

Л.Ф. Яковенко, Л.Л. Сидорик, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,
О.В. Ромащенко, д.м.н., професор, ДУ «Інститут урології НАМН України», м. Київ

Хламідійний HSP60 та антитіла до нього в патогенезі хронічних запальних захворювань органів малого таза

Chlamydia trachomatis – облигатний внутрішньоклітинний патоген з унікальним життєвим циклом (Cates et al., 1993). Серовари C. trachomatis D і K здатні інфікувати епітеліальні клітини слизової оболонки урогенітального тракту (Swanborg et al., 2006) і поширюватися з нижніх їх відділів у верхні. Імунна система людини, як правило, не може ефективно елімінувати патоген, тому він протягом тривалого часу залишається нерозпізнаним, проте вірулентним у місці запалення. Показано, що хламідійний ліпополісахарид викликає секрецію прозапальних цитокінів, зокрема фактора некрозу пухлини (ФНП), однак його активність у 100 разів менша порівняно з ліпополісахаридом *Neisseria gonorrhoeae*. Відносно низька індукція гострої імунної відповіді може частково пояснити асимптомну природу первинної хламідійної інфекції і сприяти її поширенню у верхні відділи генітального тракту.

C. trachomatis вважається основною причиною розвитку хронічних салпінгофоритів, оклюзії маткових труб, трубного безпліддя, ектопічної вагітності тощо (Witkin, 1996). Наявність в організмі вагітної жінки C. trachomatis може спровокувати попередній розрив оболонок, передчасні пологи, мертвородження або народження дитини з недостатньою масою тіла (Raavonen and Eggert-Kruse, 1999).

C. trachomatis під впливом стресових чинників (антибіотиків, інтерферону γ – ІФН- γ , ФНП та ін.) може переходити в персистуючу форму. Антигенний профіль персистуючої інфекції відрізняється від такого у разі гострої клінічної форми розвитку хламідійного салпінгіту: різко знижується експресія структурних білків (MOMP, ліпополісахариду та ін.) (Morrison et al., 1992; Beatty et al., 1994; Dean et al., 2000), а синтез хламідійного білка теплового шоку 60 (HSP60), навпаки, суттєво зростає (Engel et al., 1990; Beatty et al., 1993; Beatty et al., 1994). Встановлено, що тривала експозиція консервативних хламідійних антигенів, зокрема HSP60, у результаті персистуючої інфекції або повторного інфікування відіграє важливу роль у пошкодженні ендометрія і тканин маткових труб (Beatty et al., Brunham and Peeling, 1994). Механізми залучення хламідійного HSP60 до патогенезу хронічних запальних захворювань органів малого таза (ХЗЗОМТ) й ускладнень репродуктивної функції на сьогодні активно досліджуються.

HSP60 людини, локалізація і функції

Білки теплового шоку (heat shock proteins, HSP) – висококонсервативні імуногенні білки, представлені в усіх клітинах практично всіх організмів (за винятком вірусів). HSP60 людини – молекулярний шаперон, залежно від локалізації може виконувати різні функції. У мітохондріях за допомогою кошаперону Hsp10 забезпечує правильну укладку клітинних білків, у разі стресу – попереджає їх неправильне згортання й агрегацію. HSP60 також виявляється у цитоплазмі, де виконує антиапоптотичну функцію. Наявність HSP60 на клітинній мембрані асоційована з мембранним транспортом і сигнальними процесами, підвищення рівня мембранозв'язаного HSP60 розглядається деякими авторами як сигнал небезпеки для імунної системи. HSP60 також секретується із клітин, виявляється у плазмі.

Хламідійний HSP60, його властивості

1. Філогенетично висококонсервативний білок, має 80% гомологію амінокислотних послідовностей із сероварами C. trachomatis HSP60 (Serpone et al., 1991), 60% із HSP60 прокариот, 50% із HSP60 еукариот, 48% із HSP60 людини (Morrison et al., 1992). Показано, що HSP60 людини і хламідійний HSP60 (C. trachomatis, серовар D) мають 4 епітопи зі 100% ідентичністю і 13 інших поліпептидних фрагментів різної довжини з ідентичністю від 33 до 75%, HSP60 людини та хламідійний HSP60 (серовари B, C і L2) – 13 основних епітопів, сім із яких зв'язувалися з перехресно-реагуючими антитілами до гомологічних епітопів HSP60 людини.

2. Постійно експресований при активній і персистуючій інфекції, в останньому випадку

є доміантним білком (Beatty et al., 1993; Beatty et al., 1994; Gerard et al., 1998; Dean et al., 2000; Dean and Powers, 2001). За даними Morrison et al. (1989), HSP60 може вивільнятися із хламідійних включень. За результатами досліджень Vavoi et al. (1990), хламідійний HSP60 асоційований із зовнішньою мембраною і може легко активувати імунокомпетентні клітини господаря. За даними Raulston et al. (1998), навпаки, HSP60 визначається у хламідійних включеннях і в елементарних і ретикулярних тільцях, але не вивільняється за межі внутрішньоклітинних включень, принаймні під час одиничного циклу хламідійного розвитку в HEC-1 клітинах in vitro. Проте, на думку авторів, не виключено, що хламідійні HSP-антигени можуть вивільнятися інфікованими епітеліальними клітинами, які загинули при інфекційних процесах in vivo. Обмеження хламідійного HSP60 у включеннях на ранніх етапах інфекції може бути важливим для попередження розвитку реакцій гіперчутливості уповільненого типу (ГУТ), що в протилежному випадку може призвести до деструкції або виснаження шару епітеліальних клітин слизової оболонки господаря.

3. Високоімуногенний білок, індуктор ГУТ (Morrison et al., 1989; Morrison, 1991; Patton et al., 1994). Введення очищеного препарату хламідійного HSP60 у кон'юнктиву попередньо інфікованих C. trachomatis морських свинок зумовлювало розвиток ГУТ, що характеризувалася мононуклеарною клітинною інфільтрацією аналогічно до трахоми. Хламідійні ліпополісахарид і MOMP відігравали незначну роль в індукції ГУТ (Morrison et al., 1989). Встановлено, що хламідійний HSP60 є основним антигеном, який відповідає за розвиток ГУТ при C. trachomatis-асоційованому салпінгіті (Patton et al., 1994; Lichtenwalner et al., 2004).

4. Описано три ізоформи хламідійного HSP60: HSP60-1 – в основному представлений у ретикулярних тільцях, HSP60-2 і HSP60-3 – представлені екстрацелюлярно (Raulston et al., 1998). Пролонгована експозиція в імунній системі будь-якої з ізоформ призводить до її активації і формування антитіл (Witkin, 1999).

5. Хламідійний HSP60 активує імунну систему через Toll-подібні рецептори 4 (TLR4) (Ohashi et al., 2000; Bulut et al., 2002), які високоекспресовані в маткових трубах, ендометрії, на плаценті. Відомо, що інтактні хламідійні організми стимулюють клітини імунної системи через Toll-подібний рецептор 2.

Механізми участі хламідійного HSP60 у патогенезі ХЗЗОМТ

Хламідійний HSP60, як згадувалося вище, здатний викликати ГУТ у сенсibilізованих експериментальних тварин і людей (Т-клітинно-опосередкована гіпотеза) (Morrison et al., 1989). Встановлено, що в осіб, сенсibilізованих до хламідійного HSP60 у результаті персистуючої хламідійної інфекції або повторних інфекцій, розвивається хронічне мононуклеарне запалення, що призводить до тканинних пошкоджень, а в подальшому – до склеротичної деструкції маткових труб (Taylor et al., 1987; Watkins et al., 1986; Morrison et al., 1989; Patton et al., 1994).

Аутоімунна гіпотеза базується на високому ступені гомології між хламідійними HSP і HSP

людини (Witkin et al., 1996). Показано, що на тлі персистуючої інфекції й повторних хламідійних інфекцій в організмі господаря з'являються сенсibilізовані до хламідійного HSP60 Т-лімфоцити, здатні розпізнавати гомологічні епітопи HSP60 людини, зокрема експресований на ендотеліальних клітинах маткових труб, результатом чого може бути їх деструкція (Witkin et al., 1996). Ендогенний HSP60 експресується на ранніх стадіях вагітності на материнській decidua й ембріоні і може також бути мішенню для попередньо сенсibilізованих до хламідійного HSP60 Т-лімфоцитів. Активовані сенсibilізовані Т-лімфоцити здатні вивільняти прозапальні цитокіни (ФНП), які індукують інші лімфоїдні клітини до вивільнення запальних (ІФН- γ) медіаторів із цитотоксичною активністю.

Гомологічні епітопи HSP60 людини за рахунок високого ступеня гомології також можуть розпізнаватися антитілами, що виробляються в організмі господаря проти хламідійного HSP60 (механізм молекулярної мімікрії), посилюючи запальний процес (Jakus et al., 2008).

Активізація клітинної й гуморальної ланки мікробними HSP може порушити імунорегуляторні механізми, необхідні для імплантації і збереження ембріона (Witkin, 2002).

Таким чином, імунна відповідь, первинно спрямована безпосередньо проти мікробного HSP60, може стати причиною розвитку аутоімунних процесів в організмі людини (Witkin, 2002; Rajajah R., Moudgil, 2009).

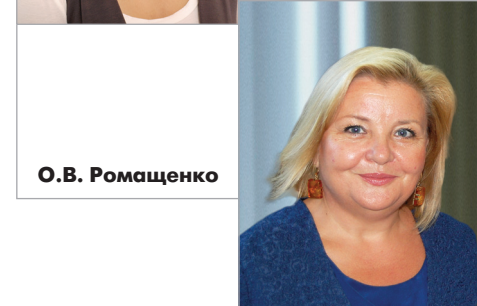
Встановлено, що CD8+ цитотоксичні Т-лімфоцити, праймовані хламідійним HSP60, здатні викликати лізис епітеліальних клітин маткових труб, що також впливає на розвиток трубного безпліддя (Kimani et al., 1996).

Пошкодження тканин маткових труб і в подальшому розвиток трубного безпліддя може бути спричинене цитокінами (Kinnunen et al., 2003). Показано, що мононуклеарні фагоцити периферичної крові пацієнток із трубним безпліддям при експозиції з хламідійним HSP60 в умовах in vitro продукували достовірно вищі рівні інтерлейкіну-10 (ІЛ-10) та ІФН- γ порівняно з контролем (жінками з іншими причинами безпліддя) (Kinnunen et al., 2003). За даними Srivastava et al. (2008), стимуляція хламідійним HSP60 цервікальних мононуклеарних клітин in vitro достовірно підвищувала продукцію ІЛ-10 ($p=0,04$), ІФН- γ ($p=0,06$) і ФНП ($p=0,0008$) у пацієнток із трубним безпліддям хламідійної етіології порівняно зі здоровими жінками.

Witkin et al. (1996) запропоновано схему розвитку пошкоджень маткових труб за участю цитокінів, зокрема ІФН- γ і ФНП. Імунна відповідь до C. trachomatis включає вивільнення ІФН- γ (Grifo et al., 1989) і ФНП. Вважається, що продукція ІФН- γ є одним із важливих факторів протекторного імунітету (Beatty et al., 1993; Wang et al., 1999), проте може також забезпечувати запальні пошкодження й фіброз маткових труб (Rottenberg et al., 2002). ІФН- γ у певних концентраціях інгібує розвиток ретикулярних тілець C. trachomatis, формуються аберантні внутрішньоклітинні форми (Beatty et al., 1993; Rottenberg et al., 2002). ІФН- γ також здатний активувати макрофаги до вивільнення медіаторів запалення, які зумовлюють проліферацію



Л.Ф. Яковенко



О.В. Ромащенко

фібробластів, збільшуючи синтез колагену. ФНП відіграє важливу роль в ініціації запальної відповіді. Під час цього періоду імунної стимуляції екстрацелюлярні елементарні тілця C. trachomatis можуть елімінуватися імунною системою. Коли ця стадія завершується, продукція ІФН- γ і ФНП знижується й аберантні ретикулярні форми відновлюють нормальний розвиток. Вивільнення елементарних тілець із інфікованих клітин реактивує імунну відповідь і появу, зокрема, ІФН- γ і ФНП. Повторні цикли активної інфекції, що слідує за періодом спокою, поступово пошкоджуватимуть цілісність епітелію маткових труб, унаслідок чого розвиватиметься порушення прохідності маткових труб (Witkin, 2000; Ромащенко О.В., Руденко А.В., Співак М.Я., Яковенко Л.Ф., 2000).

Хламідійний HSP60 може викликати апоптоз трофобластів. Це може слугувати ще одним механізмом у формуванні безпліддя хламідійної етіології (втрата вагітності на ранніх стадіях, передчасні пологи) (Equils et al., 2006). Показано, що обробка хламідійним HSP60 (5 мг/мл) первинних трофобластів, ізольованих на початку другого і третього триместрів вагітності, у 5 разів збільшувала кількість апоптотичних клітин порівняно з обробленими середовищем клітинами. В умовах in vitro хламідійний HSP60 індукував апоптоз у первинних трофобластах людини, фібробластах плаценти, JEG3 клітинній лінії трофобластів через TLR4. Автори вважають, що апоптоз трофобластів, індукований хламідійним HSP60, на ранніх стадіях вагітності може суттєво впливати на розвиток плаценти і плода, а отже, і на перебіг вагітності й пологи. Показано, що кількість апоптотизованих трофобластів зростає у вагітних із такими ускладненнями, як преєклампсія й зупинка внутрішньоутробного розвитку плода, і часто це пов'язано з недостатньою інвазією трофобласта (Smith et al., 1997; Allaire et al., 2000; Crocker et al., 2003).

Роль антитіл до хламідійного HSP60 у патогенезі ХЗЗОМТ

Результати численних клінічних досліджень свідчать про наявність тісного зв'язку між присутністю антитіл до хламідійного HSP60 і/або HSP60 людини й розвитком у жінок із повторними епізодами або персистуючою хламідійною інфекцією ХЗЗОМТ і таких ускладнень останніх, як трубне безпліддя, ектопічна й ендометріоз-асоційована вагітність, невиношування вагітності (Witkin, 2002; Domeika et al., 1998; Tiitinen et al., 2006; Dutta et al., 2008; Яковенко і співавт., 2009). Патогенетичне значення таких антитіл активно досліджується, проте остаточно не встановлено.

Показано, що антитіла проти хламідійного HSP60 можуть перехресно реагувати з гомологічними епітопами HSP60 людини, однак тільки при повторних або персистуючій інфекціях (Witkin et al., 1996). На тлі первинного епізоду хламідійної інфекції, а також у здорових людей такого перехресного реагування не спостерігали (Morrison et al., 1989; Dickson et al., 1994). Domeika et al. (1997) встановили, що антитіла до амінокислотних послідовностей 260-271 регіону хламідійного HSP60 реагували з гомологічними амінокислотними послідовностями HSP60 людини. У сенсibilізованих жінок індукція імунної відповіді до консервативних епітопів хламідійного HSP60 може призводити до розвитку аутоімунної відповіді

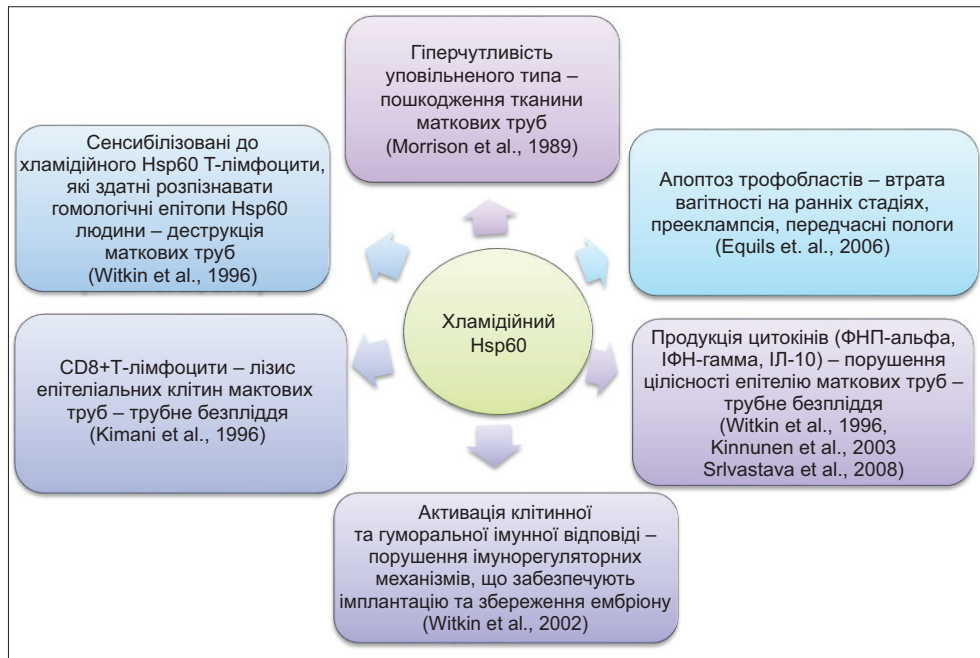


Рис. 1. Можливі механізми залучення хламідійного HSP60 до патогенезу ХЗЗОМТ

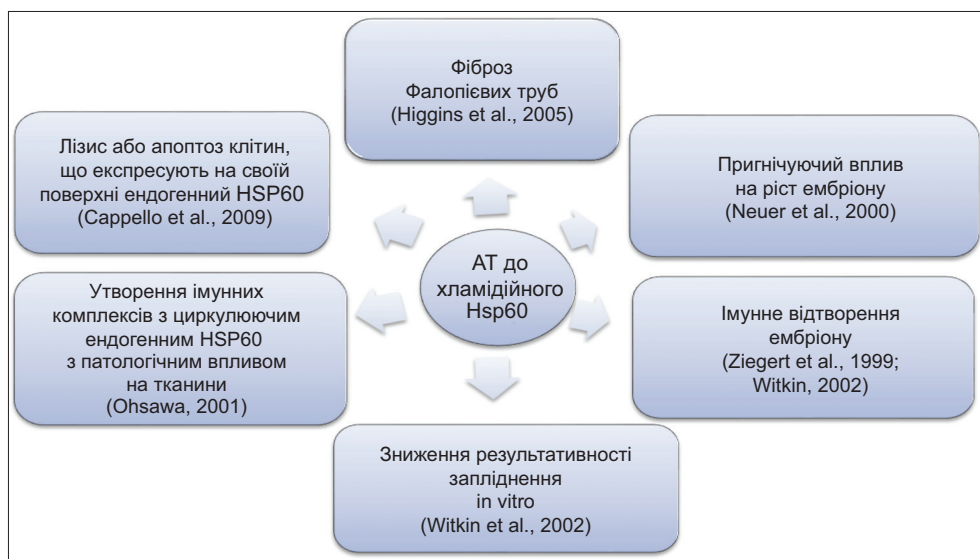


Рис. 2. Можливі механізми залучення антитіл до хламідійного HSP60 до патогенезу ХЗЗОМТ і їх репродуктивних ускладнень

до HSP60 людини. Це може загострювати локальну імунну відповідь, що в подальшому може зумовити пошкодження цілісності епітелію маткових труб (Domeika et al., 1998). Продемонстровано, що в деяких жінок цервікальні антитіла проти хламідійного HSP60 перехресно реагували з ендogenous HSP60, зв'язуючи HSP60 на ембріонах людини і зменшуючи успішність запліднення in vitro (Witkin et al., 1996; Munoz et al., 1996; Neuer et al., 1997; Neuer et al., 2000).

HSP60 людини експресується на ранніх термінах вагітності (на 7-11-му тижні) в материнській плаценті. Встановлено, що HSP експресується в людській плаценті, більшою мірою на апікальній поверхні синцитіотрофобластів, порівняно зі стромальними і м'язовими клітинами. Експресія HSP60 людини на ранніх стадіях вагітності може представляти потенційну мішень для перехресно-реагуючих анти-HSP60 антитіл, а також реактивувати хламідійні HSP60-сенсибілізовані лімфоцити, що в низці випадків призводить до імунного відторгнення ембріона. Показано, що експресія плацентарних HSP не відрізнялася за нормальної вагітності й перерваної на ранніх стадіях. Проте плацентарні HSP60-анти-HSP60 імунні комплекси визначалися лише у плаценті жінок, які втратили вагітність на ранніх термінах: у 41,7% (p=0,026) – при передчасних пологах і в жодному випадку – за нормальної вагітності. Антитіла до HSP60 людини в сироватці корелювали з виявленням імунних комплексів у плаценті. Отже, імунна сенсибілізація до HSP60 людини може спричиняти появу HSP60-антиHSP60 імунних комплексів у плаценті. Активізація прозапальних цитокінів такими комплексами може негативно впливати на результат вагітності (індукція передчасних пологів). Визначення циркулюючих антитіл до HSP60 у жінок, або антитіл до специфічних HSP-епітопів, може мати значення для прогнозу ризику передчасних пологів.

HSP, зокрема HSP60 людини, – одні з перших білків, які продукуються під час ембріогенезу й необхідні для розвитку ембріона. Показано прямий вплив антитіл до HSP60 ссавців на розвиток мишачого ембріона in vitro: внесення моноклональних анти-HSP60 антитіл

у культуральне середовище інгібувало розвиток ембріона на кожній стадії дослідження. На 3-й день тільки 29% (22/75) ембріонів, що культивувалися із цими антитілами, досягали стадії бластоцисти порівняно із 72% (80/112) ембріонів, які культивували в середовищі RPMI 1640, і 79% (49/62) ембріонів, які культивували в середовищі RPMI 1640+IgG₁ (p<0,0001). На 7-й день стадії трофобластів було досягнуто у 28% (21/75) культур, що містили анти-HSP60, 71% (79/112) із середовищем RPMI 1640, 66% (41/62) культур із середовищем +IgG₁ (p<0,0001).

На експериментальних тваринах встановлено зв'язок між розвитком фіброзу маткових труб і специфічними антитілами до хламідійного HSP60 (Higgins et al., 2005).

Антитіла до хламідійного HSP60 можуть зв'язувати ендogenous циркулюючий HSP60 і, таким чином, утворювати преципітати, які мають патологічний вплив на клітини і тканини. Імунні комплекси антитіл проти хламідійного HSP60 і циркулюючого HSP60 (хламідійного і людини) можуть утворювати депозити в різних анатомічних місцях, наприклад у базальній мембрані гломерул (Cappello et al., 2009). Повідомляється про випадок імунокомплексного гломерулонефриту у 24-річної жінки із С. trachomatis інфекцією маткових труб (Ohsawa et al., 2001). На основі даних літератури розроблено можливу схему залучення хламідійного HSP60 (рис. 1) та антитіл до нього (рис. 2) до патогенезу ХЗЗОМТ і їх репродуктивних ускладнень.

Не викликає сумніву, що це далеко не повний перелік можливих механізмів залучення хламідійного HSP60 і антитіл до нього до патогенезу таких ускладнень ХЗЗОМТ, як трубне безпліддя, невиношування вагітності та ін. Найближчим часом, очевидно, цей список буде продовжено.

Отже, представлені результати свідчать про доцільність розгляду механізмів формування порушень репродуктивної функції жінок, що виникають на тлі ХЗЗОМТ хламідійної етіології, під новим кутом зору й переоцінки підходів до діагностики, лікування та визначення його ефективності й подальших репродуктивних перспектив при цій патології.

АНОНС



Вельмишановні колеги!

Асоціація акушерів-гінекологів України повідомляє, що 25-27 вересня 2013 року в м. Києві планується проведення Науково-практичної конференції з міжнародною участю та Пленум акушерів-гінекологів України на тему:

«Репродуктивне здоров'я: актуальні питання сьогодення»

Відбудеться за адресою: м. Київ, вул. Грушевського, 30/1, ст. метро Арсенальна, Центральний будинок офіцерів Збройних Сил України. Науково-практична конференція внесена в «Реєстр з'їздів, конгресів, симпозіумів та науково-практичних конференцій, які проводяться у 2013 р., затверджений МОН України».

Організатори конференції: Міністерство охорони здоров'я України, Національна академія медичних наук України, Національний проект «Нове життя: нова якість охорони материнства та дитинства», Асоціація акушерів-гінекологів України, Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика та Український державний інститут репродуктології. В рамках конференції будуть представлені доповіді провідних вітчизняних та зарубіжних фахівців в галузі акушерства та гінекології.

Плануються до розгляду такі питання:

- актуальні питання репродуктивної медицини та ендокринної гінекології;
- реформи та національні пріоритети в охороні здоров'я матері та дитини;
- невідкладні стани в акушерсько-гінекологічній практиці: своєчасна діагностика та адекватна допомога;
- превентивна онкогінекологія, передпухлинні стани жіночої репродуктивної системи;
- екстрагенітальна патологія в акушерстві: сучасні аспекти;
- гінекологія та ендоскопія: проблемні питання.

Реєстраційний внесок складає 500 грн для членів асоціації, 700 грн для інших учасників (включає участь у роботі конференції, харчування, пакет матеріалів конференції, сертифікат учасника конференції).

Попередня реєстрація здійснюється за електронною адресою: aagu.com.ua Реєстрація учасників буде проводитися також у дні конференції.

Контактна інформація оргкомітету конференції:
050 469 58 51 – Ганна Сергіївна Тимко (економічні питання).

Секретарі Асоціації:

050 611 79 88 – Ірина Володимирівна Малишева
097 226 71 84 – Людмила Миколаївна Онищик
096 553 50 78 – Ольга Станіславівна Костенюк

Тел. Асоціації: 050 389 55 20

Сайт Асоціації: aagu.com.ua

Електронна адреса: assistant@aagu.com.ua

З найкращими побажаннями, оргкомітет