

Περίληψη

Το μείζον σύστημα ιστοσυμβατότητας ή διαφορετικά, στον άνθρωπο, HLA (Human Leukocyte Antigens, Ανθρώπινα Λευκοκυτταρικά Αντιγόνα) κωδικοποιείται από τη χρωμοσωμική περιοχή 6p21.3 και περιλαμβάνει πληθώρα γονιδίων ανοσίας, που συμμετέχουν στην πρόσδεση και παρουσίαση αντιγονικών πεπτιδίων στα Τ λεμφοκύτταρα. Η αλληλεπίδραση HLA-πεπτιδίου-Τ κυττάρου (μέσω του υποδοχέα του) είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση των Τ κυττάρων και την εκκίνηση της επίκτητης ανοσοαπόκρισης. Τα κλασικά HLA γονίδια ξεχωρίζουν για τον υψηλό βαθμό πολυμορφικότητας και διακρίνονται σε γονίδια τάξης I (HLA-A, -B και -C) και II (DPA1, DPB1, DQA1, DQB1, DRA και DRB1). Τα μόρια HLA τάξης II είναι διμερή, αποτελούμενα από μία αλυσίδα α και μία β, παρόμοιου μεγέθους. Το ετεροδιμερές μόριο σχηματίζει μία εξωκυττάρια περιοχή, μία διαμεμβρανική περιοχή και μία κυτταροπλασματική ουρά. Στο εξωκυττάριο τμήμα της πρωτεΐνης σχηματίζεται η αύλακα πρόσδεσης των αντιγονικών πεπτιδίων. Στην περιοχή αυτή παρατηρείται η πλειοψηφία των πολυμορφικών θέσεων μεταξύ των πολυάριθμων αλληλομόρφων των γονιδίων τάξης II που έχουν καταγραφεί. Κατά μήκος της αύλακας σχηματίζονται ειδικοί θύλακες πρόσδεσης, όπου «αγκυροβολούν» τα αντιγονικά πεπτίδια και αλληλεπιδρούν με τα μόρια HLA μέσω της δημιουργίας δεσμών υδρογόνου και ιοντικών δεσμών. Το ρεπερτόριο των αντιγονικών πεπτιδίων που μπορούν να φιλοξενηθούν στην αύλακα καθορίζεται από τα αμινοξέα που σχηματίζουν τους θύλακες πρόσδεσης και τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες. Έχει δειχθεί ότι αμινοξικές θέσεις και θύλακες εντός της αύλακας παρουσιάζουν συσχέτιση με διάφορες νόσους, αυτοάνοσες και λοιμώδεις.

Μία από τις λοιμώδεις νόσους που έχουν παρουσιάσει συσχέτιση με αλληλόμορφα HLA είναι η ασθένεια που προκαλείται από τη λοίμωξη με τον ιό του Δυτικού Νείλου. Ο ιός του Δυτικού Νείλου (West Nile Virus, WNV) είναι ένας ζωνοσογόνος νευροτροπικός αρβοϊός της οικογένειας Flaviviridae που το 2010 αναδείχθηκε παγκοσμίως ως σημαντική αιτία ιογενούς εγκεφαλίτιδας. Τη χρονική περίοδο 2010-2013, αναφέρθηκαν κρούσματα ασθενειών με νευροεπεκτατικά συμπτώματα σε αρκετές ευρωπαϊκές χώρες. Στην Ελλάδα, από το 2010 έχουν αναφερθεί 1419 περιστατικά μόλυνσης από WNV. Η πλειοψηφία αυτών (1011 ασθενείς) ανέπτυξε νευροεπεκτατικά συμπτώματα, ενώ καταγράφηκαν 200 θάνατοι. Το υψηλό ποσοστό ασθενών με προσβολή του κεντρικού νευρικού συστήματος, που αποτελεί σπάνια εκδήλωση της νόσου του Δυτικού Νείλου, αντικατοπτρίζει τον αριθμό των μη αναφερόμενων υποκλινικών ή ασυμπτωματικών λοιμώξεων. Η πλειοψηφία των λοιμώξεων από τον ιό του Δυτικού Νείλου είναι ασυμπτωματικές ενώ περίπου το 1/5 των

μολυσμένων ατόμων αναπτύσσει πυρετό (ήπια νόσηση). Ένα ακόμη μικρότερο ποσοστό (<1%) αναπτύσσει νευροδιδυμική νόσο που εκδηλώνεται ως μηνιγγίτιδα, εγκεφαλίτιδα ή οξεία χαλαρή παράλυση. Μελέτες αναφέρουν τη συσχέτιση της εξέλιξης της ασθένειας του Δυτικού Νείλου με γονίδια που συμμετέχουν στην ανοσιακή απόκριση ενώ η αύξηση του ρίσκου νευροεπεκτατικής νόσησης σε ομάδες με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα (ανοσοκατεσταλμένοι, ηλικιωμένοι) συνηγορούν υπέρ αυτής.

Στην παρούσα διατριβή συγκεντρώθηκαν οι παραλλαγές των θυλάκων πρόσδεσης στην αύλακα των μορίων HLA τάξης II όλων των αλληλομόρφων των γονιδίων DPA1, DPB1, DQA1, DQB1 και DRB1 που έχουν καταγραφεί στον ανθρώπινο πληθυσμό και διερευνήθηκαν τα πρότυπα επιλογής τους και οι συνδυασμοί τους για τον προσδιορισμό της αντανάκλασης του γενετικού πολυμορφισμού στην αύλακα πρόσδεσης των αντιγονικών πεπτιδίων. Η ανάλυση αυτή ανέδειξε την ύπαρξη περιορισμών και προτιμήσεων αμινοξέων στους θύλακες της αύλακας, οδηγώντας στην παρατήρηση ενός κλάσματος μόνο των πιθανών παραλλαγών στον πληθυσμό. Ο ρόλος του κάθε θύλακα στην πρόσδεση των αντιγονικών πεπτιδίων φαίνεται πως λειτουργεί ως φίλτρο για την «ελευθερία» διατήρησης πολλαπλών παραλλαγών τόσο σε επίπεδο θύλακα όσο και σε επίπεδο αλληλουχίας της περιοχής πρόσδεσης των πεπτιδίων στον πληθυσμό. Επιπρόσθετα, προκειμένου να διερευνηθεί ο ρόλος του γενετικού τόπου τάξης II στη λοίμωξη και νοσηρότητα της ασθένειας του Δυτικού Νείλου, πραγματοποιήθηκε ανάλυση των συχνοτήτων εμφάνισης αλληλομόρφων γονιδίων HLA τάξης II σε έναν πληθυσμό από τον ελλαδικό χώρο με λοίμωξη από τον ιό του Δυτικού Νείλου σε σχέση με πληθυσμούς ελέγχου. Στη συνέχεια, δημιουργήθηκαν πρωτεϊνικά μοντέλα των αλληλομόρφων HLA-DRB1 που ταυτοποιήθηκαν στους υπό μελέτη πληθυσμούς, για τη μελέτη της επίδρασης των πολυμορφικών θέσεων στη δομή της αύλακας πρόσδεσης πεπτιδίων. Τέλος, μελετήθηκαν οι παραλλαγές των θυλάκων σε σχέση με την εμφάνιση νευροδιδυμικών συμπτωμάτων στους ασθενείς τόσο σε επίπεδο συχνότητας αυτών όσο και σε πρωτεϊνικό επίπεδο, αναδεικνύοντας αμινοξικές υπογραφές που σχετίζονται είτε με ευαισθησία είτε με προστασία ενάντια στη σοβαρή μορφή της νόσου του Δυτικού Νείλου.