

УДК 616.523-022.6-036:612.017

ЧАСТОТА ЭКСПРЕССИИ АНТИГЕНОВ СИСТЕМЫ HLA У БОЛЬНЫХ РЕЦИДИВИРУЮЩЕЙ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Култаев М.С., Мусаев А.Т., Шынтерекова А.Е., Алдабергенев Е.Н., Аскарлова Н.М., Малимбаев С.Т., Сейдан О.К., Орынханова М.О., Асатиллакызы А.А., Отеулиева М.А.

Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, Алматы, e-mail: musaev.dr@mail.ru

В настоящее время известны следующие HLA-ассоциированные заболевания: анкилозирующий спондилоартрит (болезнь Бехтерева), синдром Рейтера, ревматоидный артрит, острый передний увеит, целиакия, болезнь Аддисона, диффузный токсический зоб, инсулинозависимый сахарный диабет (СД) и другие. Кроме этого, при некоторых заболеваниях наблюдается зависимость течения болезни от HLA-генотипа. Изучение генетических механизмов, контролирующих сопротивляемость иммунного ответа при различных инфекционных заболеваниях, становится одним из важнейших разделов инфекционной иммунологии. Рецидивирующие формы герпес-вирусной инфекции (РГИ) встречаются, по данным различных авторов, у 5–30% людей трудоспособного возраста. Их развитие напрямую связано с нарушением клеточных и гуморальных механизмов иммунологической резистентности, в частности в HLA-системе. Полученные результаты по распределению антигенов HLA у больных РГИ позволили определить антигены и группы антигенов среди всех трех изучаемых локусов, имеющих либо положительную, либо отрицательную ассоциацию с данной патологией. Из наиболее весомых антигенов с положительной ассоциацией в развитии РГИ следует отметить HLA-A3 ($P < 0,01$), ($P < 0,01$). Сочетание данных антигенов HLA у больных герпетической инфекцией, вероятно, и является определяющим фактором в механизмах генетической предрасположенности и резистентности отдельных индивидумов к развитию РГИ.

Ключевые слова: иммунитет, лимфоциты, антиген, инфекция, герпес

FREQUENCY OF EXPRESSION OF HLA SYSTEM ANTIGENS IN PATIENTS WITH RECURRENT HERPES INFECTION

Kultaev M.S., Musaev A.T., Shynterekova A.E., Aldabergenov E.N., Askarova N.M., Malimbay S.T., Seydan O.K., Orynkanova M.O., Assatillakzy A.A., Oteulieva M.A.

Kazakh National Medical University after S.D. Asfendiarov, Almaty, e-mail: musaev.dr@mail.ru

Currently, the following HLA-associated diseases as: ankylosing spondylitis (Bechterew's disease), Reiter's syndrome, rheumatoid arthritis, acute anterior uveitis, celiac disease, Addison's disease, diffuse toxic goiter, insulin-dependent diabetes mellitus (DM) and others. In addition, the dependence of the course of the disease on the HLA – genotype is observed for some diseases. The study of genetic mechanisms controlling the resistance of the immune response to various infectious diseases becomes one of the most important sections of infectious immunology. Recurrent forms of herpes-virus infection (RHI) are found, according to different authors, in 5-30% of people of working age. Their development is directly related to the violation of cellular and humoral mechanisms of immunological resistance, in particular, in the HLA system. The obtained results on the distribution of HLA antigens in RHI patients allowed to determine antigens and antigen groups among all three studied loci having either positive or negative association with this pathology. Of the most significant antigens with a positive association in the development of the RHI, mention should be made of HLA-A3 ($P < 0.01$), ($P < 0.01$). The combination of these HLA antigens in patients with herpes infection is probably the determining factor in the mechanisms of genetic predisposition and resistance of individuals to the development of the RHI.

Keywords: immunity, lymphocytes, antigen, infection, herpes

Анализ физиологической роли иммунного ответа говорит о том, что его регуляция является одной из основных функций организма. Эта функция принадлежит генам главного комплекса гистосовместимости – МНС (от Major Histocompatibility Complex) [1–3]. Интересно, что само это название отражает скорее историю открытия данной генетической системы, чем ее основную функцию. Дело в том, что история открытия первых продуктов генов главного комплекса гистосовместимости, называемых у человека антигенами HLA (от Human Leucocyte Antigens), связана с появлением и развитием трансплантационной иммунологии. В то время возникла необходимость

подбора тканесовместимых пар донора и реципиента. Сегодня мы знаем, что роль системы МНС в отторжении трансплантата является лишь одной из частных физиологических функций этой системы [4–6].

В настоящее время известны следующие HLA-ассоциированные заболевания: анкилозирующий спондилоартрит (болезнь Бехтерева), синдром Рейтера, ревматоидный артрит, острый передний увеит, целиакия, болезнь Аддисона, диффузный токсический зоб, инсулинозависимый сахарный диабет (СД), миастения, системная красная волчанка, идиопатический гемохроматоз, рассеянный склероз, обыкновенный псориаз, болезнь Хасимото, хронический ге-

патит, болезнь Бехчета, синдром Шегрена, синдром Гудпасчера, гранулематоз Вегенера. Кроме этого, при некоторых заболеваниях наблюдается зависимость течения болезни от HLA-генотипа [7]. Изучение генетических механизмов, контролирующих сопротивляемость иммунного ответа при различных инфекционных заболеваниях, становится одним из важнейших разделов инфекционной иммунологии. Рецидивирующие формы герпес-вирусной инфекции (РГИ) встречаются, по данным различных авторов, у 5–30% людей трудоспособного возраста. Их развитие напрямую связано с нарушением клеточных и гуморальных механизмов иммунологической резистентности, в частности с дефектами в HLA-системе [8–10].

Цель: Изучить частоту экспрессии антигенов системы HLA у больных рецидивирующей герпетической инфекцией.

Материалы и методы исследования

Обследованы группы больных с РГИ, находившихся на стационарном лечении в инфекционной клинической больнице. Диагностику РГИ осуществляли на основании клинико-эпидемиологических и лабораторных данных. Из обследованных больных РГИ мужчины составляли 47,1%, а женщины 52,9%. Более 68% составляли больные, возраст которых превышал 50 лет. По возрастным группам больные распределялись следующим образом: до 20 лет – 3,9%, 20–29 лет 16,7%, 30–39 лет 5,9%, 40–49 лет 4,9%, 50–59 лет 21,6%, 60 лет и старше 47,0%. Средний возраст обследованных составлял 55,6 лет. Среди обследованных больных РГИ в основном были рабочие 33,4% и пенсионеры 29,4%. На долю учащихся и студентов приходилось 23,5%, а остальные относились к категории служащих 13,7%. Исследования иммунного статуса проводились согласно рекомендациям Р.В. Петрова с использованием тестов 1 и 2 уровней включали изучение количественного и функционального состояния и систем лимфоцитов, нейтрофилов, комплемента. HLA типирование проведено у больных латентно-рецидивирующим герпесом, вызванным вирусом H. Simplex в возрасте от 16 лет до 76 лет. Ежегодные обострения герпетической инфекции у обследованных больных составляли не менее 3-х раз в год. В соответствии с задачами работы фракцию мононуклеарных клеток для исследования получали путем седиментации крови в одноступенчатом градиенте иколл-верографин с плотностью раствора 1,077 г/см при 400 g в течение 30 мин. При заборе крови в качестве антикоагулянта использовали гепарин из расчета 10 единиц на 1 мл крови.

HLA фенотип устанавливали в стандартном двухступенчатом микролимфоцитотоксическом тесте с использованием HLA-антисывороток, в анализе учитывали 8 антигенов HLA-A локуса: 1, 2, 3, 9, 10, 11, 19, 28; 16 антигенов HLA-B локуса: 5, 7, 8, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 27, 35, 40, 41, 4 антигена HLA-C локуса: 1, 2, 3, 4.

При определении HLA-антигенов локуса A,B,C выделенную на градиенте плотности фиколл-верографина суспензию мононуклеарных клеток в кон-

центрации $3-4 \times 10^6$ клеток в 1 мл раскапывали по 1 мкл в лунки планшет Тerasaki, содержащих типизирующие сыворотки в объеме 1 мкл. Клетки инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре, затем добавляли в каждую лунку по 5 мкл цельного кроличьего комплемента, провели предварительно на активность и цитотоксичность. После инкубации клеток в течение 60 минут при температуре 37°C проводили учет реакции, используя 5%-ный раствор эозина.

Результаты исследования и их обсуждения

Из приведенных данных видно, что в исследуемой группе определялись все антигены A, B, C локусов, идентифицируемые серологическим методом. С наибольшей частотой у больных РГИ встречались антигены HLA локуса A2 (52%), A3 (27,5%), A24 (4,9%), A25 (4,9%), A26 (4,9%), CW1 (4,9%), B7 (18,6%), B12 (18,6%), B40 (17,6%). Частота антигенов A9 (15,6%), A11 (5,9%), A28 (3,9%), B15 (6,9%), B35 (6,7%), B15 (6,9%) отмечалась реже (рис. 1).

Полученные результаты по распределению антигенов HLA у больных РГИ позволили определить антигены и группы антигенов среди всех трех изучаемых локусов, имеющих либо положительную либо отрицательную ассоциацию с данной патологией. Из наиболее весомых антигенов с положительной ассоциацией в развитии РГИ следует отметить HLA-A3 ($P < 0,01$), ($P < 0,01$). Сочетание данных антигенов HLA у больных герпетической инфекцией, вероятно, и является определяющим фактором в механизмах генетической предрасположенности и резистентности отдельных индивидумов к развитию РГИ.

Для уточнения роли отдельных антигенов в возможном развитии РГИ у индивидумов были определены показатели относительного риска (RR), этиологической и превентивной фракции (EFiPF). Показатель относительного риска характеризует, с одной стороны, силу ассоциативных связей, а с другой стороны, определяет эту связь либо как положительную ($RR > 1,0$), либо – отрицательную ($RR < 1,0$).

Наиболее сильные ассоциативные связи с РГИ выявлены у антигенов HLA-A25 ($RR=5,15$), A26 ($RR=3,42$) и A3 ($RR=3,26$), однако среди данных антигенов достоверные различия с показателями здоровых были выявлены лишь по антигенам A25 ($P < 0,01$), A26 ($P < 0,01$) и A3 ($P < 0,01$).

Считается, что вычисление этиологической фракции EF даёт более верное представление чем показатель относительного риска RR о сравнимой силе

ассоциаций в тех случаях, когда с заболеванием ассоциируется несколько антигенов и возникает вопрос, какая из этих ассоциаций является первичной, необусловленной неравновесным сцеплением HLA-генов. Ассоциативная связь антигена HLA-A3 с РГИ характеризовалась наивысшим показателем этиологической фракции $EF > 0,19$ (рис. 2).

Наиболее сильными отрицательными ассоциациями явились ассоциативные связи HLA-A28 (RR-0,29), B35 (RR-0,27), A11 (RR-0,29), B16 (RR-0,31), A9 (RR-0,43), B15 (RR-0,52). Хотя антигены A28, B15, B16 (рис. 3) у больных РГИ характеризовались сильной отрицательной ассоциативной связью, они не отличались достоверно от данных здоровых ($P < 0,8-0,9$).

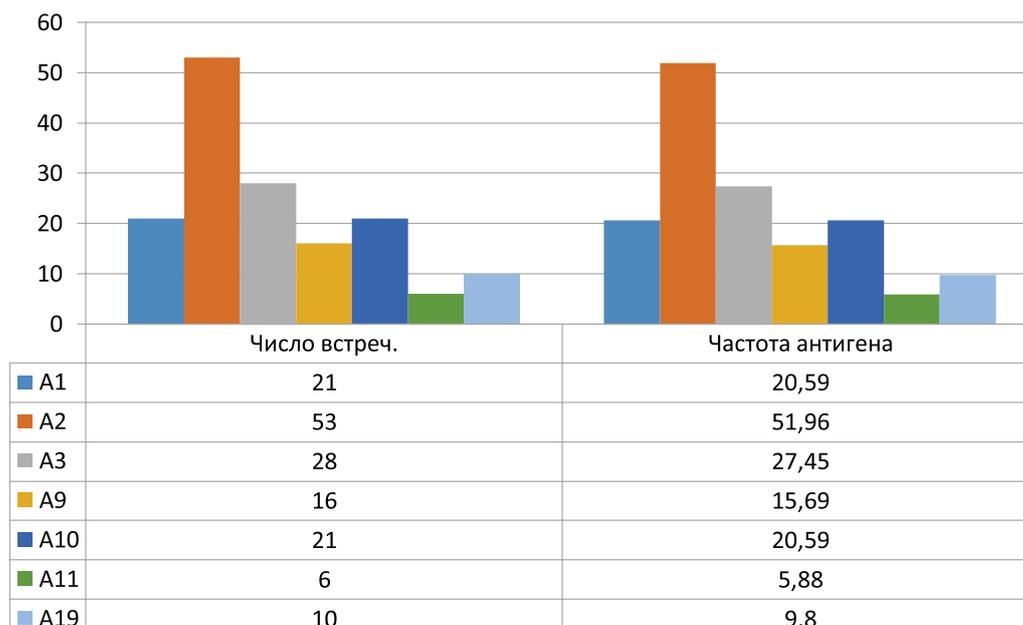


Рис. 1. Распределение антигенов системы HLA по локусам A и C у больных рецидивирующей герпетической инфекцией

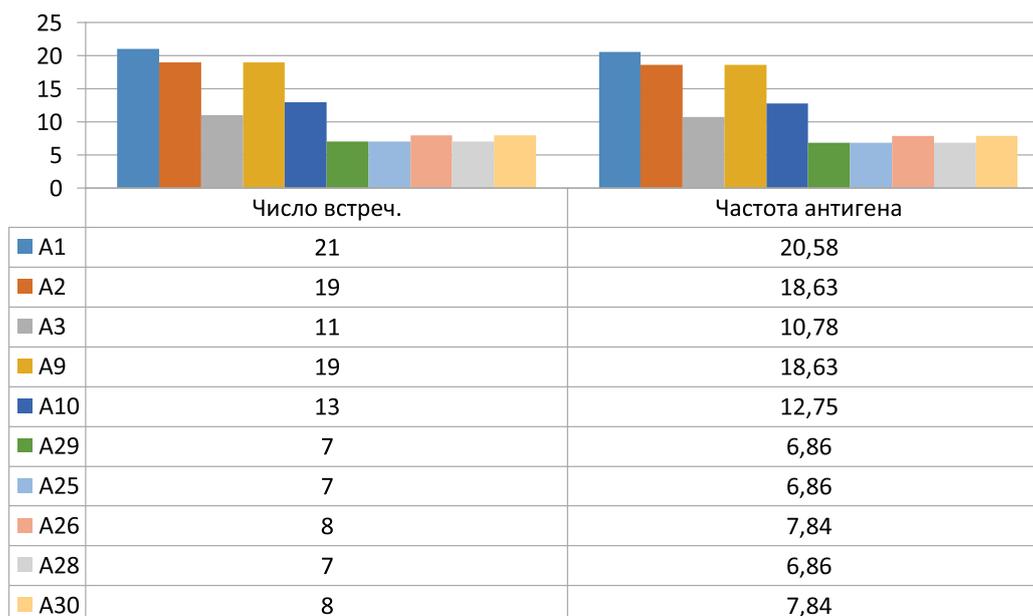


Рис. 2. Распределение антигенов HLA по локусам A и C у доноров

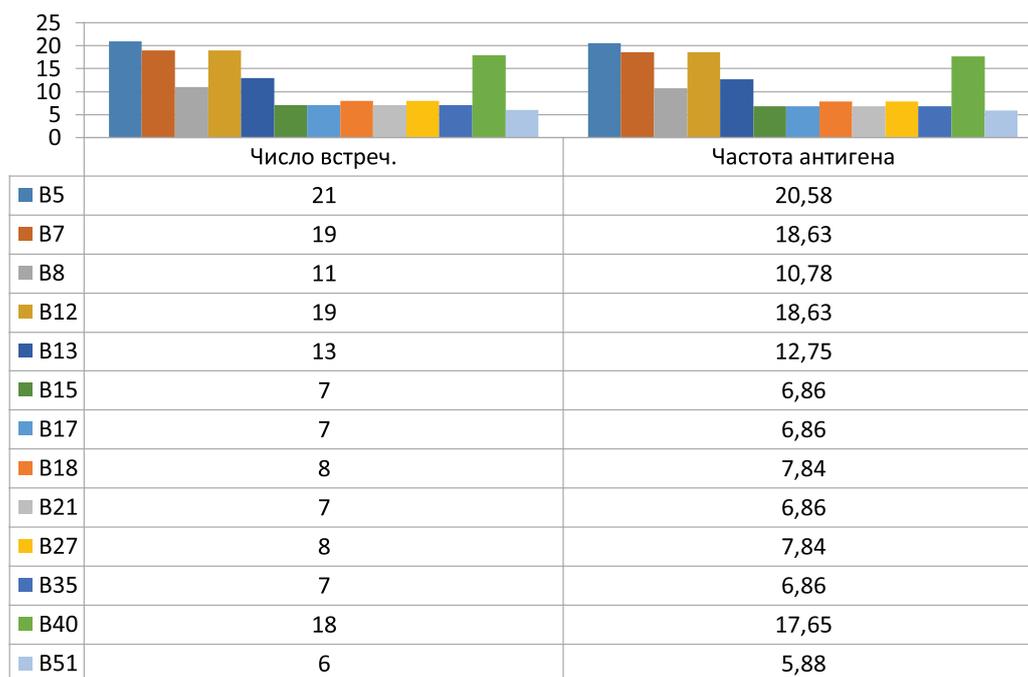


Рис. 3. Распределение антигенов системы HLA по локусу В у больных рецидивирующей герпетической инфекцией

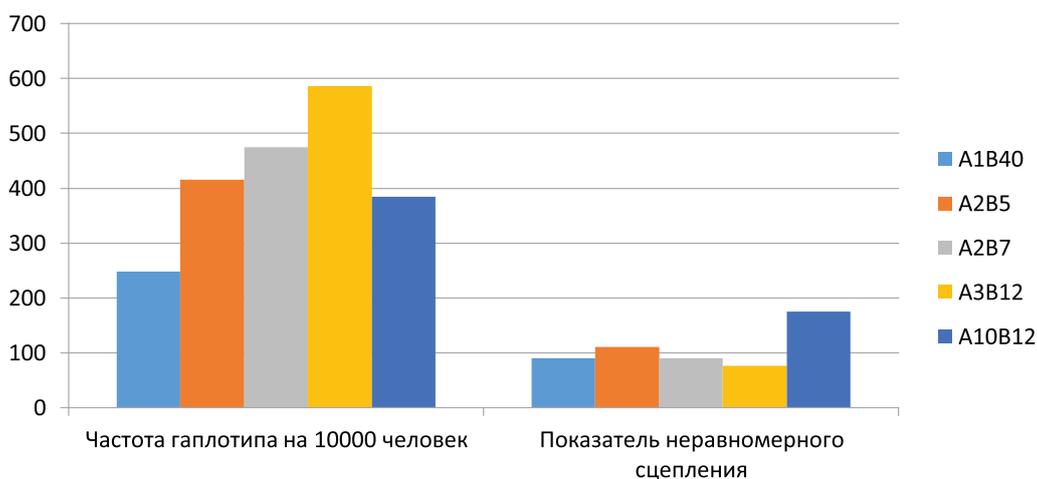


Рис. 4. Наиболее часто встречающиеся HLA галлотипы у лиц с РГИ

В тех случаях, когда $RR < 1$, т.е. частота HLA-антигена у заболевших ниже, чем в контроле, что может свидетельствовать о «защитной» роли данного антигена, определяется величина превентивной фракции (PF). Эта величина определяет у какого антигена наиболее сильная отрицательная ассоциативная связь, и даёт более верное статистически значимое представление, чем показатель относительного риска RR, когда с заболеванием ассоциируется так же несколько антигенов (в данном случае антигены HLA-A9, $P_c < 0,05$; A11, $P_c < 0,01$; B35, $P_c < 0,01$) Ассоциативные связи антигенов HLA B35 и Ф11 с РГИ ха-

рактеризовались наивысшими показателями превентивной фракции PF – 2,26 и 2,16 соответственно, при ведущей роли антигена HLA B35. Наиболее часто в данной группе лиц встречались галлотипы HLA-A1B40, A2B5, A2B7, A3B12, A10B12 (рис. 4).

Из рис. 5 можно видеть, что лиц с РГИ наиболее значимо было представительство галлотипов A2B5 ($P_c < 0,001$, RR-1,7, EF-1,8), A2B7 ($P < 0,001$), RR-2,4, EF-2,1), A3B12 ($P < 0,001$, RR-3,4, EF-2,8). Наиболее сильными явились ассоциации галлотипов A3B12 и A2B7 и РГИ при ведущей роли галлотипа A3B12 (EF-2,8).

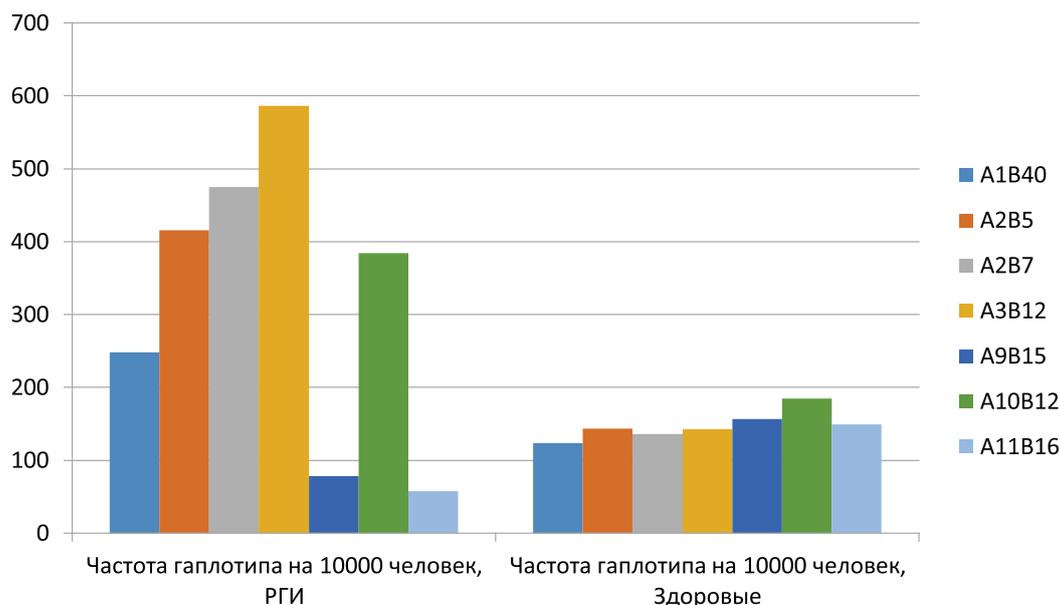


Рис. 5. Особенности распределения гаплотипов системы HLA у лиц РГИ и здоровых

Таким образом, проведённые исследования по определению встречаемости HLA антигенов и гаплотипов у больных с РГИ показали ряд существенных различий. Повышенная восприимчивость к возникновению и течению с периодическим обострением герпетической инфекции вызванной вирусом простого герпеса связана с антигеном HLA-A3 и гаплотипами A3B12, A2B7. Генами протекторами в снижении риска развития герпетической инфекции являются антигены HLA-B35, A11 при ведущей роли антигена HLA-B35.

Частота встречаемости HLA антигенов и гаплотипов у больных рецидивирующим латентным течением герпетической инфекции и здоровых лиц казахской национальности имеет ряд закономерностей. Восприимчивость к возникновению и течению с периодическими обострениями герпетической инфекции вызванной вирусом простого герпеса у лиц казахской национальности связана с антигенами HLA-A3, B35, A11 и гаплотипами HLA-A2B7, HLA-A3B12.

Полученные результаты могут быть использованы для формирования групп риска лиц, у которых возможно возникновение герпетической инфекции с рецидивирующим течением и прогнозировать особенности течения данной инфекции с целью проведения адекватной терапии.

Список литературы

1. Прихода И.В. Роль иммунологической реактивности в патогенезе заболеваний внутренних органов (обзор литературы) / И.В. Прихода // Педагогика, психология и медико-биологические проблемы физического воспитания и спорта. – 2008. – № 2. – С. 112–116.
2. Койко Р. Иммунология / Р. Койко, Д. Саншайн, Э. Бенджамини; пер. с англ., под ред. Н.Б. Серебряной. – Издательство Академия, 2012. – 368 с.
3. Петров Р.В. Иммуногены и вакцины нового поколения: руководство / Р.В. Петров, Р.М. Хаитов. – 2011. – 608 с.
4. Желтова О.И., Старостина Н.М., Тихонова М.А., Леплина О.Ю., Черных Е.Р., Останин А.А. Особенности иммунитета больных с хроническими рецидивирующими инфекциями // Иммунология. – 2011. – № 4. – С. 205–209.
5. Lechler R. HLA in Health and Disease / R. Lechler, A. Warrens. – Academic Press Limited. – London, 2015. – P. 472.
6. Ярилин А.А. Иммунология / А.А. Ярилин. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2010. – 752 с.
7. Семин Е.В., Блохин Б.М., Каграманова К.Г., Майорова О.А. Система HLA: строение, функции, очевидная и возможная связь с аутоиммунными и атропическими заболеваниями / Е.В. Семин // Лечебное дело. – 2012. – № 1. – С. 4–9.
8. Malmgaard L., Paludan S.R., Mogensen S.C., Ellermann-Eriksen S. Herpes simplex virus type 2 induces secretion of IL-12 by macrophages through a mechanism involving NF- κ B // Journal of General Virology. – 2013. – vol. 81. – P. 3011–3020.
9. Новикова И.А., Злотникова М.В. Субпопуляционный состав лимфоцитов у больных герпетической инфекцией тяжелого течения // Медицинская иммунология. – 2010. – № 4–5. – С. 330–336.
10. Singh R., Kumar A., Creery W.D., Ruben M., Giuliivi A., Diazmitoma F. Dysregulated expression of IFN γ and IL-10 and impaired IFN γ mediated responses at different disease stages in patients with genital herpes simplex virus-2 infection. Clin. Exp. Immunol. – 2014. – vol. 133. – P. 97–107.