

СИСТЕМА ШАПЕРОНІВ ПРИ ХЛАМІДІЙНІЙ ІНФЕКЦІЇ

ГАЙДУЧОК І. І.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького.

Все більше останнім часом привертає особливу увагу медиків всіх країн хламідійна інфекція, яка дуже широко поширена в усьому світі і важко діагностується. Уретральний і респіраторний хламідіози, збудниками яких є *C. trachomatis* та *C. pneumoniae* значно розповсюджені у природі і тому залишаються актуальними у медичній практиці. Поруч із щорічним ростом кількості хворих, ці інфекції характеризуються високою частотою несприятливого перебігу, в тому числі розвитком хронічних форм. Медико-соціальні аспекти хламідіозів визначаються не лише фізичними стражданнями хворого, але й серйозними наслідками хвороби: непліддям, викиднями, важкими захворюваннями новонароджених, зумовленими *C. trachomatis*, розвитком атипової пневмонії, бронхіту, бронхіальної астми і серцево-судинних захворювань, зумовленими *C. pneumoniae* [1].

У світі щороку реєструється 89 мільйонів нових випадків хламідіозу. Інфікування *C. trachomatis* на сьогодні є найчастішим серед інфекцій, що передаються статевим шляхом, і вражає чоловіків та жінок активного фертильного віку від 20 до 40 років. В промислово розвинутих країнах 30% населення протягом свого життя 2-3 рази інфікується цим збудником. У Німеччині щороку реєструється близько 1 млн., а в США – 4 млн. осіб, інфікованих хламідіями [2].

Хламідіоз – типовий приклад так званої «повільної бактеріальної інфекції» основні ознаки якої визначили V. Blaser і J. Parsonnet у 1994р. «Повільні» бактерії можуть персистувати в організмі господаря десятиліттями, зберігаючи патогенні властивості. Однак, хламідії не просто існують в організмі. Вони включають складний каскад запальних та імунних реакцій, які обумовлюють постійне прогресування патологічних процесів в уражених органах [3].

Одна з основних причин хронічної персистенції хламідійної інфекції є порушення імунного нагляду над нею [4]. Не остання роль у цих процесах належить дисбалансу системи шаперонів. Це білки теплового шоку, які присутні в клітинах абсолютно всіх організмів і утворюються в екстремальних умовах. Основною функцією шаперонів є підтримання в робочому стані клітин та запобігання їх апоптозу [5]. Ключова роль в патогенезі персистуючого хламідіозу належить білку теплового шоку cHSP 60. Даний білок відіграє важливу роль в імунопатогенезі персистую-

ючої інфекції і підтриманні постійної запальної реакції: веде до антигенного перевантаження організму і запуску вторинної гуморальної відповіді з гіперпродукцією Ig G та Ig A; до активації реакції гіперчутливості сповільненого типу; до стимуляції запуску аутоімунної перехресної відповіді, оскільки має високу ступінь ідентичності амінокислотної послідовності такого ж білку мембрани клітини людини [6]. Персистенція інфекції є відхиленням від нормального циклу розвитку і визначає тривалу взаємодію хламідій з клітиною-господарем. Хламідії залишаються життєздатними, але типовий цикл розвитку переривається, зменшується їх метаболічна активність, що впливає на біохімічні і антигенні властивості персистуючого інфекту, роблячи їх менш чутливими до впливу захисних факторів організму і антибіотиків. Особливості персистентних форм полягають в тому, що вони не розмножуються, не виробляють полісахариди і основний білок зовнішньої мембрани (LPS і MOMP), а отже не розпізнаються за допомогою методів, які засновані на виявленні цих антигенів або антитіл до них. Однак персистентні форми активно нарабляють білок HSP-60.

Участь cHSP60 *C. trachomatis* в імунопатогенезі трахоми, запалення тазових органів і трубного безпліддя є відома [7]. Роль cHSP60 в патогенезі хронічних захворювань легень викликаних *C. pneumoniae* доводять дослідження, що показують наявність анти-cHSP60 антитіла (АТ) у дорослих пацієнтів з астмою, у яких з'явилися симптоми затяжного захворювання бронхів після гострого респіраторного захворювання [8].

Останні дослідження показують, що cHSP60 бере участь у патогенезі хронічних запальних захворювань, таких як атеросклероз, астма і артрит [9,10,11]. Існує кореляція між продукцією cHSP60 антитіл в хламідіоз-інфікованих пацієнтів і розвитком несприятливих наслідків захворювання [12]. Ці спостереження здаються універсальними для усіх видів *Chlamydia* і говорять про те, що високий рівень cHSP60 при хламідійній інфекції може вказувати на ознаки розвитку аутоімунного процесу.

Метою даного дослідження було вивчення гуморальних неспецифічних факторів MOMP, HSP-60, а також аутоімунного компоненту в її розвитку [13] у хворих на персистуючий хламідіоз в стадії загострення в залежності від віку, статі та з проявами імунодефіциту.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У Львівському регіональному медичному центрі клінічної імунології та алергології, а також у Львівській обласній клінічній лікарні на базі ревматологічного відділення: було обстежено 150 хворих на хламідійну інфекцію, з них 82 жінки та 68 чоловіків у віці 18 – 50 років. Діагноз хламідійної інфекції виставлявся на основі міжнародних критеріїв діагностики урогенітальних хламідіозів, офтальмологічних хламідіозів, реактивних артритів хламідійного генезу, хламідійних бронхітів, бронхіальної астми, неревматичних вад серця та хвороби Рейтера хламідійного генезу. Серед них 39 хворих мали прояви імунодефіциту згідно протоколу ВООЗ (1998). Клінічними ознаками імунодефіциту були часті рецидиви інфекції (більше 4 разів на рік), атипичний перебіг, неефективність етіотропної антибактеріальної терапії, навіть при застосуванні комбінованих та супресивних схем, стійке порушення функції органа-мішені, тривалий субфібрилітет, синдром хронічної втоми, змішані опортуністичні інфекції (грибові, герпетичні).

Урогенітальний хламідіоз був верифікований у 56 хворих на хламідійну інфекцію, а з проявами імунодефіциту – 14 хворих з цієї групи. Реактивний артрит хламідійного генезу був встановлений у 46 хворих з них 8 мали ознаки імунодефіциту. У 11 хворих був встановлений кератокон'юктивіт хламідійного генезу. Пневмонія, бронхіт, бронхіальна астма хламідійного генезу були діагностовані у 14-ти хворих 6 з яких були з проявами імунодефіциту. Неревматичні вади серця хламідійного генезу були встановлені у 12-ти хворих. Хвороба Рейтера була діагностована у 11-ти хворих. При обстеженні хворих на хламідійну інфекцію враховувались у них формування імунокомплексного синдрому, що могло в подальшому впливати на розвиток аутоімунних ускладнень. Їх обстеження проводилося з урахуванням циркадного та сезонних ритмів. Контрольну групу складали – 31 практично здорових людей у віці 18-ти - 40-ка років, 16 жінок і 15 чоловіків.

В досліджуваній роботі були виділені наступні групи хворі на хламідійну інфекцію 150 чоловік, серед них жінки (82) та чоловіки (68) у віці до 35-ти років - 57, 35 і більше років – 93 обстежених, з гіперімунокомплексним синдромом – 55, без нього – 95, з проявами імунодефіциту – 39, з хворобою Рейтера – 11.

Визначення теплового шокowego протеїну – 60 та основного мембранного білка хламідій в сироватці крові проводили за допомогою методу імуноферментного аналізу згідно методичних рекомендацій, що додаються до стандартного набору реактивів „HSP-60-ІФА-БЕСТ”, “MOMP-ІФА-БЕСТ” („Вектор Бест”, Росія).

Матеріалом дослідження слугувала сироватка крові хворих. На першій стадії аналізу досліджувані та контрольні зразки інкубувались в лунках з імобілізованими антитілами. Цими протеїнами, що містяться в зразках, зв'язували з імобілізованими відповідними антитілами. Незв'язаний матеріал видаляли відмивкою. Зв'язані протеїни взаємодіяли при інкубації з кон'югатом №1 (антитіла доHSP-60 та MOMP людини з біотином). Незв'язаний кон'югат №1 видаляли відмиванням. На третій стадії зв'язаний кон'югат №1 взаємодіяв при інкубації з кон'югатом №2 (стрептавідин з пероксидазою хрому). Після третього відмивання кількість зв'язаного кон'югату №2 визначали кольоровою реакцією з використанням субстрату пероксидази хрому – перекису водню і хромогену – тетраметилбензедину. Реакцію зупиняли додаванням розчину сірчаної кислоти і вимірювали оптичну щільність розчину в лунках при довжині хвилі 450 нм. Вимірювання проводили через 10-15 хвилин після зупинки реакції. Інтенсивність жовтого забарвлення була пропорційна кількості вмісту в зразках протеїнів. Для визначення концентрації HSP-60 та MOMP в досліджуваних пробах будували калібровану криву в координатах: вісь абсцис – концентрація HSP-60 та MOMP (пг/мл); вісь ординат – значення оптичної щільності зразків.

Для цього значення оптичної щільності, що відповідає концентрації HSP-60 та MOMP в кожному стандартному розчині, відкладали на міліметровому папері. По отриманих крапках проводили калібровану криву. Для визначення концентрації цих протеїнів в досліджуваних зразках на осі ординат відмічали значення оптичної щільності досліджуваних зразків. Проводили пряму до перехресту з калібною кривою, від місця пересікання опускали перпендикуляр на вісь абсцис. Місце перехресту було значенням концентрації HSP-60 та MOMP (Руденко А. В., Кругликов В. Т., 1999).

Статистична обробка результатів: Результати дослідження обробляли із застосуванням персонального комп'ютера за допомогою статистичного пакету прикладних програм Statistica 6.0 for Windows. Обчислення основних статистичних показників проводили за безпосередніми кількісними даними, отриманими внаслідок досліджень (середнє арифметичне значення – M ; стандартна похибка середнього арифметичного – m). Для оцінки достовірності відмінностей виборок вдавалися до непараметричного методу за критерієм Wilcoxon. Вірогідними вважали відмінності, в яких імовірність статистичної похибки – $P < 0,05$ Для оцінки достовірності відмінностей відсоткових показників використовували метод Пірсона. (Гланц С., 1999; Ремезов А. П. и соавт., 2005)

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ОБГОВОРЕННЯ

На рисунку 1 вказані зміни рівнів гуморальних маркерів хламідійної інфекції у хворих на хламідійну інфекцію в залежності від віку, з проявами гіперімунокомплексемії, з проявами імунодефіциту та практично здорових осіб. Як видно з діаграм синтез основного мембранного хламідійного протеїну ($P < 0.02$), а також гарячого шокowego протеїну ($P < 0.001$) були значно вищими у порівнянні зі здоровими обстеженими. А у хворих на хламідійну інфекцію у віці 35 і більше років продукція гарячого шокowego протеїну 60 була більш інтенсивна - 1.21 ± 0.24 у порівнянні з хворими у віці до 35-ти років, у яких рівень HSP-60 становив 0.83 ± 0.19 ($P < 0.05$). При дослідженні у хворих на хламідійну інфекцію рівень MOMP та HSP-60 суттєво не відрізнявся в залежності від статі.

Нами був проведений аналіз неспецифічних гуморальних показників імунної системи у хворих на хламідіоз з гіперімунокомплексемією та без неї. Результати представлені на рис. 1 показують, що у хворих на хламідіоз з гіперімунокомплексемією спостерігались вищі рівні фактору MOMP - 1.76 ± 0.11 у порівнянні з хворими без цього синдрому - 1.50 ± 0.09 ($P < 0.05$), а також ранього фактору автоагресії HSP-60 - 0.95 ± 0.45 в порівнянні з відповідним показником групи хворих на хламідіоз без гіперімунокомплексемії - 0.70 ± 0.08 ($P < 0.01$)

Особливо цікавим виявилось порівняння неспецифічних гуморальних показників імунної системи у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту. Аналіз показав, що хворі на хламідіоз з проявами імунодефіциту мають вищий HSP-60 - 1.17 ± 0.22 пг/мл ($P < 0.001$) в порівнянні з відповідними показниками групи хворих на хламідіоз. А у хворих чоловіків на хламідіоз з проявами імунодефіциту спостерігались вищий рівень фактору HSP-60 в крові - 1.61 ± 0.34 у порівнянні з жінками - 0.96 ± 0.36 ($P < 0.01$).

Нами було проведено порівняння рівнів деяких гуморальних маркерів хламідійної інфекції в хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту та хворобу Рейтера. Встановлено, що рівні MOMP та HSP-60 у хворих з хворобою Рейтера є суттєво вищі у порівнянні із здоровими, проте не відрізняються від показників даних маркерів з хламідійною інфекцією з проявами імунодефіциту.

Таким чином, проведені імунологічні дослідження неспецифічних маркерів гуморальної ланки імунної системи у хворих на хламідійну інфекцію. У хворих на хламідійну інфекцію рівень MOMP та HSP-60 суттєво вищий у порівнянні із здоровими. Активация HSP-60 є вірогідно вищою у хворих на хламідіоз у віці >35 років. Про те, що ці маркери є основними ефек-

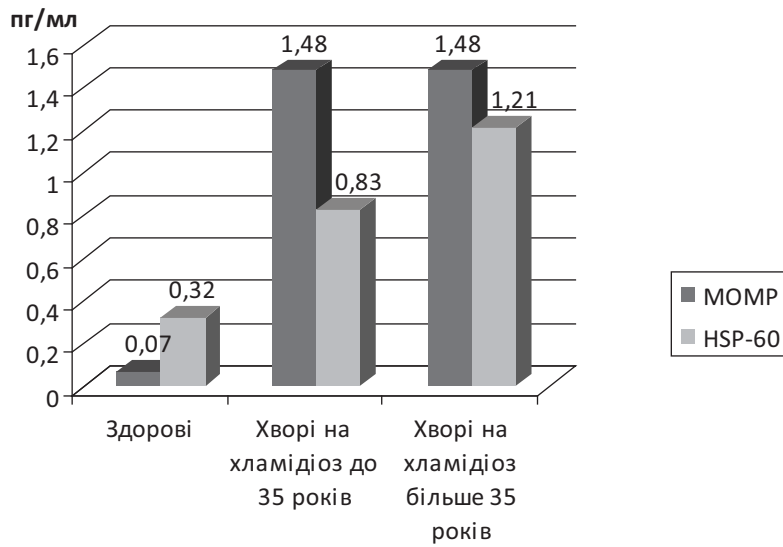
торними антигенами хламідій підтверджують дані літератури [8, 12, 14]. Останні дослідження вказують на те, що HSP-60 C. pneumoniae через Toll-подібний рецептор 4 безпосередньо сприяє розвитку запалення легень [12]. Хворі на хламідіоз з проявами імунодефіциту мають більш активно виражену активацію цих маркерів автоагресії. При імунодефіциті частіше спостерігається персистенція хламідійної інфекції, при якій відбувається підвищена продукція cHSP-60, що зумовлює розвиток стійких змін імунної відповіді з формуванням імунопатологічних механізмів автоагресії на тлі хламідіозу. [15, 16]. При чому в хворих чоловіків на хламідіоз з проявами імунодефіциту спостерігались вищий рівень фактору HSP-60 у порівнянні з жінками, що свідчить про більш виражену автоімунну схильність чоловіків за умов тяжкого розвитку хламідійної інфекції.

Підвищений рівень MOMP та HSP-60 відмічається у хворих на хламідіоз з гіперімунокомплексним синдромом. У зв'язку з тим, що основним механізмом розвитку хронічного хламідіозу є гіперімунокомплексний синдром, найчастішими ускладненнями хронічної хламідійної інфекції є автоімунні прояви з гіперімунокомплексними ускладненнями: артрити, васкуліти тощо [17].

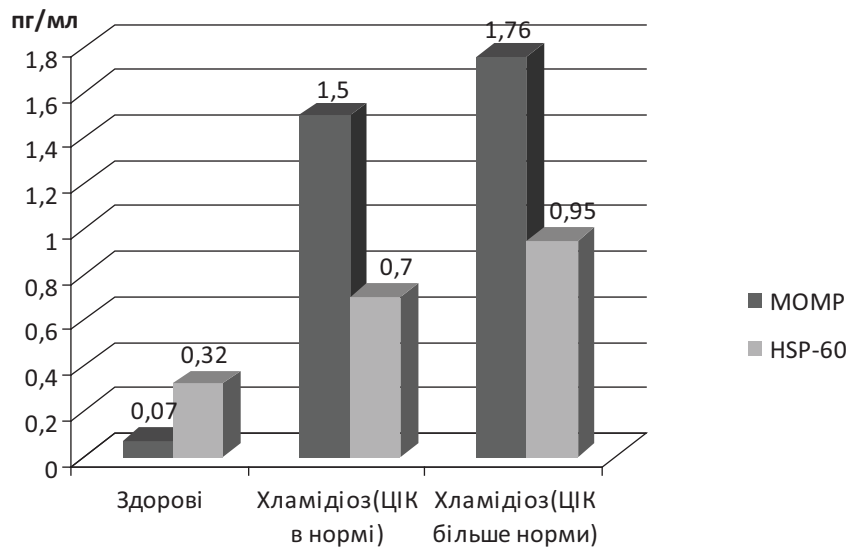
Неспецифічний предиктор HSP 60 – автоімунного синдрому є особливо підвищеним у хворих на хворобу Рейтера. Ці дані підтверджуються дослідженнями, у яких у сироватці крові 75% пацієнтів із ReA хламідійної етіології було виявлено антитіла до білків теплового шоку (HSP) на відміну від 7% пацієнтів з неускладненим уретритом [18]. У той же час хворі на хворобу Рейтера і хворі на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту практично не відрізнялись один від одного за досліджуваними показниками.

ВИСНОВКИ

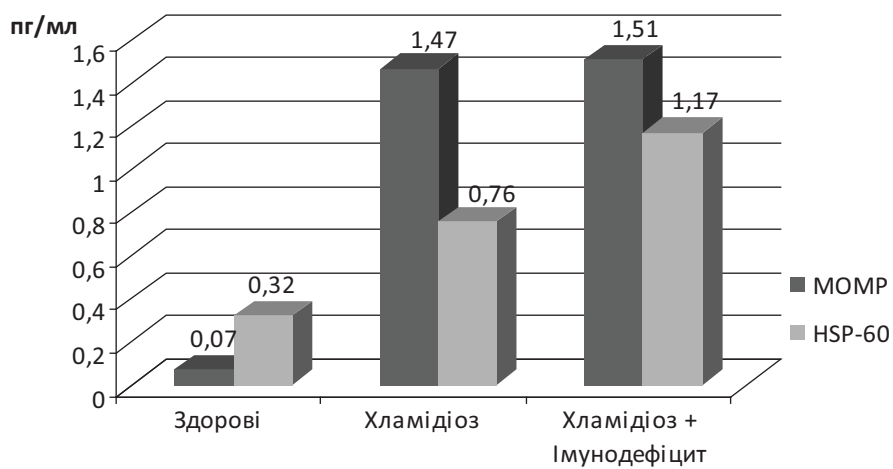
1. Активация чутливих маркерів хламідійної інфекції MOMP та HSP-60 в порівнянні із здоровими є вірогідно вищою в хворих на хламідіоз і більш вираженою у віці >35 років.
2. Підвищений рівень MOMP та HSP-60 відмічається у хворих на хламідіоз з гіперімунокомплексним синдромом, що підтверджує прояви автоагресії на тлі хламідіозу.
3. Імунодефіцитні порушення у хворих на хламідійну інфекцію проявляються більш значним підвищенням рівня неспецифічних гуморальних маркерів даної інфекції MOMP та HSP-60 і особливо у чоловіків. Неспецифічний предиктор HSP 60 – автоімунного синдрому є особливо підвищеним у хворих на хворобу Рейтера.



Зміни MOMP і HSP 60 у здорових та хворих на хламідіоз.



Гіперімунокомплексний синдром.



Імунодефіцитні порушення.

Рис. 1. Рівні показників MOMP і HSP 60 у здорових осіб та осіб хворих на хламідійну інфекцію.

ЛІТЕРАТУРА

1. Лобзин Ю.В., Ляшенко Ю.И., Позняк А.Л. Хламидийные инфекции. - Санкт-Петербург, 2000.- 280 с.
2. Мавров І.І. Соціальні та медичні аспекти хламідійної інфекції // Інфекційні хвороби. – 2004. - №2. – С.5-11.
3. Ілюк Т.А. Особливості імунно-ендокринного гомеостазу та мікробіоценозу у жінок репродуктивного віку з хронічною трихомонадно-хламідійною інфекцією: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – К., 2003. – 16 с.
4. Москаленко Д.А. Новые подходы к лечению урогенитальной хламидийной инфекции // Здоров'я України. – 2004. - №8(93). – С.19-25.
5. Чоп'як В.В.,Потьомкіна Г.О.,Гаврилюк А.М.Лекції з клінічної імунології для практичних лікарів.-Львів,2010.-С.31-32.
6. Юлиш Е.И.,Волосовец А.П.,Абатуров А.Е. Хламидиоз у дітей.-Донецк-Киев-Днепропетровск.2009.-С.19
7. Toyе, В., С. Laferrie, P. Claman, P. Jessamine, and R. Peeling. 1993. Association between antibody to the chlamydial heat shock protein and tubal infertility. J. Infect. Dis. 168:1236-1240.
8. Hahn, D. L., R. W. Peeling, E. Dillon, R. McDonald, and P. Saikku. 2000. Serologic markers for Chlamydia pneumoniae in asthma. Ann. Allergy Asthma Immunol. 84:227-233.
9. Huittinen, T., D. Hahn, T. Anttila, E. Wahlstrom, P. Saikku, and M. Leinonen. 2001. Host immune response to Chlamydia pneumoniae heat shock protein 60 is associated with asthma. Eur. Respir. J. 17:1078-1082.
10. Morrison, R. P. 1998. Persistent Chlamydia trachomatis infection: in vitro phenomenon or in vivo trigger of reactive arthritis? J. Rheumatol. 25:610-612.
11. Herten, L. C. 2002. Role of persistent infection in the control and severity of asthma: focus on Chlamydia pneumoniae. Eur. Respir. J. 19:546-556
12. Yonca Bulut,1† Kenichi Shimada,2† Michelle H. Wong Chlamydial heat shock protein 60 induces acute pulmonary inflammation in mice via the Toll-like receptor 4- and MyD88 dependent pathway. Infect Immun. 2009 July; 77(7): 2683–2690
13. Ремезов А.П., Неверов В.А., Семенов Н.В. Хламидийные инфекции (клиника, диагностика, лечение). – Санкт-Петербург: Интерпресс, 2005. – 143с.
14. Jha HC, Srivastava P, Vardhan H, Singh LC, Bhengraj AR, Prasad J, Mittal A Chlamydia pneumoniae heat shock protein 60 is associated with apoptotic signaling pathway in human atheromatous plaques of coronary artery disease patients. 2011 Nov;58(3):216-25. Epub 2011 Sep 1
15. Cohen, C. R., and R. C. Brunham. 1999. Pathogenesis of Chlamydia induced pelvic inflammatory disease. Sex. Transm. Infect. 75:21-24.
16. Базарный В.В., Левчик Н.К., Белых О.А. Особенности клеточного иммунитета больных урогенитальным хламидиозом в зависимости от уровня поражения половых путей // Иммунология. – 2001. - №3. – С.45-46.
17. Чокіна О.М. Порівняльна характеристика ефективності деяких методів діагностики та лікування урогенітальної хламідійної інфекції: Дис. канд. мед. наук / Одес. держ. мед. універ. – 2001. – 128 с.
18. Джус М.Б.Реактивный артрит //Терапія. – 2010. - №12.

РЕЗЮМЕ

СИСТЕМА ШАПЕРОНОВ ПРИ ХЛАМИДИЙНОЇ ІНФЕКЦІЇ

Гайдучок І.І.

Львовский национальный медицинский университет им.Данила Галицкого

Представлены данные иммунологических исследований неспецифических маркеров гуморального звена иммунной системы у больных хламидийной инфекцией. Установлено, что уровень MOMP и HSP-60 по сравнению со здоровыми достоверно выше у больных хламидиозом. Причем у больных с хламидийной инфекцией в сочетании с гипериммунокомплексемией наблюдается увеличение уровня данных показателей. Иммунодефицитные нарушения у больных хламидийной инфекцией проявляются более значным повышением уровня неспецифических гуморальных маркеров данной инфекции MOMP и HSP-60, особенно у мужчин.

SUMMARY

THE SYSTEM OF CHAPERONES DURING CHLAMYDIAL INFECTION

Haiduchok I.I.

Danylo Halytsky Lviv national medical university.

Immunologic research of nonspecific markers of immune system humoral elements of the patients with chlamydial infection is presented. It is determined that the level of MOMP and HSP-60 in those suffering from chlamydial infection is likely to be higher than that of the healthy persons. Besides, increase of this data level is observed in the patients with chlamydial infection in combination with hyperimmunocomplexemia. Immunodeficient disorders in the patients with chlamydial infection are characterized by the increase of the level of nonspecific humoral markers MOMP and HSP-60 of this infection particularly with males.