

GÉNY, POLYMORFIZMUS A FUNKCIA HLA-GENETICKEJ OBLASTI

BUC M.

GENES, POLYMORPHISMS, AND FUNCTION OF THE HLA GENETIC REGION

Great biological significance of the HLA complex and its impact on practical medicine impels researchers to study it, the result of which is an annual expansion of our knowledge on the system. The polymorphism of the HLA complex has increased — altogether 664 alleles are officially recognised. The genetic defect leading to the bare lymphocyte syndrome was elucidated, too — the mutations in genes coding transcription factors RFX5 and CIITA are responsible for. Also the role of HLA-DM antigens in the exogenous pathway of antigen presentation was elucidated. They are principle molecules which dislodge CLIP from the groove of HLA class II molecules leaving it free to accommodate more suitable immunogenic peptide. It was also discovered that HLA class I antigens are target structures for NK-cells. NK-cell receptors recognising them transduce negative signals switching their cytotoxic activity off. (Fig. 8, Tab. 1, Ref. 34.)

Key words: HLA-complex, bare lymphocyte syndrome, antigen presentation, NK cell receptors.

Bratisl Lek Listy 1998; 99:447–453

Veľký biologický a medicínsky význam HLA-komplexu podmieňuje neustály záujem o štúdium tohto systému, čo sa prejavuje každoročným nárastom poznatkov. Vzrástla jeho polymorfnosť, v súčasnosti poznáme už 664 rôznych alel. Spresnila sa príčina vzniku syndrómu nahých lymfocytov, kde sa dokázalo, že je podmienený mutáciami génov determinujúcich transkripčné faktory RFX5 a CIITA. Novšie poznatky sú aj v oblasti prezentácie antigénov, pri ktorej sa objasnila funkcia HLA-DM molekúl ako principiálnych molekúl, ktoré sa zúčastňujú na uvoľňovaní peptidu CLIP zo žliabka HLA-II molekúl. Napokon sa zistilo, že HLA-antigény triedy I sú terčovými štruktúrami, ktoré rozpoznávajú receptory NK-buniek. Ich vzájomná interakcia sprostredkúva prenos negatívneho signálu, ktorý následne vypne cytotoxickú aktivitu NK-buniek. (Obr. 8, tab. 1, lit. 34.)

Kľúčové slová: HLA-systém, syndróm nahých lymfocytov, prezentácia antigénu, NK-bunkové receptory.

Bratisl. lek. Listy, 99, 1998, č. 8–9, s.447–453

HLA-komplex, hlavný histokompatibilný systém u človeka, pre svoj veľký medicínsky a biologický význam stojí stále v centre pozornosti výskumu či už priamo, alebo nepriamo, štúdiom tých javov, ktoré ovplyvňuje.

V uplynulých troch rokoch prebehla pravidelná medzinárodná pracovná akcia *International histocompatibility conference and workshop*. Výsledkom sústredeného štúdia bol opäť vzrast poznatkov o komplexnosti a polymorfnosti tohto systému. Pribudli nové lokusy a nové alely. Počet lokusov nachádzajúcich sa v HLA-genetickej oblasti sa odhaduje na niekoľko stoviek a dnes ich je známych vyše sto. Medzi najdôležitejšie lokusy patria klasické lokusy HLA-A, -B a -C (označujú sa ako trieda Ia) a neklasické HLA-E, -F, -G (Ib), na ktorých sídlia funkčné gény a lokusy HLA-H, -J, -K a -L, na ktorých sú prítomné pseudogény. K triede II patria

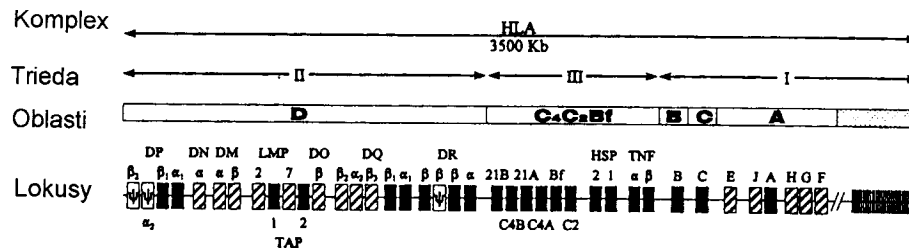
klasické lokusy HLA-DR, -DQ, -DP a neklasické lokusy HLA-DM, -DN a -DO, ku ktorým ešte treba pripočítať (skôr z hľadiska funkčného ako biochemického) lokusy TAP a LMP (obr. 1) (prehľad Buc a Ferencík, 1994; Buc, 1997). Väčšina novopribudnutých génov má zatiaľ svoje pôvodné laboratórne označenie. Z génov Ib nachádzajúcich sa telometricky od HLA-F prirahuje pozornosť najmä gén, ktorý zodpovedá za fyziologickú absorpciu Fe²⁺ z potravy do krvného obehu. Mutácia v tomto géne spôsobuje hereditárnu hemochromatózu. Gén sa označuje ako **HLA-H** („H“ za hemochromatózu). „HLA-H“ je aj oficiálne označenie lokusu nachádzajúcom sa medzi lokusmi HLA-F a HLA-A (na lokuse HLA-H sídli pseudogén), a preto nomenklatúrna komisia SZO odporúča ponechať lokusu pre hemochromatózu jeho pôvodné označenie, t.j. HFE. Mutácia v géne HLA-H sa týka pozície 282, ktorá spôsobí, že do proteínového reťazca sa namiesto cysteínu zabudováva tyrozín (Feder a spol., 1996; Parkkila a spol., 1997). Zmena v zložení disulfidovej väzby. Následkom toho sa naruší interakcia medzi $\alpha 3$ -doménou a $\beta 2$ -mikroglobulínom, ktorá je nevyhnutná pre expresiu kompletného antigénu do membrány bunky. Funkcia reťazca HLA-H nie je známa, nepodobá sa žiadnemu proteínu viažúcemu železo. Je možné, že svojou interak-

Imunologický ústav Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave

Department of Immunology, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava

Address for correspondence: M. Buc, MD, DSc, Imunologický ústav LFUK, Sasinkova 4, 811 08 Bratislava, Slovakia.

Phone: +421.7.5357 398, Fax: +421.7.5357 578, Internet: buc@fmed.uniba.sk



Obr. 1. Génová mapa hlavného histokompatibilného komplexu človeka.
Fig. 1. Genetic organisation of the human major histocompatibility complex.

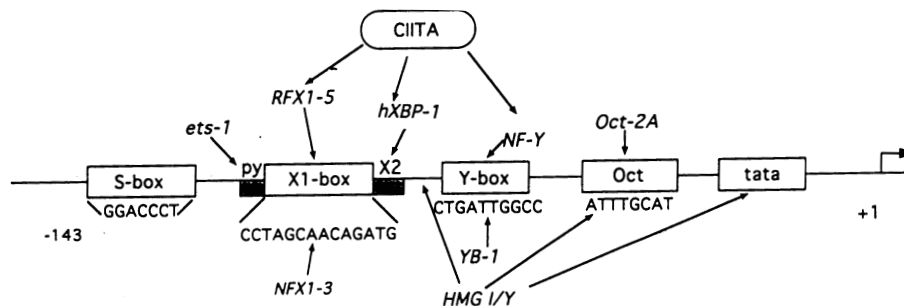
ciou s proteínom viažúcim železo prítomným v membráne enterocytov krýpt tenkého čreva napomáha jeho funkcii; je takisto možné, že HLA-H sa zúčastňuje na regulácii transportu železa cez enterocyt do submukózneho priestoru. Homozygótnosť mutácie v géne HLA-H sa vyskytuje približne u 3—4 jedincov z 1000, čo spôsobuje, že hereditárna hemochromatóza sa označuje ako choroba 21. storočia (Parkkila a spol., 1997; Worwood a Walker, 1997).

Výrazne vzrástla aj polymorfnosť systému. Prakticky na každom z lokusov pribudli nové alely, takže v súčasnosti na klasických lokusoch máme celkovo 664 oficiálne uznaných alel. K týmto alelám treba prirátat prirodzene ešte alely menej polymorfných lokusov HLA-E, -F a -G a HLA-DM, TAP a LMP, ktorých je celkovo 44 (SZO 1997).

Pokrok sa zaznamenal aj pri objasňovaní promótorovej oblasti HLA-génov, najmä triedy II, a to predovšetkým v súvislosti so skúmaním podstaty imunodeficiencie, ktorá sa vyznačuje chýbaním HLA-antigénov — ide o **syndróm nahých lymfocytov** (BLS = *bare lymphocyte syndrome*). Promótorová oblasť HLA-II génov sa skladá z úsekov — boxov, ktoré sa nachádzajú aj pri iných génoch, a z úsekov, ktoré sú charakteristické len pre promótorovú oblasť génov HLA-II. Je pritom potrebné uviesť, že rovnaká promótorová oblasť sa nachádza aj pri génoch HLA-DM, ako aj pri géne, ktorý determinuje γ -retazec. K nešpecifickým promótorovým úsekom patria TATA a oktamer, k špecifickým úseky Y, X a S, pričom X-box sa delí na podúseky X1, X2 a X3. Na každý

z uvedených úsekov sa viažu špecifické transkripčné faktory, z ktorých najdôležitejšie sú RFX, NF-Y a X2BP (Abdulkadir a spol., 1996; Jabrane-Ferrat a spol., 1996) (obr. 2). BLS je klinicky síce homogénna choroba, ale geneticky rozdielna. Ide o autozomálne dedičnú chorobu vyskytujúcu sa najmä v oblasti Stredomoria. Z genetického hľadiska ide o mutácie génov, ktoré determinujú transkripčné faktory. Dva z nich boli v ostatnej dobe podrobne analyzované. Faktor **RFX** je heterodimér skladajúci sa z dvoch podjednotiek, p36 a p75. Gén pre transkripčný faktor p75, ktorý sa nazýva aj ako faktor RFX5, sa lokalizoval na 1. chromozóm (Abdulkadir a spol., 1996; Mach a spol., 1997). Mutácia v tomto géne vedie k BLS, ktorý patrí k tzv. komplementačnej skupine „C“. Gén pre p36 zatiaľ nebol identifikovaný, ale predpokladá sa, že mutácia v tomto géne zodpovedá za BLS patriaci ku komplementačnej skupine „B“. Najnovšie bol objavený transaktivátor **CIITA**. CIITA na rozdiel od iných transkripčných faktorov sa neviaže priamo na DNA, ale na transkripčné proteíny, ktoré sa už predtým nadviazali na svoje úseky v promótorovej oblasti génu. Mutácia v géne determinujúceho CIITA takisto vedie k BLS (komplementačná skupina „A“) (Sabatier a spol., 1996; Mach a spol., 1997).

Prelomovým rokom v pochopení biologického významu génových produktov HLA-komplexu bol rok 1987, keď bola objavená terciálna štruktúra HLA-I antigénov (Björkman a spol., 1987). Odvtedy vieme, že hlavnou funkciou HLA-molekúl je prezentácia imunogénnych peptidov pochádzajúcich z cudzích alebo vlast-

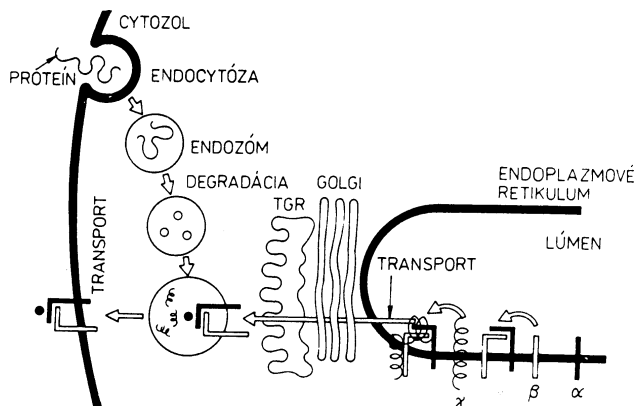


Obr. 2. Promótorová oblasť HLA-DRA génu (modifikované podľa Abdulkadira a spol., 1996).
Fig. 2. Promoter region of the HLA-DRA gene (according to Abdulkadir et al., 1996).

ných antigénov. Základný mechanizmus prezentácie antigénov sa v krátkom čase objasnil (prehľad Neeffjes a Momburg, 1993) a odvtedy sa spresňujú jednotlivé detaily tohto procesu. **Exogénna cesta prezentácie antigénu** sa vyznačuje tým, že antigén sa mechanizmom endocytózy pohltí a dostáva sa do včasného endozómu (obr. 3). Tento útvar splyva s vakuolami obsahujúcimi proteínázy, najmä cysteinové a aspartátové, ktoré antigén štiepia na jednotlivé fragmenty predurčené na väzbu na HLA-antigény triedy II. Tieto sa syntetizujú na endoplazmovom retikule (ER). Je známe, že $\alpha\beta$ -heterodimér sa viaže s ďalším reťazcom — *gamma*, ktorého základná funkcia je dvojaká: a) väzbou na heterodimér blokuje žliabok HLA-molekúl s cieľom zabránenia väzby peptidov predurčeným pre väzbu na HLA-molekuly triedy I, b) γ -reťazec v sebe obsahuje úsek („motív“), ktorý umožní presun celého komplexu z ER cez Golgiho aparát do („post“) Golgiho vakuoly, v ktorej dochádza k uvoľneniu γ -reťazca a k väzbe peptidov na HLA-molekuly (Triantafylou a spol., 1997). Táto mnohovezikulová vakuola sa označuje **MIIC**. Je to útvar, ktorému chýba *manózo-6-fosfátový receptor* charakteristický pre neskorý endozóm a enzým *beta-glukuronidáza*, ktorý je charakteristický pre lyzozóm. MIIC je teda útvar nachádzajúci sa medzi neskorým endozómom a lyzozómom (Cotner a Pious, 1996; Rudensky, 1996).

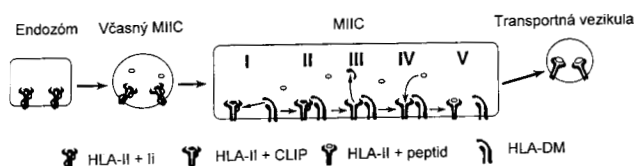
Uvoľnenie γ -reťazca zo spojenia s $\alpha\beta$ -dimérom nie je automatické, ale je to postupný proces. γ -reťazec sa štiepi katepsínom S (Chapman a spol., 1997). Táto cysteinová proteínáza štiepi γ -reťazec tak, že jeho časť, ktorá sa nachádza v žliabku, zostáva tu aj naďalej; označuje sa ako **CLIP** (*class II associated invariant chain peptide*). Skutočnosť, že katepsín S je špecifický proteolytický enzým pre degradáciu γ -reťazca umožní hľadám v budúcnosti využiť jeho inhibítor v liečbe alergií, autoimunitných chorôb, v transplantácii imunológii a pod. Na to, aby sa však peptid nadviazal do žliabka HLA-II molekuly, musí sa z nej najprv uvoľniť CLIP. Uvoľneniu CLIP napomáha ďalší antigén HLA-systému — HLA-DM.

Antigén **HLA-DM** je heterodimér, ktorý má podobnú štruktúru ako klasické HLA-molekuly triedy II. Pribuznosť HLA-DM s klasickými HLA-molekulami triedy II je však len na úrovni asi 30 % a na rozdiel od nich, je to prevažne intracelulárne sa nachádzajúci proteín (Kelly a spol., 1991; Cotner a Pious, 1996). Syntéza HLA-DM reťazcov sa uskutočňuje takisto v ER, k ich väzbe na dimér však nedochádza, do vakuoly MIIC putuje nezávisle od nich. V tejto vakuole sa viaže na komplexy CLIP-heterodimér triedy II a pomáha uvoľňovať CLIP (obr. 4). Mechanizmus tohto procesu nie je presne známy. Predpokladá sa, že po väzbe HLA-DM na heterodimér, pravdepodobne do oblasti mimo žliabka viažúceho peptid, dôjde k alosterickým zmenám, ktoré umožnia uvoľnenie v ňom prítomného CLIP. Tento proces si vyžaduje kyslé pH, podobne ako štiepenie γ -reťazca. Napokon antigén HLA-DM disociuje od heterodiméra triedy II, pravdepodobne v zásaditejšom prostredí, pri putovaní vezikuly smerom k membráne bunky prezentujúcej antigén (Roche, 1995; Cotner a Pious, 1996; Wubbolts a spol., 1997). Sú správy, že HLA-DM umožňuje uvoľnenie nielen CLIP, ale aj peptidu, ktorý nie je dostatočne pevne zafixovaný, jeho afinita je nižšia. Taktó HLA-DM udržuje žliabok $\alpha\beta$ -heterodiméra voľný pre vysokoafinitnejší peptid. HLA-DM pravdepodobne zabraňuje aj agregácii HLA-II molekúl počas ich asociácie s peptidom (Wubbolts a spol., 1997).



Obr. 3. Exogénna cesta prezentácie antigénu (podľa Neeffjesa a Momburga, 1993).

Fig. 3. Exogenous pathway of antigen presentation (according to Neeffjes and Momburg, 1993).



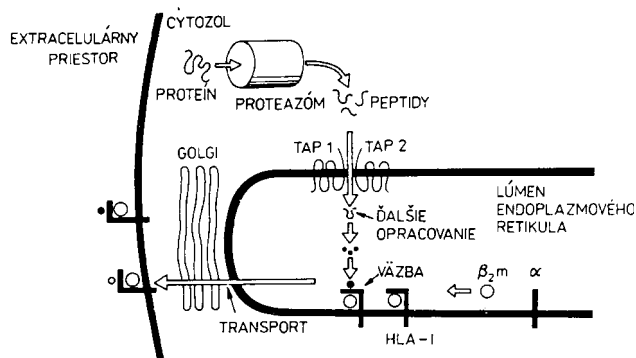
Obr. 4. Úloha HLA-DM molekúl pri prezentácii antigénov prostredníctvom HLA-antigénov triedy II (podľa Rochehe, 1997).

Fig. 4. The role of HLA-DM in class II antigen presentation (according to Roche, 1997).

Nedávno sa zistilo, že v aktivite HLA-DM antigénov pomáha aj **antigén HLA-DO** (Liljedahl a spol., 1996). HLA-DO sa nachádza v podoblasti HLA-DQ, medzi lokusmi DQB2 a TAP2 (tab. 1). Má limitovaný polymorfizmus. Vyskytuje sa iba intracelulárne a počas transportu sa spája s HLA-DM. Pre väzbu peptidov nie je nevyhnutne potrebný, pravdepodobne má len modulačnú

Tab. 1. Polymorfizmus jednotlivých HLA-lokusov.
Tab. 1. Polymorphism of particular HLA-loci.

Lokus Locus	Počet alel Number of alleles	Lokus Locus	Počet alel Number of alleles
HLA-A	83	HLA-E	5
HLA-B	186	HLA-F	1
HLA-C	42	HLA-G	7
HLA-DRA	2	HLA-DMA	4
HLA-DRB1	183	HLA-DMB	5
HLA-DRB3	11	TAP1	6
HLA-DRB4	9	TAP2	7
HLA-DRB5	12	LMP2	5
HLA-DQA1	18	LMP7	4
HLA-DQB1	31		
HLA-DPA1	10		
HLA-DPB1	77		
	664		44



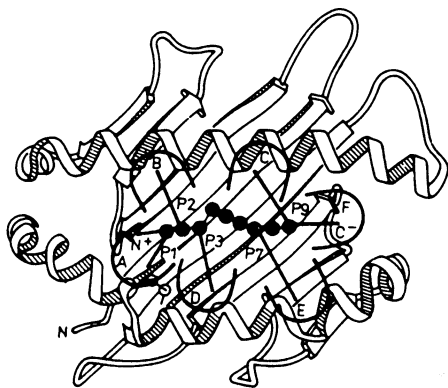
Obr. 5. Endogénna cesta prezentácie antigénu (podľa Neeffesa a Momburga, 1993).

Fig. 5. Endogenous pathway of antigen presentation (according to Neeffes and Momburg, 1993).

úlohu v zmysle zvyšovania väzby peptidov do žliabka (Wubbolts a spol., 1997).

Proces presunu 9-molekulového komplexu do MIIC (gamma-refazec sa vyskytuje ako trimér a viaže tri $\alpha\beta$ -heterodiméry, vytvárajúc tak 9-molekulový komplex), uvoľnenie CLIP a naloženie peptidu spôsobujú, že HLA-antigény triedy II sa v membráne bunky objavia až o 4 hodiny, čo je v kontraste s HLA-antigénmi triedy I, ktoré sa dostanú do membrány bunky už o 30–45 minút po ich syntéze (Rudensky, 1996).

Novšie poznatky sa objavili aj pri spresňovaní **endogénnej cesty prezentácie antigénu** (obr. 5). Endogénny proteín sa štiepi v proteazóme a vzniknutý peptid sa transportuje do ER prostredníctvom TAP-molekúl. HLA-antigény, ktoré sa syntetizujú v ER sa spájajú s TAP-refazcami a preberajú prenášaný peptid. Trojkomplex „ β_2 -mikroglobulín — ťažký refazec — peptid“ sa v nasledujúcich krokoch presúva do bunkovej membrány, kde ho rozpoznávajú CTL (prehľad Neeffes a Momburg, 1993; Buc a Ferenčík, 1994; Buc, 1997).



Obr. 6. Žliabok HLA-molekúl triedy I (podľa Barbera a Parhama, 1993).

Fig. 6. The groove of class I HLA molecules (according to Barber and Parham 1993).

Predpokladalo sa, že HLA-antigény triedy I sú fyzicky naviazané na TAP-molekuly. Experimentálne výsledky nedávno však odhalili, že nejde o priamu väzbu, ale o väzbu, ktorú zabezpečuje proteín s $M_r = 48\ 000$, označovaný ako **tapasín** (Seliger a spol., 1997). Pri štúdiu prenášaných peptidov sa zistilo, že najlepšie sa prenášajú peptidy, ktoré na -COOH úseku končia aminokyselinou lyzín alebo asparagín. HLA-molekuly viažu do svojho žliabka najlepšie peptidy s veľkosťou 9 aminokyselinových jednotiek, sú však schopné viazať aj peptidy, ktorých veľkosť je väčšia — 11–23 aminokyselinových jednotiek, napr. podtyp antigénu B27 determinovaný alelou B*2705. Tieto peptidy sa zo žliabka vydávajú, alebo žliabok prečnievajú na jednom (-NH₂) alebo druhom konci (-COOH) (najčastejšie na konci -COOH). Ak prečnievajú, buď sa podrobujú ďalšej úprave, alebo sa presúvajú späť do cytosólu, kde sa degradujú. Časť takýchto molekúl sa dostáva aj do bunkovej membrány (Momburg a spol., 1996; Collins, 1996).

Vírusy sa snažia uniknúť prezentácii svojich peptidov napríklad tým, že bránia expresii HLA-molekúl triedy I v membráne bunky (prehľad Buc, 1997). Ďalší mechanizmus úniku vírusov z dosahu imunitných mechanizmov je blokáda TAP-molekúl. Tento mechanizmus svojej ochrany vyvinul vírus *herpes simplex*. Jeho proteín ICP47 sa viaže na TAP molekuly, čím blokuje prenos peptidov vznikajúcich štiepením svojich antigénov vznikajúcich pri replikácii vo vnútri infikovanej bunky (Seliger a spol., 1997).

Objavila sa už aj deficiencia, pri ktorej chýbajú TAP-refazce. Ide o mutáciu v TAP2 géne. Postihnuté deti (dvaja súrodenci) trpeli na rekurentné vírusové a baktériové infekcie. Počet CD8⁺-lymfocytov s antigénovým receptorom TCR $\alpha\beta$ bol redukovaný a porušená bola aj NK-aktivita (Momburg a spol., 1996). Počet HLA-antigénov triedy I v membráne buniek bol tiež značne redukovaný, a preto sa táto imunodeficiencia súčasne zaraďuje medzi *syndróm nahých lymfov* triedy I. Na druhej strane sa nenašla nijaká asociácia medzi Tap-alelami a niektorými autoimunitnými chorobami, čo vzhľadom na nízky polymorfizmus nie je ani prekvapujúce (Momburg a spol., 1996; Seliger a spol., 1997).

Pokroky sa dosiahli aj pri zisťovaní väzby prezentovaných peptidov do žliabka HLA-molekúl. Postranné retazce peptidu interagujú s aminokyselinami žliabka, ktoré vytvárajú okolo nich akési vrecká. Týchto vreciek v žliabku HLA-I antigénov je šesť — A až F (obr. 6). Aminokyseliny peptidu, ktoré v žliabku peptid upevňujú, sa označujú „kotvy“. Môžu byť dominantné alebo pomocné. Najdôležitejšiu kotvu predstavuje koncová aminokyselina „-COOH“; druhá najdôležitejšia kotva je na 2. pozícii peptidu a viaže sa do vrecka B. Kotvy P3, P5 a P7 sú zväčša pomocné. Aminokyselinové jednotky v pozíciách P4, P6 a P9 sú k dispozícii pre rozpoznanie antigénovým receptorom T-lymfocytov (Momburg a spol., 1996; Collins, 1996). Pri HLA-molekulách triedy II prezentovaný peptid prečnieva na oboch koncoch žliabka, takže koncové aminokyseliny nie sú kotvovými. Ako kotvové sa využívajú aminokyseliny z pozícií vo vnútri žliabka (Neeffes a Momburg, 1993; Rudensky, 1996).

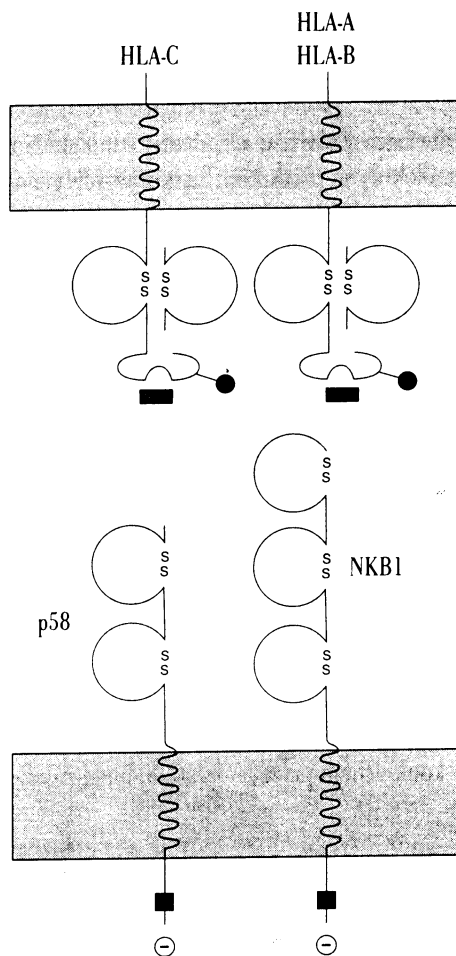
Postupne pribúdajú údaje o peptidoch, ktoré sa viažu do žliabka príslušných HLA-molekúl a vytvára sa celosvetová databáza. Zmyslom má byť pomoc pri vytváraní peptidov, ktoré sa využijú pri liečbe niektorých autoimunitných chorôb (Collins, 1996).

Štúdium kinetiky väzby zistilo, že polčas disociácie peptidu zo žliabka je približne 5–10 hodín: rýchlo disociujúce peptidy

pravdepodobne nie sú schopné vyvolať aktiváciu T-lymfocytov (Valitutti a Lanzavechia, 1997). Týmto mechanizmom sa napr. vysvetľuje vznik autoreaktívnych klonov T-lymfocytov pri *sclerosis multiplex* (Collins, 1996). Predpokladá sa, že peptidy myelinového zásaditého proteínu (MBP) neindukujú toleranciu voči tomuto autoantigénu práve pre ich rýchlu disociáciu zo žliabka HLA-molekúl. Potencionálne autoreaktívne klony sa potom dostávajú do periférie a pri ich aktivácii krížovoreagujúcim vírusovým antigénom sa zúčastňujú na imunopatologických procesoch.

HLA-antigény triedy I sa zúčastňujú na identifikácii buniek, ktoré majú byť terčom pre NK-bunky. Viaceré experimentálne výsledky potvrdili skutočnosť, že NK-bunky usmrcujú terčové bunky, ktoré v svojich membránach nemajú MHC-antigény, alebo ich majú len redukované množstvo (prehľad Moretta a spol., 1997). Jedna z funkcií NK-buniek je preto rozpoznanie a eliminácia buniek, ktoré nejakým spôsobom (mutácia, transformácia, zastavenie diferenciácie, vírusová infekcia) neexprimujú dostatočné množstvo MHC-antigénov triedy I. V poslednom čase sa identifikovali aj receptory, ktoré ich rozoznávajú (obr. 7). U človeka ide o štruktúry, ktoré patria do veľkej imunoglobulínovej rodiny (IgSF — *immunoglobulin superfamily*). **Receptory NK-buniek (NKR)** rozoznávajúce antigény HLA-C sa označujú ako **p58**, receptory pre antigény HLA-B ako **p70** (NKB1) a receptory pre antigény HLA-A ako **p140**. Gény pre uvedené receptory sa nachádzajú na 19. chromozóme (Colonna, 1996; Reyburn a spol., 1997; Moretta a spol., 1997). Okrem nich existuje ešte ďalší NKR, ktorý však nepatrí do IgSF, ale k lektínovým receptorom. Ide o CD94-receptorový komplex (CD94RK). Jedna jeho súčasť je molekula CD94 patriaca k druhému typu transmembránových glykoproteínov (membránové glykoproteíny typu II majú opačnú orientáciu refazca, t.j. -COOH-koniec sa nachádza extracelulárne a -NH₂-koniec je v cytoplazme bunky). Má $M_r = 70\ 000$ a je kódovaná génom prítomným na 12. chromozóme. Druhý refazec CD94RK je buď refazec p43 alebo p39. Oba glykoproteíny patria do rodiny lektínov a kódujú ich gény NKG2-rodiny, ktoré sú tiež prítomné na 12. chromozóme. Heterodimér CD94/p43 má inhibičnú funkciu, kým heterodimér CD94/p39 stimulačnú (López-Botet a spol., 1997; Lanier, 1997). CD94RK sa teda podobá NKR pri myšiach (Ly49), ktoré patria k lektínovým receptorom. Spektrum rozpoznávania HLA-molekúl CD94 receptorovým komplexom je širšie ako pri NKR patriacim IgSF, rozoznávajú jednak superspecifickosť Bw6 a jednak majú prekrývajúce spektrum rozpoznávania s NKR-IgSF. Možno že ide o fylogeneticky starší typ receptora, ktorý predstavuje základný nástroj na kontrolu NK-reaktivity (Moretta a spol., 1997; Valiante a spol., 1997). Pre podobnosť s Ly49 sa usudzuje, že CD94RK bude rozpoznávať oligosacharidové postranné refazce HLA-I molekúl; experimentálne sa zatiaľ tento predpoklad ešte nepotvrdil. Dôležitejší je však nález, že CD94RK rozpoznáva HLA-G antigény a že väčšina decíduových NK-buniek exprimuje práve tento typ receptora (López-Botet a spol., 1997). Tieto nálezy potvrdzujú úlohu HLA-G antigénov a NK-buniek v ochrane plodu pred atakom imunitných mechanizmov matky, pre ktorú je plod v podstate aloštepom a ako taký by ho mala vylúčiť.

Ukázalo sa, že každá NK-bunka má súčasne receptory pre viaceré HLA-I antigény, a to nielen pre vlastné HLA-antigény, ale aj pre antigény, ktoré jedinec nemá (Moretta a spol., 1997; López-Botet a spol., 1997). Táto skutočnosť vysvetľuje aj relatívnu nespecifickosť NK-buniek.

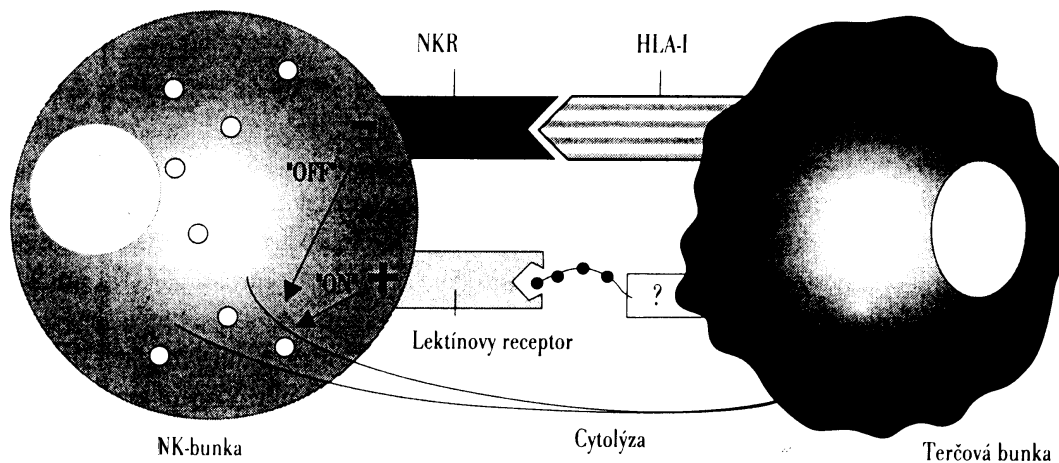


Obr. 7. Inhibičné NK-bunkové receptory pre HLA-antigény triedy I (modifikované podľa Colonna, 1997).

Fig. 7. NK-cell inhibitory receptors for class I HLA antigens (according to Colonna 1997).

Súčasný výsledky naznačujú, že NK-bunky majú dva typy receptorov — jeden, ktorý aktivuje ich cytotoxickú aktivitu („on“), a druhý, ktorý túto aktivitu vypína („off“) (obr. 8). „Off“-signál sprostredkujú uvedené receptory pre HLA-I antigény, „on“-signál pravdepodobne zabezpečujú lektínové receptory. Navyše sa ukazuje, že NKR sprostredkujú nielen inhibičné, ale aj stimulačné signály. Okrem už uvedeného receptora CD94/p39, je to receptor **p50** a určite čoskoro pribudnú ďalšie. Ich funkcia je potenciačná, t.j. pomáhajú cytotoxickej aktivite buniek, ktoré ich exprimujú (t.j. NK-bunky a cytotoxické T-lymfocyty). Z uvedeného vyplýva, že NK-receptorov je viacero a budú sa uplatňovať podľa aktuálnej situácie, ktoré si vyžaduje dané mikroprostredie (Collins, 1997; Moretta a spol., 1997; Vivier a Dameron, 1997).

Ďalšou pozoruhodnosťou inhibičných NKR je, že sa vyskytujú na T-lymfocytoch, najmä na cytotoxických, menej na pomocných. Prítomnosť NKR na CTL môže byť určitým zabezpečovacím zariadením na zabránenie autoimunitného ataku (Moretta a spol., 1997).



Obr. 8. Signály "on" a "off" pri aktivácii NK-buniek.
Fig. 8. NK cell activation — "on" and "off" signals.

Uvedený stručný prehľad najdôležitejších výsledkov v oblasti imunogenetiky HLA-komplexu opäť poukazuje na dynamickosť vývoja problematiky. Mnoho problémov bolo už vyriešených, mnoho zostáva ešte vyriešiť. Pozitívnu črtou je však fakt, že nové poznatky sa okamžite aplikujú do praxe, a tak dochádza k prepojeniu základného výskumu a medicínskej praxe. V oboch oblastiach možno očakávať nové poznatky, čo bude predmetom podobného spracovania v budúcnosti.

Literatúra

Abdulkadir A.A., Casolaro, V., Schwiebert L.S., Song Z., Ono S.J.: The major histocompatibility complex genes and their transcriptional regulation. S. 9—34. In: Urban R.G., Chiciz R.M. (Eds.): MHC Molecules. Expression, assembly and function. New York—London, Chapman & Hall 1996, 298 s.

Barber L.D., Parham P.: Peptide binding to major histocompatibility complex molecules. *Annu. Rev. Cell Biol.*, 9, 1993, s. 163—206.

Björkman P.J., Saper M.A., Samraoui B., Bennet W.S., Strominger J.L., Wiley D.C.: Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature*, 329, 1987, s. 506—512.

Buc M.: Klinická imunológia. Bratislava, Veda 1997, 364 s.

Buc M., Ferenčík M.: Imunogenetika. Bratislava, Alfa-plus 1994, 474 s.

Collins E.J.: Crystallographic analysis of peptide binding by class I and class II major histocompatibility antigens. S. 113—134. In: Urban R.G., Chiciz R.M. (Eds.): MHC Molecules. Expression, assembly and function. New York—London, Chapman & Hall 1996, 298 s.

Colonna M.: Receptors for MHC class I molecules in human natural killer cells. S. 229—242. In: Urban R.G., Chiciz R.M. (Eds.): MHC Molecules. Expression, assembly and function. New York—London, Chapman & Hall 1996, 298 s.

Colonna M.: Specificity and function of immunoglobulin superfamily NK cell inhibitory and stimulatory receptors. *Immunol. Rev.*, 155, 1997, s. 127—133.

Cotner T., Pious D.: The role of HLA-DM in class II antigen presentation. S. 97—112. In: Urban R.G., Chiciz R.M. (Eds.): MHC Molecules. Expression, assembly and function. New York—London, Chapman & Hall 1996, 298 s.

Elhasid R., Etzioni A.: Major histocompatibility complex class II deficiency. *Blood Rev.*, 10, 1996, s. 242—248.

Feder J.N., Gnirke, A., Thomas W., Tsuchihashi Z., Ruddy D.A.: A novel MHC class I gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat. Genet.*, 13, 1996, s. 399—408.

Chapman H.A., Riese R.J., Shi G.: Emerging roles for cysteine proteases in human biology. *Annu. Rev. Physiol.*, 59, 1997, s. 63—88.

Jabrane-Ferrat N., Fontes J.D., Boss J., Peterlin B.M.: Complex architecture of major histocompatibility complex class II promoters: Reiterated motifs and conserved protein protein interactions. *Mol. Cell. Biol.*, 16, 1996, s. 4683—4690.

Kelly A.P., Monaco J.J., Cho S., Trowsdale J.: A new human HLA class II related locus, DM. *Nature*, 353, 1991, s. 571—573.

Lanier L.L.: Natural killer cell receptors and MHC class I interactions. *Curr. Op. Immunol.*, 9, 1997, s. 126—131.

Liljedahl M., Kuwana T., Fung-Leung W.P., Jackson M.R., Peterson P.A., Karlsson L.: HLA-DO is a lysosomal resident which requires association with HLA-DM for efficient intracellular transport. *Embo J.*, 15, 1996, č. 18, s. 4817—4824.

López-Botet M., Pérez-Villar J.J., Rodríguez A., Melero I., Bellón T., Llano M., Navarro F.: Structure and function of the CD94 C-type lectin receptor complex involved in recognition of HLA class I molecules. *Immunol. Rev.*, 155, 1997, s. 165—174.

Mach B., Steimle V., Martinez-Soria E., Reith W.: Regulation of MHC class II genes: Lessons from a disease. *Annu. Rev. Immunol.*, 14, 1996, s. 301—331.

Momburg F., Hämmerling J., Neeffes J.J.: TAP peptide transporters and antigen presentation. S. 35—71. In: Urban R.G., Chiciz R.M. (Eds.): MHC Molecules. Expression, assembly and function. New York—London, Chapman & Hall 1996, 298 s.

- Moretta A., Biassoni R., Bottino C., Pende D., Vitale M., Poggi A., Mingari M.C., Moretta L.:** Major histocompatibility complex class I-specific receptors on human natural killer and T lymphocytes. *Immunol. Rev.*, 155, 1977, s. 105—117.
- Neeffes J.J., Momburg F.:** Cell biology of antigen presentation. *Curr. Op. Immunol.*, 5, 1993, s. 27—34.
- Parkkila S., Waheed A., Britton R.S., Feder J.N., Tsuchihashi Z., Schatzman, B.R., Bacon B.R., Sly W.S.:** Immunohistochemistry of HLA-H, the protein defective in patients with hereditary hemochromatosis, reveals unique pattern of expression in gastrointestinal tract. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 1997, s. 2534—2539.
- Reyburn H., Mandelboim O., Valés-Goméz M., Pazmany L., Davis D.M., Strominger J.L.:** Human NK cells: their ligands, receptors and functions. *Immunol. Rev.*, 155, 1997, s. 119—125.
- Roche P.A.:** HLA-DM: An in vivo facilitator of MHC class II peptide loading. *Immunity*, 3, 1995, s. 259—262.
- Rudensky A.Y.:** Intracellular trafficking of MHC class II molecules. S. 83—96. In: Urban R.G., Chic R.M. (Eds.): *MHC Molecules. Expression, assembly and function.* New York—London. Chapman & Hall 1996, 298 s.
- Sabatier Ch., Gimenez C., Calin-Laurens, V., Rabourdin-Combe Ch., Touraine J.L.:** Type III bare lymphocyte syndrome: lack of HLA class II gene expression and reduction in HLA class I gene expression. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 319, 1996, s. 789—798.
- Seliger B., Maeurer M.J., Ferrone S.:** TAP off — tumors on. *Immunol. Today*, 292, 1997, č. 6, s. 292—299.
- SZO:** Nomenclature for factors of the HLA system 1996. *Tissue Antigens*, 49, 1997, č. 3, s. 293—321.
- Triantafilou K., Wilson K.M., Fernandez N.:** Intracellular and cell surface mapping of HLA-DR in the presence and absence of the invariant chain. *Biochem. Soc. Trans.*, 25, 1997, č. 2, s. S259.
- Valiante N.M., Lienert, K., Schilling H.G., Smits B.J., Parham P.:** Killer cell receptors: keeping pace with MHC class I evolution. *Immunol. Rev.*, 155, 1997, s. 155—164.
- Valitutti S., Lanzavecchia A.:** Serial triggering of TCRs: a basis for the sensitivity and specificity of antigen presentation. *Immunol. Today*, 18, 1997, č. 6, s. 299—304.
- Vivier E., Daron M.:** Immunoreceptor tyrosine-based inhibition motifs. *Immunol. Today*, 18, 1997, č. 6, s. 286—291.
- Worwood M., Walker A.:** Genetic haemochromatosis. *Lancet*, 349, 1997, s. 1688—1693.
- Wubbolts R., Fernandez-Borja M., Neeffes J.:** MHC class II molecules: transport pathways for antigen presentation. *Cell Biol.*, 7, 1997, s. 115—118.

Do redakcie došlo 22.5.1998.

PREDSTAVUJEME NOVÉ KNIHY

Šutiak V. a spol.: Príručka receptúry a praktických cvičení z farmakológie.

Košice, Datahelp 1998, 176 strán.

V prvej dekáde júna sa objavila v predajni skript Univerzity veterinárskeho lekárstva v Košiciach nová učebná pomôcka z farmakológie. Autori doc. MVDr. V. Šutiak, CSc., MVDr. I. Berecký, CSc., MVDr. J. Neuschl, CSc., a doc. MVDr. J. Lopuchovský, CSc., venovali túto učebnú pomôcku 75. výročiu životného jubilea emeritného prof. MVDr. Jozefa Vodrážku, DrSc., dlhoročného vedúceho Katedry, Ústavu a neskôr Oddelenia farmakológie na Vysokej škole veterinárskej v Košiciach.

Predkladaná pomôcka nadväzuje už na predchádzajúce učebné pomôcky (Šutiak V. a spol.: *Guidebook of prescriptions and practical pharmacology exercises*; Šutiak V., Šutiaková I.: *Breif dictionary of pharmacological Terms*, Šutiak V., Šutiaková I.: *Príručka farmakologickej terminológie*; Šutiak V.: *A concise catalogue of selected veterinary pharmaceuticals*), ktoré našli dobré uplatnenie nielen doma, ale aj v zahraničí.

Uvedená učebná pomôcka členená na 8 kapitol hovorí o viacerých nových a pre prax dôležitých údajoch a poznatkoch, ktoré

môžu byť užitočné nielen pre pregraduálnych a postgraduálnych študentov, ale aj pre praktikov veterinárskeho a agropotravinárskeho komplexu. Viaceré údaje môžu poslúžiť i študentom a praktikom farmaceutického, prírodovedného i medicínskeho zamerania, a to tak pre prácu doma, ako aj pre expertné práce v zahraničí (najmä anglofónnej oblasti). Učebná pomôcka poskytuje čitateľovi možnosť zorientovať sa vo farmakologickej problematike a inštruovať ho o podmienkach práce v oblastiach, kde sa ešte stále používa pôvodný (tradičný) jednotkový systém mier a váh (kapitoly III, V, ale i ďalšie). Príručka obsahuje aj metodické návody pre osvojenie si praktických návykov a zručností práce s liekmi. Hovorí o príprave liekov, ich podávaní rôznym druhom zvierat, o sledovaní ich účinkov, ale aj o počítačovom spracovaní a interpretovaní výsledkov.

V závere tohto pojednania je potrebné poukázať aj na tabuľky bazálnych hodnôt rôznych ukazovateľov zvierat, ktoré vychádzajú z početnej literatúry. Domnievame sa, že aj táto časť poslúži najmä vedeckovýskumným pracovníkom pri koncipovaní publikácií a interpretovaní výsledkov experimentálnych prác.

A. Jurčina