

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Красноярский государственный медицинский
университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра кардиологии, функциональной и клинико-лабораторной диагностики ИПО

Зав.кафедрой: профессор, д.м.н. Матюшин Г.В.
Проверил: доцент, к.м.н. Анисимова Е.Н.

РЕФЕРАТ

Тема: Антигены лейкоцитов и тромбоцитов человека. Биологическое и медицинское значение. Лабораторные технологии верификации

Выполнил: врач-ординатор Николаева А.А.

Специальность: Клинико-лабораторная диагностика

г. Красноярск 2017 г.

Содержание

Введение	3
Система HLA	4
Типирование HLA	5
Биологическое значение HLA антигенов	8
Гранулоцитарные антигены	9
Методы определения антигенов гранулоцитов и антигранулоцитарных антител	11
Тромбоцитарные антигены	12
Методы определения антигенов тромбоцитов и антитромбоцитарных антигел	14
Антигены плазмённых белков	15
Список литературы	16

Введение

Лейкоциты человека, наряду с антигенами, аналогичными для эритроцитов, содержат особые антигены, не зависящие от факторов системы ABO, Резус, MNSs и др. В системе лейкоцитарных антигенов наиболее известной является система HLA (Human Leukocyte Antigen - лейкоцитарные антигены человека). Изосерологически идентифицированы специфические для лейкоцитов гранулоцитарного ряда антигены системы NA-NB.

Система HLA.

HLA - группа тканевых антигенов, контролируемых генами главного комплекса гистосовместимости (МНС), который располагается в коротком плече 6-й хромосомы. Физиологическая роль генов МНС определяется формированием иммунного ответа, образованием аллоантигенов, обеспечением взаимодействия различных субпопуляций Т-, В-лимфоцитов и макрофагов в иммунном ответе, контролем пролиферации иммунокомпетентных клеток, активизацией цитотоксичности клеток и др.

HLA (или антигены гистосовместимости) играют важную роль в развитии реакции несовместимости при пересадке органов и тканей. В последнее время выявилась их важная роль в развитии чувствительности организма к различным воздействиям окружающей среды и предрасположенности к определенной патологии, в зависимости от специфики HLA-антигенного состава тканей.

Гены или локусы системы HLA входят в три региона - «классы» -I, II и III (Рис. 1).

DPB	DPA	DOB	DOA	DRB	DRA	C4	Bf	C2	TNF	B	C	E	A	F	G
DP		DQ		DR											

Рис. 1 Гены главного локуса гистосовместимости человека

Продуктами генов класса I являются гликопротеиновые молекулы, экспрессированные на мембране клеток. Регион класса II (D-область) состоит из субрегионов. Гены DP-, DQ- и DR- субрегионов кодируют HLA-молекулы с выраженным антигенным полиморфизмом. Регион класса III содержит гены, которые непосредственно вовлечены в иммунную функцию (в частности компоненты комплемента, фактор некроза опухоли и др.) (Табл. 1)

Наследование HLA-генов происходит по кодоминантному признаку, при котором у потомства в одинаковой степени экспрессируются HLA-аллели, полученные от каждого из родителей. Большинство генов HLA высоко полиморфны, т.е. в определенном локусе HLA может располагаться

множество аллелей. Только с учетом известных антигенов количество антигенных комбинаций огромно и достигает 385482240.

Таблица. 1

Гены МНС и продукты их экспрессии

Гены	МНС и продукты их экспрессии
B, C, A	полипептиды Ag I класса
DR	альфа - и бета - цепи Ag II класса
BF	фактор В системы комплемента
C2	белок C2 системы комплемента
C4	белок C4 системы комплемента
TNF	фактор некроза опухолей

Типирование HLA

Установление фенотипа антигенов гистосовместимости человека осуществляется методом тканевого типирования, включающего серологические методы и исследование краткосрочных культур лимфоцитов. Одним из наиболее доступных методов типирования HLA фенотипа является лимфоцитотоксический тест, с помощью которого было выявлено большинство антигенов HLA, обладающих иммуногенной активностью. И по сей день этот тест остается одним из основных в повседневной работе иммунологических лабораторий.

Серологическое типирование имеет ряд недостатков: трудность в стандартизации используемых антисывороток, невозможность исследования в лимфоцитотоксическом тесте антигенов, детерминанты которых недоступны для антител (или отсутствие «белкового представительства» ряда HLA генов), слабовыраженная экспрессия отдельных HLA -антигенов, слабая аффинность HLA-антител, перекрестные реакции и др.

С развитием методической базы молекулярной биологии в начале 90-ых годов на смену серологическим методам типирования пришли методы,

основанные на различных вариантах полимеразной цепной реакции и молекулярной гибридизации - ДНК-типирование. Методы основаны на накоплении необходимого для анализа количества ДНК путем ее полимеризации и применении специальных генных зондов, комплементарных анализируемому участку ДНК. Используя методы ДНК типирования, в 90-е годы Номенклатурным комитетом ВОЗ была создана и утверждена новая номенклатура HLA антигенных детерминант (табл. 2).

Внедрение в иммуногенетику методов молекулярной биологии привело к дальнейшему расширению перечня аллельных вариантов генов HLA-комплекса. Полиморфизм генов HLA-комплекса становится необычайно велик, что затрудняет адекватный подбор полностью совместимых пар «донор-реципиент» как в плане гемотрансфузий, так и при трансплантации. К 1999 году число идентифицированных аллелей генов HLA-комплекса составляет без малого 1 тыс. (942) и, очевидно, будет расти дальше.

Таблица 2.

Аллели HLA-комплекса (по результатам ДНК-типирования)

Локус	Численность аллелей
HLA-A	124
HLA-B	258
HLA-C	74
HLA-E	5
HLA-G	14
HLA-DRB1	221
HLA-DRB3	19
HLA-DRB4	9
HLA-DRB5	14
HLA-DRB6	3
HLA-DRB7	2
HLA-DQA1	19
HLA-DQB1	39
HLA-DPA1	15
HLA-DPB1	84
HLA-DOA	8
HLA-DMA	4
HLA-DMB	5
TAP1	6
TAP2	4
MICA	15

Биологическое значение HLA антигенов

Особый научный и практический интерес вызывают исследования по взаимосвязи иммуногенетических маркеров с различными заболеваниями и их клиническим течением.

Накопленный к настоящему времени большой фактический материал о роли эндогенной дифференцировки тканей в развитии патофизиологических процессов указывает на наличие взаимосвязи между предрасположенностью к ряду заболеваний в зависимости от наличия или отсутствия определенных иммуногенетических маркеров. Наиболее значительное число свидетельств таких связей получено в отношении главного комплекса антигенов гистосовместимости. Для объяснения возможных механизмов ассоциации HLA-антигенов с заболеваниями сформулированы несколько гипотез, которые можно разделить на две группы:

1. Непосредственное участие, или прямое включение HLA-антигенов в патогенез заболевания.
2. Существование IR. генов, тесно связанных с глзным комплексом гистосовместимости (наличие неравновесного сцепления между HLA-антигенами и генами иммунного ответа).

В первой группе рассматриваются три основные теории:

- ♦ рецепторная,
- ♦ молекулярной мимикрии,
- ♦ модификации антигенов HLA вирусами, а также различные комбинации

Согласно рецепторной теории, HLA являются своеобразными рецепторами патогенных вирусов, которые, специфически связываясь с тканевыми антигенами, повреждают клетку. Под молекулярной мимикрией понимают состояние, когда микроорганизмы в процессе эволюции приобретают в структуре своей мембраны детерминанты, сходные с тканевыми антигенами человека. Способность маскироваться под антигены человека снижает распознавание макроорганизмом микробов или вирусов, в результате чего они, проникая в организм, оказывают патогенное действие.

На сегодняшний день ни одна из предложенных гипотез в отдельности не в состоянии в полной мере объяснить обнаруживаемые ассоциации HLA-антигенов с различными заболеваниями. Не исключено, что в процессе совместного сосуществования микро- и макроорганизмов у последних выработались системы иммунологических приспособительных механизмов, сконцентрированных в процессе эволюции в IR-генах на уровне комплекса HLA.

Гранулоцитарные антигены

Антигены гранулоцитов - органоспецифические факторы, характерные для клеток миелоидной ткани, обнаружены в нейтрофильных лейкоцитах крови и костного мозга. Антигены нейтрофилов формируются 5-ю генетическими локусами - NA, NB, NC, NE, V(az). Типирование антигенов нейтрофилов проводят с помощью изоиммунных, лейкоагглютинирующих сывороткой.

Система NA, в сочетании с HLA и рядом эритроцитарных систем, формируют единый комплекс, определяющий иммуногенетический профиль индивидуума и популяции в целом. Гены комплекса, принадлежащие более чем к 100 различным локусам, обеспечивают сохранение индивидуальной целостности организма и синергичность функционирования специфической иммунологической защиты.

На гранулоцитах, как и на других клетках крови, могут присутствовать 4 вида антигенов - изоантигены, аллоантигены, аутоантигены и лекарственно-индуцированные антигены.

Изоантигены

Гранулоциты, несущие специфический тип Fc-рецепторов, FcR III или CD 16, имеют относительную молекулярную массу около 50-80 kDa. Эти молекулы отсутствуют примерно у 0,12 % населения средневропейской популяции. У носителей этого генетического дефекта не обнаруживаются каких-либо нарушений функций гранулоцитов. У лиц с подобным

генетическим дефектом NA антигены не выявляются, и их обозначают, как NA_{NULL} . Женщины с антигеном NA_{NULL} могут быть сенсibilизированы во время беременности и при трансфузиях, что может привести к внутриутробному конфликту и рождению ребенка с врожденной изоиммунной гранулоцитопенией. В доступной нам литературе сведения о других изоантигенах не найдены.

Аллоантигены

Подобно тромбоцитам, гранулоциты несут аллоантигены, которые идентичны антигенам других клеток крови и тканей - антигенам эритроцитов систем Ii, P, PI, возможно ABO, и HLA I класса. За исключением HLA антигенов, эти аллоантигены не имеют клинического значения.

Органоспецифические антигены представлены двумя биаллельными антигенами (NA и NB) и тремя изолированными (одиночными) антигенами NCI, ND1 и NE1. В отличие от других антигенов ND1 и NE1 были обнаружены в серологических реакциях с аутоантителами. Наиболее важное клиническое значение имеют антигены системы NA. В литературе имеются сообщения о ряде аллоантигенов (LAN, CN1, Red, AYD, MART), но они не имеют клинического значения.

Аутоантигены

Молекулярная структура аутоантигенов гранулоцитов до настоящего времени недостаточно изучена. Большая часть аутоантител в серологических реакциях реагируют с аллоантигенами.

Лекарственно-индуцированные антигены

Случаи лекарственно-индуцированных гранулоцитопений чрезвычайно редки, так что до настоящего времени даже в хорошо оснащенных лабораториях не выявлены антитела к лекарственно-индуцированным антигенам.

Методы определения антигенов гранулоцитов и антигранулоцитарных антител.

В основе методов выявления антигенов гранулоцитов и антигранулоцитарных антител лежат те же принципы серологических исследований, что для эритроцитов и тромбоцитов. Однако применение этих методов в отношении гранулоцитов представляет определенные трудности, связанные с особенностями этих клеток - способности к фагоцитозу, подвижности, высоким содержанием ферментов. Гранулоциты сложно выделить в достаточном количестве, они имеют тенденцию к агрегации и аутолизу. Кроме того, значительное количество Fc-фрагментов на их поверхности способствует присоединению как специфических, так и неспецифических иммуноглобулинов и иммунных комплексов, что также затрудняет проведение серологических реакций.

Для выявления антигенов гранулоцитов и антигранулоцитарных антител применяются следующие методы:

- Прямой метод – реакция агглютинации гранулоцитов
- Непрямые методы – иммунофлюоресценции или иммуноферментный
- Комплементзависимый гранулоцитотоксический тест
- Иммуноэнзимный метод с использованием моноклональных антител для иммобилизации антигена
- Иммунохимические методы: иммуноблот, иммунопреципитация, использующие в качестве метки авидин – биотин
- Функциональные тесты – фагоцитоз и ингибирования фагоцитоза

Антитела к гранулоцитам могут явиться причиной ряда заболеваний, в частности нейтропении новорожденных. Нейтропения новорожденных - достаточно редкое заболевание - может развиваться вследствие перехода через плаценту материнских изоантител против FcRIII фрагмента клеток плода или в результате перехода в кровеносное русло плода материнских аутоантител.

Тромбоцитарные антигены

Тромбоциты, также как и все клетки, могут содержать изо-, алло-, ауто- и лекарственно-индуцированные антигены, которые могут быть выявлены в реакциях с соответствующими антисыворотками.

Кроме антигенов АВО, Резус и др., одинаковых с эритроцитарными, нативные (нестимулированные) тромбоциты содержат HLA-антигены, принадлежащие исключительно к I классу. Их иммуногенная активность варьирует как у отдельных индивидуумов, так и в зависимости от типа антигена. HLA-Dr (II класс) обнаруживаются на тромбоцитах, стимулированных цитокинами (гамма-интерфероном). In vivo это может наблюдаться при некоторых формах острой аутоиммунной тромбоцитопении.

HLA антигены I класса, обнаруживаемые на нестимулированных тромбоцитах, способны к белковому биосинтезу, что свидетельствует о том, что на этих клетках, по крайней мере, часть антигенов HLA не адсорбированы из плазмы. На каждом тромбоците присутствуют приблизительно 80000 ± 20000 молекул HLA. Небольшое количество растворимых HLA антигенов может быть пассивно поглощено из плазмы. По-видимому, клинического значения они не имеют.

Органоспецифические антигены, присущие только этим форменным элементам, выявляются на циркулирующих тромбоцитах и на мегакариocyтах. Специфические антигены принадлежат к пяти локусам, каждый из которых объединяет аллельные гены - Zw или P1^A, Ko или Sib, Bak, Yuk или Pen и Bg. Кроме того, сравнительно недавно описаны также антигены тромбоцитов Si^a, Va^a, Ca или Ti, Mo. Принятая в настоящее время классификация HPA (Human Platelet Antigen) предусматривает числовое обозначение антигенов в порядке их открытия, степень частоты встречаемости аллельного антигена обозначается верхним индексом - «a» - высокая частота или «b» - низкая частота.

Все органоспецифические антигены наследуются по аутосомно-кодминантному типу. Частота фенотипа значительно варьирует в различных популяциях.

Аутоантигены.

Аутоантигены выявляются на мембране тромбоцитов у больных с первичными или вторичными формами острой или хронической аутоиммунной тромбоцитопении (АИТП). Антитела, продуцируемые у этих больных против собственных антигенов, в ряде случаев могут обнаруживаться и у здоровых лиц.

Особенностью этих антител является то, что они реагируют не только с аутоантигенами больных АИТП, но и с тромбоцитами здоровых лиц, что объясняется общностью эпитопов, присутствующих на нормальных клеточных структурах. Многочисленные исследования показали, что большинство антитромбоцитарных антител специфичны к эпитопам на *gp* комплексах *IIb/IIIa* и *Ib/IX*, другие могут быть направлены против эпитопов на *gp Ia/IIa*, *gp V*, *gp VI*.

Лекарственно - индуцированные антигены

Исследования последних лет убедительно продемонстрировали, что лекарственные препараты, вводимые в организм, могут связываться с различными структурами на мембране тромбоцита и вызывать продукцию антител, направленных против вновь образованного комплекса. Подобные антитела могут быть двух типов: лекарственно-зависимые и лекарственно-независимые антитела. Лекарственно-зависимые антитела могут связываться с тромбоцитами только в присутствии лекарственного средства, послужившего причиной их образования, или его метаболитов, в то время как лекарственно-независимые антитела связываются с тромбоцитами и в отсутствии лекарственного средства или его метаболитов. Таким образом, они ведут себя подобно истинным аутоантителам, и их невозможно отдифференцировать от «идиопатических» аутоантител серологическими

методами. Может продуцироваться либо один тип антител, либо оба типа одновременно.

Методы определения антигенов тромбоцитов и антитромбоцитарных антител

Для определения антигенов тромбоцитов и антитромбоцитарных антител применяются следующие методы:

- Прямой метод - реакция агглютинации тромбоцитов
- Непрямой метод - ИФА (иммунофлуоресцентного анализа или иммуноферментного анализа).
- ОРСК - реакция связывания комплемента - в лимфоцитотоксическом тесте или platelet complement fixation - PCF.
- Метод ИФА, в котором используются моноклональные антитела, иммобилизованные на тромбоцитарных антигенах
- Метод иммунохимического анализа иммуноблот и радиоиммунопреципитация
- DNA - анализ - дотблотгибридизация
- Метод агрегации тромбоцитов с использованием H^3 - серотонина.

Антигены плазменных белков

К настоящему времени описано более 10 генетических систем, определяющих антигенный полиморфизм белков плазмы крови. Наиболее изучены 4 аллоантигенные системы иммуноглобулинов: G (m) - обуславливает антигенные свойства тяжелых цепей IgG, система Inv - контролирует антигенную активность легких цепей. Системы Isf и Am - генные системы антигенной активности, соответственно H-цепей IgG и H-цепей IgA.

Изучены также антигенные системы белков, не относящихся к иммуноглобулинам, например, гаптоглобин, который имеет 3 фенотипических варианта - Hp(1-1), Hp(2-2), Hp(2-1). Гаптоглобины формируются после рождения ребенка и не могут играть роль в изоиммунизации матери. Частота встречаемости отдельных фенотипов гаптоглобина в различных популяциях неодинакова.

Список литературы

1. Клиническая лабораторная диагностика. гл. ред. В. В. Долгов, В. В. Меньшиков. М.:ГЭОТАР-Медиа, 2015. [Электронный ресурс]: нац. рук.Т.1.-Режимдоступа: <http://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970421291.html>
2. Клиническая лабораторная диагностика. гл. ред. В. В. Долгов, В. В. Меньшиков. М.:ГЭОТАР-Медиа, 2016. [Электронный ресурс]: нац. рук.Т.2.-Режимдоступа: <http://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970421314.html>
3. Клиническая лабораторная диагностика. Клиническая ординатура [Электронный ресурс] : сб. метод.указаний для обучающихся к внеаудитор. (самостоят.) работе к практ. занятиям / сост. Е. Н. Анисимова, Т. И. Удовицина, В. А. Бабушкин [и др.] ; Красноярский медицинский университет. - Красноярск :КрасГМУ, 2013. - 95 с. – ЦКМС.
4. Клиническая лабораторная диагностика. Клиническая ординатура [Электронный ресурс] : сб. метод.указаний для обучающихся к практ. занятиям / сост. Е. Н. Анисимова, Т. И. Удовицина, В. А. Бабушкин [и др.] ; Красноярский медицинский университет. - Красноярск :КрасГМУ, 2013. - 419 с. – ЦКМС.
5. Медицинская лабораторная диагностика: программы и алгоритмы [Электронный ресурс] : рук.для врачей / ред. А. И. Карпищенко. - 3-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. - 696 с. : ил.
6. Кишкун,А. А. Назначение и клиническая интерпретация результатов лабораторных исследований [Электронный ресурс] / А. А. Кишкун. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016.
7. Клиническая и лабораторная диагностика : метод.пособие для студентов, курсантов высш. учеб. заведений, практикующих врачей / сост. Ю. В. Котловский, Т. А. Соколова-Попова, Л. А. Радченко [и др.] ; Красноярский медицинский университет. - Красноярск :КрасГМУ, 2017. - 115 с. : ил. : 500.00 - Рек. УМО РАЕ по класс.универ. и техн. Образованию. Котловский Ю. В., сост. П. Красноярский медицинский университет

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-
Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации

КАФЕДРА

Кафедра кардиологии, функциональной и клинико-лабораторной диагностики ИПО

Рецензия <доц. КМН Кафедры кардиологии, функциональной и клинико-лабораторной диагностики ИПО Анисимова Елена Николаевна > на реферат ординатора первого года обучения специальности Клиническая лабораторная диагностика <Николаевой Аси Андреевны > по теме: <Антигены лейкоцитов и тромбоцитов человека. Биологическое и медицинское значение. Лабораторные технологии верификации >.

Рецензия на реферат – это критический отзыв о проведенной самостоятельной работе ординатора с литературой по выбранной специальности обучения, включающий анализ степени раскрытия выбранной тематики, перечисление возможных недочетов и рекомендации по оценке.

Ознакомившись с рефератом, преподаватель убеждается в том, что ординатор владеет описанным материалом, умеет его анализировать и способен аргументированно защищать свою точку зрения. Написание реферата производится в произвольной форме, однако, автор должен придерживаться определенных негласных требований по содержанию. Для большего удобства, экономии времени и повышения наглядности качества работ, нами были введены стандартизированные критерии оценки рефератов.

Основные оценочные критерии рецензии на реферат ординатора первого года обучения специальности Клиническая лабораторная диагностика :

Оценочный критерий	Положительный/ отрицательный
1. Структурированность	+
2. Наличие орфографических ошибок	—
3. Соответствие текста реферата его теме	+
4. Владение терминологией	+
5. Полнота и глубина раскрытия основных понятий темы	+
6. Логичность доказательной базы	+
7. Умение аргументировать основные положения и выводы	+
8. Круг использования известных научных источников	+
9. Умение сделать общий вывод	+

Итоговая оценка: положительная/отрицательная

Комментарии рецензента:

Дата: 16.12.2017

Подпись рецензента:

Подпись ординатора:

