

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2004

УДК 618.396-039.41-092:612.118.221.2:612.112]-07

М. Н. Болдырева, Р. М. Хаитов, О. Б. Барцева, И. И. Гузов, И. Ю. Барков,
Е. И. Померанцева, О. В. Богатова, И. А. Гуськова, Т. Э. Янкевич,
Н. А. Хромова, И. В. Сергеев, Е. В. Филиппова, Л. П. Алексеев

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ HLA-DRB1-ГЕНОВ ПРИ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ НЕЯСНОГО ГЕНЕЗА

ГНЦ — Институт иммунологии Минздрава РФ, Центр иммунологии репродукции, Медико-генетический научный центр РАМН, Москва

Проведено сравнение распределения гена HLA-DRB1 (на уровне низкого разрешения) среди мужчин и женщин: 1-ю группу составили пары с повторными прерываниями беременности неясного генеза, 2-ю группу — пары, имеющие детей, 3-ю группу (контроль) — доноры крови соответствующего пола. Среди мужчин 2-й группы HLA-DRB1-гомозиготность была в 3 раза ниже, чем среди мужчин 1-й и 3-й групп. Уровни гомозиготности HLA-DRB1 среди женщин из соответствующих групп не различались. Гомозиготность по HLA-DRB1*02 и *07 среди мужчин 2-й группы не препятствовала репродукции. Мужчины и женщины 1-й группы, совпадавшие по одной DRB1-специфичности, чаще совпадали по DRB1*02, чем пары из 2-й группы. Среди женщин 1-й группы, не совпадавших с партнером по DRB1, была увеличена частота DRB1*04, среди мужчин этой группы снижена частота DRB1*01 по сравнению соответственно с мужчинами и женщинами 2-й группы. У женщин 1-й группы чаще обнаруживались генотипы, в которые входила специфичность DRB1*04, у мужчин этой же группы реже встречались генотипы, в которые входила специфичность DRB1*01 или DRB1*06, у женщин — DRB1*07.

The HLA-DRB1 gene frequencies (at low resolution) were studied among males and females: 1. Group one was made up of couples with repeated miscarriages of uncertain genesis; Group 2 comprises couples with children; and Group 3 - sex-matching control blood donors. The HLA-DRB1 homozygosity was 3-fold higher in men of Groups 1 and 3. The HLA-DRB1 homozygosity had no differences in females of the corresponding groups. The male HLA-DRB1*02 and *07 homozygosity did not interfere with the reproduction function. Males and females of Group 1, who had at least one identical DRB1 specificity, more often shared the DRB1*02 versus the couples of Group 2. As for the females of Group 1, who were incompatible with their partners on DRB1, their DRB1*04 frequency was found to be higher, whereas, the DRB1*04 frequency was lower in males of the discussed group versus males and females of Group 2. Genotypes comprising the DRB1*04 specificity were detected more often in them; males of the same group less seldom had the genotypes with the DRB1*01 or DRB1*06 specificities, while females had less seldom DRB1*07.

Проблемы, связанные с невынашиванием беременности, на фоне дефицита рождаемости в нашей стране стали особенно актуальными. Причины невынашивания беременности могут быть многочисленными и разными, в том числе иммунной природы [1, 2].

В течение физиологической беременности женщина долгие 9 мес вынашивает плод, который отличается от матери по набору генов, полученному им от отца, и не отторгается, как чужеродный трансплантат, материнским организмом. Течение беременности и родов в большой мере обусловлено иммунной системой [1, 2]. Вот почему часть проблем, связанных с патологией беременности, обусловлена иммунными механизмами.

При нарушении репродуктивной функции, как правило, имеет место комплекс проблем, включая инфекции, анатомические особенности, эндокринные расстройства и т. д. В связи с этим нет достаточной ясности в вопросах этиологии патогенеза нарушений физиологических иммунных взаимоотношений между матерью и плодом, основой которых является система генов главного комплекса тканевой совместимости человека (HLA).

Система HLA, которая была открыта более 40 лет назад как система, отвечающая за трансплантационный иммунитет, в настоящее время рассматривается в качестве главной системы генов иммунного ответа, обеспечивающей распознавание "своего" и "чужого", а также взаимодействие клеток иммунной системы [4].

Работы, посвященные изучению роли антигенов HLA в патологии беременности, проводились

с 70-х годов. Повышение числа совпадений с супругами по антигенам HLA было выявлено как среди женщин, страдающих привычным невынашиванием, так и среди женщин, перенашивающих беременность [1, 2]. Вопрос о значении для репродукции совпадения партнеров по конкретным HLA-антигенам оставался невыясненным.

Следует подчеркнуть, что все находки были сделаны на основании результатов серологического HLA-типирования с помощью клеточного лимфоцитотоксического теста. Результаты серологического HLA-типирования в значительной мере зависели от качества образцов HLA-сывороток, использованных в реакции. С качеством сывороток была связана также проблема определения гомозиготности клеток по антигенам HLA. Без проведения семейного анализа практически невозможно было отличить гомозиготность от невыявления того или иного антигена HLA.

В настоящее время благодаря развитию методов молекулярной генетики появилась реальная возможность проводить HLA-типирование на уровне генов [12]. Это существенно повысило объективность исследования, а также позволило проводить типирование генов HLA класса II, что ранее было недоступно при использовании сывороточных методов в связи с очень плохим качеством сывороток к антигенам HLA класса II.

Целью настоящей работы явилась попытка анализа роли генов II класса системы HLA, в частности значения гомозиготности, а также отдельных вариантов гена DRB1, у супружеских пар, имевших в анамнезе невынашивание беременности неясно-

Таблица 2

Распределение DRB1-специфичностей, по которым совпадают пары

Специфичность гена DRB1	Контрольные пары (n = 25)	Пары с НБНГ (n = 76)
01	4 (16%)	5 (6,6%)
02	3 (12%)	25 (32,9%)*
03	0 (0%)	2 (2,6%)
04	2 (8%)	6 (7,9%)
05	5 (20%)	15 (19,7%)
06	7 (28%)	10 (13,2%)
07	3 (12%)	13 (17,1%)
08	1 (4%)	0 (0%)
09	0 (0%)	0 (0%)
10	0 (0%)	0 (0%)

При м е ч а н и е. Звездочка — $p < 0,05$ без коррекции.

го генеза (НБНГ), т. е. пар, которые после детального обследования не имели установленной причины повторных прерываний беременности.

Материалы и методы. Обследовано 240 супружеских пар ("проблемные") с повторными прерываниями беременности и неудачными попытками (экстракорпорального оплодотворения), проходившие обследование в Центре иммунологии репродукции (98 пар) и в лаборатории клинической цитогенетики Медико-генетического научного центра РАМН (142 пары). Контролем служили 74 пары, имеющие детей, обратившиеся в Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН по поводу установления отцовства, которое было подтверждено, и 300 здоровых доноров крови (97 женщин и 203 мужчины).

HLA-типирование генов II класса проводили методом мультипраймерной амплификации сиквенса-специфическими праймерами на основе ПЦР [3] на уровне групп аллелей (соответствующих серологическим специфичностям).

Статистическую достоверность различий показателей определяли по точному двустороннему критерию Фишера.

Результаты и обсуждение. В связи с тем, что в литературе до настоящего времени преобладала точка зрения, согласно которой проблемы с вынашиванием плода могут быть связаны с наличием в генотипе у супругов одинаковых HLA-специфичностей [1], нами был проведен анализ совпадений специфичностей HLA-DRB1 у супругов в "проблемных" семьях и в контрольных семьях, имеющих детей (табл. 1).

Как пары, имеющие детей, так и пары с НБНГ разделились на 3 группы: 1-я группа — пары с полностью совпадающими генотипами, определенными на уровне групп аллелей; 2-я группа — пары, совпадающие по одной специфичности; 3-я группа — пары, не имеющие в генотипе общих вариантов гена DRB1.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что среди пар с НБНГ не было отмечено увеличения количества совпадений между супругами по генам HLA-DRB1 по сравнению с контрольной группой. У пар, имеющих детей, в 4 из 74 случаев на исследованном уровне (на уровне групп аллелей) обнаружено полное совпадение по локусу DRB1. Однако следует иметь в виду, что для окончательных выводов о значении совпадений между супругами по генам HLA для репродуктивной функции требуется дальнейшая работа, так как проведенное исследование не позволяет сделать заключение о том, совпадают ли супруги между собой на более высоком уровне разрешения (на уровне отдельных аллелей) гена DRB1, а также по другим генам HLA классов I и II.

Далее было исследовано распределение конкретных специфичностей гена DRB1 у контрольных пар и у пар с НБНГ во 2-й группе (с совпаде-

нием между супругами по одной специфичности гена DRB1). Результаты представлены в табл. 2 и 3.

Данные табл. 2 свидетельствуют о том, что среди обследованных с НБНГ по сравнению с контролем увеличено число пар, совпадающих по специфичности DRB1*02. В этой же группе было проанализировано распределение частот несовпадающих DRB1-специфичностей (см. табл. 3).

Анализ данных табл. 3 свидетельствуют об отсутствии достоверных различий между исследованными группами. Возможно, это связано с малочисленностью соответствующей части контрольной группы. Обращает на себя внимание также тот факт, что у женщин по сравнению с мужчинами суммарно несколько больше различий с контрольной группой по несовпадающим специфичностям.

Наиболее многочисленная 3-я группа состояла из пар, не совпадавших по специфичностям гена DRB1. Данные о распределении гена DRB1 в этой группе представлены в табл. 4 (значения p без коррекции).

Данные табл. 4 свидетельствуют о снижении у мужчин из "проблемных" пар частоты специфичности DRB1*01 по сравнению с мужчинами из контрольных пар и об увеличении у женщин из "проблемных" пар частоты специфичности DRB1*04.

Таблица 3

Несовпадающие специфичности при совпадении по одной специфичности гена DRB1

DRB1	Мужчины		p	Женщины		p
	контрольные пары (n = 25)	пары с НБНГ (n = 76)		контрольные пары (n = 25)	пары с НБНГ (n = 76)	
01	2 (8%)	7 (9,2%)		2 (8%)	15 (19,7%)	0,11
02	3 (12%)	15 (19,7%)	0,18	7 (28%)	12 (15,8%)	
03	2 (8%)	7 (9,2%)		3 (12%)	7 (9,2%)	
04	5 (20%)	7 (9,2%)	0,10	0 (0%)	9 (11,8%)	0,13
05	4 (16%)	14 (18,4%)		4 (16%)	8 (10,5%)	
06	5 (20%)	10 (13,2%)	0,17	1 (4%)	14 (18,4%)	0,06
07	4 (16%)	13 (17,1%)		5 (20%)	6 (7,9%)	0,07
08	0 (0%)	1 (1,3%)		1 (4%)	5 (6,6%)	
09	0 (0%)	2 (2,6%)		1 (4%)	0 (0%)	
10	0 (0%)	0 (0%)		1 (4%)	0 (0%)	

Таблица 1

Анализ совпадений специфичностей гена DRB1 у супружеских пар

Обследованные	Распределение пар по группам		
	1-я группа — полное совпадение по специфичностям гена DRB1	2-я группа — частичное совпадение по специфичностям гена DRB1	3-я группа — несовпадение по специфичностям гена DRB1
Пары с НБНГ	19 (7,9%)	76 (31,2%)	145 (60,4%)
Контрольные пары	4 (5,4%)	25 (33,8%)	45 (60,8%)

Таблица 4

Распределение DRB1-специфичностей у пар, не совпадающих по DRB1-гену

Специфичность гена DRB1	Мужчины		p	Женщины		p
	контрольные пары (n = 91)	пары с НБНГ (n = 276)		контрольные пары (n = 91)	пары с НБНГ (n = 278)	
01	16 (17,6%)	31 (11,3%)	0,04	9 (9,9%)	39 (14%)	
02	13 (14,3%)	39 (14,1%)		17 (18,7%)	46 (16,5%)	
03	8 (8,8%)	26 (9,4%)		7 (7,7%)	21 (7,6%)	
04	13 (14,3%)	33 (12%)		6 (6,6%)	39 (14%)	0,025
05	14 (15,4%)	49 (17,8%)		11 (12,1%)	39 (14%)	
06	12 (13,2%)	38 (13,8%)		17 (18,7%)	36 (12,9%)	
07	12 (13,2%)	37 (13,4%)		18 (19,8%)	42 (15,1%)	
08	3 (3,3%)	14 (5,1%)		5 (5,5%)	7 (2,5%)	
09	0 (0%)	2 (0,7%)		0 (0%)	7 (2,5%)	
10	0 (0%)	7 (2,5%)		1 (1%)	2 (0,7%)	

Для установления значения конкретных HLA-DRB1-специфичностей в репродукции в "проблемных" семьях было проанализировано распределение HLA-DRB1-генотипов и специфичностей по сравнению с контрольными парами. Выборочные данные для мужчин и женщин из контрольных семей с НБНГ представлены в табл. 5.

Данные табл. 5 свидетельствуют о том, что между контрольными и "проблемными" парами имеются различия. Так, у мужчин из "проблемных" пар реже, чем в контрольной группе, встречались генотипы, в которые входила специфичность DRB1*01 или DRB1*06. Что касается конкретных генотипов, то у мужчин из "проблемных" пар реже встречались генотипы DRB1*01/05 и DRB1*06/07. Для исследованной группы женщин из "проблемных" пар было характерно увеличение числа генотипов, в которые входила специфичность DRB1*04, и снижение числа генотипов, в которые входила специфичность DRB1*07. В этой группе также обнаружено снижение числа генотипов DRB1*02/05, 03/07 и 06/07 по сравнению с группой контроля.

Далее была проанализирована возможная роль HLA-гомозиготности для репродуктивной функции. С этой целью проведено сравнение количества гомозигот различной DRB1-специфичности в группах "проблемных" и контрольных пар, имеющих детей, а также в группах контрольных здоровых доноров соответствующего пола (табл. 6 и 7).

Таблица 5

Частоты генотипов в семьях, имеющих детей, и в семьях с НБНГ

Генотип DRB1	Мужчины		p	Женщины		p
	контрольные пары (n = 74)	пары с НБНГ (n = 240)		контрольные пары (n = 74)	пары с НБНГ (n = 240)	
1,5	7 (9,5%)	7 (2,9%)	0,02	1 (1,3%)	11 (4,6%)	
1x	23 (31%)	40 (17%)	0,004	14 (19%)	55 (23%)	
2,5	3 (4,1%)	18 (7,5%)		9 (12,2%)	13 (5,4%)	0,032
3,7	1 (1,3%)	2 (0,8%)		5 (6,8%)	2 (0,8%)	0,009
4x	20 (27%)	48 (20%)		7 (10%)	53 (22%)	0,006
6,7	5 (6,8%)	5 (2,1%)	0,047	6 (8,1%)	4 (1,7%)	0,01
6x	26 (35%)	61 (26%)	0,03	23 (31%)	62 (26%)	
7x	16 (22%)	59 (25%)		25 (34%)	57 (24%)	0,028

Таблица 6

Мужчины — DRB1-гомозиготы

DRB1-специфичность	Пары с НБНГ (n = 240)	Пары, имеющие детей (n = 74)	Доноры (n = 203)
01	6 (2,5%)	0 (0%)	1 (0,5%)
02	4 (1,7%)	1 (1,4%)	8 (3,9%)
03	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,5%)
04	4 (1,7%)	0 (0%)	9 (4,4%)
05	10 (4,2%)	0 (0%)	11 (5,4%)
06	5 (2,1%)	0 (0%)	4 (2%)
07	8 (3,3%)	3 (4,1%)	5 (2,5%)
Всего...	37 (15,4%)*	4 (5,4%)	39 (19,2%)**

Примечание. Одна звездочка — $p < 0,05$, две — $p < 0,01$.

Данные табл. 6 и 7 позволяют сделать вывод об отрицательном значении DRB1-гомозиготности для осуществления репродуктивной функции, прежде всего для мужчин. Так, среди мужчин из контрольных пар, имеющих детей, общее количество HLA-DRB1-гомозигот было в 3 раза меньше, чем среди мужчин из "проблемных" пар и среди мужчин контрольной группы доноров соответствующего пола. Из 74 пар, имеющих детей, 1 мужчина был гомозиготен по DRB1*02, 3 мужчин — по DRB1*07, т. е. гомозиготность у мужчин по этим специфичностям не препятствовала успешному воспроизведению потомства.

Среди женщин из "проблемных" пар ни общее количество гомозигот, ни количество гомозигот разной DRB1-специфичности не отличались от таковых в обеих контрольных группах (женщины из контрольных пар, имеющих детей, и здоровые доноры-женщины).

Поиск партнера для осуществления репродуктивной функции в животном мире происходит в соответствии с биологическими законами, направленными на создание пар, которые могут обеспечить воспроизведением потомства, способного наилучшим образом приспособиться к изменениям окружающей среды. Такими свойствами в большей мере могут обладать гетерозиготные организмы по сравнению с гомозиготными. Это особенно важно для систем организма, обеспечивающих взаимодействие с окружающей средой. Одной из таких систем, безусловно, является иммунная система. За разнообразие и эффективность работы иммунной системы отвечают гены иммунного от-

Таблица 7

Женщины — DRB1-гомозиготы

DRB1-специфичность	Пары с НБНГ (n = 240)	Пары, имеющие детей (n = 74)	Доноры (n = 97)
01	5 (2,1%)	2 (2,7%)	0 (0%)
02	10 (4,2%)	1 (1,4%)	4 (4,1%)
03	0 (0%)	0 (0%)	1 (1%)
04	4 (1,7%)	0 (0%)	2 (2,1%)
05	8 (3,3%)	2 (2,7%)	3 (3,1%)
06	6 (2,5%)	4 (5,4%)	5 (5,2%)
07	8 (3,3%)	2 (2,7%)	3 (3,1%)
Всего...	41 (17,1%)	11 (14,9%)	18 (18,6%)

вета — гены главного комплекса гистосовместимости — ГКГ (у человека — гены HLA). Для животных система генов ГКГ является одной из ведущих для выбора партнеров с целью удовлетворения сильнейшего инстинкта — продолжения рода. Опыты на чистолинейных мышах показали, что самки предпочитают самцов других линий, т. е. отличающихся от них по генам ГКГ, по сравнению с однолинейными, которые совпадают по этим генам [9]. Оказалось, что самки мышей ориентируются в выборе партнера на запах, который различается у мышей с разными вариантами генов ГКГ. Было также обнаружено, что и у людей с разными вариантами генов HLA биологические жидкости различаются по запаху [18].

Конечно, у человека на создание супружеских пар оказывают влияние не только биологические, но и социальные факторы. Однако нормальное развитие беременности у человека в первую очередь все же зависит от биологических факторов.

Были исследованы биологические закономерности создания супружеских пар в этнических и религиозных изолятах, в которых влияние цивилизации сведено к минимуму. Оказалось, что в племенах южноамериканских индейцев, живущих в дельтах рек Амазонки и Ориноко [10], а также в религиозной секте хатеритов (кавказоиды европейского происхождения) количество гетерозиготных по генам HLA людей превышает математически ожидаемое в соответствии с менделеевским распределением [11]. Это может свидетельствовать о том, что выбор партнеров происходит не случайно. Доказательством отбора именно по генам HLA служит работа А. Robertson и соавт. [15], которые обнаружили, что число гомозиготных по HLA-гаплотипам людей в секте хатеритов было меньше математически ожидаемого. В то же время количество гомозиготных по 3 другим не-HLA-локусам микросателитов, расположенных на хромосоме 13, в отличие от локусов HLA, расположенных на хромосоме 6, соответствовало расчетному. Кроме того, установлено, что беременность у женщин из секты хатеритов, совпадающих с партнером по генам DRB1, наступала через более длительные интервалы времени, чем в парах, не совпадающих по гену DRB1 [14], и в таких семьях было соответственно меньше количество детей [13].

Полученные нами данные об отсутствии различий между "проблемными" парами и парами, имеющими детей, по числу полных и частичных совпадений по специфичностям DRB1 не позволяют сделать окончательный вывод о значении таких совпадений в связи с малочисленностью выборки. В дальнейшем важно провести исследования по изучению значения для репродуктивной функции как других генов HLA классов I (A, B и т. д.) и II (DQA1, DQB1 и т. д.), так и уровня совпадения (на уровне групп аллелей, на уровне аллелей).

В отличие от популяционных изолятов, где на выбор партнера для воспроизведения потомства не влияют социальные факторы, значение биологических факторов для создания пар с целью репродукции в современном обществе существенно снижено. В связи с этим в современном мире биологический отбор неблагоприятных сочетаний генов HLA

может происходить в том числе и на уровне вынашивания беременности. Это подтверждают проведенные нами исследования. Однако способы реализации иммунных механизмов репродукции у представителей разного пола, вероятно, различаются, о чем свидетельствуют обнаруженные нами различия значений разных вариантов гена DRB1 у мужчин и женщин. Так, нами было установлено, что у женщин с проблемами вынашивания отмечалось увеличение частоты специфичности DRB1*04 и снижение частоты генотипов, в которые входит специфичность DRB1*07, в то же время у мужчин из "проблемных" пар обнаружено снижение частоты генотипов, в которые входит специфичность DRB1*01 или DRB1*06.

Известно, что определенные аллельные варианты гена DRB1*04 ассоциированы с большинством известных на сегодняшний день аутоиммунных заболеваний, таких, как сахарный диабет типа 1, ревматоидный артрит и др. [6, 16]. В связи с этим можно предположить, что у части женщин из "проблемных" пар невынашивание обусловлено доклиническим проявлением аутоиммунного процесса. Увеличение частоты DRB1*04 у женщин с привычным невынашиванием отмечает также О. Christiansen [5], но он также обнаружил у датских женщин с этой патологией увеличение частоты генов DRB1*01 и 03, о которых известно, что они ассоциированы с аутоиммунными заболеваниями [6, 16].

Результаты, полученные нами при исследовании значения HLA-DRB1-гомозиготности для репродукции, позволяют предположить, что реализация биологического отбора, направленного на воспроизведение гетерозиготных по HLA-генам особей, происходит либо на уровне "выбора" женщиной партнера, либо на следующем этапе — на этапе вынашивания беременности. Это предположение основано на полученных нами данных о том, что среди мужчин, имеющих детей, встречается достоверно меньшее количество DRB1-гомозигот (см. табл. 6 и 7), чем среди мужчин из "проблемных" пар и контрольных доноров крови, при полном отсутствии таких различий у женщин (уровень DRB1-гомозиготности у женщин был таким же, как у женщин из контрольной группы доноров и у мужчин из "проблемных" семей).

Следует отметить, что многочисленные источники литературы свидетельствуют о неблагоприятном значении HLA-гомозиготности для организма. Установлено, что HLA-гомозиготность увеличена у больных с различными видами патологии [7, 8]. С HLA-гомозиготностью ассоциирован также сниженный иммунный ответ на вакцинацию [17].

Предположения о механизме реализации биологического отбора HLA-гомозигот на этапе вынашивания беременности могут быть следующими: мужчины HLA-гомозиготы либо имеют какие-то особенности, приводящие к развитию в последующем "дефектного" плода, либо недостаточно подготавливают женщину к развитию нормальной беременности. Эти предположения, упрощающие, вероятно, реальные события, несомненно, требуют проведения дальнейших исследований.

Выводы

1. Среди пар с НБНГ не выявлено увеличения совпадений между супругами по генам HLA-DRB1.

2. В группе пар с НБНГ, совпадавших по одной специфичности DRB1, увеличена частота совпадения супругов по специфичности DRB1*02.

3. В группе женщин из пар с НБНГ, не совпадавших по гену DRB1, увеличена частота специфичности DRB1*04, у мужчин снижена частота специфичности DRB1*01 по сравнению соответственно с женщинами и мужчинами из контрольных пар.

4. В группе женщин из пар с НБНГ чаще обнаруживались генотипы, в которые входила специфичность DRB1*04, у мужчин из пар с НБНГ реже встречались генотипы, в которые входили специфичности DRB1*01 или DRB1*06, у женщин — DRB1*07.

5. Среди мужчин из контрольных пар, имеющих детей, HLA-DRB1-гомозиготность была в 3 раза ниже, чем среди мужчин из пар с НБНГ и из контрольной группы доноров-мужчин.

6. Гомозиготность у мужчин по DRB1*02 и DRB1*07 не препятствует репродукции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев Л. П., Федорова О., Зарецкая Ю. М., Сластен О. П. // Тер. арх. — 1980. — № 6. — С. 8—15.

2. Алексеев Л. П., Федорова О., Сластен О. П., Полянская И. С. // Иммунология. — 1984. — № 2. — С. 69—72.
3. Трофимов Д. Ю. Разработка метода мультипраймерной ПЦР для типирования генов HLA класса II: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 1996.
4. Хаитов Р. М., Алексеев Л. П. // Аллергия, астма и клин. иммунол. — 2000. — № 8. — С. 7—16.
5. Christiansen O. B. // Am. J. Reprod. Immunol. — 1999. — Vol. 42, N 2. — P. 110—115.
6. De La Concha E. G., Fernandez-Aguero M., Martinez A. et al. // Clin. Exp. Immunol. — 1999. — Vol. 116, N 3. — P. 516—520.
7. Donner H., Seidl C., Van der Auwera B. et al. // Tissue Antigens. — 2000. — Vol. 55, N 3. — P. 271—274.
8. Dorak M. T., Mills K. I., Gaffney D. et al. // Ibid. — 1994. — Vol. 44, N 5. — P. 271—278.
9. Hedrick P. W. // Genetics. — 1992. — Vol. 132, N 2. — P. 575—581.
10. Hedrick P. W., Black F. L. // Hereditas. — 1997. — Vol. 127, N 1—2. — P. 51—58.
11. Kostyu D. D., Dawson D. V., Elias S., Ober C. // Hum. Immunol. — 1993. — Vol. 37, N 3. — P. 135—142.
12. Middleton D., Williams F. // HLA 1997 / Eds P. Terasaki, D. Gjerston. — 1997. — P. 1—7.
13. Ober C., Elias S., O'Brien E. et al. // Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol. — 1988. — Vol. 18, N 4. — P. 111—115.
14. Ober C., Elias S., Kostyu D. D., Hauck W. W. // Am. J. Hum. Genet. — 1992. — Vol. 50, N 1. — P. 6—14.
15. Robertson A., Charlesworth D., Ober C. // Genet. Epidemiol. — 1999. — Vol. 17, N 3. — P. 165—173.
16. Rowley M. J., Stockman A., Brand C. A. et al. // Scand. J. Rheumatol. — 1997. — Vol. 26, N 6. — P. 448—455.
17. StSauer J. L., Ovsyannikova I. G., Jacobson R. M. et al. // J. Infect. Dis. — 2002. — Vol. 185, N 11. — P. 1545—1549.
18. Wobst B., Zavazava N., Luszyk D. et al. // Genetica. — 1998—1999. — Vol. 104, N 3. — P. 275—283.

Поступила 18.07.03

КЛЕТОЧНАЯ ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2004

УДК 612.438.014.3.08

М. М. Литвина, Н. И. Шарова, А. Х. Дзуцев, А. А. Ярилин

СОЧЕТАНИЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ И АПОПТОЗА ТИМОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ИХ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ С ЭПИТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ ТИМУСА

ГНЦ — Институт иммунологии Минздрава России, Москва

В совместной "двухмерной" культуре лимфоидных и эпителиальных клеток тимуса человека параллельно осуществляются дифференцировка и апоптоз тимоцитов. Проявлением дифференцировки служит снижение доли клеток фенотипа CD4⁺CD8⁺CD3^{lo} и повышение содержания CD3^{hi}-клеток, в частности CD4⁺CD8⁺-timoцитов. В апоптоз вовлекаются преимущественно клетки CD4⁺CD8⁺CD3^{lo}. При определении мембранного фенотипа жизнеспособных и апоптотических тимоцитов установлено, что последние фенотипически сходны с тимоцитами, не испытывавшими воздействия тимусных эпителиальных клеток (ТЭК), тогда как жизнеспособные тимоциты резко отличаются от них высоким содержанием одинарно-положительных клеток, особенно CD4⁺CD8⁺, и низким содержанием CD4⁺CD8⁺-клеток. Очевидно, события, происходящие в кокультуре тимоцитов и ТЭК, моделируют положительную селекцию тимоцитов, при которой не поддерживаемые селекцией CD4⁺CD8⁺-timoциты подвергаются апоптозу, а поддерживаемые селекцией клетки выживают и дифференцируются в одинарно-положительные тимоциты. Однако в условиях "двухмерной" (а не органной) культуры клеток тимуса дифференцировка тимоцитов оказывается неполной, поскольку она приводит к формированию только одной зрелой субпопуляции тимоцитов — CD4⁺CD8⁺ и не обеспечивает развития хелперных CD4⁺CD8⁻ клеток. Причиной этого может служить дефектность экспрессии в монослое ТЭК факторов, определяющих дифференцировку CD4⁺CD8⁻-клеток, в частности молекул MHC II класса.

Differentiation and apoptosis of thymocytes was made concurrently in a "two-chamber" culture of lymphoid and epithelial cells of the human thymus. A lower portion of CD4⁺CD8⁺cd3^{lo} phenotype cells and a higher content of CD3^{hi} cells, in particular, of the CD4⁺CD8⁺ lymphocytes are the signs of differentiation. CD4⁺CD8⁺ cells are mainly involved in apoptosis. It was established, while determining the membrane phenotype of viable and apoptotic thymocytes, that the former are similar to the thymocytes that escaped the effect of the thymus epithelial cells (TEC), whereas, the viable thymocytes radically differ from them by a high content of the ordinary-positive cells, especially of CD4⁺CD8⁺, and by a low content of the CD4⁺ and CD8⁻ cells. The processes, occurring in the co-culture of thymocytes and TEC, model, obviously, the positive selection of thymocytes, during which the selection-unsupported