

К.Ю. Литвин, Л.Р. Шостакович-Корецька, О.О. Волікова

## ГЕНЕТИЧНІ ВАРІАЦІЇ АЛЕЛЕЙ HLA DRB1 ПРИ ЦЕРЕБРАЛЬНОМУ ТОКСОПЛАЗМОЗІ У ПАЦІЄНТІВ З ВІЛ-ІНФЕКЦІЄЮ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Токсоплазмоз ЦНС є однією з найрозповсюдженіших причин ураження мозку у пацієнтів зі СНІДом. Поліморфізм локусів HLA DRB1 пов'язаний із захистом проти ВІЛ-1 та може впливати на розвиток опортуністичних захворювань.

**Мета роботи** – вивчити варіації алелей HLA DRB1 при церебральному токсоплазмозі та порівняти їх з даними пацієнтів при інших опортуністичних захворюваннях IV клінічної стадії ВІЛ-інфекції для визначення протекторних можливостей.

**Пацієнти і методи.** Обстежено 70 пацієнтів з ВІЛ-інфекцією та опортуністичними захворюваннями, індикаторними для IV клінічної стадії, віком від 24 до 61 років, серед яких чоловіків було 41 (58,6 %), жінок – 29 (41,4 %). 66 (94,3 %) пацієнтів були виписані з лікарні з покращенням стану, 4 (5,7 %) хворих померли внаслідок захворювання.

Пацієнти були розподілені на дві групи: основну групу склали 23 хворих (32,9 %) з токсоплазмозом головного мозку, підтвердженим детекцією ДНК *Toxoplasma gondii* в лікворі, серологічними дослідженнями та характерними ознаками на серії томограм, а у померлих пацієнтів дослідженням автопсійного матеріалу тканини мозку. Групу порівняння склали 47 хворих (67,1 %), які мали інші опортуністичні захворювання.

Типування DRB1 алелів проводилось методом ПЛР, варіантом сіквенс-специфічних праймерів (PCR-SSP). Дослідження здійснювалося наборами «HLA-ДНК-ТЕХ» для типування генів DRB1 виробництва «ДНК-Технологія» (РФ).

Статистична обробка результатів дослідження проводилась з використанням пакету прикладних програм STATISTICA v.6.1®.

**Результати.** Аналіз варіацій алелей локусів DRB1 системи HLA II класу у 70 хворих з IV клінічною стадією ВІЛ-інфекції довів, що в більшості випадків визначались алелі локусів DRB1\*01 (21,4 %), DRB1\*04 (18,6 %), DRB1\*07 (25,7 %), DRB1\*11 (35,7 %), DRB1\*13

(18,6 %), DRB1\*15 (17,1 %), DRB1\*16 (21,4 %). Алелі DRB1\*02, DRB1\*05, DRB1\*06, DRB1\*09, DRB1\*18 не виявлялись в жодному випадку.

Встановлено тенденції до збільшення серед хворих з токсоплазмозом носіїв алелей DRB1\*01 (30,4 %), DRB1\*15 (26,1 %), DRB1\*16 (30,4 %), порівняно з іншими опортуністичними захворюваннями – 17,0 %, 12,8 % і 17,0 % відповідно, що при більшій кількості спостережень в означених групах може досягти критичного рівня статистичної значимості ( $p < 0,05$ ) для прогнозування церебрального токсоплазмозу. Водночас ризик розвитку токсоплазмозу серед ВІЛ-позитивних пацієнтів з алелями DRB1\*13 був вірогідно нижчим, ніж при інших захворюваннях ( $r_s = -0,26$ ;  $p < 0,05$ ). Так, алель гена DRB1\*13 виявлявся в 1 (4,3 %) хворого з токсоплазмозною інфекцією і у 12 (25,5 %) хворих з опортуністичними захворюваннями іншої етіології ( $p = 0,048$  FET), що свідчить про можливу захисну дію означених алелей.

Проведений аналіз варіацій алелей DRB1 системи HLA II класу при токсоплазмозі окремо залежно від статі показав наявність вірогідних асоціацій з токсоплазмозом у жінок, носіїв алелей гена DRB1\*16 (46,2 %;  $p < 0,01$ ), в той час як у чоловіків такий варіант частіше асоціювався з опортуністичними захворюваннями іншої етіології (25,8 проти 10,0 %;  $p > 0,05$ ). Протилежні тенденції встановлені відносно алелей DRB1\*04: у жінок вони були виявлені лише у пацієток без токсоплазмозної інфекції (31,3 %;  $p < 0,05$ ), у чоловіків, навпаки, носіїв алелей DRB1\*04 було більше серед хворих з токсоплазмозом (30,0 проти 16,1 %;  $p > 0,05$ ).

**Висновки.** Експресія варіанта HLA-DRB1 має певний зв'язок зі статтю, впливає на прогресування ВІЛ та розвиток токсоплазмозу. Тенденція до збільшення носіїв алелей DRB1\*01 (30,4 %), DRB1\*15 (26,1 %), DRB1\*16 (30,4 %) серед пацієнтів з токсоплазмозом свідчить про підвищену чутливість до токсоплазмозу та необхідність посилення профілактичних заходів у групі. Нижчий ризик розвитку токсоплазмозу серед ВІЛ-позитивних пацієнтів з алелями DRB1\*13, ніж ін-

ших захворювань ( $rs=-0,26$ ;  $p<0,05$ ), свідчить про протекторну дію даного генетичного варіанту відносно токсоплазмозу.

**Ключові слова:** ВІЛ-інфекція, опортуністичні захворювання, церебральний токсоплазмоз, HLA DRB1 алелі.

Опортуністичні інфекції центральної нервової системи (ЦНС) на сьогодні є одною з головних причин смертності хворих зі СНІД і потребують вирішення складних питань задля покращення менеджменту пацієнтів з даною патологією [1, 2].

Токсоплазмоз ЦНС такою є одною з найрозповсюдженіших причин ураження мозку в пацієнтів зі СНІД [3-8]. Найбільш відомими факторами, що впливають на захворюваність і смертність від інфекцій ЦНС, є: пізнє виявлення ВІЛ-інфекції та, як наслідок, відсутність АРТ, резистентність до антиретровірусних препаратів, низька прихильність до лікування та зловживання наркотичними засобами [9, 10]. Відомо, що в деяких випадках призначення АРТ при наявності опортуністичних інфекцій ЦНС розвивається парадоксальне погіршення, пов'язане із запальним синдромом відновлення імунної системи [10, 11]. Водночас можливо, що домінуючий вплив як на прогресування ВІЛ, так і, відповідно, на розвиток захворювань ЦНС, у тому числі й церебрального токсоплазмозу, можуть мати генетичні профілі, зокрема варіанти поліморфізму локусів HLA DRB1. Роль системи HLA у сприйнятливості до розвитку ВІЛ підтверджено існуючими дослідженнями [12-15]. Li W.X. et al. [12] за допомогою багатофакторного логіт-аналізу встановили, що з DRB1\*01:01 та DRB1\*15:01 пов'язана резистентність до ВІЛ-інфекції, у той час як DRB1\*13:01 підвищує сприйнятливості до інфекції ВІЛ-1, що, таким чином, демонструє вплив таких генетичних факторів людини, як поліморфізм HLA на здатність до захисту проти ВІЛ-1.

Oriol-Tordera B. et al. [16] у своєму дослідженні доводять зв'язки поліморфізму класу II HLA з кількістю ВІЛ РНК у плазмі крові: DRB1\*13:02 були пов'язані з підвищеним вірусним навантаженням, тоді як DRB1\*12:01 показали значно менші рівні ВІЛ РНК та обмежили домінуючу відповідь Т-клітин на HIV Gag p24. Ranasinghe S. et al. [17] підтверджують гіпотезу про суттєвий вплив HLA-DRB1 на контроль реплікації ВІЛ і демонструють чіткий зв'язок алелей HLA-DRB1 з віремією ВІЛ. Так, в їх дослідженні HLA-DRB1\*15:02 асоціювався з низькою віремією, а HLA-DRB1\*03:01, навпаки, з високою. Як вважають Julg B. et al. [18], захисна дія гена DRB1\*13:03 відносно вірусу гепатиту В у пацієнтів з ВІЛ не залежить від етнічної приналежності, статі та вірусного навантаження. Однак, ці дані суперечливі та потребують уточнення, враховуючи відмінності асоціацій HLA-DRB1 з

прогресуванням ВІЛ за даними інших джерел, які унеможливають ігнорування регіональних особливостей.

Є роботи, що підтверджують роль HLA-DRB1 при розвитку опортуністичних інфекцій. Так, Sundqvist E. et al. [13] визначили сильний зворотний зв'язок гаплотипу HLA-DRB1\*15 з кількісним вмістом JC-вірусу (JCV) у сироватці крові пацієнтів з ВІЛ і, таким чином, встановили захисну дію означеного гаплотипу проти JCV-інфекції та розвитку прогресуючої мультифокальної лейкоенцефалопатії. Ряд досліджень свідчить про наявність асоціацій між деякими специфічними характеристиками HLA та сприйнятливості до туберкульозу у ВІЛ-інфікованих пацієнтів [19-23].

De Sorrentino A.H. et al. [24] пов'язують наявність DRB1\*08 з високим ризиком розвитку неврологічних опортуністичних захворювань, головним чином з розвитком церебрального токсоплазмозу. Однак мала чисельність вибірки в роботі потребує, на нашу думку, подальших досліджень у цьому напрямку.

Вищесказане свідчить про необхідність продовження вивчення клінічної ролі генетичних факторів, зокрема DRB1, в прогресуванні ВІЛ та детального аналізу предикторних можливостей HLA-DRB1 у розвитку опортуністичних захворювань, зокрема церебрального токсоплазмозу.

Мета роботи – вивчити варіації алелей HLA DRB1 при церебральному токсоплазмозі та ВІЛ-інфекції й порівняти їх з даними пацієнтів при інших опортуністичних захворюваннях для визначення протекторних можливостей.

### Пацієнти і методи

У дослідження було залучено 70 пацієнтів з ВІЛ-інфекцією та наявністю опортуністичних захворювань, індикаторних для IV клінічної стадії, які лікувалися у відділеннях обласного та міського центрів профілактики та боротьби зі СНІДом. Переважали чоловіки – 41 (58,6 %), жінок було 29 (41,4 %). Вік хворих коливався від 24 до 61 року та в середньому склав  $(38,91 \pm 0,87)$  років. Більшість пацієнтів – 66 (94,3 %) була виписана з лікарні з покращенням стану, 4 (5,7 %) хворих померли внаслідок захворювання.

Серед пацієнтів з IV клінічною стадією ВІЛ-інфекції окремо виділена група з 23 осіб (32,9 %), в яких був діагностований токсоплазмоз головного мозку, підтверджений детекцією ДНК *Toxoplasma gondii* в лікворі, серологічними дослідженнями та характерними ознаками на серії томограм, а у померлих пацієнтів при дослідженні автопсійного матеріалу тканини мозку. 47 хворих (67,1 %), які мали інші опортуністичні інфекції (туберкульоз, грибові та вірусні ураження, спричинені EBV, HSV, CMV) та гнійно-септичні захворювання, склали групу порівняння. Наявність озна-

чених захворювань була обґрунтована спеціальними лабораторними та/або рентгенологічними даними, відповіддю на терапію, а в летальних випадках – результатами автопсії.

Типування DRB1 алелей проводилось методом ПЛР, варіантом сіквенс-специфічних праймерів (PCR-SSP). Дослідження здійснювалося наборами «HLA-ДНК-ТЕХ» для типування генів DRB1 виробництва «ДНК-Технологія» (РФ). Дослідження проводилось за згодою пацієнтів.

Показники кількості Т-лімфоцитів CD4+ та ВІЛ РНК плазми крові враховувались у період маніфестації опортуністичних захворювань (використані дані з медичних карток).

Дослідження узгоджено з комісією з біоетики ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України».

Статистична обробка результатів дослідження проводилася з використанням пакету прикладних програм STATISTICA v.6.1®. З урахуванням закону розподілу кількісних ознак (критерій Shapiro-Wilk's W test), використовували параметричні та непараметричні характеристики і методи порівняння: для нормального закону розподілу – середнє арифметичне (M), стандартну похибку (m), критерій Стюдента (t); в інших випадках – медіану (Me), інтерквартильний розмах (interquartile range – IQR), критерій Манна-Уїтні (U). Порівняння відносних показників проводили за двостороннім точним критерієм Фішера (FET). Виконувався кореляційний аналіз із розрахунком коефіцієнтів рангової кореляції Спірмена ( $r_s$ ). Критичний рівень

статистичної значимості при перевірці гіпотез приймався <5 % ( $p < 0,05$ ).

**Результати досліджень та їх обговорення**

Аналіз результатів обстеження 23 пацієнтів з церебральним токсоплазмозом серед 70 хворих з IV клінічною стадією ВІЛ-інфекції довів, що більшість випадків токсоплазмозу відбувалась у ВІЛ-інфікованих пацієнтів на тлі глибокої імуносупресії та високого вірусного навантаження ВІЛ РНК, про що свідчить зворотний зв'язок між токсоплазмозом і кількістю CD4 Т-лімфоцитів –  $r_s = -0,56$  ( $p < 0,001$ ), а також пряма кореляція з показником вірусного навантаження ВІЛ РНК в крові –  $r_s = 0,46$  ( $p < 0,001$ ).

Як видно з таблиці 1, 14 (60,9 %) пацієнтів з токсоплазмозом ЦНС мали рівень CD4 менший 50 клітин/мм<sup>3</sup> ( $p < 0,001$  FET).

Медіана CD4 в період прогресування захворювання у хворих з токсоплазмозом склала 43,0 (IQR 15,0-58,0) клітин/мм<sup>3</sup>, а відповідний показник вірусного навантаження ВІЛ РНК (lg VH) – 5,84 (IQR 5,05-6,07) копій/мл, що достовірно відрізнялось від показників у групі хворих з іншими опортуністичними захворюваннями ( $p < 0,001$ ).

Аналіз варіантів алелей локусів DRB1 системи HLA II класу у хворих з ВІЛ-інфекцією дозволив виявити такі тенденції (табл. 2).

Таблиця 1

Показники кількості CD4 клітин та вірусного навантаження ВІЛ РНК в крові пацієнтів з IV клінічною стадією ВІЛ-інфекції

Показник		Всі пацієнти (n=70)	Токсоплазмоз (n=23)	Інші захворювання (n=46)	Відмінність між групами (p)
Рівень CD4 (клітин/мм <sup>3</sup> ) в період клінічних проявів опортуністичних захворювань, n (%) або Me (IQR)	0-50	21 (30,0 %)	14 (60,9 %)	7 (14,9 %)	<0,001 (FET)
	середній	83,0 (42,0-217,0)	43,0 (15,0-58,0)	176,0 (63,0-244,0)	<0,001 (U)
lg вірусного навантаження (VH), копій/мл, Me (IQR)		4,74 (2,89-5,57)	5,84 (5,05-6,07)	4,12 (2,70-5,20)	<0,001 (U)

Із таблиці 2 видно, що у хворих з IV клінічною стадією ВІЛ-інфекції здебільшого відзначались алелі локусів DRB1\*01 (21,4 %), DRB1\*04 (18,6 %), DRB1\*07 (25,7 %), DRB1\*11 (35,7 %), DRB1\*13 (18,6 %), DRB1\*15 (17,1 %), DRB1\*16 (21,4 %), що може опосередковано свідчити про тенденцію до прогресування ВІЛ у пацієнтів, які мають дані локуси. Алелі DRB1\*02, DRB1\*05, DRB1\*06, DRB1\*09, DRB1\*18 не виявлялись в жодному випадку, що, навпаки, свідчить про резистентність до прогресування ВІЛ у носіїв цих локусів.

Встановлено тенденції до збільшення серед хворих з токсоплазмозом носіїв алелей DRB1\*01 (30,4 %), DRB1\*15 (26,1 %), DRB1\*16 (30,4 %), ніж при інших

опортуністичних захворюваннях – 17,0, 12,8 і 17,0 % відповідно. При більшій кількості спостережень в означених групах відмінності між цими показниками можуть досягти критичного рівня статистичної значимості ( $p < 0,05$ ) для прогнозування розвитку церебрального токсоплазмозу. Водночас, ризик розвитку токсоплазмозу серед ВІЛ-позитивних пацієнтів з алелями DRB1\*13 був вірогідно нижчим, ніж інших захворювань ( $r_s = -0,26$ ;  $p < 0,05$ ). Так, алель гена DRB1\*13 виявлявся в 1 (4,3 %) хворого з токсоплазмозною інфекцією і у 12 (25,5 %) хворих з опортуністичними захворюваннями іншої етіології ( $p = 0,048$  FET), що свідчить про можливу захисну дію означених алелей.

Таблиця 2

Частота виявлення алелей HLA-DRB1 у пацієнтів з церебральним токсоплазмозом та іншими опортуністичними захворюваннями, n (%)

Алелі генів DRB1	Всі пацієнти (n=70)	Токсоплазмоз (n=23)	Інші захворювання (n=46)	Відмінність між групами (p)
01	15 (21,4 %)	7 (30,4 %)	8 (17,0 %)	0,226 (FET)
03	8 (11,4 %)	3 (13,0 %)	5 (10,6 %)	1,00 (FET)
04	13 (18,6 %)	3 (13,0 %)	10 (21,3 %)	0,523 (FET)
07	18 (25,7 %)	7 (30,4 %)	11 (23,4 %)	0,562 (FET)
08	3 (4,3 %)	–	3 (6,4 %)	0,546 (FET)
10	1 (1,4 %)	1 (4,3 %)	–	0,329 (FET)
11	25 (35,7 %)	8 (34,8 %)	17 (36,2 %)	1,00 (FET)
12	2 (2,9 %)	–	2 (4,3 %)	1,00 (FET)
13	13 (18,6 %)	1 (4,3 %)	12 (25,5 %)	0,048 (FET)
14	2 (2,9 %)	1 (4,3 %)	1 (2,1 %)	1,00 (FET)
15	12 (17,1 %)	6 (26,1 %)	6 (12,8 %)	0,189 (FET)
16	15 (21,4 %)	7 (30,4 %)	8 (17,0 %)	0,226 (FET)
17	3 (4,3 %)	–	3 (6,4 %)	0,546 (FET)

Враховуючи дані літератури щодо взаємозв'язку між певними гаплотипами і статтю людини, а також розбіжності між клінічними групами за гендерним складом пацієнтів (табл. 1), нами проведений аналіз варіантів

алелей DRB1 системи HLA II класу, асоційованих з токсоплазмозом, окремо серед пацієнтів жіночої і чоловічої статі (табл. 3).

Таблиця 3

Частота виявлення алелей HLA-DRB1 у пацієнтів з церебральним токсоплазмозом, залежно від статі, n (%)

Алелі генів DRB1	Жінки (n=29)			Чоловіки (n=41)		
	Токсоплазмоз (n=13)	Інші захворювання (n=16)	Відмінність між групами (p)	Токсоплазмоз (n=10)	Інші захворювання (n=31)	Відмінність між групами (p)
01	3 (23,1 %)	2 (12,5 %)	0,632(FET)	4 (40,0 %)	6 (19,4 %)	0,222 (FET)
03	1 (7,7 %)	4 (25,0 %)	0,343 (FET)	2 (20,0 %)	1 (3,2 %)	0,142 (FET)
04	–	5 (31,3 %)	0,048 (FET)	3 (30,0 %)	5 (16,1 %)	0,378 (FET)
07	4 (30,8 %)	3 (18,8 %)	0,667 (FET)	3 (30,0 %)	8 (25,8 %)	1,00 (FET)
08	–	–	–	–	3 (9,7 %)	0,564 (FET)
10	1 (7,7 %)	–	0,448 (FET)	–	–	–
11	5 (38,5 %)	6 (37,5 %)	1,00 (FET)	3 (30,0 %)	11 (35,5 %)	1,00 (FET)
12	–	–	–	–	2 (6,5 %)	1,00 (FET)
13	1 (7,7 %)	5 (31,3 %)	0,183 (FET)	–	7 (22,6 %)	0,164 (FET)
14	1 (7,7 %)	–	0,448 (FET)	–	1 (3,2 %)	1,00 (FET)
15	3 (23,1 %)	1 (6,3 %)	0,299 (FET)	3 (30,0 %)	5 (16,1 %)	0,378 (FET)
16	6 (46,2 %)	–	0,004 (FET)	1 (10,0 %)	8 (25,8 %)	0,410 (FET)
17	–	1 (6,3 %)	1,00 (FET)	–	2 (6,5 %)	1,00 (FET)

Як видно з даних табл. 3, вказані вище тенденції щодо зменшення ризику розвитку токсоплазмозу у носіїв алеля DRB1\*13 збереглися у ВІЛ-інфікованих пацієнтів обох статей, проте не досягли прийнятого рівня статистичної значимості (p>0,05). Водночас, вірогідні асоціації з токсоплазмозом виявлені у жінок – носіїв

алелей DRB1 системи HLA II класу, асоційованих з токсоплазмозом, окремо серед пацієнтів жіночої і чоловічої статі (табл. 3).

алелей гена DRB1\*16 (46,2 %;  $p < 0,01$ ), в той час як у чоловіків такий фенотип частіше асоціювався з опортуністичними захворюваннями іншої етіології (25,8 проти 10,0 %;  $p > 0,05$ ). Протилежні тенденції встановлені відносно алелей DRB1\*04: у жінок вони виявлені лише у пацієнок без токсоплазмозної інфекції (31,3 %;  $p < 0,05$ ), у чоловіків, навпаки, носіїв алелей DRB1\*04 було більше серед хворих з токсоплазмозом (30,0 проти 16,1 %;  $p > 0,05$ ).

### Висновки

1. Встановлено, що експресія варіанта HLA-DRB1 має певний зв'язок зі статтю, впливає на прогресування ВІЛ та розвиток токсоплазмозу.

### Література

1. HIV-associated opportunistic infections of the CNS / I.L. Tan, B.R. Smith, G. von Geldern [et al.] // *The Lancet Neurology*. – 2012. – Vol. 11, N 7. – P. 605-617.
2. The neuropathology of HIV infection in the era of highly active antiretroviral therapy / A.V. Vallat-Decouvelaere, F.L. Chrétien, G. de la Grandmaison [et al.] // *Annales de Pathologie*. – 2003. – Vol. 23, N 5. – P. 408-423.
3. Cohen B.A. Neurologic manifestations of toxoplasmosis in AIDS / B.A. Cohen // *Seminars in neurology*. – Thieme Medical Publishers, Inc. – 1999. – Vol. 19, N 02. – P. 201-211.
4. Neurological manifestations of toxoplasmosis in AIDS / V.D. Camara, W. Tavares, M. Ribeiro, M. Dumas // *DST – Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis*. – 2003. – Vol. 15, N 3. – P. 46-50.
5. Neurological complications in patients with HIV/AIDS / N. Bolokadze, P. Gabunia, M. Ezugbaia [et al.] // *Georgian medical news*. – 2008. – N 165. – P. 34-38.
6. Toxoplasmosis in HIV/AIDS patients: a current situation / V. Nissapatorn, C. Lee, K.F. Quek [et al.] // *Japan. J. Infect. Dis.* – 2004. – Vol. 57, N 4. – P. 160-165.
7. Характеристика церебрального токсоплазмозу в пацієнтів з ВІЛ: ретроспективний аналіз 135 випадків у Дніпропетровському регіоні / Л.П. Шостакович-Корецька, К.Ю. Литвин, О.О. Волюкова [та ін.] // *Вісник наукових досліджень*. – 2017. – №4. – С. 86-90.
8. Аналіз змін сироваткового бета-2-мікроглобуліну та показників гематологічного профілю у пацієнтів із ВІЛ-асоційованими неврологічними захворюваннями / Л.П. Шостакович-Корецька, К.Ю. Литвин, І.О. Губар [та ін.] // *Вісник наукових досліджень*. – 2017. – № 3. – С. 110-113.
9. Neurological complications of HIV infection in pre-HAART and HAART era: a retrospective study / A. Matinella, M. Lanzafame, M.A. Bonometti [et al.] // *J. Neurology*. – 2015. – Vol. 262, N 5. – P. 1317-1327.
10. HIV-associated opportunistic CNS infections: pathophysiology, diagnosis and treatment / L.N. Bowen, B. Smith, D. Reich [et al.] // *Nature Rev. Neurology*. – 2016. – Vol. 12, N 11. – P. 662.
11. Park J.Y. Immune reconstitution inflammatory syndrome in acquired immune deficiency syndrome related to cryptococcal meningoencephalitis / J.Y. Park, M.J. Kim // *Journal of investigative medicine high impact case reports*. – 2014. – Vol. 2, N 2. – P. 2324709614533951.

2. Тенденція до збільшення носіїв алелей DRB1\*01 (30,4 %), DRB1\*15 (26,1 %), DRB1\*16 (30,4 %) серед пацієнтів з токсоплазмозом свідчить про підвищену чутливість до токсоплазмозу та необхідність посилення профілактичних заходів у групі.

3. Низький ризик розвитку токсоплазмозу серед ВІЛ-позитивних пацієнтів з алелями DRB1\*13, вірогідно нижчий від інших захворювань ( $rs = -0,26$ ;  $p < 0,05$ ), свідчить про протекторну дію даного генетичного варіанту відносно токсоплазмозу та, відповідно, про резистентність більшості осіб цієї групи до означеної патології ЦНС.

12. Association of HLA alleles (A, B, DRB1) and HIV-1 infection in the Han population of Hubei, China / W.X. Li, J.A. Xia, X. Zhou [et al.] // *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*. – 2017. – Vol. 37, N 1. – P. 131-139.
13. JC polyomavirus infection is strongly controlled by human leucocyte antigen class II variants / E. Sundqvist, D. Buck, C. Warnke [et al.] // *PLoS pathogens*. – 2014. – Vol. 10, N 4. – P. e1004084.
14. HIV controllers with HLA-DRB1\*13 and HLA-DQB1\*06 alleles have strong, polyfunctional mucosal CD4+ T-cell responses / A.L. Ferre, P.W. Hunt, D.H. McConnell [et al.] // *J. Virology*. – 2010. – Vol. 84, N 21. – P. 11020-11029.
15. Frequency of HLA class I and 2 alleles in Brazilian patients with AIDS and cytomegalovirus retinitis / M. de Lourdes Veronese Rodrigues, J.F. De Castro Figueiredo, N.H.S. Deghaide [et al.] // *Acta Ophthalmologica*. – 2003. – Vol. 81, N 5. – P. 514-516.
16. Impact of HLA-DRB1 allele polymorphisms on control of HIV infection in a Peruvian Msm cohort / B. Oriol-Tordera, A. Llano, C. Ganoza [et al.] // *HLA*. – 2017. – Vol. 90, N 4. – P. 234-237.
17. Association of HLA-DRB1-restricted CD4+ T cell responses with HIV immune control / S. Ranasinghe, S. Cutler, I. Davis [et al.] // *Nature Medicine*. – 2013. – Vol. 19, N 7. – P. 930.
18. Possession of HLA class II DRB1\*1303 associates with reduced viral loads in chronic HIV-1 clade C and B infection / B. Julg, E.S. Moodley, Y. Qi [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2011. – Vol. 203, N 6. – P. 803-809.
19. HLA profile in patients with AIDS and tuberculosis / J.F.D.C. Figueiredo, M.D.L.V. Rodrigues, N.H.S. Deghaide, E.A. Donadi // *Braz. J. Infect. Dis.* – 2008. – Vol. 12, N 4. – P. 278-280.
20. HLA class II sequence variants influence tuberculosis risk in populations of European ancestry / G. Sveinbjornsson, D.F. Gudbjartsson, B.V. Halldorsson [et al.] // *Nature Genetics*. – 2016. – Vol. 48, N 3. – P. 318.
21. Do HLA class II genes protect against pulmonary tuberculosis? A systematic review and meta-analysis / A. Oliveira-Cortez, A.C. Melo, V.E. Chaves [et al.] // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 2016. – Vol. 35, N 10. – P. 1567-1580.
22. HLA DRB1 поліморфізм та ризик виникнення ко-інфекції ВІЛ/туберкульоз / Л.П. Шостакович-Корецька, О.О. Волюкова, К.Ю. Литвин [та ін.] // *Медичні перспективи*. – 2017. – Том. XXII, № 3. – С. 81-88.

23. Volikova O.A. Correlation of locus alleles of DRB1 II class of histocompatibility complex with clinical, immunological and virological parameters in HIV infection / O.A. Volikova // *Eur. Sci. Rev.* – 2015. – N 9-10. – P. 48-50.

24. HLA class II involvement in HIV-associated Toxoplasmic encephalitis development / A.H. de Sorrentino, R. López, P. Motta [et al.] // *Clin. Immunology.* – 2005. – Vol. 115, N 2. – P. 133-137.

## References

- Tan, I.L., Smith, B.R., von Geldern, G., Mateen, F.J., & McArthur, J.C. (2012). HIV-associated opportunistic infections of the CNS. *The Lancet Neurology*, 11 (7), 605-617.
- Vallat-Decouvelaere, A.V., Chrétien, F.L., de la Grandmaison, G., Carlier, R., Force, G. & Gray, F. (2003). The neuropathology of HIV infection in the era of highly active antiretroviral therapy. *Annales de Pathologie*, 23(5), 408-423.
- Cohen, B.A. (1999). Neurologic manifestations of toxoplasmosis in AIDS. *Seminars in neurology*, 19(2), 201-211. Thieme Medical Publishers, Inc..
- Camara, V.D., Tavares, W., Ribeiro, M., & Dumas, M. (2003). Neurological manifestations of toxoplasmosis in AIDS. *DST--Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis*, 15(3), 46-50.
- Bolokadze, N., Gabunia, P., Ezugbaia, M., Gatsleria, L., & Khechiashvili, G. (2008). Neurological complications in patients with HIV/AIDS. *Georgian Medical News*, (165), 34-38.
- Nissapatorn, V., Lee, C., Quek, K.F., Leong, C.L., Mahmud, R., & Abdullah, K.A. (2004). Toxoplasmosis in HIV/AIDS patients: a current situation. *Japan. J. Infect. Dis.*, 57(4), 160-165.
- Shostakovych-Koretska, L.R., Lytvyn, K.Yu., Volikova, O.O., Bilokon, O.O., Mishkoi, I.P., Chykarenko, Z.O., ... & Halushchenko, S.A. (2017). Kharakterystyka tserebralnoho toksoplazmozu v patsiiientiv z VIL: retrospektyvnyi analiz 135 vypadkiv u Dnipropetrovskomu rehioniv [Characteristics of cerebral toxoplasmosis in HIV patients: retrospective analysis of 135 cases in Dnepropetrovsk region]. *Visnyk naukovykh doslidzhen – Bulletin of Scientific Researches*, 4, 86-90 [in Ukrainian].
- Shostakovych-Koretska, L.R., Lytvyn, K.Yu., Hubar, I.O., Volikova, O.O., Chykarenko, Z.O., Kushnierova, O.A. & Sheveliova, O.V. (2017). Analiz zmin syrovatkovoho beta-2-mikrohlobulinu ta pokaznykiv hematolohichnoho profilu u patsiiientiv iz VIL-asotsiiiovanyimi nevrolohichnymi zakhvoriuvanniamy [Analysis of changes of serum beta-2-microglobulin and hematological parameters in patients with HIV-associated neurological diseases]. *Visnyk naukovykh doslidzhen – Bulletin of Scientific Researches*, 3, 110-113 [in Ukrainian].
- Matinella, A., Lanzafame, M., Bonometti, M.A., Gajofatto, A., Concia, E., Vento, S., ... & Ferrari, S. (2015). Neurological complications of HIV infection in pre-HAART and HAART era: a retrospective study. *J. Neurology*, 262 (5), 1317-1327.
- Bowen, L.N., Smith, B., Reich, D., Quezado, M., & Nath, A. (2016). HIV-associated opportunistic CNS infections: pathophysiology, diagnosis and treatment. *Nature Rev. Neurology*, 12 (11), 662.
- Park, J.Y., & Kim, M.J. (2014). Immune reconstitution inflammatory syndrome in acquired immune deficiency syndrome related to cryptococcal meningoencephalitis. *Journal of Investigative Medicine High Impact Case Reports*, 2 (2), 2324709614533951.
- Li, W.X., Xia, J.A., Zhou, X., Ma, Y., Shen, G., & Qiu, F.W. (2017). Association of HLA alleles (A, B, DRB1) and HIV-1 infection in the Han population of Hubei, China. *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*, 37(1), 131-139.
- Sundqvist, E., Buck, D., Warnke, C., Albrecht, E., Gieger, C., Khademi, M., ... & Søndergaard, H.B. (2014). JC polyomavirus infection is strongly controlled by human leucocyte antigen class II variants. *PLoS pathogens*, 10(4), e1004084.
- Ferre, A.L., Hunt, P.W., McConnell, D.H., Morris, M.M., Garcia, J.C., Pollard, R.B., ... & Shacklett, B.L. (2010). HIV controllers with HLA-DRB1\*13 and HLA-DQB1\*06 alleles have strong, polyfunctional mucosal CD4+ T-cell responses. *J. Virology*, 84 (21), 11020-11029.
- De Lourdes Veronese Rodrigues, M., De Castro Figueiredo, J.F., Deghaide, N.H.S., Romao, E., De Souza, N.V., & Donadi, E.A. (2003). Frequency of HLA class 1 and 2 alleles in Brazilian patients with AIDS and cytomegalovirus retinitis. *Acta Ophthalmologica*, 81 (5), 514-516.
- Oriol-Tordera, B., Llano, A., Ganoza, C., Cate, S., Hildebrand, W., Sanchez, J., ... & Olvera, A. (2017). Impact of HLA-DRB1 allele polymorphisms on control of HIV infection in a Peruvian HLA cohort. *HLA*, 90 (4), 234-237.
- Ranasinghe, S., Cutler, S., Davis, I., Lu, R., Soghoian, D.Z., Qi, Y., ... & Kuhl, B. (2013). Association of HLA-DRB1-restricted CD4+ T cell responses with HIV immune control. *Nature Medicine*, 19 (7), 930.
- Julg, B., Moodley, E.S., Qi, Y., Ramduth, D., Reddy, S., Mncube, Z., ... & Walker, B.D. (2011). Possession of HLA class II DRB1\*1303 associates with reduced viral loads in chronic HIV-1 clade C and B infection. *J. Infect. Dis.*, 203 (6), 803-809.
- Figueiredo, J.F.D.C., Rodrigues, M.D.L.V., Deghaide, N.H.S., & Donadi, E.A. (2008). HLA profile in patients with AIDS and tuberculosis. *Braz. J. Infect. Dis.*, 12 (4), 278-280.
- Sveinbjornsson, G., Gudbjartsson, D.F., Halldorsson, B.V., Kristinsson, K.G., Gottfredsson, M., Barrett, J.C., ... & Helgadóttir, H.T. (2016). HLA class II sequence variants influence tuberculosis risk in populations of European ancestry. *Nature Genetics*, 48 (3), 318.
- Oliveira-Cortez, A., Melo, A.C., Chaves, V.E., Condino-Neto, A., & Camargos, P. (2016). Do HLA class II genes protect against pulmonary tuberculosis? A systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 35 (10), 1567-1580.
- Shostakovych-Koretska, L.R., Volikova, O.O., Lytvyn, K.Yu., Hubar, I.O., Kushnierova, O.A., & Sheveliova, O.V. (2017). HLA DRB1 polimorfizm ta ryzyk vynyknennia ko-infektsii VIL/tuberkuloz [HLA DRB1 polymorphism and the risk of co-infection with HIV/tuberculosis]. *Medychni perspektyvy – Medical Prospects*, XXII (3), 81-88 [in Ukrainian].
- Volikova, O.A. (2015). Correlation of locus alleles of DRB1 II class of histocompatibility complex with clinical, immunological and virological parameters in HIV infection. *Eur. Sci. Rev.*, (9-10), 48-50.
- De Sorrentino, A.H., López, R., Motta, P., Marinic, K., Sorrentino, A., Iliovich, E., ... & Salomón, H. (2005). HLA class II involvement in HIV-associated Toxoplasmic encephalitis development. *Clin. Immunology*, 115(2), 133-137.

## GENETIC VARIATIONS OF HLA DRB1 ALLELES IN CEREBRAL TOXOPLASMOSIS IN PATIENTS WITH HIV INFECTION

K.Yu. Lytvyn, L.R. Shostakovych-Koretska, O.O. Volikova  
Dnipropetrovsk medical academy

**SUMMARY.** Toxoplasmosis of the central nervous system is one of the most common causes of brain damage in AIDS patients. The polymorphism of the HLA DRB1 loci is associated with protection against HIV-1 and can affect the development of opportunistic diseases.

**The aim of the work** is to study the variations of HLA DRB1 alleles in cerebral toxoplasmosis and compare them with the data of patients with other opportunistic diseases in the 4<sup>th</sup> clinical stage of HIV infection to determine the protective capabilities.

**Patients and methods.** The study involved 70 patients with HIV infection and opportunistic diseases, indicative for 4<sup>th</sup> clinical stage, aged 24 to 61 years, among whom 41 (58.6 %) were males and 29 (41.4 %) females. 66 (94.3 %) patients were discharged from the hospital with improvement, 4 (5.7%) patients died due to the disease.

Patients were divided into two groups: the main group consisted of 23 patients (32.9 %), with brain toxoplasmosis, confirmed by detection of *Toxoplasma gondii* DNA in the cerebral spinal fluid, serological studies and characteristic features in a series of tomograms, and in dead patients, studies of autopsy material of brain tissue. The comparison group included 47 patients (67.1 %) who had other opportunistic diseases.

The DRB1 alleles genotyping was performed by PCR variant of Sequence Specific Primers (PCR-SSP). The study was carried out by sets of «HLA-DNA-TECH» for the typing of the genes DRB1 produced by «DNA-Technology» (Russia).

The statistical processing of the study results was conducted using STATISTICA v.6.1® application package.

**Results.** The analysis of variations of alleles of the DRB1 locus of the HLA class II system in 70 patients with the 4<sup>th</sup> clinical stage of HIV infection showed that in most cases allele loci DRB1\*01 (21.4 %), DRB1\*04 (18.6 %), DRB1\*07 (25.7 %), DRB1\*11 (35.7 %), DRB1\*13 (18.6 %), DRB1\*15 (17.1 %), DRB1\*16 (21.4 %) were detected. The alleles DRB1\*02, DRB1\*05, DRB1\*06, DRB1\*09, DRB1\*18 were not detected in any case.

There was the tendency determined of increased number of carriers of DRB1\*01 (30.4 %), DRB1\*15 (26.1 %), DRB1\*16 (30.4 %) alleles within the patients with toxoplasmosis in comparison to other opportunistic dis-

eases – 17.0 %, 12.8 % and 17.0 %, respectively. At larger groups of observation the difference between these indicators can reach a critical level of statistical significance ( $p < 0.05$ ) for prediction of cerebral toxoplasmosis development. At the same time, the risk of toxoplasmosis development among HIV-positive patients with DRB1\*13 alleles was significantly lower than in other diseases ( $r_s = -0.26$ ;  $p < 0.05$ ). Thus, the allele of the DRB1\*13 gene was found in 1 (4.3 %) of the patient with toxoplasmic infection and in 12 (25.5 %) patients with opportunistic diseases of another etiology ( $p = 0.048$  FET), indicating a possible protective effect of the identified alleles.

The performed analysis of variations of the DRB1 alleles of the HLA class II system with toxoplasmosis separately, depending of sex, showed the presence of probable associations with toxoplasmosis in females, carriers of alleles of the DRB1\*16 gene (46.2 %;  $p < 0.01$ ), while in males this variant was more often associated with opportunistic diseases of another etiology (25.8 % vs. 10.0 %;  $p > 0.05$ ). The opposite tendencies were established for DRB1\*04 alleles: they were found only in female patients without toxoplasmic infection (31.3 %;  $p < 0.05$ ); in males, on the contrary, DRB1\*04 allelic carriers were more commonly seen in patients with toxoplasmosis (30.0 % vs. 16.1 %;  $p > 0.05$ ).

**Conclusions.** Expression of the HLA-DRB1 variant has definitive connection to sex, influences progression of HIV and development of toxoplasmosis. The tendency to increase of DRB1\*01 (30.4 %), DRB1\*15 (26.1 %), DRB1\*16 (30.4 %) alleles carriers among patients with toxoplasmosis suggests increased susceptibility to toxoplasmosis and the need to intensification of prophylaxis activities in this group. The lower risk of toxoplasmosis development among HIV-positive patients with DRB1\*13 alleles than of other diseases ( $r_s = -0.26$ ;  $p < 0.05$ ) indicates the protective effect of this genetic variant regarding toxoplasmosis.

**Key words:** HIV infection, opportunistic diseases; cerebral toxoplasmosis; HLA DRB1 alleles.

### Відомості про авторів:

Литвин Катерина Юріївна – доцент, к. мед. н., доцент кафедри інфекційних хвороб ДЗ «ДМА МОЗ України»; k-lytvyn@ukr.net

Шостакович-Корецька Людмила Романівна – професор, д. мед. н., завідувач кафедри інфекційних хвороб ДЗ «ДМА МОЗ України»; shost3@gmail.com

Волікова Ольга Олександрівна – асистент кафедри інфекційних хвороб ДЗ «ДМА МОЗ України»; ovolja@ukr.net

**Information about authors:**

Lytvyn K. – Associate Professor, PhD, Associate Professor of the Department of Infectious Diseases of Dnipropetrovsk Medical Academy; k-lytvyn@ukr.net

Shostakovich-Koretska L. – Professor, MD, Head of the Department of Infectious Diseases of Dnipropetrovsk Medical Academy; shost3@gmail.com

Volikova O. – Assistant of the Department of Infectious Diseases of Dnipropetrovsk Medical Academy; ovolja@ukr.net

Конфлікт інтересів: немає.

Authors have no conflict of interest to declare.

Отримано 14.03.2018 р.