хворих і селезінку донорів.

Результати та їх обговорення

Аналіз співвідношення випадків сприятливого результату трансплантації до загальної кількості трансплантатів нирки показав прогресивну залежність (рис. 1). За весь період спостереження реакцій відторгнення у реципієнтів після трансплантації нирки була виявлена загальна залежність співвідношення випадків сприятливого результату трансплантації до кількості антигенів комплексу HLA, за якими проводили відбір пар донор – реципієнт.

Аналіз результатів проведених досліджень і порівняльної оцінки підбору пар донор – реципієнт показав, що генотипування має високу чутливість і специфічність. Результати генотипування за певним спектром антигенів відповідно відбиваються на репрезентативності проведених досліджень і є важливою умовою для проведення успішної трансплантації. Селекція пар донор – реципієнт за антигенами II класу HLA-

DR має переважний ефект, оскільки забезпечує краще приживання трансплантата та високий відсоток виживання нирки у реципієнтів порівняно з селекцією за антигенами I класу HLA-A і B-локусів. У першу чергу, це можна пояснити різницею структури антигенів MHC I і II класів. Структура антигенів I класу має вирішальне значення для цитотоксичного ефекту Т-кілерів, а антигенів II класу – для процесу презентації антигену регуляторним субпопуляціям Т-хелперів [11].

Підбір за антигенами HLA-DR раціональніший, оскільки дозволяє проводити селекцію лише за двома антигенами, що збільшує ймовірність сумісності.

Система HLA складається з групи генів, розташованих на короткому плечі шостої хромосоми, її розмір складає 3,0–3,5 сантиморгана або приблизно 3 500 кілобаз (тисяч пар нуклеотидів). Висока генетична складність і поліморфізм системи HLA зумовлює той факт, що продукти генів головного комплексу гістосумісності (MHC) надзвичайно мінливі навіть у межах близькородинних груп. Із боку біологічного сенсу різноманіття антигенних властивостей продуктів MHC генів має велике значення для забезпечення цілісності організму та підтримання імунологічного гомеостазу. До генів або локусів системи HLA входять три регіони. Кожний із цих регіонів має характерні продукти та відповідає за певні функції. Ці регіони носять назви: клас I, клас II, клас III [2].

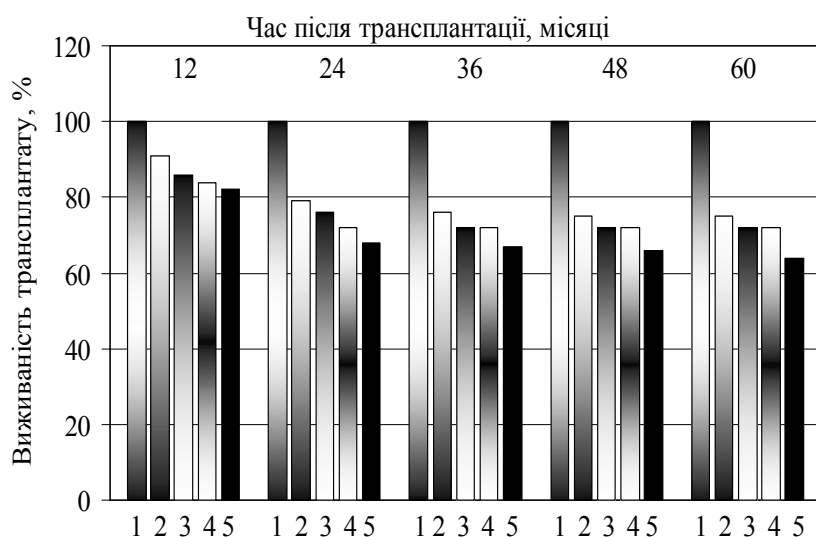


Рис. 1. Виживаність трансплантатів нирки в групах пацієнтів із різною кількістю незбігання A+B+DR антигенів у парах донор – реципієнт:
 1 – незбігання за 2 антигенами; 2 – за 3 антигенами; 3 – за 4 антигенами;
 4 – за 5 антигенами; 5 – за 6 антигенами

HLA-антигени I класу (HLA-A, B, C) представлені глікопротеїновими молекулами, що експресуються на мембрані майже всіх ядровмісних клітин. Ці молекули складаються з одного високополіморфного поліпептидного α -ланцюга (важкий ланцюг), мономорфного ланцюга та β -2-мікроглобуліну, який кодується генами на 15-й хромосомі. Алоспецифічність молекули класу I характерна для поліпептидного α -ланцюга, структура якого формує особливу ділянку – специфічну конформаційну запалість. Ця ділянка – антигенфіксувальна зона, де чужорідні протеїни формують комплекс із молекулами HLA для подальшої презентації Т-клітинам. Формування таких комплексів – загальна риса молекул класів I і II. Вони здатні зв'язувати чужорідні білкові антигени, складати комплекси, які потім специфічно розпізнаються антигенспе-

цифічними рецепторами Т-лімфоцитів. Молекули класу I діють як зони імунної ідентифікації чужорідних екзогенних пептидів або пептидів, що синтезовані ендегенно (наприклад вірусних білків і пухлинних антигенів) [3].

На відміну від антигенів класу I, антигени класу II (HLA-DR, DP і DQ) розташовані на значно меншій кількості клітин. Ці антигени звичайно експресуються, в першу чергу, в антиген-презентувальних клітинах: В-клітинах, моноцитах, макрофагах, мезангіальних клітинах нирок, Т-лімфоцитах і епітеліальних клітинах тимуса.

Антигени класу II складаються з двох нековалентно зв'язаних поліморфних ланцюгів, які кодується генами МНС (α - і β -ланцюги). Кожен α - і β -ланцюг вміщує два позаклітинні домени (α -1, α -2, β -1 і β -2). Якщо молекули класу I мають одну специфічну конформаційну запасть, то для молекул класу II характерні дві такі окремі ділянки, утворені доменами α -1 і β -1. За рахунок такої конформаційної особливості забезпечується зв'язування пептидних фрагментів, які складаються приблизно з 12 амінокислотних залишків, а не з 9, як для молекул класу I [7].

В ініціації імунної відповіді на трансплантаційні антигени головну роль відіграють молекули класу II.

Регіон класу III містить гени структури компонентів комплементу c_2 і c_4 , які безпосередньо залучені до імунних функцій [6].

Успадкування HLA-генів відбувається за кодомінантним типом, при якому у нащадків однаковою мірою експресуються HLA-алелі, отримані від кожного з батьків. Комбінація алелей різних локусів на одній хромосомі, яка має назву HLA-гаплотип, успадковується окремим блоком. Як виняток, у випадках кросинговеру успадкування блоком може порушуватись, унаслідок чого утворюється рекомбінантний гаплотип. Два гаплотипи від батьків відповідно утворюють фенотип [10].

Особливий інтерес становлять випадки наявності антигену II класу HLA-DRw6 у реципієнтів і донорів. DRw6-позитивні реципієнти складають близько 25 % від загальної кількості в «аркуші чекання». Для них показана виражена кореляція з кризом відторгнення трансплантата порівняно з DRw6-негативними реципієнтами [9]. Ефект від DR-сумісності значно вираженіший для DRw6-позитивних реципієнтів, які мають несприятливий прогноз у випадку, якщо не отримують сумісну за цим антигеном донорську нирку. З іншого боку, DRw6-позитивні донорські нирки мають високий відсоток виживання незалежно від кількості HLA-DR-несумісних антигенів із реципієнтом. Таким чином, DRw6-позитивний донор може розглядатися як універсальний при проведенні селекції.

Висновки

Отримані результати підтверджують перспективність оцінки комплексу генетичних локусів HLA для попередження відторгнення трансплантата нирки. На підставі проведеного дослідження можна зробити висновок, що селекція за антигенами II класу HLA-DR має перевагу і є важливим критерієм для сприятливого результату трансплантації нирки.

Бібліографічні посилання

1. **Алексеев Л. П.** Строение главного комплекса гистосовместимости HLA // Иммунология. – 1985. – № 1. – С. 10–16.
2. **Дранник Г. Н.** Иммунитет и инфекция при пересадке почки / Г. Н. Дранник, Е. Я. Баран, А. В. Руденко. – К. : Здоров'я, 1986. – С. 10–25.

3. **Дранник Г. Н.** Иммунонефрология / Г. Н. Дранник, Г. М. Дизик. – К. : Здоров'я, 1990. – С. 97–115.
4. **Зарецкая Ю. М.** Клиническая иммуногенетика. – М. : Медицина, 1983. – С. 115–145.
5. **Никоненко А. С.** Современный подход к оценке состояния почечного аллотрансплантата / А. С. Никоненко, А. В. Траилин, Т. Н. Никоненко // Сучасні медичні технології. – 2009. – № 1. – С. 64–72.
6. **Pelz S.** Evaluation of posttransplantation soluble CD_{30} for acute renal allograft rejection / S. Pelz, G. Opelz, V. Daniel // Transplantation. – 2003. – Vol. 75, N 3. – P. 421–425.
7. **Dysregulated** cytokine responses during cytomegalovirus infection in renal transplant recipients / M. Sadeghi, V. Daniel, C. Naujokat, P. Schnitzler // Transplantation. – 2008. – Vol. 86, N 2. – P. 275–285.
8. **Volz A.** Genesis of the $ITLVIR/MIR$ clusters within the human leukocyte receptor complex / A. Volz, H. Wende, K. Laun // Immunol. Rev. – 2001. – Vol. 181, N 3. – P. 39–51.
9. **Regulation** and privilege in transplantation tolerance / H. Waldmann, E. Adams, P. Fairchild, S. Cobbold // J. Clin. Immunol. – 2008. – Vol. 28, N 6. – P. 716–725.
10. **Switch** from cyclosporine *A* to tacrolimus in renal transplant recipients: impact on Th_1 , Th_2 and monokine responses / R. Weimer, A. Melk, V. Daniel et al. // Hum. Immunol. – 2000. – Vol. 61, N 9. – P. 884–897.
11. **Wende H.** Extensive gene duplications and a large inversion characterize the human leukocyte receptor cluster / H. Wende, A. Volz // Immunogenetics. – 2000. – Vol. 51. – P. 703–713.

Надійшла до редколегії 11.06.2010