Государственное образовательное учреждение

Высшего профессионального образования

«Челябинская государственная медицинская академия федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Кафедра иностранных языков

Перевод с английского на русский язык статьи

Рестрикция по главному комплексу гистосовместимости в чувствительности к туберкулезу

Челябинск 2009

Abstract

More than one mechanism may contribute to disease susceptibility in tuberculosis, major histocompatability complex (MHC) restriction phenomenon, spectrum of immune reactivity/cytokine profile and epidemiology induced anergy. Experiments from our laboratories revealed that human leucocyte antigen D-related allele 2 (HLA DR2) predispose for a more severe form of pulmonary tuberculosis encoding a high responder status. The results suggested that MHC class II restriction play a role in peptide recognition and the immune response. Nonetheless the outcome and specificity of the immune reactivity and the resultant disease pathogenesis may depend on the promiscuity of peptide recognition and cytokine profiles.

Introduction

The mechanism of association of HLA with diseases is still an enigma: this is more so with mycobacterioses, other chronic infections and parasitic diseases. In recent times, there is evidence for a stronger association of HLA DR2 with pulmonary tuberculosis (PTB). Many earlier studies showed associations with different HLA alleles in both class I and class H loci. One study on northern Indian population showed a nominal association with HLA DR2. Genome scan analysis of affected sib-pairs of diabetes using microsatellite markers revealed that, HLA alleles contribute to 54% of disease pathogenesis and the rest is accounted by three other genes. A similar kind of approach is warranted in mycobacterioses. Nonetheless one need to understand the immunological mechanisms that predispose for mycobacterioses for a better therapy and prevention.

There are many studies that evaluated both the HLA and immunological mechanisms in tuberculosis and leprosy. Our study showed a strong HLA DR2 association with far advanced PTB. Further, the existence of a spectrum of immune reactivity in healthy individuals has also been described by us for the first time. This has now been confirmed in Indonesian and Brazilian populations. However, the HLA association and spectrum of reactivity may be two independent mechanisms.

Materials and methods

Patients attending Govt. Rajaji Hospital, were enrolled, informed consent obtained and studied. Controls were drawn from hospital staff, students and staff of our university. Serological typing of HLA was done by conventional two stage microlymphocytotoxicity assay. Allelic typing of HLA was done by (PCR-SSP) polymerase chain reaction-sequence specific primers and sequence specific oligoprobes (SSOP) techniques. Lymphocyte transformation test (LTT) assays and T-cell cloning was done following standard procedures. Monoclonal antibodies employed were commercial ones and peptides were synthesized based on the known sequences of 16 and 38 kDa antigens of Mycobacterium tuberculosis. Standard statistical methods were employed to analyse the data, employing the software developed for immunogenetic studies.

Results and discussion HLA DR2 association

Figure 1 presents the data on the distribution of HLA DR2, a high risk allele, in various subgroups of patients with pulmonary tuberculosis. While % frequency of HLA DR2 was 27 in controls, it was 41 in PTB patients. On further stratification of patient samples, in sputum positive it was 57%, and in far advanced among them, it was 76. This suggested that if a person is infected and if that individual posses HLA DR2, his/her chances of developing a more severe, sputum positive ( + + + ), culture positive ( + + +) and radiologically far-advanced PTB is greater than other alleles. Further patients with HLA DR2 showed higher antibody levels than non-DR2 particularly in anti-HSP70 (figure 2) and in anti-PPD. There are two other studies confirming the HLA DR2 association (table 1): all these studies suggested that HLA DR2 correlates to a high responder status irrespective of mycobacterial antigen preparation used. Further, our study and Russian study confirmed that the HLA DR2 association transcend ethnic barriers (table 1).

Spectrum of immune reactivity

We provide evidence that the spectrum of immune reactivity [two types of immunity viz., cell mediated (CMI) and humoral (HI)], demonstrable in patients with leprosy and tuberculosis, exists in healthy hospital contacts. This has now been confirmed and extended to healthy populations in Indonesia and Brazil. This inverse correlation (of CM1 and HI) was observed in both sputum positive and negative patients as well. Nonetheless there was a quantitative and qualitative difference between these two patient groups (figure 3). This spectrum of immune reactivity correlated to the recovery of patients by chemotherapy and to the drug resistant statuses. The early converters possessed a good CMI but low antibody levels and the patients with drug resistant bacilli possessed a poor CMI and an elevated antibody level. In other words patients with a good CMI have a better prognosis. One may need to examine whether the good HI in poor prognostic groups are related to antibodies against drug resistant organisms: our study however has not answered this question directly. Nonetheless it is possible that the drug resistant organisms induce a higher levels of antibody leading to a more severe damage and persistence and therefore the delay in recovery by chemotherapy.

In recent times immunity against mycobacterial infections is thought to depend on HLA class II restricted Thl cells. Both type one (Thl cells) and type two (Th2 cells) cytokines have been reported in many tuberculosis and leprosy patients. Cytokine profile of PBL and cells in the lesions of leprosy patients from India has revealed the presence of both indiscriminate (Th0) and polarized (Thl or Th2) T-cell subsets, in both tuberculoid leprosy (TL) and lepromatous leprosy (LL) patients. Further, no difference in the pattern of cytokine secretions between peripheral blood lymphocytes (PBL) and lesional lymphocytes and various mycobacteria antigens have been identified. Though the skewing of T-cell subsets and their cytokine profile may be an important mechanism in the pathology of mycobacterial diseases, their role in susceptibility to the disease needs to be evaluated. It is possible that the spectrum of immune reactivity observed in healthy individual from endemic areas is the outcome of their cytokine profile (i.e., their Thl/Th2 status to the antigen in question) and this might decide the course of the resulting susceptibility, immunity and pathology. The proposition raises another interesting question whether the Th 1 or Th2 response to a given antigen/epitope is inherent (innate), and whether it can be skewed in an endemic area.

High and low responder status to peptides

In order to study the role of MHC restriction in disease pathogenesis, lymphocyte transformation test (LTT) responses of patients and controls to selected mycobacterial peptides were studied and correlated to their MHC class II (HLA DRB1, DRB5, DQA and DQB) haplotypes, assigned by PCR-SSP typing. There was no correlation between any given haplotype and allele to either high or low response to any particular peptide studied. Rather a high responder to a peptide irrespective of DR2 status, always responded high to many peptides, studied (figure 4) but not to PPD. The study revealed that in response to a single peptide 16-3 in vitro, many clones can be generated (recall/memory response), each clone is restricted by one or the other MHC class II alleles of the host, the HLA DR restricted clones were the predominant one, presumably easily inducible by the mycobacterial antigen in question; many HLA DR restricted clones were promiscuous in nature. Thus the disease may be the outcome of the interactions of all these clones in vivo, and the genetics of the host may play a predominant role in deciding whether the disease will manifest and progress in an infected (sub-clinically) host.

Conclusion

The mechanism of association of HLA DR2 and the spectrum of immune reactivity in tuberculosis might be two parallel but independent mechanisms. During an immune response (in vitro), clones restricted by various MHC loci with different cytokine profile can be generated. The existence of high or low responder status to many mycobacterial peptides but not to PPD suggests that MHC diversity, mycobacterial peptides generated in a given milieu genetic, T-cell receptor (TCR) repertoire, epidemiology and cytokine profile, all may decide the disease susceptibility. Identifying the combinations of these factors leading to disease/protection is a challenging problem to immunologists.

Резюме

Больше чем один механизм может внести вклад в восприимчивость к туберкулезу: феномен рестрикции главного комплекса гистосовместимости (MHC), цитокиновый профиль и эпидемиологическая анергия. Эксперименты наших лабораторий показали, что гены HLA DR2 предрасполагают к более серьезной форме легочного туберкулеза. В результате предположено, что MHC класс II играет роль в распознавании пептидов в иммунном ответе. Тем не менее результаты и специфика иммунной реактивности во время протекающей болезни могут зависеть от разнородности распознания пептида и цитокиновых профилей.

Введение

Механизм ассоциации HLA с болезнями – все еще загадка: есть связь с микобактериозами, другими хроническими инфекциями и паразитными болезнями. Недавно была открыта более сильная ассоциация HLA DR2 с легочным туберкулезом (PTB). Многие более ранние изучения показали ассоциации с различными HLA аллелями и в классе I, и в классе II. Одно изучение на северном индийском населении показало ассоциацию с HLA DR2. Геномный анализ пар сибов с диабетом, использующий микросателитные маркеры показал, что, HLA аллели вносят вклад в 54 % патогенеза болезни, а остальное зависит от трёх других генов. Подобный подход относится и к туберкулёзу. Тем не менее, необходимо понимать иммунологические механизмы, которые предрасполагают к микобактериозам для лучшей терапии и предотвращения болезни.

Есть много изучений, которые оценили и HLA и иммунологические механизмы при туберкулезе и проказе. Наше изучение показало сильную ассоциацию HLA DR2 с тяжёлым туберкулезом легких. Существование спектра иммунной реактивности у здоровых индивидуумов было также описано нами впервые. Это было подтверждено в индонезийских и бразильских популяциях. Однако HLA ассоциация и спектр реактивности могут быть двумя независимыми механизмами.

Материалы и методы

Пациенты, посещающие Rajaji государственный госпиталь были зарегистрированы и изучены. Контроль был составлен из больничного персонала, студентов и работников университета. Серологическое типирование по HLA было сделано обычными двумя стадиями микролимфоцито-токсического теста. HLA типирование было сделано методом PCR-SSP с помощью специфических праймеров и последовательностей специфических олигонуклеотидов (SSOP). Тест трансформации лимфоцитов (LTT) и клонирование T-клеток было сделано после стандартных процедур. Используемые моноклональные антитела были коммерческими, и синтезируемые пептиды были основанны на известных последовательностях 16 и 38 kDa антигенов Mycobacterium tuberculosis. Для анализа данных использовались стандартные статистические методы, использовалось также программное обеспечение, разработанное для иммуногенетических исследований.

Результаты и обсуждение HLA D2 ассоциация

Рисунок 1 показывает данные относительно распределения HLA DR2 в различных подгруппах пациентов с легочным туберкулезом. В то время как частота HLA DR2 была 27% в контроле, у пациентов с туберкулёзом она была равна 41%. При взятии проб мокроты частота положительных была равна 57 % и даже достигала 76%. Из этого следует, что, если человек инфицирован и если он имеет HLA DR2, у него более серьёзные шансы заражения мокрото-положительным (+ + +), культура-положительным (+ + +) и полирезистентным легочным туберкулёзом, чем с другими аллелями. Другие пациенты с HLA DR2 показали более высокие уровни антител, чем без DR2, особенно у анти-HSP70 (рисунок 2) и у анти-PPD. Есть два других изучения, подтверждающие HLA DR2 ассоциации (таблица 1). Далее, наше и российское изучения подтвердили, что HLA DR2 ассоциация превышает этнические барьеры (таблица 1).

Спектр иммунной реактивности

Было обеспечено свидетельство, что спектр иммунной рективности (два типа иммунитета: клеточный и гуморальный), демонстрируемый у пациентов с туберкулезом и лепрой, существует и в здоровых контактах больницы. Это было подтверждено и расширено на здоровые популяции Индонезии и Бразилии. Эта обратная корреляция клеточного и гуморального иммунитета соблюдалась у мокрото-положительных и отрицательных пациентов. Тем не менее, было количественное и качественное различие в этих двух группах пациентов (рисунок 3). Этот спектр иммунной реактивности коррелирует с восстановлением пациентов с помощью химиотерапии и с лекарственно устойчивыми состояниями. Первые конверты обладали хорошим клеточным иммунитетом, но низкими уровнями антител, а пациенты с лекарственно устойчивыми бациллами обладали плохим клеточным иммунитетом и высоким уровнем антителопродукции. Другими словами, пациенты с хорошим клеточным иммунитетом имеют лучшие прогнозы. Необходимо исследовать, связана ли хорошая антителопродукция у групп с плохими прогнозами с антителами против антибиотикорезистентных бацилл. Тем не менее, возможно, что антибиотикорезистентные микроорганизмы индуцируют высокий уровень антител, приводящих к более серьезному повреждению, персистенции и к задержке в восстановлении с помощью химиотерапии.

В последнее время иммунитет против микобактериальной инфекции связывают с HLA II класса рестриктированными Th1 клетками. Оба типа (Th1 и Th2) цитокины были отмечены у многих пациентов с туберкулезом и лепрой. Не было замечено никаких различий в секреции цитокинов между периферическими лимфоцитами крови и поврежденными лимфоцитами против микобактериальных антигенов. Хотя искажение популяций Т-клеток и их цитокинового профиля может быть важным механизмом в патологии микобактериальных заболеваний. Возможно спектр иммунной реактивности наблюдаемый у здорового человека из эндемичных ареалов является результатом их цитокинового профиля (т. е. Тh1/Th2 статуса к рассматриваемому антигену) и это могло бы решить течение получающейся восприимчивости, иммунитета и патологии. Назревает другой вопрос, является ли Th1 или Th2 ответ на данный антиген врожденным, и может ли это быть искажено в эндемичном регионе.

Высокие и низкие статусы ответа к пептидам

Чтобы изучать роль МНС рестрикции в патогенезе заболевания были проведены тесты трансформации лимфоцитов у пациентов и контроля к отобранным микобактериальным пептидам. Они были связаны с гаплотипами МНС класса II (HLA DRB1, DRB5, DQA и DQB), выявляемыми с помощью метода ПЦР типирования. Не было замечено никакой корреляции между данными гаплотипами и высоким или низким ответом на специфический изучаемый пептид. Индивиды без DR2 реализовывали высокий ответ на многие изучаемые пептиды, но не на PPD. Исследования показали, что в ответ на отдельный пептид 16.3 in vitro образовывались многие клоны клеток-памяти; каждый клон был рестриктирован по аллелю МНС класса II; преобладали HLA DR2 рестриктированные клоны, которые, по-видимому, легче индуцируются микобактериальными антигенами; многие из HLA DR2 рестриктированных клонов были разнородными по природе. Таким образом, болезнь может быть результатом взаимодействия всех этих клонов in vivo, а генетические факторы хозяина могут играть решающую роль в решении, будет ли болезнь прогрессировать или протекать субклинически.

Заключение

Механизм ассоциации HLA DR2 и спектр иммунной реактивности во время заболевания могут взаимодействовать двумя параллельными, но независимыми механизмами. Во время иммунного ответа in vitro образуются клоны, рестриктированные по различным МНС локусам, с различным цитокиновым профилем. Существование высокого или низкого ответа на многие микобактериальные антигены (но не на PPD) свидетельствует, что разнообразие МНС, микобактериальные пептиды, полученные в данной генетической обстановке, репертуар ТКР, эпидемиология и цитокиновый профиль, - все принимают участие в восприимчивости к болезни. Изучение комбинаций данных факторов, приводящих к заболеванию или защите от него, - важная проблема иммунологии.

Словарь

A

Account – счет.

Advanced – выдвинутый вперед.

Affected – пораженный болезнью.

Allele – аллель.

Allelic – аллельный.

Anergy – анэргия, астения.

Antibody – антитело.

Antigen – антиген.

Approach – приближение, подход.

Area – площадь, район, область.

Assay – оценивать, анализировать.

Assigned – назначенный.

Association – соединение, общество.

B

Barrier – помеха, преграда.

Blood – кровь.

C

Chain – цепочка.

Challenging – стимулирующий.

Chemotherapy – хемотерапия.

Chronic – хронический.

Clone – клон, двойник.

Combination – комбинация, соединение.

Commercial – коммерческий.

Complex – комплекс.

Confirmed –установленный, согласованный

Consent – согласие, позволение.

Contact – контакт, связь.

Contribute – вносить вклад, содействовать.

Conventional – условный, обычный.

Converter – конвертер, преобразователь.

Correlated – взаимосвязанный.

Correlation – взаимосвязь.

Culture – культура, развитие.

Cytokine – цитокин.

D

Damage – вред, повреждение.

Data – данные.

Decide – решеть, принимать решение.

Delay – откладывать, задерживать.

Demonstrable – доказуемый.

Depend – зависеть.

Described – описанный.

Develop – развиваться, распространяться.

Diabetes – диабет.

Directly – прямо, непосредственно.

Discussion – подробное обсуждение.

Disease – болезнь.

Distribution – распределение.

Diversity – разнообразие, многообразие.

E

Earlier – ранний.

Elevated – приподнятый, повышенный.

Employ – употреблять, применять.

Encode – кодировать.

Endemic – эндемичный.

Enigma – головоломка, загадка.

Enrolled – зарегистрированный.

Epidemiology – эпидемиология.

Epitope – эпитоп.

Ethnic – этнический.

Evaluated – оцененный, выраженный.

Evidence – свидетельство.

Examine – рассматривать, экзаменовать.

Existence – существование.

Experiment – эксперимент.

Extended – расширенный, продленный.

F

Following – последующий.

Further – дальнейший, затем.

G

Generate – вызывать, производить.

Genetic – генетический.

Genome – геном.

H

Haplotypes – гаплотип.

Healthy – здоровый.

Histocompatability – гистосовместимость.

Host – хозяин.

Human – человеческий.

Humoral – гуморальный.

I

Identify – отождествлять, опозновать.

Immunogenetic – иммуногенетический.

Immunological – иммунологический.

Independent – независимый.

Indiscriminate – неразборчивый.

Individual – индивидуальный.

Induce – индуцировать.

Inducible – индуцированный.

Infected – зараженный.

Informed – информированный.

Inherent – неотъемлемый, присущий.

Innate – врожденный.

Interaction – взаимодействие.

Inverse – противоположный, перевернутый.

Irrespective – независимый.

L

Laboratory – лаборатория.

Leading – ведущий, передовой.

Leprosy – проказа.

Lesional – поврежденный.

Leucocyte – лейкоцит.

Loci – локус.

Lymphocyte – лимфоцит.

M

Major – главный.

Manifest – проявление, очевидный, явный.

Marker – маркер.

Mechanism – механизм.

Mediate – промежуточный, средний.

Memory – память.

Microlymphocytotoxicity – микролимфоцитотоксический.

Microsatellite – микросателлит.

Milieu – атмосфера, обстановка, среда.

Monoclonal – моноклональный.

Mycobacterium – микобактерии.

Mycobacterioses – микобактериоз.

N

Nominal – номинальный, незначительный.

Nonetheless – несмотря на, однако.

O

Observed – предмет наблюдений.

Obtaine – получать, добывать, достигать.

Oligoprobe – олигопроба.

Outcome – исход, итог, результат.

P

Parallel – параллельный.

Parasitic - паразитический

Particular – редкий, особенный.

Particularly – точно.

Pathogenesis – патогенез.

Pathology – патология.

Patient – пациент.

Peptide – пептид

Peripheral – периферический.

Persistence - постоянство, упорство.

Phenomenon – событие, феномен.

Polarized – поляризованный.

Polymerase – полимераза.

Population – популяция.

Positive – положительный.

Possess – владеть, распологать.

Possible – возможный.

Predispose – вызывать предрасположенность.

Predominant – доминирующий.

Preparation – подготовка, приготовление.

Presence – присутствие, наличие.

Presumably – предположительно.

Prevention – предотвращение.

Primer – праймер.

Procedure – процесс.

Profile – профиль.

Prognosis – предсказание, прогноз.

Progress – прогресс.

Promiscuity – промискуитете.

Proposition – предложение, заявление.

Protection – защита.

Provide – снабжать, обеспечивать.

Pulmonary – легочной.

Q

Qualitative – качественный.

Quantitative – количественный.

R

Raise – поднимать, повышать.

Reactivity – реактивность.

Recall – вызывать обратно.

Recent – недавний.

Recognition – осознание, понимание.

Recovery – возврат, возмещение.

Related – связанный, родственный.

Repertoire – репертуар.

Reported – сообщенный, преданный.

Resistant – устойчивый.

Responder – иммунокомпетентная клетка.

Rest – отдыхать.

Restriction – ограничение, рестрикция.

Resultant – получающийся в результате.

Reveal – открывать, обнаруживать.

S

Scan – изучать, исследовать.

Secretion – секреция.

Sequence – последовательность.

Serological – серологический.

Severe – строгий, требовательный.

sib-pairs – пары кровных родственников.

Similar – похожий.

Single – одинокий.

Skew – наклон, асимметрия.

Specificity – специфичность, особенность.

Spectrum – спектр, диапазон.

Sputum – слюна, мокрота.

Staff cell – палочкоядерный нейтрофил.

Statistical – статистический.

Status – статус.

Stratification – стратификация.

Stronger – сильный.

sub-clinically – субклинический.

Subgroup – подгруппа.

Subset – подмножество.

Suggest – предлагать, советовать.

Susceptibility – восприимчивость.

Synthesized – синтезированный.

T

Technique – техника, методика.

Therapy – терапия.

Therefore – следовательно.

Transcend – превосходить, превышать.

Tuberculosis – туберкулез.

Type – тип.

V

Various – различный.

W

Warranted – служить оправданием.

Список источников литературы

1. Мюллер Д. Англо-русский словарь. – М.: Русский язык, 1995. – 305 с.
2. J. Biosci., Vol. 22, Number 1, January 1997, pp 47-57.