УДК 616.2–002.5–053.2:612.6.05

ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ХАРАКТЕР СПЕЦИФИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ПРИ ПРОГРЕССИРОВАНИИ ЛАТЕНТНОЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ

Ставицкая Н. В. [1], Дорошенкова А. Е. [1], Тхакушинова Н. Х. [2], Молчанова Н. В. [3]

[1]ГОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет», г. Краснодар, stavitskaya@mail.ru

[2]ГУЗ «Специализированная клиническая детская инфекционная больница», г. Краснодар

[3]ГУЗ «Краевой клинический противотуберкулезный диспансер», г. Краснодар

Для определения взаимосвязи между характером возникшего специфического процесса и комплексом генетических факторов устойчивости/предрасположенности было проведено генотипирование локуса DRB1 HLA и локуса INT4 NRAMP1 у детей, больных различными формами туберкулеза. Установлено, что прогрессирование возникшей инфекции M. tuberculosis в значительной степени обусловливается наследуемыми факторами предрасположенности к туберкулезу. Наиболее неблагоприятным является сочетание варианта G/G в локусе INT4 гена NRAMP1 и аллельных специфичностей *04 и *16 в локусе DRB1 гена HLA.

Ключевые слова: генетика, дети, туберкулез.

GENETIC FACTORS IN SPECIFIC PROCESS OF THE GROWTH OF THE LATENT TUBERCULOSIS INFECTION IN CHILDREN

Stavitskaya N. V. [1], Doroshenkova A. Ye. [1], Thachushinova N. Ch. [2], Molchanova N. V. [3]

[1]Kuban State Medical University, Krasnodar, stavitskaya@mail.ru

[2]Special clinical children infection hospital, Krasnodar

[3]Territorial clinical TBC hospital, Krasnodar

To determine interconnections between the features of the specific process and the complex of genetic factors of durability/predisposition. We had genotyped locus DRB1 HLA and locus INT4 NRAMP1 in children with different TBC forms. It was estimated that the growth of the M. tuberculosis infection is mainly due to genetic factors of predisposition. The combination of G/G variant in locus INT4 of the NRAMP1 gene and allele specific *04 and *16 in locus DRB1 gene HLA are assessed as the most unfavorable.

Keywords: genetics, children, tuberculosis, HLA DRB1, NRAMP1 INT4.

В настоящее время не вызывает сомнений, что развитие инфекционного процесса определяется не только свойствами возбудителя (вирулентность, контагиозность, лекарственная устойчивость и др.), но и индивидуальными особенностями макроорганизма, которые являются отражением его генетической структуры [3].

Имеются некоторые данные и о том, что предрасположенность к туберкулезу, так же, как и клиническое течение заболевания, обусловливается генетическими факторами [1, 2].

Цель исследования

Определение взаимосвязи между характером возникшего специфического процесса и комплексом генетических факторов устойчивости/предрасположенности к заболеванию у детей, больных туберкулезом в Краснодарском крае.

Материалы и методы

Под наблюдением находились дети славянской национальности, больные различными формами туберкулеза органов дыхания — 129 человек в возрасте от 3 до 16 лет. У всех детей проводили общепринятый комплекс клинико-лабораторного обследования с применением обязательных, дополнительных и факультативных методов исследования. В каждом случае обращали внимание на возможный контакт с больными туберкулезом. С целью формирования группы контроля для молекулярно-генетических исследований проведена случайная выборка из новорожденных популяции славянской национальности. Отобрано 109 здоровых новорожденных детей при отсутствии у родителей рентгенологических признаков локального туберкулеза органов дыхания.

Генотипирование локуса DRB1 HLA и локуса INT4 NRAMP1 проводили по методике C. Søborg et al. (2002).

Результаты и их обсуждение

Исследования показали, что генетическая предрасположенность к туберкулезу у детей славянской национальности Краснодарского края связана с аллелями *04 и *16, генетическая устойчивость — с аллелями *03, *11, *12 системы HLA локуса DR B1. Установлено также, что для больных больше характерен наследственный фактор парности двух аллелей DRB1 *04/*04, *16/*16, *04/*16 с маркерным признаком предрасположенности к заболеванию, тогда как у здоровых новорожденных детей из популяции подобные наследственные компоненты вообще не обнаружены.

Изучение наиболее часто встречаемых генотипов NRAMP1 — в интроне 4 (INT4) — C/C, C/G и G/G показало, что среди здоровых детей встречается генотип C/G на 14,8% (55,9 против 41,1%, $p<0,05$) чаще по сравнению с больными, в то же время гомозиготный генотип C /C у детей с локальным туберкулезом не был обнаружен вовсе, а в группе здоровых он встретился в 10,2% случаев. Гомозиготный генотип G/G чаще (на 25,0%) обнаруживается у больных детей по сравнению со здоровыми, при этом различие достоверно ($p<0,05$).

Клинические формы туберкулеза в сопоставлении с полиморфизмами гена NRAMP1 и гена HLA DRB1 представлены в таблице.

Классический первичный туберкулезный комплекс наблюдался у 8 больных, туберкулез внутригрудных лимфатических узлов — у 5. При этом основным методом диагностики локального туберкулеза толь-

Клинические формы локального туберкулеза органов дыхания у детей в сопоставлении со специфичностями гена HLA локуса DRB1 и вариантами гена NRAMP1 локуса INT4

Клинические формы туберкулеза	Генотипы NRAMP1 локуса INT4			
	C/G		G/G	
	Аллельная сочетаемость гена HLA DRB1 (генетические признаки)	Число детей	Аллельная сочетаемость гена HLA DRB1 (генетические признаки)	Число детей
ТВГЛУ	нейтр./нейтр.	5	-	-
Первичный туберкулезный комплекс	нейтр./нейтр.	5	уст./уст.	1
			уст./предр.	2
Очаговый	уст./нейтр.	5	уст./нейтр.	4
Туберкулема	-	-	уст./уст.	1
			уст./нейтр.	2
Инфильтративный CV+, МБТ+ Осложнения: бронхонодозный свищ-1, плеврит-1, КП-2	предр./предр.	6	нейтр./нейтр.	12
			предр./предр.	6
	предр./нейтр.	6	предр./нейтр.	15
	нейтр./нейтр.	5		
Инфильтративный CV-, МБТ —	нейтр./нейтр.	4	нейтр./нейтр.	4
	предр./предр.	4		
Диссеминированный CV-, МБТ —	уст./предр.	3	предр./предр.	6
	предр./нейтр	2	предр./нейтр.	5
Диссеминированный CV+, МБТ+ Осложнения: плеврит	предр./нейтр.	4	предр./предр.	7
	нейтр./нейтр.	4	нейтр./нейтр.	11

ко у 4 детей можно считать кожный туберкулиновый тест, поскольку у 3 при постановке плановой пробы Манту с 2 ТЕ ППД-Л отмечены высокие туберкулиновые реакции (инфильтрат 15–16 мм в диаметре), у 1 — при инфильтрате диаметром 11 мм наблюдался выраженный лимфангоит и кубитальный лимфаденит, что явилось показанием к рентгенотомографическому обследованию. Первичный туберкулезный комплекс у 5 детей диагностирован по обращаемости, однако ретроспективная оценка туберкулиновой реакции характеризовалась как нарастающая, но в пределах менее 6 мм в диаметре. У 4 детей при отсутствии выраженных симптомов туберкулезной интоксикации патология в легких диагностирована при проведении рентгенологического обследования — планового у 2 из IV группы ДН, у 2 — при поступлении в другое учебное заведение. Рентгенологически определялось поражение бронхопульмональной группы.

Анализ генетических признаков у детей с первичным туберкулезом, присущих, по нашим данным, определенной сочетаемости гена HLA DRB1, показал, что у носителей вариантов C/G и G/G гена NRAMP1 в локусе INT4 ограниченная форма процесса — туберкулез внутригрудных лимфатических узлов диагностирован у 5 (9,4%) детей

только с генотипом C/G. При этом во всех случаях наследственной компонентой гена HLA оказалось сочетание аллелей с признаком нейтральности.

Первичный туберкулезный комплекс также развился у 5 (9,4%) детей с вариантом C/G гена NRAMP1 и генотипом HLA DRB1 локуса, состоящим из аллелей с признаком нейтральности. У 3 больных с первичным туберкулезным комплексом при генотипировании обнаружен вариант G/G гена NRAMP1, а в генотипе HLA DRB1 у 1 из них — сочетание двух аллелей устойчивости, у 2 — сочетание аллели устойчивости с аллелью предрасположенности.

Таким образом, представляется очевидным, что ограниченные, неосложненные локальные формы первичного туберкулеза развились у детей с генотипом C/G в локусе INT 4 гена NRAMP1 при условии отсутствия в главном комплексе гистосовместимости HLA локуса DRB1 аллельной специфичности с генетическим признаком устойчивости. У детей с генотипом G/G гена NRAMP1, напротив, в системе HLA во всех случаях обнаружены аллели устойчивости, которые в условиях неконтролируемой этим вариантом репликации микобактерий туберкулеза, видимо, не способствовали развитию адекватного протективного иммунитета.

В целом представленное сочетание специфичностей генов-кандидатов у наблюдаемых детей с первичным туберкулезом и обусловило подострое, с маловыраженной клинической картиной течение туберкулеза.

Очаговая форма как малый специфический процесс у всех больных выявлен при рентгенологическом обследовании: у 3 — при переходе в другое учебное заведение, у 2 — при изменении туберкулиновой чувствительности, у 4 — при плановом обследовании по контакту. Следовательно, внешние специфические факторы (контакт с больным туберкулезом) установлены у 4 пациентов. Семиотика туберкулеза была слабо выраженной, характеризовалась в основном нарушением аппетита и повышенной утомляемостью. Результаты генотипирования: у 5 больных обнаружен генотип C/G, у 4 — генотип G/G гена NRAMP1. У всех 9 больных очаговый туберкулез развился в условиях наличия HLA генотипов, в которых представлены аллели устойчивости и нейтральности.

Туберкулему у 3 больных можно рассматривать как впервые выявленную в сформированном виде. Инфицированность у всех пациентов была зарегистрирована 3–5 лет назад. Контакт с больным туберкулезом (отчимом) отмечен у 1 больной, у остальных указания на контакт отсутствовали. Клинические проявления на период обследования не регистрировались. Результаты генотипирования: у всех больных обнаружен генотип G/G гена NRAMP1, а в локусе HLA DRB1 — у 1 одного больного сочетание двух аллелей устойчивости, у 2 больных — сочетание аллели устойчивости с аллелью нейтральности.

Наиболее показателен анализ генетических факторов при более распространенных и активных формах вторичного туберкулеза у детей — инфильтративном и диссеминированном.

Для многофакторного анализа мы объединили инфильтративный и диссеминированный туберкулез, поскольку эти процессы диагностировались по обращаемости, дли-

тельность инфицирования составила более 3 лет, начало того и другого процесса сопровождалось однотипными туберкулиновыми реакциями — нарастающими с переходом в «сильные», но классических гиперергических не наблюдалось.

По обзорным рентгенограммам можно было бы выделить среди этих форм ограниченные (в пределах 2-х сегментов), однако выполненная у многих больных компьютерная томография, как правило, стирает эти границы, что связано с большей разрешающей возможностью метода, в связи с чем распространение процесса за пределы 1–2 сегментов регистрируется как частое явление.

Клинические проявления заболевания у 19 (14,7%) больных характеризовали состояние как тяжелое, у 86 (66,7%) — средней тяжести.

Анализ генетических факторов при инфильтративном и диссеминированном туберкулезе показал, что из 38 детей, составивших 71,7% от общего числа больных с вариантом C/G гена NRAMP1, только у 3 (5,7%) обнаружено наличие в генотипе одного из маркеров устойчивости, который сочетался с маркерами предрасположенности, при этом процесс протекал без бактериовыделения и деструкции в легком. В остальных случаях имело место наличие в генотипе двух аллелей, определяющих предрасположенность к заболеванию,— у 10 (18,9%) больных, сочетание аллелей, характеризующихся генетическим признаком предрасположенности и нейтральности,— у 12 (22,6%) пациентов и, наконец, две специфичности с генетическим признаком нейтральности в генотипе HLA DRB1 — у 13 (24,5%) больных.

Таким образом, в 85% случаев среди детей-носителей генотипа C/G локуса INT4 гена NRAMP1, больных туберкулезом, в генотипе HLA DR B1 установлено наличие только аллелей предрасположенности к заболеванию и нейтральности, что подтверждает влияние генов II класса на вероятность развития заболевания. По-видимому, сниженная способность или даже полная неспособность к развертыванию адекватного адаптивного иммунитета в период прогрессирования возникшей инфекции и определила характер воспалительного процесса.

Анализу подвергнуты также результаты генетического исследования у детей, носителей полиморфизма гена NRAMP1 в локусе INT4 — G/G. При изучении генетических признаков, присущих антигенам HLA, составляющим генотипы у больных с разными формами туберкулеза, получены следующие результаты. У 66 детей, что составило 86,8% от общего числа больных с генотипом G/G NRAMP1, при распространенных формах туберкулеза — диссеминированном и инфильтративном — аллельная сочетаемость HLA DRB1 была следующей: аллель предрасположенности + аллель с признаком нейтральности — у 20 (26,3%); аллель нейтральности + аллель нейтральности — у 27 (35,5%); аллель предрасположенности + аллель предрасположенности — у 19 (25,0%) детей. Таким образом, у этих детей оказалось сочетание генетических факторов, не защищающих их как от повышенной репликации микобактерий туберкулеза, попавших в организм (генотип G/G NRAMP1), так и неспособных предотвратить развитие заболевания (отсутствие аллелей устойчивости в HLA DRB1).

Обобщая представленные данные сравнительного анализа, следует отметить неодинаковую встречаемость специфичностей HLA DRB1, играющих предрасполагающую и нейтральную роль в отношении туберкулеза при обоих генотипах NRAMP1, а также более частое развитие распространенных и осложненных клинических форм туберкулеза у детей с наследственным вариантом G/G.

Заключение

Молекулярно-генетические исследования в группе детей, заболевших туберкулезом, показали, что прогрессирование возникшей инфекции M. tuberculosis в значительной степени обусловливается наследуемыми факторами предрасположенности к туберкулезу. При этом влияние на характер туберкулезного процесса, по нашим данным, оказывают оба изученные гены-кандидаты: аллели семейства HLA и NRAMP1. В частности, наиболее неблагоприятным является сочетание варианта G/G в локусе INT4 гена NRAMP1 и аллельных специфичностей *04 и *16 в локусе DRB1 гена HLA.

Список литературы

1. Апт А. С. Генетические аспекты выявления групп риска по туберкулезу // Проблемы туберкулеза. — 2001.— № 7.— С. 65–68.

2. Кондакова М. Н., Павлова М. В., Скворцова Л. А. Прогностическая значимость генетических факторов в лечении и профилактике туберкулеза органов дыхания у лиц подросткового возраста // Научные труды Всерос. науч.-практ. конф. «Актуальные вопросы диагностики и лечения туберкулеза». — СПб., 2005. — С. 146–149.

3. Frodsham A. J., Hill A. V. S. Genetic of infectious disease // Hum. Mol. Genet. — 2004. — V. 13, Rev. Issue 2.— P. 187–194.