

АО «Медицинский Университет Астана»

Молекулярно-генетические исследования в ревматологии

Выполнила: Шамрай В.Ю.

6/114 ВБ

Проверила: Бодыкова А.А.

Астана – 2015

Молекулярно-генетические исследования

- Знание структуры и функции генов, основных видов изменчивости, знакомство с наследственными болезнями позволяет перейти к анализу молекулярно-генетических методов. Методы молекулярной генетики направлены на изучение молекулы ДНК как в норме, так и при ее повреждении, а также на «манипуляции» с молекулами ДНК и РНК. Использование молекулярно-генетических методов требует знания основных этапов получения определенных последовательностей (фрагментов) ДНК.

Методы генетических исследований

гибридологический

близнецовый

биохимический

статистический

популяционно-
статистический

генеалогический

цитогенетический

молекулярно-
генетический

гибридизации
соматических клеток

дерматоглифический

- Ткани, которые являются антигенно-идентичными, называются гистосовместимыми, они не индуцируют иммунные реакции отторжения. Ткани, которые обладают существенными антигенными различиями, называются гистонесовместимыми. Они генерируют реакции отторжения. Антигены, определяющие гистосовместимость, закодированы в более чем 40 различных локусах. Локусы, индуцирующие наиболее сильные иммунные реакции, картированы в главном комплексе гистосовместимости (ГКГ). Эта система у человека получила название HLA-системы.

- **Иммуногенетика** — одно из важных направлений современной иммунологии, изучающее генетический контроль иммунного ответа. Основная генетическая структура, ответственная за этот контроль, — главный комплекс гистосовместимости — МНС (англ. Major Histocompatibility Complex).

История

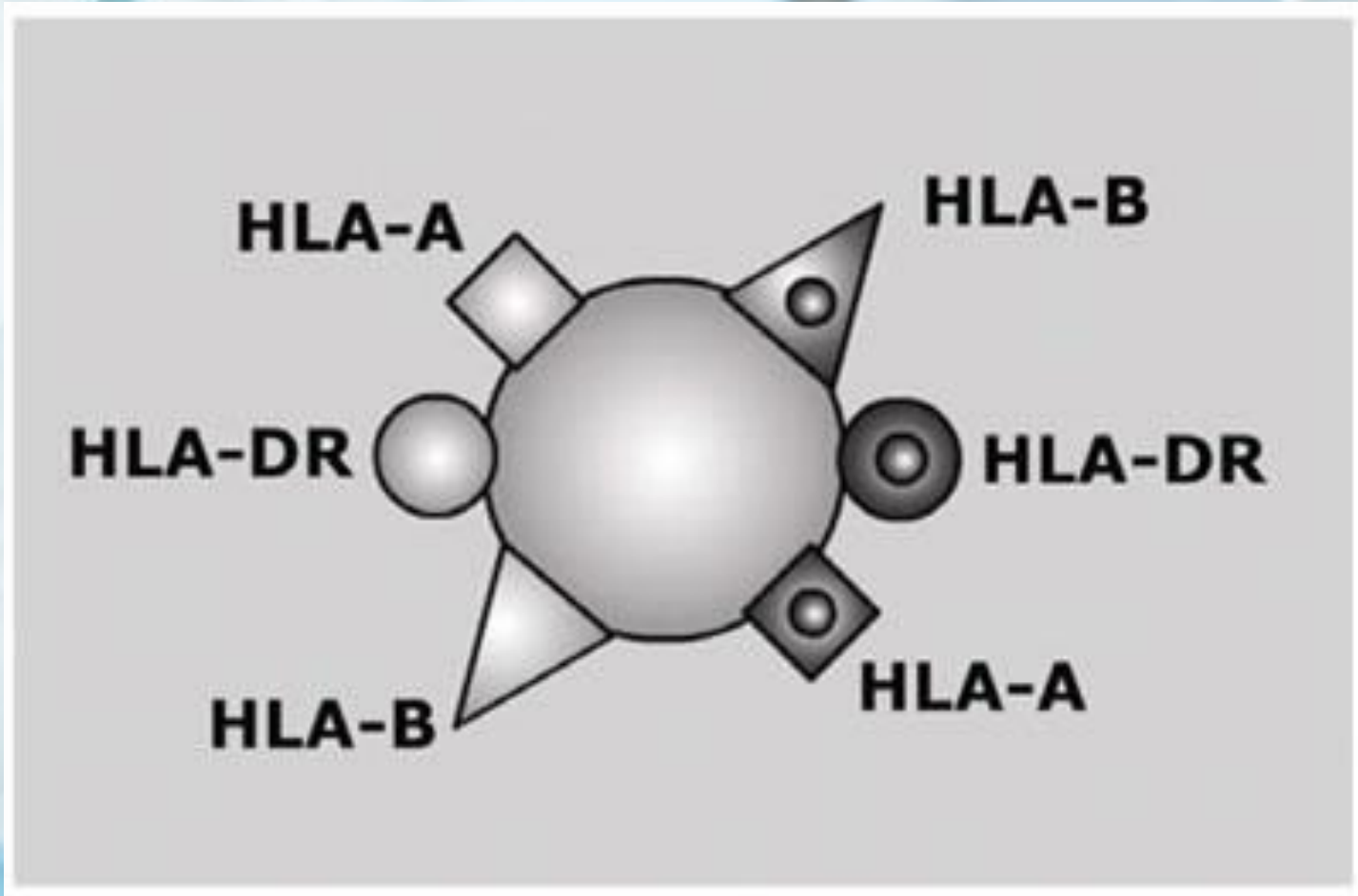
- Американский генетик Ж. Снелл вместе с П. Горером идентифицировал у мышей локус, наиболее важный для отторжения чужеродной ткани, и обозначил его как H-2 (histocompatibility — тканевая совместимость). Ж. Доссе, французский врач и исследователь, в 1950-х годах обнаружил в крови реципиента после гемотрансфузии изоантитела против лейкоцитов человека и в 1954 г. обозначил первый антиген как Mac по имени больного (теперь HLA-B2). По мере исследований показана аналогия между главным комплексом гистосовместимости мыши и человека. Первые продукты генов главного комплекса гистосовместимости человека были названы HLA (Human Leukocyte Antigenes).

HLA - СИСТЕМА

- 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.

Строение

- HLA гены располагаются в 6-й хромосоме человека. Они подразделяются на области A, B, C, D и обозначаются как HLA-A, HLA-B HLA-C и HLA-D. В свою очередь каждая область имеет варианты (аллели). Область HLA-A имеет 23 аллеля, область HLA-B – 49 аллелей, область HLA-C – 8 аллелей. Область HLA-D является достаточно полиморфной и поэтому имеет подварианты: HLA-D, HLA-DR, HLA-DQ и HLA-DP. В свою очередь каждый подвариант тоже включает аллели: HLA-D – 19 аллелей, HLA-DR – 16 аллелей, HLA-DQ – 3 аллели и HLA-DP – 6 аллелей.



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.

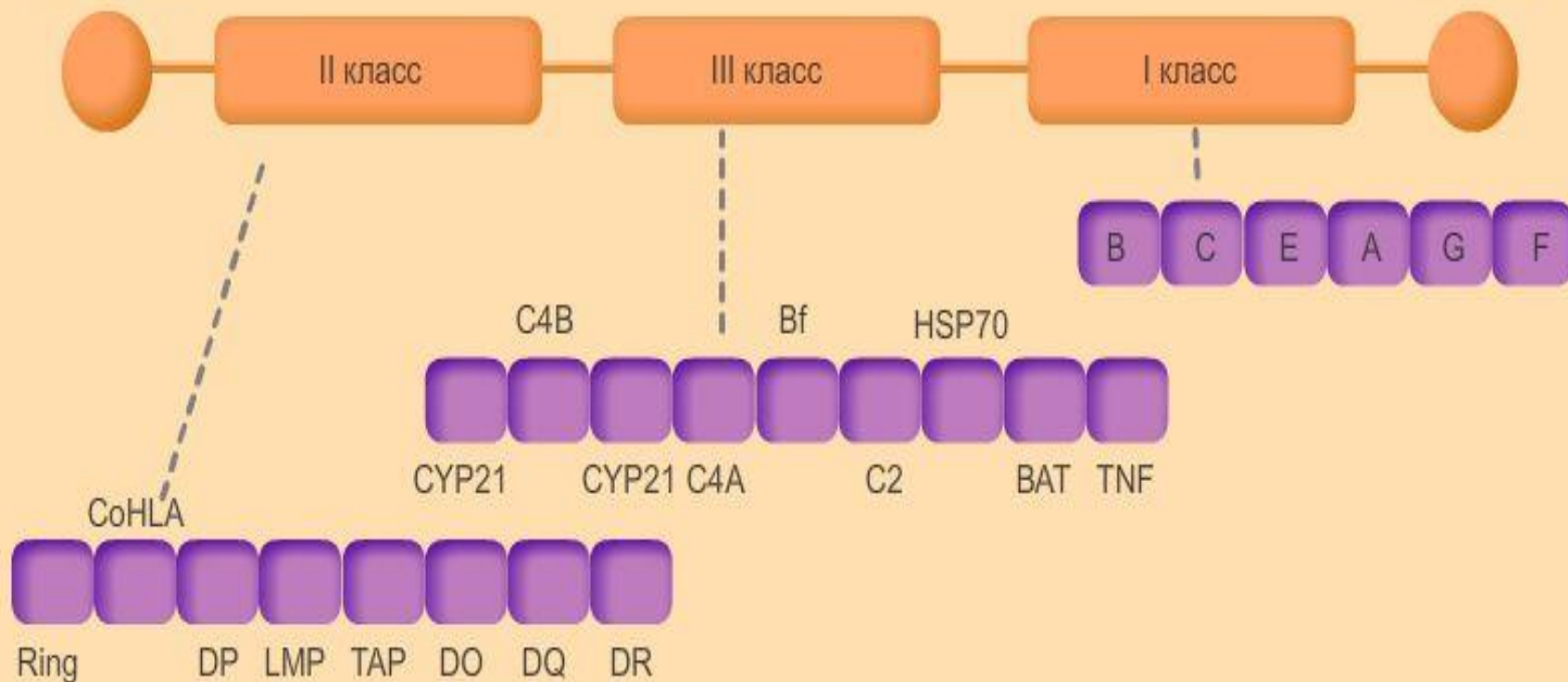
- Всё многообразие указанных функций обеспечивается строением главного комплекса гистосовместимости, в первую очередь генетическим и популяционным разнообразием или полиморфизмом данной генетической системы и ее продуктов — антигенов HLA.
- Рассмотрим строение главного комплекса гистосовместимости человека более подробно.
- Система HLA — одна из сложных и наиболее изученных генетических систем в геноме человека.

Классы HLA - системы

- Среди областей генов HLA выделяют 3 класса.
- К 1 классу относятся гены HLA-A, HLA-B и HLA-C. Эти гены контролируют образование так называемых трансплантационных антигенов, т.е. антигенов пациента, которые распознают донорские клетки, введенные пациенту в трансплантате.
- Ко 2-му классу относятся гены HLA-D регулирующие силу иммунного ответа.
- Гены 3-го класса контролируют синтез молекул системы комплемента - неспецифического фактора иммунной защиты организма. Система HLA индивидуально неповторима. Полное соответствие по всем антигенам донора и реципиента наблюдается только у однояйцевых близнецов. Во всех других случаях развивается иммунологический конфликт - реакция отторжения трансплантата.

Центромера

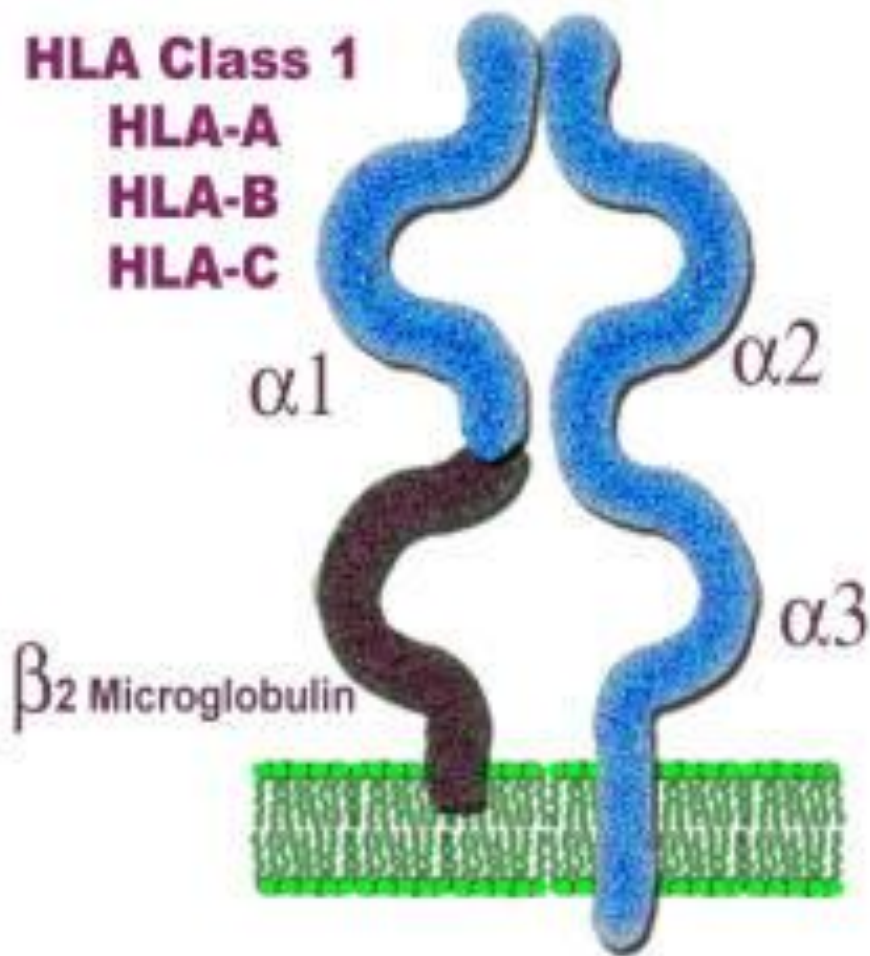
Теломера



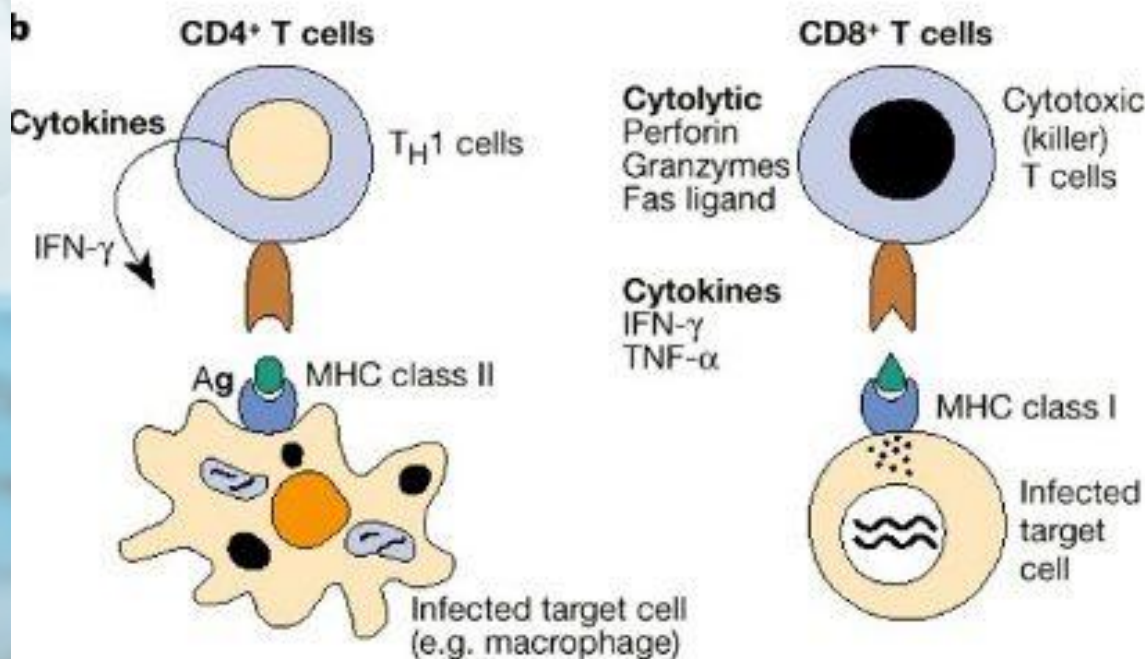
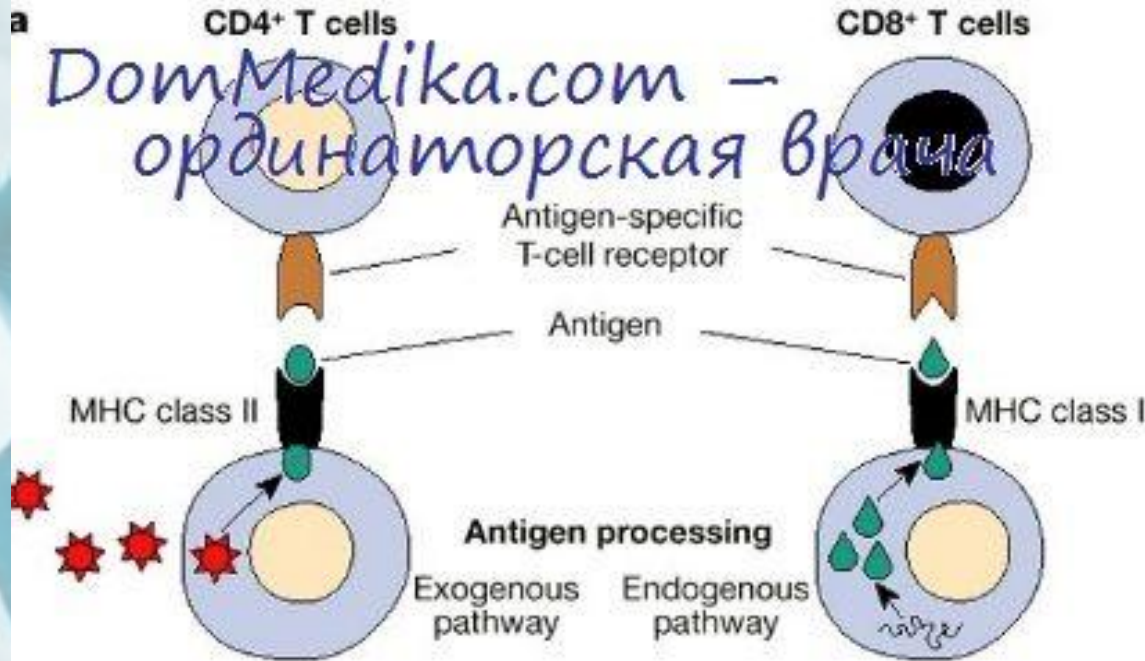
HLA включает три класса генов:

- гены класса I (HLA-A, HLA-B, HLA-C) наиболее удалены от центromеры, 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. Молекулы генов HLA-E презентируют лидерные пептиды собственных классических молекул MHC-I и распознаются с помощью рецептора CD94/NKG2, ингибирующего активность NK-клеток. Клетки, лишенные молекул HLA-I (инфицированные вирусом, опухолевые), не экспрессируют HLA-E, и NK-клетки получают сигнал, подавляющий их активность. HLA-G экспрессируют только клетки трофобласта; он подавляет действие NK-клеток;

HLA Class 1
HLA-A
HLA-B
HLA-C



- 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.).



Гены HLA-системы

- 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.

Определение антигенов системы HLA осуществляется 2 способами:

- 1. серологическим методом с использованием специальных антисывороток к антигенам HLA;
- 2. молекулярно-генетическим методом определения данных антигенов (полимеразная цепная реакция - ПЦР). При серологической методике необходимая достоверность идентификации антигенов требует, чтобы определение каждого антигена проводилось «батареей» антисывороток. Серологическими методами определено более 100 антигенов HLA.

Результаты

- 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.

Результаты

- Результат определения HLA-типа обозначается следующим образом: HLA, затем указывается область исследуемого гена и его аллель. Например: HLA–A 01; 02. Это значит, что исследована область A и выявлены гены аллелей 01 и 02. Подбор донора для реципиента, нуждающегося в трансплантации кроветворных клеток осуществляется по совместимости генов областей A, B и D у донора и реципиента.



Спасибо за внимание!!!