



RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Jeļena Eglīte

**HLA II klases DRB1, DQA1, DQB1
ģenētisko marķieru izpēte
ar HIV inficētiem un AIDS pacientiem**

Promocijas darba kopsavilkums

Specialitāte – imunoloģija

Rīga, 2011

Promocijas darbs veikts:

Rīgas Stradiņa universitāte (RSU):

- RSU Klīniskās imunoloģijas un imunoģenētikas starpkatedru laboratorijā (KIISI)
- RSU Infektoloģijas un dermatoloģijas katedrā

Valsts aģentūrā „Latvijas Infektoloģijas centrs” (LIC)

„Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs” (BLC)

Darba zinātniskie vadītāji:

Dr. habil. med., profesors **Artūrs Sočņevs**

Dr. habil. med., profesore **Ludmila Vīksna**

Darba zinātniskais konsultants: *Dr.med.*, **Liene Ņikitina-Zaķe** (BLC)

Recenzenti:

Dr. med., profesore **Juta Kroiča**, Rīgas Stradiņa universitāte (RSU)

Dr. habil. biol., profesors **Aleksandrs Rapoportšs**, Latvijas universitāte (LU)

Dr. med., profesors **Saulius Čaplinskass**, Lietuvas AIDS centra direktors (LAC), Viļņa Lietuva

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2011. gada 12.decembrī plkst.15.00

Rīgas Stradiņa universitātē, RSU) Teorētiskās medicīnas promocijas padomes atklātā sēdē Dzirciema ielā 16, Hipokrāta auditorijā.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU mājas lapā:
www.rsu.lv.

Promocijas padomes sekretāre:

Dr. habil. med., profesore **Līga Aberberga-Augškalne**

SATURS

Pieņemtie saīsinājumi	5
Galvenās definīcijas	6
Ievads	8
Problēmas aktualitāte	8
HLA sistēma	10
Galvenā HLA šūnu saderības kompleksa uzbūve	10
HLA antigēnu funkcijas	12
Darba mērķis	14
Darba uzdevumi	14
Darba zinātniskā novitāte	14
Praktiskais nozīmīgums	15
Darba struktūra un apjoms	15
Materiāli un metodes	16
Pētījuma metodoloģija, kopējās slimnieku grupas atlasē principu un izslēgšanas kritēriji	16
HLA-DRB1*, DQA1*, DQB1* noteikšana	17
Sekvenēšana pētīšanas metodes Otrā eksona gēna HLA-DRB1*01 noteikšana	18
Statistiskās apstrādes metodes	19
Pētījuma rezultāti	20
HLA II klases DRB1*, DQA1*, DQB1* ģenētisko marķieru izpēte ar HIV inficētiem un AIDS pacientiem	20
Gēnu polimorfisma analīze lokusā HLA – DRB1* dažādās HIV inficēto pacientu grupās	21
Gēnu polimorfisma analīze lokusā HLA – DQA1* dažādās HIV inficēto pacientu grupās	24
Gēnu polimorfisma analīze lokusā HLA – DQB1* dažādās HIV inficēto pacientu grupās	25
HLA II klases haplotipu pētījumi	27
Starplokusu gēnu kombinācijas izpētīšana dažādās HIV/AIDS inficēto pacientu grupās	27
Gēnu konformācijas polimorfisma pētījumi otrā eksona DRB1*0101, pie HIV inficētiem pacientiem AIDS stadijā	28
Korelācijas pētījumi starp HIV vīrusa RNS kopiju skaitu plazmā (HIV vīrusa slodzes), CD4+ limfocītu skaits subpopulācijās perifēriskajās asinīs un haplotipiem HLA II klases HIV/AIDS pacientiem	31
Antiretrovīrusu terapijas (ART) efektivitātes salīdzinājums ar dažādiem HLA II klases haplotipiem	34
Secinājumi	39

Praktiskās rekomendācijas	41
Ziņojumi un uzstāšanās par darba rezultātiem	41
Izmantotā literatūra	45
Pateicības	56

PIEŅEMTIE SAĪSINĀJUMI

A ,B,C I,II,III ABC AIDS	– Klīniskās kategorijas, izmantošana HIV/AIDS klasifikācija klīniskajā praksē – <i>Abacavir</i> – iegūtais imūndeficīta sindroms (angļu val. - <i>acquired immune defficiency syndrome</i>)
APC	– Antigēna prezentējošās šūnas (angļu val.– <i>antigen presenting cells</i>)
ART	– Antiretrovīrusu terapija
ARVI	– Akūtas respiratoriskas vīrusa infekcijas
ASAT	– Aspartātaminotransferāze
ASV	– Amerikas Savienotās Valstis
AZT	– <i>Azidothymidine</i>
BLC	– Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs
bp,	– Bāzu pāris
CDC	– Slimību ierobežošanas aģentūra ASV (angļu val. – <i>Centers of Diseases Control</i>)
CD4	– T helperi jeb līdzētājšūnas
CMV	– Citomegalovīruss
DNS	– Dezoksiribonukleīnskābe
DRB1, DQA1, DQB1	– HLA II klases gēni
EFV	– <i>Efavirenz</i> – atpakaļtranskripcijas nenukleotīdu inhibitori
EBV	– Epšteina – Barra vīruss
ELISA	– Enzimātiskais imunosorbentaists/īmūnfluorescences reakcija (angļu val.– <i>enzyme linked immunosorbent assay</i>)
F	– Fišera testa vērtība dispersiju analīzē
gf	– Gēna sastopamības biežums
HAART	– Augstas aktivitātes antiretrovirāla terapija (<i>Highly Active Anti-Retroviral Therapy</i>)
HBV	– Hepatīta B vīruss
HCV	– Hepatīta C vīruss
HIV	– Cilvēka imūndeficīta vīruss (angļu val. - <i>human immunodeficiency virus</i>)
HLA	– Cilvēka leikocītu antigēns (<i>Human Leukocyte Antigens</i>)
HTLV	– Cilvēka T Limfotropais Vīruss (<i>Human T-cell leukaemia virus</i>)
Ig	– Imūnglobulīns
Imūnfl	– Imūnfluorescence
INH	– Izoniazīds
Ir	– Imūnās atbildes gēni (<i>Immuneresponse</i>)
IVNL	– Intravenozu narkotisku un psihotropisku vielu lietotāji
KG	– Kontroles grupa
KIISI	– Klīniskās imunoloģijas un imunoģenētikas starpkatedru laboratorija
LIC	– Latvijas Infektoloģijas centrs
MHC	– Galvenais audu saderības komplekss (angļu val. - <i>major</i>)

	<i>histocompatibility complex</i>
N vai n	– Subjektu vai mērījumu skaits (<i>N-pacientu skaits; n-alēžu skaits</i>)
NK	– dabiskā galētājšūna (angļu val. - <i>natural killer</i>)
OR	– Izredžu attiecība (angļu val. - <i>odds ratio</i>)
p	– Varbūtība, būtiskuma līmenis, p vērtība
PCP	– <i>Pneumocystis jirovecii</i> pneimonija
PĶR	– Polimerāzes ķēdes reakcija
RNS	– Ribonukleīnskābe
PPD	– Poor proteīna atvasinājums (<i>Poor protein derivate</i>)
PVO	– Pasaules Veselības organizācija
RSU	– Rīgas Stradiņa universitāte
RTV	– <i>Ritonavir</i>
SD	– Standartnovirze, standartdeviācija
SE	– Standartklūda
SNP	– Viena nukleotīda polimorfisms (<i>Single Nucleotide Polomorphism</i>)
SVA	– Sabiedrības veselības aģentūra
SQV	– <i>Saquinavir</i>
t	– Stjūdentā (t testa koeficients)
6p	– 6. hromosomas īsais plecs
TAP	– Transportieri antigēna apstrādei (<i>Transporters Antigen Processing</i>)
TBC	– Tuberkuloze
Th	– T limfocīti helperi (līdzētājšūnas)
TLR	– Svečveidīgais receptors (angļu val. – <i>toll-like receptor</i>)
TNF-α	– Audzēja nekrozes faktors alfa
V/A	– Valsts aģentūra
WB	– <i>Western blott</i>
3TC	– <i>Lamivudine</i>
χ^2 tests	– Hī kvadrāta tests

GALVENĀS DEFINĪCIJAS

Alēle – iedzimtības faktors, kas apzīmē kādas konkrētas pazīmes pāra alternatīvu variantu, piemēram, no viena vecāka mantotais ģenētiskais materiāls lokusā. Burtiskā nozīmē alēle ir viena no gēna alternatīvajām formām, kas ieņem atbilstošas pozīcijas (lokusus) uz pāra hromosomām, bet tikai viena alēle tiek ekspresēta haploīdā organismā.

Alēliskis gēns – dažādas viena un tā paša gēna alternatīvās formas, kas novietotas homoloģisku hromosomu identiskos lokusus un nosaka pazīmju fenotipisko dažādību. Gēns, kas kodē vienas un tās pašas pazīmes alternatīvu formu/variantu.

Gēns – gēni ir iedzimtības faktori, DNS vai RNS molekulu iecirkņi, kuru funkcija ir organisma specifisko īpašību noteikšana. Katrs gēns nosaka kāda funkcionāli aktīva produkta – RNS vai tās translācijas rezultāta – polipeptīda molekulas sintēzi. Viens gēns sastāv no 500 līdz 6000 nukleotīdu pāriem. Gēnu var konstatēt tāpēc, ka tam ir dažādas alternatīvas formas – alēles, kuru pastāvēšanu atklāj ar ģenētisko analīzi. Alēliskie un nealēliskie gēni savstarpēji mijiedarbojas.

Genotips – termins atvasināts no ”genotipa”, MHC izpētē šo terminu parasti lieto, lai apzīmētu indivīda galvenā audu saderības kompleksa alēļu kombināciju uz viena lokusa.

Haplotips – ir uz vienas hromosomas lokalizēto gēnu kopums, unikāla konkrētā lokusa alēļu kombinācija, kas pārmantojas neizmainītā veidā. MHC izpētē to parasti lieto, lai apzīmētu indivīda galvenā audu saderības kompleksa alēļu kombināciju uz vienas hromosomas.

HLA haplotips – īpašs HLA gēnu alēļu sakopojums uz vienas hromosomas, kas kodē tādas specifiskas īpašības vai funkcijas kā imūnsistēmas HLA marķieri. Termins cēlies sakarā ar saistītu HLA specifiskumu producēšanu, t.i. tādu specifiskumu, ko kontrolē saistīti lokusi, daži HLA haplotipi tiek pārlieku reprezentēti populācijā un šo fenomenu sauc par *linkage disequilibrium* – savienojuma līdzsvara traucējumu.

Lokuss – ir vieta hromosomā, kas satur gēna kodējošo daļu ar tai pieguļošajām gēna regulējošajām daļām.

IEVADS

Problēmas aktualitāte

Viena no mūsdienu cilvēces lielākajām veselības problēmām – imūndeficīta sindroms (AIDS) – parādījās 20. gs. beigās. HIV infekcija ieņem līdera pozīciju sociālajā grupā. AIDS ir multifaktoriālas etioloģijas, vīrusa izraisīta slimība [1].

Šis vīruss pazīstams kā cilvēka imūndeficīta vīruss (HIV), kurš izraisa AIDS – sindromkompleksu, kas rada būtiskas pārmaiņas imunitātē, kā rezultātā var iestāties pacienta nāve [1,2].

HIV infekcijai lēni progresējot līdz AIDS stadijai, svarīgs faktors ir akūtās lēkmes fāzei, kura noved pie ātra virēmijas pazeminājuma, un tā ir imunitātes atbilde vīrusa infekcijai.

Šūnu un humorālā imūnatbilde uz HIV virzīta uz vīrusa ārējo olbaltumvielu apvalku, kā arī uz citām vīrusa olbaltumvielām, kas sintezētas inficētajās šūnās. Pret HIV inficēšanos ir uzņēmīgas dažādu tipu šūnas. Membrānas glikoproteīns gp120 HIV-1 (HIV-2 gadījumā gp105) pie CD4 šūnu receptora parāda šūnas inficēšanos ar vīrusu. Salīdzinot ar citām šūnām, lielākais daudzums CD4 receptoru atrodas uz T4 limfocītu (helperu) virsējās citoplazmatiskās membrānas [3].

Imūnkompetento šūnu nobriešanas gaitā identifikācijas marķieris CD4+ veidojas uz T limfocītu virsmas. Tas ir iespējams tikai uz šūnām, kam uz plazmatiskās membrānas ir galvenā audu saderības kompleksa II klases (HLA – II) antigēni – olbaltumvielas. Tā kā šīm šūnām ir arī receptori HLA – II klases olbaltumvielu pazišanai, antigēnu atpazīstošie CD4+ limfocīti vienlaicīgi identificē gan svešu antigēnu, gan HLA – II klases olbaltumvielas, un tikai šajā gadījumā realizējas to reaktīvā proliferācija un imūnā atbilde [3].

Cilvēka (*Human Leukocyte Antigen* - HLA) audu gēnu sastopamības sistēma ir viena no daudzām polimorfoloģiski ģenētiskām sistēmām, kuras

cilvēka organismā veic dažādas funkcijas. Svarīgākās no tām ir ģenētiskās kontrolimunitātes atbilde un imunitātes homeostāzes saglabāšana [4].

Īpaši aktuāls cilvēku audu saderības kompleksa pētīšanas virziens kļuva pēc tam, kad 1980. gadā Nobela prēmijas laureāti: *Baruj Benacerraf* (ASV), *Jean Dausset* (Francija) un *George D. Snell* (ASV) ieguva balvu par ģenētiski determinētās struktūras atklāšanu uz šūnas virsmas, kas regulē imunoloģiskās reakcijas. Atklājums pierādīja bioģenētiskajai cilvēka individualitātei polimorfismu [5,6]. Nobela prēmijas laureāti *Zinkernagel R.M.* un *Doherty P.S.* 1996. gadā atklāja, ka T limfocīti pazīst vīrusu imūno antigēnu caur galvenā audu saderības kompleksa olbaltumvielām.

Atklājumi ļauj secināt, ka ģenētiskās atšķirības lokusā, kas kodē HLA olbaltumvielas, var ietekmēt imūnatbildes intensitāti un efektīvu saimniekorganisma atbildi uz infekciju, nosakot savstarpējās ietekmes rezultātu [7,8].

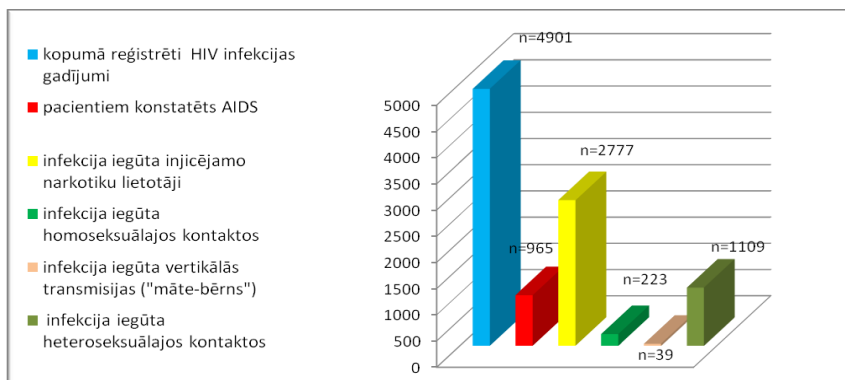
HLA polimorfisma progresu pētījumā ar polimerāzes ķēdes reakciju (PĶR), kā arī ar jaunu metožu un tehnoloģiju pielietojumu HLA genotipēšanā atklāja *Kary Mullis* [9,10]. Molekulārās tehnoloģijas ļauj izpētīt ģenētisko polimorfismu gēnu molekulārās ietekmes robežās. Pētījumos atšķirīgiem HLA gēniem iegūti dažādi asociāciju varianti ar izrietošo HIV infekcijas un šo gēnu savstarpējo nesaderību [11,12,13].

Pētījums liecina, ka ģenētiskā faktora ietekme uz slimības procesu, kā arī par HLA II klases lokusa ģenētiskā polimorfisma molekulāro gēnu robeža ir Th šūnām nepietiekamas [14-17].

Arī praktiskā nozīme nav pietiekami atspoguļota zinātniskajā literatūrā. Tāpēc salīdzinošie imūnģenētiskie pētījumi par HLA II klases gēniem HIV inficēto pacientu grupā ir aktuāli.

Latvijā gadu no gada pieaug HIV inficēto pacientu skaits. Saskaņā ar V/A „Latvijas Infektoloģijas centrs” sniegtajiem datiem pirmais HIV infekcijas

gadījums Latvijā reģistrēts 1987. gadā (pacients Nr. 1), 2010. gada 31. decembrī saskaņā ar „Sabiedrības Veselības aģentūras” reģistra datiem Latvijā reģistrēti 4901 HIV infekcijas gadījumi un 928 AIDS gadījumi, miruši 603 cilvēki. Tomēr pēc PVO un UNAIDS aprēķiniem patiesais HIV inficēto personu skaits varētu būt aptuveni divreiz lielāks, nekā liecina oficiālie statistikas dati (*I. att.*) [1,2].



1.att. Pēc V/A „Latvijas Infektoloģijas centrs” sniegtajiem datiem līdz 2011. gada 1. februārim Latvijā kopumā reģistrētie HIV infekcijas gadījumi.

HLA SISTĒMA

Galvenā hla šūnu saderības kompleksa uzbūve

HLA atrodas uz sestās hromosomas īsā pleca, 6p21.31- 6p21.32 reģionā (*2. att.*). Tā garums ir 4 miljoni bāzu pāru. HLA reģiona gēni un gēnu produkti (t.i., specifiskie antigēni) tiek iedalīti I klases, II klases un III klases gēnos un to produktos [3,19,20,24,25].

HLA I klases klasiskie gēni – A, B, C, E, G un F. Sastopami uz visām nukleārajām šūnām; to nozīme izpaužas pārveidotu, īpaši, ar vīrusiem inficētu

sava organisma šūnu atpazīšanā un iznīcināšanā. HLA I klases molekulas prezentē antigēnus citotoksiskajām CD8+ T šūnām.

HLA II klases klasiskie gēni – DP, DQ, DR. Atrodami galvenokārt uz imūnsistēmas APC šūnām (B limfocītiem, monocītiem – makrofāģiem u. c.). Regulē mijiedarbību starp imūno atbildi veicinošām šūnām. HLA II klases gēni prezentē antigēnus CD4 +T šūnām.

HLA III klases klasiskie gēni – C4, C2, faktors B, TNF- α , TNF- β . Kodē noteiktus komplementa sistēmas antigēnus un regulē to līmeni serumā. Šie proteīni nedarbojas kā antigēnu prezentējošās molekulas.

HLA struktūras komplekss tiek uzskatīts par diezgan kompaktu, ar ko skaidrojams rets rekombinācijas biežums. HLA kompleksā ir apmēram 105–106 gēni, t. i., aptuveni 1/1000 no cilvēka kopējā genofonda [11].

Mūsdienās ir atklātas: pavisam 6 074 HLA allēles

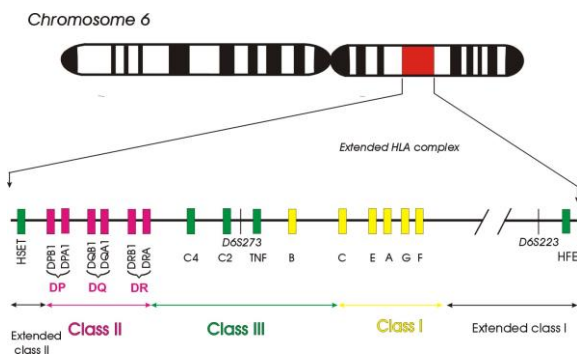
HLA I klasei – 4 721 specifiskums;

HLA II klasei – 1353 specifiskums;

HLA-DRB1*– 966;

HLA-DQA1* – 35;

HLA-DQB1* – 144 specifiskums (HLA nomenklatūra 2011.) [21,22,23].



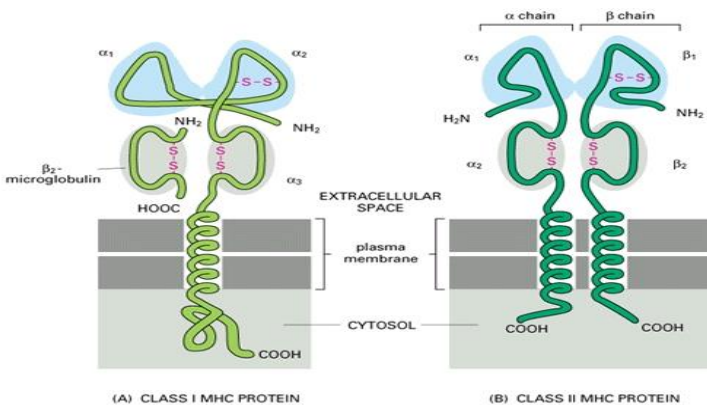
2. att. 6. hromosomas uzbūve; galveno audu saderības kompleksu HLA saturošie gēni (Expert Reviews in Molecular Medicine 2003.g. Cambridge University press.)

HLA antigēnu funkcijas

Viena no vissvarīgākajām HLA sistēmas fizioloģiskajām funkcijām ir imūndominanto peptīdu procesēšanas un prezentācijas nodrošināšana (3.att.). Tāds peptīds ir saimniekšūnā notikušas svešķermeņa – antigēna proteolīzes produkts, pret ko arī tiks inducēta un vēlāk veidosies imūnā atbilde. Šo antigēnu sistēmas HLA funkciju veicina tās molekulu uzbūve, kuras, neskatoties uz antigēna HLA molekulu I un II klases struktūras atšķirībām, ļauj izveidot uz to ārējiem galiem t.s. peptīdsaistošo rievu, kurā arī atrodas atpazīšanai nepieciešamais peptīds. HLA–III klases audu saderības kompleksa gēni, kas atrodas starp I un II klases apgabaliem, kodē olbaltumvielas, kuras nespēj atpazīt (noskaidrot) antigēnu.

HLA–I klases molekulas ir membrānas glikoproteīni, kas sastāv no divām daļām: glikozilētas polipeptīda smagās ķēdes ar molekulāro masu 44000 un no β_2 -mikroglobulīna ar molekulāro masu 12000. Shematiski I un II klases HLA molekulas uzbūve ir parādīta 3. attēlā. HLA–I molekula sastāv no 3–x α -ķēdes domēniem un viena β_2 -mikroglobulīna (β_2 microglobulin) un saites starp tiem, kuru stabilizē kalneksīns (calnexin). Starp α_1 un α_2 domēniem atrodas rievu, kura nepieciešama antigēna piesaistīšanai. Pēc tam, kad antigēns ir piesaistīts un aktivēts, HLA molekulas konformācijas izmaiņu rezultātā notiek β_2 -mikroglobulīna atbrīvošanās.

HLA-II klases molekulas arī tiek uzskatītas par glikoproteīniem (3. att.), taču α un β (attiecīgi ar molekulāro masu 34000 un 29000) ķēdes ir saistītas ar divām nekovalentajām saitēm. Daudzveidīgais domēns α_1 un β_1 veido rievu, lai aktivētu antigēnu. Turklāt α -1 domēns veido rievu sānu daļas, bet β -1 domēns – tās apakšējo daļu. Kopumā β -ķēdi HLA-DR, DP, DQ raksturo mazāka heterogenitāte un tā uz šūnām izplatīta ierobežotākā daudzumā, atrodas galvenokārt uz makrofāgiem, B limfocītiem, aktivētās Tšūnās un hemopoēzes priekšteču šūnās [19,24,25,26,27].



3. att. HLA I un II klases molekulu uzbūve (HLA molekulas saista antigēnu peptīdus rievīnā, kura izveidota ar divām α -spirālēm (HLA I klases molekulas) un HLA II klases molekulas sastāv no α/β - spirālēm, lai veidotu (HLA-Peptīds), kompleksu, kuru atpazīst T šūnu receptori) (publishing Blackwell 2008.)

Viena no svarīgākajām HLA I sistēmas fizioloģiskajām funkcijām ir prezentēt vīrusa antigēnus CD8+ limfocītiem. Šo funkciju realizē HLA sistēmas molekulas, kuras struktūras ārējos galos veido tā saucamo peptīdsaiestošo rievu un notur tajā atpazīšanai nepieciešamo peptīdu. Katrs peptīds saista (un notur) antigēnu tam paredzētajā konkrētajā antigēnprezentējošajā vietā.

Tāpēc konkrētais vīrusa peptīds, saistoties noteiktā HLA – antigēna vietā, tiek kodēts ar dažādiem HLA gēnu alēļu variantiem, kas arī ir imūnās atbildes ģenētiskās kontroles pamatā. Šis process pierāda, ka HLA molekulas kodējošie gēni ir gēnu imūnatbilde un norāda procesu virzienu imūnsistēmā [20,25,28,29].

Darba mērķis

Novērtēt HLA II klases DRB1*, DQA1*, DQB1* ģenētiskā polimorfisma asociāciju ar organisma aizsardzības spējām HIV infekcijas procesa laikā.

Darba uzdevumi

1. Noteikt HLA II klases alēles, genotipus un haplotipus HIV inficētiem pacientiem un kontroles grupai.
2. Noteikt un novērtēt ģenētisko marķieru predisponēšanos un rezistenci HIV/AIDS inficētiem pacientiem, kas savukārt noteiks slimības klīniskās gaitas attīstību.
3. Pētīt konformācijas polimorfismu otrajā eksonā HLA-DRB1*0101 HIV inficētiem pacientiem AIDS stadijā.

Darba zinātniskā novitāte

Iegūti dati par HLA-DRB1*/DQA1*/DQB1* gēnu sastopamības biežumu un to saistību ar HIV/AIDS dažādās inficētu pacientu grupās Latvijas teritorijā.

Noteikti ģenētiskie marķieri dažādās grupās katrai grupai, kā arī kopējais marķieru genotips, kas asociējas ar predisponēšanu un rezistenci infekcijas procesa attīstībā ar HIV vīrusu inficētiem pacientiem.

Saņemti pirmie dati par nukleotīdu polimorfismu otrā eksona protektīvo gēnu DRB1*0101 HIV inficētiem pacientiem AIDS stadijā.

Balstoties uz pētījuma rezultātiem, izveidota jauna koncepcija gēnu HLA II klases izmantošanai par prognostikas marķieriem diferenciālajā analizē HIV vīrusa infekcijas gadījumā. Izskatīta hipotēze par otrā eksona polimorfisma ietekmi uz HLA II klases antigēnu, tā ietekmi uz imūno atbildi infekcijas slimību gadījumā.

Praktiskais nozīmīgums

Dati par HLA-DRB*/DQA1*/DQB1* gēnu alēļu un haplotipu sastopamības biežumu dažādās HIV/AIDS inficēto grupās ir ģenētiski nozīmīgi un var tikt izmantoti kā bāze starptautiskiem pētījumiem, kā arī kvalitatīvai kontrolei, pētot HLA un slimību savstarpējo ietekmi.

Jaunākās metodes pamatā ir infekcijas slimību attīstības ģenētiska pētīšana, vērtējot haplotipus DRB1/DQA1/DQB1. Formulētā koncepcija "marķieru genotips, un hipotēze „funkcionālā imūnā atbilde”, var būt liels ieguldījums imūnģenētiskās un imunoloģiskās zinātnes teorijā, imūnfarmakogenomikas virziena attīstībā.

Darba struktūra un apjoms

Promocijas darba struktūra atbilst iepriekš formulētajiem pētījuma uzdevumiem. Darbs uzrakstīts latviešu valodā. Tam ir 10 daļas: anotācija latviešu un angļu valodā, ievads, zinātniskā darba aktualitāte, mērķis un uzdevumi, literatūras apskats, materiāli un metodes, rezultāti, iegūto rezultātu apspriešana, secinājumi un literatūras saraksts. Darbam ir 32 pielikumi, 61 lpp. apjomā.

Promocijas darba apjoms ir 181 lappuses, literatūras sarakstā iekļauti 157 avotu nosaukumi. Darbā ir 60 tabulas un 14 attēli.

Par disertācijas materiālu publicēti un iesniegti publicēšanai 9. darbs, 11. tēzes un stenda referāti, 10. uzstāšanās ar mutisku ziņojumu.

MATERIĀLI UN METODEDES

Pētījuma metodoloģija, kopējās slimnieku grupas atlases principi un izslēgšanas kritēriji

Kopumā Latvijā 2011. gada 1. februārī bija reģistrēti 4901 HIV inficēti pacienti, no tiem 965 ir AIDS stadijā (dati no ambulatorām kartēm Valsts aģentūrā „Latvijas Infektoloģijas centrs”). Darba gaitā tika analizēta 2500 pacientu medicīniskā dokumentācija (stacionārās un ambulatorās kartes) par laika periodu no 1991.gada līdz 2004. gadam un veikta pacientu izmeklēšana – epidemioloģisko datu aptauja, klīniska – objektīva izmeklēšana, HIV diagnozes primārā un apstiprinošā diagnostika, kā arī oportūnistisko slimību diagnostika, kas balstīta uz klīniskiem, seroloģiskiem, bakterioloģiskiem, radioloģiskiem, morfoloģiskiem, funkcionālās diagnostikas izmeklējumiem. Visiem pacientiem noteikti HLA II klases DRB1*; DQA1* un DQB1* gēni un to kombinācijas (alēles, haplotipi un genotipi). 100 pacientiem ar HIV/AIDS tika sekvenēts gēna DRB1*0101 otrais eksons. Pētījumā tika iekļauti abu dzimumu pacienti ar dažādiem inficēšanās ceļiem, gan HIV, gan AIDS stadijās. Pacientu izmeklēšana tika veikta laika dinamikā – gan klīniski, gan laboratoriski (pilna asins aina, HIV vīrusa slodzes tests – divas reizes gadā, limfocītu skaita noteikšana subpopulācijās – reizi trīs mēnešos).

Pacientu ieslēgšanas kritēriji:

1. HIV I inficēti pacienti– sievietes un vīrieši vecāki par 18 gadiem;
2. HIV inficēti pacienti visās HIV infekcijas stadijās (AI, AII, AIII, BI, BII, BIII, CI, CII, CIII);
3. HIV I inficētie pacienti ar dažādiem inficēšanās ceļiem.

Pacientu izslēgšanas kritēriji:

1. pacienti jaunāki par 18 gadiem;
2. grūtnieces;

3. pacienti, kas atrodas ieslodzījumā vai pirmstiesas izmeklēšanas izolatorā;
4. pacienti, kas ilgstoši uzturas vai strādā ārzemēs;
5. pacienti, kam veikta splenektomija vai kas lieto glikokortikosteroīdus;
6. pacienti, kas nav Latvijas pilsoņi vai pastāvīgi iedzīvotāji;
7. nelīdzestīgi pacienti;
8. pacienti, kas vecāki par 18 gadiem, bet HIV infekciju ieguvuši vertikālās transmisijas ceļā;
9. pacienti ar HIV 2 infekciju.

Balstoties uz iekļaušanas un izslēgšanas kritērijiem, izanalizējot 2500 pacientu medicīnisko dokumentāciju, šajā darbā tika izmantoti 1180 slimo personu dati. Visi pētījumā iekļautie 1180 HIV pozitīvie pacienti ir dinamiskajā novērošanā valsts aģentūrā „Latvijas Infektoloģijas centrs” un ir iepazinušies ar dokumentu „Informācija pacientam” un parakstījuši „Pacienta piekrišanas apliecinājumu”. No 1180 pētījumā iekļautajiem pacientiem 898 (75%) ir vīrieši un 302 (25%) – sievietes. 185 pacienti, kuri tika iekļauti pētījumā bija ar HIV infekciju AIDS stadijā. Vidējais pacientu vecums ir 33,6 gadi. Visiem pacientiem (100%) HIV infekcija tika apstiprināta ar primāro testu, nosakot antivielas pret HIV un *Western Blot* testu.

HLA–DRB1, DQA1, DQB1 noteikšana

Materiāls pieder RSU KIIS laboratorijas unikālai kolekcijai un tika izmantots DNS pētījumiem. Genomiskā DNS tika izdalīta no asins parauga ar standarta fenola-hloroforma ekstrakcijas metodi. DNS paraugi 100 ng/ μ koncentrācijā glabājās pie +4°C.

Imūngēnētiskie izmeklējumi tika veikti Rīgas Stradiņa universitātes Klīniskās imunoģenētikas un imunoloģijas starpkatedru laboratorijā. HLA II klases DRB1* DQA1* un DQB1* allēļu specifiskuma noteikšana ar

polimerāžu ķēžu reakciju un amplifikācija ar sikvences-specifisku praimeru. (ar gēnu DRB1* (10 alēļu), DQA1* (8 alēļu) un DQB1* (10 alēļu) variantiem).

Amplificēšanu tika veikta ar daudzkanālu amplifikatoru "MC-2" ДНК-Технология" (Krievija). Ieprogramētu apjomam 15 µL aktīvajā regulēšanas režīmā "fast". PĶR buferis satur: 50 mM NaCl, 1.5 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl (pH 8,3) 1,5 µL katra dNTP's(25mmol/l), 0.6 µL specifisk praimers (0,2 mmol/l), kā arī 1,0 µL (0,5 U) termostabilas Tag-DNS-polimerāzes vienību 0.1 mg/ml želaīna, mM 2-merkptoetanolā. Produktu identificēšanu veicām ar transluminatoru caurejošā ultravioletā gaismā. Elektroforēzi veic 15 minūtes ar 10 V/cm spriegumu, izmanto: 0.5mM TBE – buferi; ar etidija bromīdu krāsoto 3% agarozo gēlu (0,5 gēla µk/ml) [122,123].

Sekvenēšana pētīšanas metodes otrā eksona gēna HLA-DRB1*01 noteikšana

Ģenētisku polimorfismu tipēšana veikta Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centra Genoma centra laboratorijās. Genomiskā DNS tika izdalīta no asins parauga ar standarta fenola-hloroforma ekstrakcijas metodi. Lai analizētu interesējošos polimorfismus, tika izstrādāta un apobēta metodika. 8157..8426 – 2. eksona gēna HLA–DRB1*0101 noteikšana automātiskā sekvenēšana ar "Big Dye Terminator mix" (*Applied Biosystems, ASV*)

ORIGIN (270 bp) 8157.. 8426 – 2.eksons gēna HLA–DRB1*01

```
1 cacgtttcct gtggcagcct aagagggagt gtcatttctt caatgggacg gacggggtgc
61 ggttctctgga cagatacttc tataaccagg aggagtccgt gcgcttcgac agcgacgtgg
121 gggagttccg ggcggtgacg gagctggggc ggcctgacgc tgagtactgg aacagccaga
181 aggacctcct ggagcagagg cggggccgcgg tggacaccta ctgcagacac aactacgggg
241 ttggtgagag cttcacagtg cagcggcgag
```

Multipleksa polimerāzes ķēdes reakcija (PĶR)

PĶR reakcijā izmantoti praimeri:

PĶR matrica ir cilvēka genomiskā DNS (50ng/μl). Amplifikācijai izmanto tiešo praimeru:

5'- tcccagt gcccgacccc c -3' – forward primer (18 nt)

5'-gagctggga atctgagtgt gt -3' – reverse primer (21 nt)

5'-tcagtgtc ttctcaggag gc -3' – sequencing primer (20 nt) (*Kotsch et al., 1999 Tissue antigens (53): 486-497 (primers)*) [125].

Statistiskās apstrādes metodes

Datu statistiskā analīze veikta, izmantojot datorprogrammas: *Microsoft Office Excel 2003* un *DOS StatCalc*. ARLEQUIN 3.11 [127]

Statistiskā analīze veikta Microsoft Excel programmā. Rezultātu atšķirības ticamība izvērtēta pēc Stjūdenta (t) testa un Pīrsona testa kritērijiem. Rādītāju atšķirības nozīme izvērtēta pie ticamības $p \leq 0.05$. Izredžu attiecība (OR jeb odds ratio) tika izrēķināta pēc Volfa metodes, izmantojot formulu $(axd)/(bxc)$, kur a – slimnieku skaits ar konkrēto alēli; b – slimnieku skaits, kuriem nav konkrētās alēles; c – veselo personu skaits ar konkrēto alēli; d – veselo personu skaits, kuriem nav konkrētās alēles. Gadījumā, ja kāds no lielumiem a, b, c vai d ir nulle, izredžu attiecība tiek rēķināta pēc Haldane modificētās formulas, kas paredzēta mazām skaitļu grupām $[(2a+1)(2d+1)] / [(2b+1)(2c+1)]$. Statistiskā ticamība tika noteikta pēc Fišera kritērija. 95% ticamības intervāls (95%CI) tika noteikts pēc formulas: $95\%CI = \ln OR \pm 1,96$.

PĒTĪJUMA REZULTĀTI

HLA II klases DRB1, DQA1, DQB1* ģenētisko marķieru izpēte HIV inficētiem un AIDS pacientiem

Balstoties uz iekļaušanas un izslēgšanas kritērijiem, izanalizēti 2500 pacientu medicīniskā dokumentācija, šajā darbā izmantoti 1180 pacientu dati. Visi pētījumā iekļautie 1180 HIV pozitīvie pacienti atrodas dinamiskajā novērošanā valsts aģentūrā „Latvijas Infektoloģijas centrs” un ir iepazinušies ar dokumentu „Informācija pacientam” un parakstījuši „Pacienta piekrišanas apliecinājumu” (2.tab., 3. tab.).

2.tabula.

Demogrāfiskā un klīniskā informācija par kopējās pētījuma grupas slimniekiem

Raksturlielums	Mērvienība, prezentācijas veids	Vērtība (N)
Iekļautie pacienti	HIV pozitīvie	1180 (100%)
Dzimums	Vīrieši n (%) Sievietes n (%)	898 (75%) 302(25%)
Vecums	gados, vidējais (\pm SD),	33.6 (\pm 13,4)

3.tabula.

Kopējās pētījuma populācijas un analizējamo apakšgrupu raksturojums

Raksturlielums	Mērvienība, prezentācijas veids	Vērtība (N)
Kopējā HIV/AIDS grupa	visi HIV inficētie pacienti	1180 (100%).
AIDS grupa	inficētie AIDS stadijā pacienti	185 (16%).
Heteroseksuāļu grupa (Hetero/sek.)	pacienti, kas inficējušies heteroseksuāļu attiecību rezultātā	577 (49%)
Homoseksuāļu grupa (Homo/sek.)	pacienti, kas inficējušies homoseksuāļu attiecību rezultātā	59 (5%)

Raksturlielums	Mērvienība, prezentācijas veids	Vērtība (N)
Intravenozo narkotiku lietotāju grupa (IVNL grupa)	pacienti, kas inficējušies, lietojot kopīgas šļirces un adatas, intravenozi ievadot narkotiskas un psihotropiskas vielas	544 (46%)
Kontroles grupā (Kontrolgrupa) Dzimums	veseli asins donori (Latvijas iedzīvotāji) Vīrieši Sievietes	173 (100%)* 137 (79%) 36 (21%)

*Pētījumā izmantots Rīgas Stradiņa universitātes Klīniskās imunoloģijas un imunoģenētikas starpkatedru laboratorijas asins bankas materiāls.

Jaunu datu iegūšanai par saistību starp HLA II klases gēniem un ar HIV vīrusu inficētiem pacientiem tika meklētas sakarības HIV/AIDS gadījumos starp imūnģenētiskiem riska marķieriem un protektīvajiem marķieriem HLA II klases lokusus DR un DQ.

Lai noteiktu iespējamo saslimstības riska pakāpi (OR), salīdzina konkrētā cilvēka gēna genotipa klātbūtni vai neesamību inficētajiem pacientiem un kontrolgrupai. Pozitīvas OR asociācijas ir tādas, kur OR ir vienāds vai lielāks par 1,0. Tās, kurām OR mazāks par 1,0, saistās ar protektīvo gēnu. Par statistiski ticamiem rezultāti tika uzskatīti tādi rezultāti, ja *Fischer* testa korekcija, izdarot nedaudzus mērījumus, bija $p \leq 0,05$. Hipotēzes pārbaudei izmantoja Hf kvadrātsaknes testu (χ^2) un gēna sastopamības biežumu (gf).

Gēnu polimorfisma analīze lokusā HLA–DRB1* dažādās HIV inficēto pacientu grupās

Pētot HLA II klases gēnus un saslimšanas sakarību, sāk ar polimorfisma HLA-alēļu, genotipu un haplotipu HIV analīzi inficētiem pacientiem un kontrolgrupai. Sākumstadijā tika pētīts raksturīgais specifiskums HLA II klases lokusa DRB1 kopējā grupā, kurā bija iekļauti visi HIV/AIDS

inficētie pacienti. Analizējamajos paraugos tika noteikti gēna DRB1 14 alēļu varianti, kuriem tika atrastas dažādas ietekmes pakāpes (gan pozitīvas, gan negatīvas). Rezultāti parādīti 4. tabulā.

4. tabula

HLA-II klases lokusā HLA-DRB1* sastopamības biežums dažādās klīniskās grupās HIV inficētiem pacientiem

HLA-DRB1	Kopējā HIV/AIDS grupa	AIDS grupa	Hetero/sek. grupa	Homo/sek. grupa	IVNL grupa
Imūnģenētiskie riska marķieri (predisponēšanas marķieri)					
Alēles (OR/p)	03 (2.18/0.0001)	03 (1.93/0.007)	03 (3.35/0.0001)	07 (2.65/ 0.006)	03 (2.48/ 0.0001)
	07 (4.22/0.0001)	07 (4.22/0.002)	05 (1.82/ 0.001)		07 (6.04/ 0.0001)
	02/03 (1.36/0.516)	02/03 (1.18/0.755)	05/05 (1.34/0.034)	01/05 (1.86/0.053)	01/03 (2.19/0.037)
Genotipi (OR/p)	01/07 (1.07/0.868)	02/05 (1.34/0.270)	05/07 (1.86/0.039)	02/03 (3.58/0.036)	01/07 (2.48/0.014)
	03/06 (2.69/0.116)	07/07 (2.26/0.002)	07/07 (2.26/0.002)	02/05 (2.12/0.032)	02/03 (2.89/0.020)
					03/06 (6.10/0.004)
Protektīvie marķieri (rezistences marķieri)					
Alēles (OR/p)	01 (0.55/0.001)	06 (0.61/0.036)	01 (0.37/0.0001)	04 (0.67/0.297)	04 (0.59/0.011)
	06 (0.30/0.0001)		04 (0.52/0.001)	06 (0.70/0.301)	06 (0.34/0.0001)
			06 (0.33/0.0001)		
Genotipi (OR/p)	01/02 (0.38/0.0001)	01/04 (0.41/0.221)	06/06 (0.65/0.010)	02/04 (0.36/0.044)	05/06 (0.22/0.0001)
	01/04 (0.34/0.001)	06/06 (0.54/0.048)		01/06(0.318)	06/06 (0.60/0.001)
	01/06 (0.48/0.005)				

OR - izredžu attiecība (angļu val. - odds ratio); p < – būtiskuma līmenis

Meklējot saikni starp asociatīvajiem HLA II klases DRB1* gēniem, var izdarīt secinājumu par riska gēnu dažādību. HIV inficēto pacientu grupā biežāk sastopami gēni DRB1*03, DRB1*07. Šie gēni bija bieži sastopami arī citās grupās – AIDS un IVNL HIV inficēto grupās. Homoseksuāļu grupā gēnam DRB1*03 nebija ticama rezultāta. Homoseksuāļu grupā neparādījās gēns

DRB1*07. Heteroseksuāļu grupā DRB1*03 alēlēm konstatēts lielāks gēna DRB1* 05(11;12) sastopamības biežums.

Jāatzīmē HLA-DRB1*06 kā protektīvā alēle visās pētāmajās grupās. Heteroseksuāļu grupā arī konstatēja DRB1* 01; DRB1*04; DRB1*06, homoseksuāļu grupā – DRB1*04; DRB1*06, IVNL grupā – DRB1*05, DRB1*06. Citu gēnu sastopamība DRB1* starp slimajiem un veselajiem indivīdiem maz atšķirās vai arī nebija statistiskas ticamības.

Kas attiecas uz lokusa HLA-DRB1* genotipiem, tad iegūtos rezultātus sadalīja piecās grupās un tika konstatētas dažas sakritības. Riska genotips parasti sastāv no atklātiem gēniem, kā arī riska gēni kārtējo reizi apstiprina dažādu gēnu ietekmes pakāpi uz atšķirīgu klīnisko variantu attīstības ģenētisko predispozīciju infekcijas slimības norises procesā. Protektīvo gēnu esamība ietekmē noteiktu indivīdu rezistenci attiecīgajos patoloģiskos procesos.

Praktiski pierādītas riska alēles DRB1*03; DRB1*05; DRB1*07 visās apskotajās grupās. Lielāka riska pakāpe pastāv ar HIV vīrusu inficētajiem pacientiem.

Genotipi DRB1*02/03; DRB1*02/05, DRB1 07/07, kuri sastāv no alēļu riska teorētiskā pierādījuma visās grupās, uzrādīja paaugstinātu risku (3. tab.). Protektīvās alēles DRB1*04, DRB1*06, kopējā genotipu grupā DRB1*01, DRB1*02 palēnina infekcijas procesu.

Var secināt, ka genotips DRB1*02/03; DRB1*02/05, DRB1 07/07 ir ģenētiskais marķieris ar palielinātu hronisku infekcijas procesu rašanās risku. Alēļu genotips DRB1*01; DRB1*06 uz šo slimību attiecas, radot minimālu risku, un no tā izriet, ka tas mazina infekcijas procesu, kā arī nerada komplikācijas pēc slimības.

Vēl nepieciešams izpētīt alēļu savstarpējās sakarības mehānismu, kā arī haplotipu un genotipu kombinācijas (4. tab.).

Gēna polimorfisma analīze lokusā HLA-DQA1* dažādu grupu HIV inficētiem pacientiem

Turpmāk HIV inficētajiem pacientiem analizējamās izlases veidā tiek noteikti gēna DQA1 8 alēļu varianti (5. tab.).

5. tabula

HLA-II klases alēles lokusā HLA-DQA1* sastopamības biežums dažādās klīniskās grupās HIV inficētiem pacientiem

HLA-DQA1	Kopējā HIV/AIDS grupa	AIDS grupa	Hetero/sek. grupa	Homo/sek. grupa	IVNL grupa
Imūnģenētiskie riska marķieri (predisponēšanas marķieri)					
Alēles (OR/p)	0101 (1.78/0.0001) 0201 (1.42/0.042) 0301 (1.70/0.001)	xxxxxxxx	0101 (1.37/0.051)	0301 (1.49/0.156)	0601 (2.53/0.018)
Geno tipi (OR/p)	0101/0501 (2.85/0.004) 0102/0301 (4.23/0.001)	0101/0501 (1.18/0.755) 0102/0301 (1.34/0.270)	0101/0501 (5.29/0.0001) 0102/0301 (3.60/0.003)	0101/0301 (9.37/0.0001) 0102/0301 (3.37/0.005) 0201/0501 (2.70/0.042)	0101/0501 (4.46/0.0001) 0102/0301 (3.30/0.0001) 0103/0301 (4.05/0.044)
Protektīvie marķieri (rezistences marķieri)					
HLA-DQA1	Kopējā HIV/AIDS grupa	AIDS grupa	Hetero/sek. grupa	Homo/sek. grupa	IVNL grupa
Alēles (OR/p)	0401 (0.43/0.002)	0401 (0.37/0.025)	0401 (0.62/0.113)	04 (0.68/0.492)	0501 (0.74/0.038)
Geno tipi (OR/p)	0601/0601 (0.24/0.050)	0101/0401 (0.41/0.221) 0102/0401 (0.54/0.048)	xxxxxxxx	0103/0103 (0.76/0.557)	0102/0103 (0.25/0.083) 0103/0103 (0.46/0.001) 0601/0601 (0.39/0.051)

OR - izredžu attiecība (angļu val. - odds ratio); p < - būtiskuma līmenis

Analizējot gēnu polimorfismu lokusa DQA1* gēnos dažādās HIV inficēto pacientu grupās, tika konstatētas riska asociācijas ar specifisku HLA-DQA1*0101; 0601; 0201; 0301 un protektīvas asociācijas ar DQA1*0103; 0401; 0501 (5. tab.).

Citu gēnu HLA-DQA1* sastopamība slimajiem un veselajiem

individīdiem atšķiras maz vai arī šī atšķirība ir nenozīmīga.

Kas attiecas uz lokusa HLA-DQA1* genotipu (5. tab.), tad iegūtie rezultāti ir iedalīti piecās grupās un norāda uz dažām sakritībām. Protektīvo gēnu pastāvēšana genotipā ietekmē attiecīgo indivīdu rezistenci pret attiecīgiem patoloģiskajiem procesiem. Mehānismi savstarpēji saista alēles, bet genotipu kombinācijām nepieciešama tālāka izpēte (5. tab.).

Gēnu polimorfisma analīze lokusā HLA-DQB1* dažādās hiv inficēto pacientu grupās

Turpmāk HIV inficētajiem pacientiem analizējamās izlases veidā tiek noteikti gēna DQA1 10 alēļu varianti (6. tab.).

6. tabula

HLA-II klases alēles lokusā HLA-DQB1* sastopamības biežums dažādās klīniskās grupās HIV inficētiem pacientiem

HLA-DQB1	Kopējā HIV/AIDS grupa	AIDS grupa	Hetero/sek. grupa	Homo/sek. grupa	IVNL grupa
Imūnģenētiskie riska marķieri (predisponēšanas marķieri)					
Alēles (OR/p)	0302 (4.99/0.0001) 0501 (2.67/0.0001)	0302 (1.90/0.036) 0304 (10.35/0.001)	0303 (1.71/0.040) 0304 (9.93/0.001)	0302 (1.60/0.270) 0501 (1.31/0.340)	0302 (2.20/0.001) 0304 (6.39/0.001)
Genotipi (OR/p)	0301/0302 (3.51/0.003) 0301/0502-4 (2.81/0.014) 0302/0501 (6.84/0.002) 0302/0602-8 (3.0/0.031)	0301/0302 (4.97/0.002) 0304/0304 (11.90/0.0005)	0302/0602-8 (3.17/0.025) 0304/0304 (6.90/0.002)	0201-2/0301 (2.12/0.032) 0301/0602-8 (1.83/0.050) 0401-/0602-8 (5.95/0.020)	0201-2/0501 (2.03/0.002) 0301/0302 (4.08/0.0005) 0301/0502-4 (2.86/0.013) 0302/0302 (2.32/0.002) 0302/0501 (8.12/0.001)
Protektīvie marķieri (rezistences marķieri)					
Alēles (OR/p)	0301(0.39/0.0001) 0401- 2(0.43/0.003) 0601(0.21/0.001) 0602- 8(0.50/0.0001)	0602-8 (0.58/0.005)	0301 (0.71/0.020) 0602-8 (0.68/0.010)	0601 (0.36/0.330) 0602-8 (0.76/0.310)	0602- 8(0.58/0.001)

HLA-DQB1	Kopējā HIV/AIDS grupa	AIDS grupa	Hetero/sek. grupa	Homo/sek. grupa	IVNL grupa
Protektīvie marķieri (rezistences marķieri)					
Genotipi (OR/p)	0302/0401-2 (0.13/0.008) 0501/0601 0602-8/0602-8 (0.67/0.003) 0601/0601 (0.29/0.001)	0301/0602-8 (0.44/0.017) 0601/0601 (0.18/0.042)	0201-2/0502-4 (0.38/0.029) 0301/0602-8 (0.72/0.059)	xxxxxxxxxx	0302/0401-2 (0.17/0.019) 0303/0602-8 (0.29/0.002) 0401-2/0401-2 (0.50/0.042) 0601/0601 (0.25/0.0005) 0602-8/0602-8 (0.65/0.003)

OR - izredžu attiecība (angļu val. - odds ratio); $p <$ - būtiskuma līmenis

Analizējot polimorfismu gēniem lokusā HLA-DQB1* dažādās HIV inficēto pacientu grupās, tika iegūta pozitīva asociācija ar specifiskumu HLA-DQB1*0302; 0304. Šie paši gēni tika konstatēti konkrētajās pētāmajās grupās: AIDS, heteroseksuāli un IVNL HIV inficētie pacienti. HIV inficēto homoseksuālo pacientu grupā nozīmīgi (ticami) rezultāti netika iegūti, taču HIV inficēto heteroseksuālo pacientu grupā netika noteikts gēns HLA-DQB1*0302. HIV inficēto heteroseksuālo pacientu grupā bez alēles HLA-DQB1*0304 atklāja ticamu biežāku gēna HLA-DQB1* 0303 sastopamību. Protektīvās asociētās alēles ir DQB1*0301; 0401-2; 0602-8. Citu HLA-DRB1* gēnu biežums nenozīmīgi atšķiras slimajiem un veselajiem indivīdiem vai arī šī atšķirība nav ticama (6.tab.).

Kas attiecas uz genotipiem lokusā HLA-DQB1 (6.tab.), ir konstatētas dažas iegūto rezultātu sakritības piecās grupās. No atklātiem gēniem lielākoties sastāv gan riska genotips, gan arī riska gēni, kas kārtējo reizi apstiprina dažādu gēnu noteikto ietekmi uz infekcijas slimības norises procesu. Gēnu protektīvā esamība gēnos ietekmē konkrēto indivīdu rezistenci attiecīgo patoloģisko procesu gaitā (6. tab.). Vēl jāizpēta alēļu savstarpējās sakarības mehānisms, kā arī haplotipu un genotipu kombinācijas.

HLA II KLASES HAPLOTIPU PĒTĪJUMI

Starplokusu gēnu kombinācijas pētījums dažādās HIV/AIDS inficēto pacientu grupās

Nākamā imūnģenētiskā izpēte tika veikta, lai noskaidrotu iespējamās asociācijas starp HIV/AIDS attīstības risku un noteiktiem HLA II klases gēnu haplotipiem – DRB1*/DQA1*/ DQB1*. Tādēļ tika veikta analīze, lai salīdzinātu HLA haplotipu sastopamības biežumu HIV inficētajiem pacientiem dažādās grupās un kontrolgrupā (veselie Latvijas iedzīvotāji). (7. tab.)

7. tabula

HLA-II klases alēles lokusā HLA-DQB1* sastopamības biežums dažādās klīniskās grupās HIV inficētiem pacientiem

HLA DQB1/DQB1/DQA1	Kopējā HIV/AIDS grupa	AIDS grupa	Hetero/sek. grupa	Homo/sek. grupa	IVNL grupa
Imūnģenētiskie riska haplotipi (predisponēšanas haplotipi)					
01/0302/0301	6.17/0.027				9.52/0.007
01/0501/0101		2.35/0.009		2.41/0.032	
02/0302/0102	8.34/0.013				11.04/0.003
02/0302/0301	8.34/0.013				10.53/0.004
02/0501/0101		3.49/0.039		5.32/0.013	
03/0501/0101	2.66/0.032				3.11/0.013
05/0301/0501		2.03/0.002	1.68/0.035		
	(OR/p)	(OR/p)	(OR/p)	(OR/p)	(OR/p)
Protēktīvie haplotipi (rezistences haplotipi)					
01/0301/0102	0.44/0.054		0.11/0.009		
01/0602-8/0102	0.27/0.008				0.22/0.008
01/0602-8/0103	0.31/0.030				0.14/0.008
06/0602-8/0102	0.24/0.0001		0.33/0.005		0.17/0.0001

OR - izredžu attiecība (angļu val. - odds ratio); $p <$ – būtiskuma līmenis

Tādējādi, asociācijas sakarības izpēte starp noteiktu gēnu salikumu HLA II klases DRB1*, DQA1*, DQB1* un HIV noteica, ka paaugstināta riska imūnģenētiskie marķieri, kas attīsta sindromātisko kompleksu AIDS, ir alēļu grupās DRB1*03(17;18), DRB1*07 un DRB1*05, ar specifiskumu DQA1*0101 un DQB1*0501, kā arī trīslokusa haplotipiem HLA-DRB1*01/

DQA1*0101/ DQB1*0501, DRB1*10/DQA1*0101/DQB1*0501 un DRB1*04/DQA1*0301/ DQB1*0302. Rezistence pret sindromu kompleksu AIDS ir noteikta fenotipam alēles grupā HLA-DRB1*02, ar specifiskumu HLA-DQA1*0102 un haplotipisku kombināciju DRB1*02/DQA1*0102/DQB1*0602 un DRB1*02/DQA1*0103/ DQB1*0601.

Gēnu konformācijas polimorfisma pētījumi otrā eksona DRB1*0101 HIV inficētiem pacientiem AIDS stadijā

No iegūtajiem datiem var secināt, ka noteikti gēnu haplotipi HLA-DRB1*, DQA1*, DQB1* HIV inficētiem pacientiem ir atbildīgi par predispozīciju un protektīvajām funkcijām (8. tab.).

Iegūtie rezultāti liecina, ka alēlei HLA-DRB1*0101 piemīt protektīvas īpašības HIV infekcijas attīstībā. Tomēr kombinācijās ar dažiem alēļu variantiem, kas atrodas HLA lokusā, alēle DRB1*0101 vairs neveic savas protektīvās funkcijas.

Ņemot vērā gēnu uzbūvi (5. att.), tiek uzskatīts, ka prezentējošās molekulas HLA II –DRB1*0101 klases veidošanos ietekmē gēna DRB1*0101 2. eksons.

Zināms, ka molekulas HLA II klases α ķēdes un β ķēdes veidošanās tiek kodēta, tieši pateicoties 2. eksona HLA-DRB1*, DQA1* un DQB1* gēniem.

Tiek uzskatīts, ka 2. eksona konformācijas izmaiņas HLA II klases gēnos var ietekmēt imūnās atbildes veidošanos.

Lai izpētītu šo fenomenu, ar sekvenēšanas metodi tika noteikta gēna HLA-DRB1*0101 2. eksona nukleotīdu secība. Esošais reģions 290 bp kodē nukleotīdu polimorfismu. Šis nukleotīdu reģions ir atbildīgs par vīrusa peptīda saistīšanu uz HLA molekulas virsmas.

Pētot gēna HLA-DRB1* 0101 otrā eksona nukleotīdu polimorfismu, pacienti tika sadalīti trijās grupās (8. tab.)

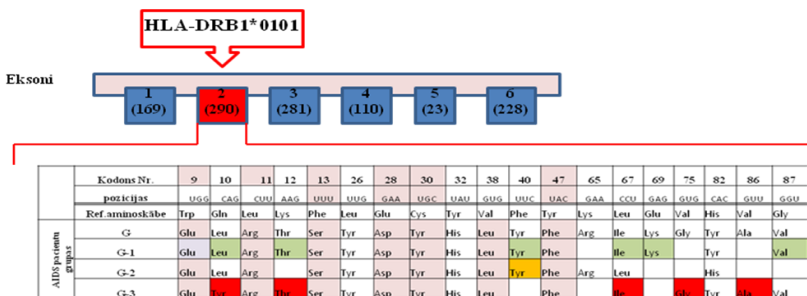
8. tabula

Kopējās pētījuma populācijas un analizējamo apakšgrupu raksturojums

Raksturlielums	Mērvienība, prezentācijas veids	Vērtība (N)
Kopējā AIDS grupa	visi HIV inficētie pacienti AIDS stadijā	100 (100%).
G-1 grupa	pacienti, kuriem ilgāk par 6 gadiem tika novērota ilgstoša remisija	21 (21%)
G-2 grupa	pacienti, kuriem ilgāk par 6 gadiem tika novērota remisija saņemtās terapijas rezultātā	7 (7%)
G-3 grupa	pacienti, kuriem tika reģistrēta fulminanta AIDS sindroma attīstība	10 (10%)
G grupa (Kontrolgrupa)	veseli asins donori (Latvijas iedzīvotāji)	23 (100%)

DRB1 gēna 2. eksona iegūto sekvenču analīze: salīdzināšana ar atsauces sekvenci (DRB*01010101 alēli) tika veikta, izmantojot *Contig Express* (Invitrogen, USA) datorprogrammu un IMGT/HLA datu bāzi (*the international ImMunoGeneTics database*).

Ņemot vērā nukleotīdu polimorfisma sastopamību 2. eksona HLA-DRB1*0101 gēnā, tika atrasti šī eksona mutāciju „karstākie punkti”: 9., 11.,13., 28.,30., 38., 47. un 82. kodonā. Vienam HIV pacienta paraugam tika novērots STOP kodons (13. kodonā). Turklāt novērota līdzsvarota nukleotīdu transversijas un tranzīcijas attiecība, kas liecina par mutāciju 2. eksonā (transversija cilvēka genomā sastopama ļoti reti) (5. att.).



5. att. Otrā ekzona gēna DRB1*0101 polimorfisma HIV inficētiem pacientiem AIDS stadijā

No iegūtajiem rezultātiem var secināt, ka nukleotīdu secības konformācija 2. eksonā izraisa aminoskābju maiņu HLA molekulās. Šīs izmaiņas var ietekmēt molekulas pamata funkciju – vīrusa peptīdu piestiprināšanos un prezentāciju. Tiek uzskatīts, ka sindromkompleksa AIDS fulminantā attīstība var būt saistīta ar aminoskābju maiņu 10. (Gln→Tyr), 12. (Lys→Thr), 67. (Leu → Ile), 75. (Val → Gly), 86. (Val →Ala) kadoņā. Pacientiem, kuriem ilgāk par 6 gadiem tika novērota ilgstoša remisija (grupa G-1), kas saistīta ar aminoskābju maiņu 10. (Gln→Tyr), 12. (Lys→Thr), 40. (Phe → Tyr), 69., (Leu→ Lys), 87. (Gly →Val) kadoņā; pacientiem, kuriem ilgāk par 6 gadiem tika novērota remisija saņemtās terapijas rezultātā (grupa G-2), kas saistīta ar aminoskābju maiņu: 40. (Phe → Tyr), 65., (Lys→ Arg) kadoņā (5.att.).

Korelācijas pētījumi starp HIV vīrusa RNS kopiju skaits plazmā (HIV vīrusa slodzes), CD4+ limfocītu skaits subpopulācijās perifēriskajās asinīs un haplotipiem HLA II klases HIV/AIDS pacientiem

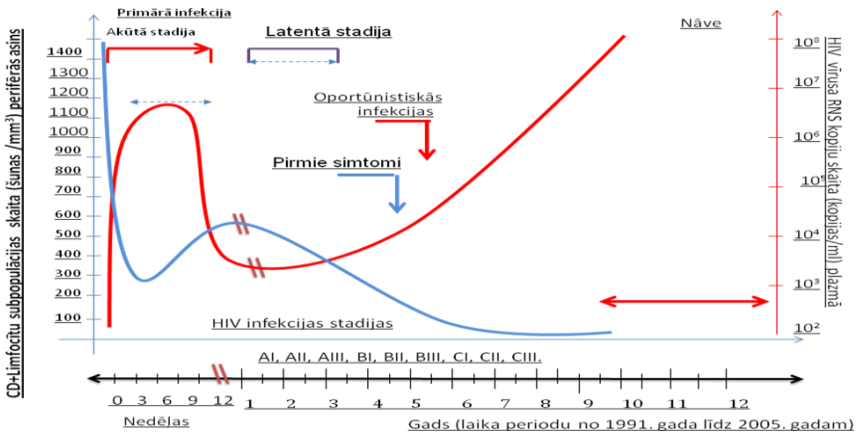
Galvenais klīniskās gaitas kritērijs ir šūnu CD4+ skaits un vīrusa slodze (HIV vīrusa slodzes tests) pacienta asinīs, tomēr konkrētie laboratoriskie rādītāji neatspoguļo tiešo klīnisko ainu. CD4+ šūnu daudzums, kas ir oportūnisko infekciju AIDS riska indicators brīvā veidā asinīs ir tikai nelielā daudzumā, jo vīrusa inficēto šūnu daudzums atrodas limfajos, kas apgrūtina klīniskās ainas novērtēšanu. Laboratoriskie dinamisko analīžu sadales rādītāji pierādījuši (HIV vīrusa RNS kopiju skaits plazmā un CD4+ limfocītu skaits subpopulācijas perifēriskajās asinīs), ka vīrusu slodzes pazemināšanās korelē ar paaugstināto CD4+ subpopulācijas šūnu daudzumu perifēriskajās asinīs, kas atbilst literatūrā minētajiem rādītājiem. Terapija, kura ietelmē (pazemina) HIV vīrusa replikāciju, sniedz lielas klīniskās priekšrocības. Klīniskai prognozei ir vajadzīgi papildkritēriji (marķieri), kuri ļauj noteikt izteiktas un aktīvas infekcijas, kā arī procesa dinamikas pakāpi katrā konkrētā gadījumā. Papildu kritēriju vērtējumiem tika pētīta arī HIV vīrusa RNS kopiju skaits plazmā un CD4+ limfocītu skaits subpopulācijas perifēriskajās asinīs dinamikā HIV/AIDS inficētiem pacientiem. Pētījumi tika veikti HIV inficēto grupā (N=360), kuru slimības periods ilga no 8 līdz 10 gadiem. Konkrētajā grupā tika atlasīti un pētīti pacienti, kuriem ir dažādi HLA II klases haplotipi (9. tab., 6. att. un 10. tab., 7. att.).

Pirmā grupā (N=314) haplotipi asociējas ar infekcijas procesa attīstības risku: HLA-DRB1*/DQB1*/DQA1*01/0302/0301; 01/0501/0101; 02/0302/0102; 02/0302/0301; 02/0501/0101; 03/0501/0101; 05/0301/0501 (9. tab., 6. att.).

Dinamika HIV vīrusa RNS kopiju skaits plazmā un CD4+ limfocītu skaits subpopulācijās perifēriskajās asinīs paaugstinātā riska HIV/AIDS pacientu grupā

Haplotipi ar augstāko riska pakāpi HIV/AIDS inficētajiem pacientu grupā HLA-DRB1*/DQB1*/DQA1*	Kopējā HIV/AIDS grupa N=314	CD4 šūnu skaits š/mm ³					HIV vīrusa RNS slodze kopijas/ml				
		12 ned.	4 g.	8 g.	10g.	12g.	12 ned	4 g.	8 g.	10g.	12g.
*01/0302/0301	20	450	340	500	200	140	40000	9000	10 ⁴	10 ⁸	10 ⁸
*01/0501/0101	67										
*02/0302/0102	27										
*02/0302/0301	27										
*02/0501/0101	37										
*03/0501/0101	43										
*05/0301/0501	93										

N- pacientu skaits



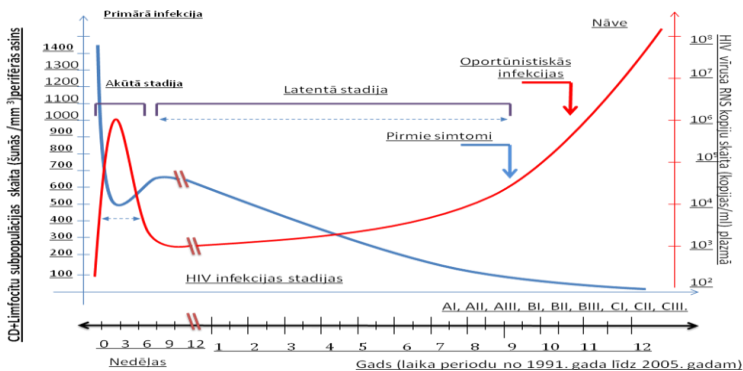
6. att. Dinamika HIV vīrusa RNS kopiju skaits plazmā un CD4+ limfocītu skaits subpopulācijās perifēriskajās asinīs paaugstinātā riska HIV/AIDS pacientu grupā

Otrā grupa (N=46) haplotipi asociējas ar infekcijas procesa aizsargspējām – rezistences grupa HLA-DRB1*/DQB1*/DQA1*01/0301/0102; 06/0602-8/0102; 01/0602-8/0102; 01/0602-8/0103. (10.tab., 7. att.)

Dinamika HIV vīrusa RNS kopiju skaits plazmā un CD4+ limfocītu skaits subpopulācijās perifērās asinīs HIV/AIDS rezistences pacientu grupā

Haplotipi ar rezistenci riska pakāpi HIV/AIDS inficētajiem pacientu grupā HLA-DRB1*/DQB1*/DQA1*	Kopējā HIV/AIDS grupa N=46	CD4 šūnu skaits š/mm ³					HIV vīrusa RNS slodze kopijas/ml				
		12 ned.	4 g.	8 g.	10g.	12g.	12 ned.	4 g.	8 g.	10 g.	12 g.
*01/0301/0102	13	700	940	760	300	200	5000	300	10 ³	10 ⁴	10 ⁸
*01/0602-8/0102	8										
*01/0602-8/0103	7										
*06/0602-8/0102	18										

N- pacientu skaits



7. att. Dinamika HIV vīrusa RNS kopiju skaits plazmā un CD4+ limfocītu skaits subpopulācijās perifērās asinīs HIV/AIDS rezistences pacientu grupā

Analīžu rezultāti paaugstināta riska HIV/AIDS pacientu grupā, ļauj atzīmēt zināmu latentā perioda samazināšanos un nelielu akūtās stadijas pagarināšanos, salīdzinot ar HIV/AIDS pacientiem no rezistences grupas (4. att.). Tātad, konkrētie pētījumi apstiprina HIV vīrusa RNS kopiju skaits plazmā (HIV vīrusa slodzes), CD4+ limfocītu skaits subpopulācijās perifēriskajās asinīs un HLA II klases haplotipa korelāciju HIV/AIDS pacientiem.

Analīžu rezultāti sakrīt ar literatūras datiem, apliecinot, ka virēmijas samazināšanās korelē ar CD4+ šūnu lielāku daudzumu. Pētījumā konstatētās sakarības starp noteiktiem asociētiem marķieru HLA II klases gēniem parāda tiešo sakarību starp haplotipiem ar CD4+ šūnu dinamiku un HIV RNS līmeni plazmā HIV/AIDS inficētiem pacientiem. Tātad, haplotipa HLA II klases gēnus var izmantot arī par papildprognozējošu kritēriju, kurš atšķībā no CD4+ šūnām un HIV RNS līmeņa rādītājiem nemainās visu indivīda dzīvi un nav dinamisks.

Antiretrovīrusu terapijas (ART) efektivitātes salīdzinājums ar dažādiem HLA II klases haplotipiem

HIV/AIDS grupas pacientiem, kuru ārstēšanā izmantoja ART terapijas pamatshēmu, tika veikta HLA II klases haplotipu sadales analīze.

Kopējā pētāmā grupā tika iekļauti HIV/AIDS inficētie pacienti:

1. kuriem tika nozīmēta ART terapija;
2. kuri agrāk nebija saņēmuši ART;
3. kuri ir maksimāli ievērojuši režīmu;
4. kuri 24-48 nedēļas tika ārstēti, izmantojot ART pamatshēmu.

No 2003. gada līdz 2009. gadam ART terapiju saņēma 415 cilvēki (Latvijas Infektoloģijas centra dati).

Pētījumā tika iekļauti 254 ar HIV inficēti pacienti, no kuriem 195 bija vīrieši un 59 – sievietes (pacientu vidējais vecums 34,7 gadi). Salīdzinot dažādas HIV infekcijas klīniskās klasifikācijas, jāsecina, ka 152 pacientiem tika diagnosticētas HIV infekcijas pazīmes B(II) (bezsimptomu infekcija) vai arī B(II) (ģeneralizētā limfadenopātija), 40 B(III), bet 62 gadījumos otrreizējā saslimšanas stadija A(III). 63 no 254 ar HIV inficējās, intravenozi ievadot narkotiskās vielas. 132 bija heteroseksuāli pacienti un inficējās dzimumceļā, bet 59 bija homoseksuāli kontakti ar HIV inficētiem partneriem.

1. Terapijas shēma iekļauj pamatshēmu ART: NNRTI+2NRTI-EFV+3TC/AZT (*Efavirenz+Lamivudine/Azidothymidine*) EFV+ABC/ 3TC (*Efavirenz+Abacavir/Lamivudine*);
2. Vai PI+2NRTISQV+RTV+3TC/AZT (*Saquinavir/Ritonavir+Lamivudine/Azidothymidine*);
3. Monitoringam izmantoja CD4+limfocītu un HIV vīrusa slodzes imunoloģiskos rādītājus, kurus ieguva, novērojot pacientus 24–48 nedēļas;

Terapijas efektivitātes kritēriji:

- HIV vīrusa RNS slodze <400 kop/ml – pēc 16–24 nedēļām;
- CD4+ šūnu pieaugums par 30–70 š/mm³ pirmajos trīs mēnešos, par 100-150 š/mm³ gada laikā;
- pēc trīs mēnešu terapijas nav jaunu oportūnistisko slimību.

Pirms terapijas visiem pacientiem CD4 + šūnu daudzuma mediāna bija 155 š/mm³, bet HIV vīrusa RNS slodzes mediāna – 55 tūkstoši kopiju/ml.

Pētāmajā grupā tika veikta HLA II klases haplotipu sadales analīze.

Pētot HLA II klases haplotipus, tika secināts, ka vislielākā ticamā asociācija ar augstu imunoloģisko efektivitāti ir haplotipiem HLA-DRB1*/DQB1*/DQA1*01/0602-8/0103; *01/0301/0102; *06/0602-8/0102, sastopamības biežums (gf=0,36/0,09). Pēc 12 terapijas nedēļām CD4+ limfocītu daudzums konkrētajā grupā palielinājās līdz 600–700 šūnām vienā ml – HIV vīrusa RNS slodze pazeminājās līdz 5 tūkstošiem kopiju/ml, pēc 24–48 terapijas nedēļām – limfocītu CD4+ pieauga līdz 806-900 š/mm³, (par 450–500 š/mm³) un HIV vīrusa slodzes RNS samazinājās <400 kopijām/ml (pazeminājums par 20–30 tūkstošiem kopiju/ml). Šie dati liecina par efektīvu ART terapiju.

Pētāmajās grupās ar esošajiem haplotipiem ārstēšanas procesā nevienam pacientam netika novērota HIV infekcijas klīniskā progresija (latentas oportūnistiskas infekcijas saasinājums).

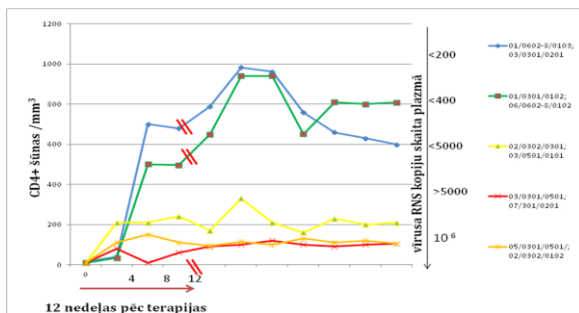
Asociācija ar zemu imunoloģisku efektivitāti bija reģistrēta haplotipiem: HLA- DRB1*/DQB1*/DQA1*02/0301/0301; *03/0501/0201; *03/0301/0501; *07/0301/ 0201; *05/0301/0501; *02/0302/0102, sastopamības biežums ($gf=0,03/0,04/ 0,05$).

Pacientu, kuriem ir konkrētais haplotips, ārstēšana arī veicina pakāpenisku CD 4+ šūnu daudzuma palielināšanos asinīs un samazina HIV RNS pētāmajā HIV/AIDS inficēto pacientu grupā. Pēc 12 nedēļu ārstēšanās veidojās CD 4+ šūnu daudzuma palielināšanās tendence, taču palielinājums nebija liels, vidēji 50–100 šūnu uz 1 ml bet HIV vīrusa RNS daudzums vidēji pazeminājās par 2000 kopijām/ml. Pie kam pietiekami augsti HIV RNS rādītāji saglabājās arī pēc 24–48 terapijas nedēļām (55 tūkstoš kopiju/ml). Pētāmajās grupās ar konkrētajiem haplotipiem tika reģistrēti latentu oportūnistisku infekciju saasinājumi, bet pēc 12 nedēļām pēc ART sākuma – blakus efekti (hiperjutīgums, diareja, vemšana u.c.) (11. tab., 8. att.). 55 (21%) no 254 pacientiem, kuriem piemēroja monitoringu, ārstēšana bija neefektīva. Turklāt 29 (11%) pacientiem neefektīvas ārstēšanas cēlonis bija slikta uzņēmība pret konkrēto terapiju, rezultātā – atkarība no zālēm. 11 pacienti pārtrauca ārstēšanos pēc viena mēneša, bet 15 pacientiem trīs mēnešu laikā nebija manāma pozitīva dinamika, kas galvenokārt saistīta ar zāļu lietošanas režīma neievērošanu.

**Saistība starp efektīvāko terapiju un HLA- DRB1*/DQB1*/DQA1* haplotīpiem
HIV/AIDS inficēto pacientu grupā**

DRB1* & DQB1* & DQA1	Pacientu kopā N = 254	Terapijas sākums		pēc 12 nedēļām		pēc 24-48 nedēļām	
		CD4 šūnu skaits š/mm ³	HIV vīrusa RNS slodze kopijas/ ml	CD4 šūnu skaits š/mm ³	HIV vīrusa RNS slodze kopijas/ ml	CD4 šūnu skaits š/mm ³	HIV vīrusa RNS slodze kopijas/ ml
*01/0602- 8/0103 *03/0301/ 0201	51/0,36	140	46000	961	5000	598	<400
*01/0301/ 0102 *06/0602- 8/0102	13/0,09	234	38000	940	2000	809	< 40-100
*02/0301 /0301 *03/0501/ 0201	7/0,03	210	37000	270	32000	298	>5000
*03/0301/ 0501 *07/0301/ 0201	8/0,04	80	70000	120	64000	155	56000
*05/0301/ 0501 *02/0302/ 0102	10/0,05	110	66000	99	60000	104	50000

N – pacientu skaits; Tiek parādīti tikai ticami rezultāti p<0,005



8. att. Monitorings. Antiretrovīrusa terapijas imunoloģiskās efektivitātes likne HIV inficēto pacientu grupai (N=254)

Kopumā iegūtie dati liek secināt, ka radusies korelācija starp HLA DRB1*/DQB1*/DQA1 *01/0628/0103; *01/0301/0102; *06/0602-8/0102 haplotipiem un efektīvu ART terapijas pamatshēmu (HIV RNS līmenis pazeminājās un ir mazāk kā 400 kopijas uz 1 ml, bet mediānas daudzums CD4+ limfocītos palielinājās par 600 šūnām 1 ml).

Haplotipu HLA DRB1*/DQB1*/DQA1*02/0301/0301; *03/0501/0201; *03/0301/0501; *07/0301/0201; *05/0301/0501; *02/0302/0102 prognozes nozīme liecina par mazāk efektīvu atbildi uz ART terapijas pamatshēmu. Konstatēti blakusefekti, kas saistās ar gremošanas trakta, latenti oportūnistiskās infekcijas saasinājumi, kas ir saistīti ar zemiem imunoloģiskiem rādītājiem (CD4+ limfocīti 250-300 š/mm³; HIV vīrusa RNS slodze 55 tūkstoši kopiju/ml).

Šie rezultāti ir ļoti svarīgi, pētot HLA II klases gēnu polimorfismu, un raksturo tos kā galvenos „cīnītājus” ar infekcijas aģentiem.

Nosakot HLA II klases haplotipus, tikai daļēji var panākt veiksmīgu terapiju – rezultātus var vērtēt kombinācijā ar citiem veiksmīgiem risinājumiem. Nākotnē varbūt pirms dažādu terapijas veidu nozīmēšanas būs iespējams ieviest obligātu HLA tipu noteikšanu.

SECINĀJUMI

1. Noskaidrots gēnu DRB1; DQA1; DQB1 sastopamības biežums un DRB1-DQA-DQB1 kombinācijas piecās HIV inficēto pacientu grupās. Tika veikta salīdzinošā analīze arī veselo donoru grupā (kontrolgrupā).
2. Noteikti alēļu ģenētiskie marķieri, attīstoties HIV infekcijai – HLA DRB1*03; 05; 07; HLA- DQA1*0101; 0201; 0301; 0601; HLA-DQB1*0302; 0501; 0303; 0304, kā arī rezistences marķieri, kas ir saistīti ar lēnu HIV infekcijas attīstīšanos – HLA DRB1*01; 04; 06; HLA- DQA1*0103; 0401; 0501; HLA-DQB1*0301; 0303; 0401-2; 0601; 0602-8 dažādās pacientu grupās.
3. Noteikti augsta riska HLA haplotipu marķieri HIV infekcijas attīstīšanās gadījumā: HLA-DRB1*03/DQB1*0501/DQA1*0101; DRB1*05/ DQB1*0301/DQA1*0501, DRB1*01/DQB1*0302/DQA1*0301 un DRB1*01/DQB1*00501/DQA1*0101.
4. Noteikti rezistences HLA haplotipu marķieri HIV infekcijas attīstīšanās gadījumā: HLA-DRB1*01/DQB1*0602-8/DQA1*0102; DRB1*06/DQB1*0602-8/DQA1*0102; DRB1*01/DQB1*0301/DQA1*0102; un DRB1*06/DQB1*0602-8/ DQA1*0102 dažādās HIV/AIDS pacientu grupās.
5. Noteikti nukleotīdu secības konformācija 2.eksonā izraisa aminoskābju maiņu HLA molekulās. Šīs izmaiņas var ietekmēt molekulas pamata funkciju – vīrusa peptīdu piesaistīšanos un prezentāciju. Tiek uzskatīts, ka sindromkompleksa AIDS fulminantā attīstība var būt saistīta ar aminoskābju maiņu 10. (Gln→Tyr), 12. (Lys→Thr), 26. (Leu→Tyr), 32. (Tyr →His), 47. (Tyr →Phe), 87. (Gly →Val) pozīcijās.
6. Apstiprināta korelācija starp HIV vīrusa RNS kopiju skaitu plazmā (HIV vīrusa slodze), CD4+ limfocītu subpopulāciju skaits perifēriskajās asinīs un HLA II klases haplotipiem HIV/AIDS pacientiem. Fulminantā attīstība un tās ātri progresējošā norise asociējas ar šādiem haplotipiem: HLA –

DRB1*01 DQB1*0302/DQA1*0301; HLA-DRB1*01/DQB1*0501/DQA1*0101; HLA-DRB1*02/DQB1*0302/DQA1*0102; HLA-DRB1*02/DQB1*0302/DQA1*0301; HLA-DRB1*02/DQB1*0501/DQA1*0101; HLA-DRB1*03/DQB1*0501/DQA1*0101; HLA-DRB1*05/DQB1*0301/DQA1*0501. Mērena HIV vīrusa aktivitāte un tās labvēlīga slimības norises gaita asociējas ar šādiem haplotipiem: HLA-DRB1*01/DQB1*0602-8/DQA1*0102; HLA-DRB1*06/DQB1*0602-8/DQA1*0102; HLA-DRB1*01/DQB1*0301/DQA1*0102; un HLA-DRB1*06/DQB1*0602-8/DQA1*0102 dažādās HIV/AIDS pacientu grupās.

7. Noteikta korelācija starp haplotipiem: HLA-DRB1*/DQB1*/DQA1*01/0602-8/0103; *01/0301/0102; *06/0602-8/0102 ar efektīvu ART pamatshēmas pielietojumu un noteikta korelācija starp haplotipiem: HLA-DRB1*/DQB1*/DQA1*02/0301/0301; *03/0501/0201; *03/0301/0501; *07/0301/0201; *05/0301/0501; *02/0302/0102, kura liecina par mazāk efektīvu atbildi uz ART pamatshēmu.
8. Iegūtie rezultāti liecina, ka identificējot HLA gēnus ir iespējams izprast molekulāros mehānismus AIDS sindromkompleksa progresijas gadījumā, kas iespējams var noderēt inficēto pacientu klīnisko rezultātu noteikšanā.
9. Izstrādātais darbs pierādīja, ka imūnās atbildes efektivitāte ir atkarīga no noteiktā HLA II klases haplotipa, kas arī apstiprina mūsu izteikto hipotēzi par haplotipa marķiera ietekmi uz imūnās atbildes funkciju.

PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS

- Izmantot DNS HLA tipēšanu un sekvencēšanas metodi, kā visjaunāko instrumentu slimību prognostiskajā diagnostikā.
- Rekomendējam HLA haplotipu noteikšanu, pirms tiek nozīmēti dažādi terapijas veidi.
- HLA imūnģenētisko marķieru izpēte nodrošinās iespēju savlaicīgi ordinēt atbilstošu efektīvu ART terapijas pamatshēmu un veikt profilakses pasākumus. Tiem savukārt būs liela sociālā nozīme un neapšaubāms ekonomiskais efekts.

ZIŅOJUMI UN UZSTĀŠANĀS PAR DARBA REZULTĀTIEM

1. Eglīte J, Kovalčuka L, Kasjko D, Stūre G, Bekmane U, Sočņevs A, Vīksna L. HLA-DRB1*0101 exon 2 structure polymorphism's study in-patients with HIV/AIDS" Journal of Antivirals&Antiretrovirals, Journal of AIDS & Clinical Research USA.2011,3:4;ISSN:1948-5964, 227 p.
2. Eglīte J, Kovalčuka L, Kasjko D, Stūre G, Bekmane U, Sočņevs A, Vīksna L. Antiretrovīrusu terapijas (ART) efektivitātes salīdzinājums ar dažādiem HLA II klases haplotīpiem. RSU Zinātniskie raksti 2011.(*in press*)
3. Eglīte J, Kovalčuka L, Kasjko D, Stūre G, Sočņevs A, Vīksna L. HLA-DQA1 gēnu polimorfisms dažādu grupu HIV inficētiem pacientiem. RSU Research articles in medicine & pharmacy, Internal Medicine, 2010, 22-25. lpp.
4. Eglīte J, Bekmane U, Sočņevs A, Vīksna L, Rozentāle B, Stūre G. Association of Human Leukocyte Antigens with HIV infection. RSU Zinātniskie raksti, 2005, 155-157. lpp.
5. Eglīte J, Bekmane U, Sočņevs A. Molecular Analysis of HLA class II Polymorphism in Latvia. RSU Zinātniskie raksti, 2005., 158-160. lpp.
6. Eglīte J, Kovalchuk L, Hagina E, Sochnevs A, Viksna L, Sture G, Rozentale B. Associations of HLA-DRB 1 alleles with HIV infection. Med.Science International HIV&AIDS Review2003;2:127-130. lpp.
7. Eglīte J, Sochnevs A, Bekmane U, Viksna L, Rozentale B, Sture G. HLA DRB*1 antigens as a risc factor for HIV Infection in Latvia. Rīgas Stradiņa universitāte. Zinātniskie raksti, 2001;69-70. lpp.
8. Eglīte J, Sočņevs A, Bekmane U, Vīksna L, Rozentāle B, Stūre G. Sakarība starp HLA allēlem un oportūnistiskām slimībām HIV inficētiem pacientiem Latvijā. Rīgas Stradiņa universitāte. Zinātniskie raksti, 2001;142-147.lpp.
9. Deņisova A, Eglīte J, Kovalcuka L, Bekmane U, Sochnevs A. An immunogenetical Study of the healthy individuals carrying HLA A1B8 in the Latvian population. RSU AML/ RSU Zinātniskie raksti, v.2, 2000:78-82. lpp.

Tēzes

1. Eglīte J, Kovalčuka L, Kasjko D, Stūre G, Bekmane U, Sočņevs A, Vīksna L. Antiretrovīrusu terapijas (ART) efektivitātes salīdzinājums ar dažādiem HLA II klases haplotīpiem. RSU Zinātniskās konferences tēzes, 2011. 183. lpp.
2. Eglīte J, Sochnev A, Viksna L. HLA- DRB1*0101 exon 2 structure polymorphism's study in-patients with HIV/AIDS. EFI-Tissue Antigens, 2010. 489. p
3. Eglīte J, Kovalčuka L, Kasjko D, Stūre G, Sočņevs A, Vīksna L.

- HLA-DQA1 gēnu polimorfisms dažādu grupu HIV inficētiem pacientiem. RSU Zinātniskās konferences tēzes, 2010. 204. lpp.
- Eglīte J, Kovaļčuka L, Bekmane U, Sočņevs A, Stūre G, Vīksna L, Rozentāle B. Human Leukocyte Antigens (HLA) II Class and Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) Disease Progression. Proceedings of The Latvian Academy of Sciences, vol.61, 2007, No.5, book 165-166. p.
 - Eglīte J, Kovaļčuka L, Bekmane U, Sočņevs A, Stūre G, Vīksna L, Rozentāle B. Human Leukocyte Antigens (HLA) II Class and Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) Disease Progression. Proceedings of The Latvian Academy of Sciences, vol.61, 2007, No.5, abstract book 165-166. p.
 - Eglīte J, Sočņevs A, Abarinova L, Stūre G, Kovaļčuka L, Vīksna L, Rozentāle B. HIV inficēto pacientu diagnostikas imunoģenētiskie aspekti. RSU Medicīnas nozares zinātniskā konference, tēzes, 2006. 140. lpp.
 - Eglīte J, Bekmane U, Kovalchuka L, Shitova O, Sture G, Rozentale B, Viksna L, Sochnevs A. "HLA DRB1 and DQB1 alleles in HIV infected patients in Latvia." 15th European Immunology Congress (EFIS 2003), Rhodes, Greece, Immunology letters, Vol.87, Numb.1-3, 2003, 193.p.
 - Eglīte J, Bekmane U, Kovalchuka L, Shitova O, Sochnevs A, Stūre G, Majore A, Vīksna L, Rozentāle B. HLA DR alleles as accelerators of opportunistic infection's progression in human immunodeficiency syndrome (AIDS). RSU Medicīnas nozares zinātniskās konferences tēzes, 2003., 85.p.
 - Eglīte E, Kovalchuk L, Bekmane U, Shitova O, Hagina E, Sochnevs A, Sture G, Viksna L, Rozentale B. Associations of HLA-DRB1 genotypes with susceptibility or resistance to AIDS disease development. 3rd Baltic Region Conference "Together against AIDS" 2003. tēzes, 33.p.
 - Sochnevs A, Eglīte J. Immunogenetics problems of AIDS. 3rd Baltic Region Conference "Together against AIDS" 2003. tēzes, 45.p.
 - Sochnevs A, Eglīte E, Bekmane U, Sture G, Viksna L, Rozentale B, Shitova O. The HLA-DRB1 alleles and their association with HIV infection. Tissue Antigens, Suppl. 2002, No.2, vol.59, p.

Ustāšanās par darba rezultātiem

- Stenda referāts „Second exon gene DRB1*0101 polymorphism in HIV infected persons in AIDS or AIDS-Related Complex (ARC).” International conference on Virology " Novel Therapeutic Strategies

- inVirology".05-07.09. 2011 g Baltimora (ASV).
2. Stenda referāts „Antiretrovīrusu terapijas (ART) efektivitātes salīdzinājums ar dažādiem HLA II klases haplotipiem.” RSU Zinātniskās konference. 15.04. 2011.g. Rīgā.
 3. Uzstāšanās ar mutisku ziņojumu „Associations of HLA -DRB1; DQA1; DQB1 alleles with HIV infection in Latvia.” MC/WG Conferences on HLA and disease association, programme COST Biomedicum. 23.06.-25.06. 2010.g. Helsinki, Finland.
 4. Stenda referāts „HLA- DRB1 markers associated with human immunodeficiency virus disease progression in Latvia.” EFI Conference 2010 Immune-Related Gene Polymorphism in Health and Disease. 15.05.-18.05. 2010.g. Tallinn, Igaunija.
 5. Stenda referāts “Oportūnistisko infekciju korelācija ar HLA allēlēm HIV pozitīviem pacientiem.” RSU Medicīnas nozares zinātniskā konference. 2007. gadā. Rīga.
 6. Stenda referāts „ HIV inficēto pacientu diagnostikas imunoģenētiskie aspekti.” RSU Medicīnas nozares zinātniskā konference 2006.g. Rīga.
 7. Stenda referāts „ Association of Human Leucocyte Antigens with HIV infection.” RSU Medicīnas nozares zinātniskā konference 2004.g. Rīga
 8. Stenda referāts „Oportūnistisko infekciju saistība ar HLA allēlēm.” RSU Medicīnas nozares zinātniskā konference. 2004.g. Rīga.
 9. Stenda referāts „HLA–II DR alleles as accelerators of opportunistic infection progression in Human Immunodeficiency syndrome (AIDS).” Rīgas Stradiņa universitāte. Medicīnas nozares zinātniskā konference 2003.g. Rīga.
 10. Uzstāšanās ar mutisku ziņojumu „Immunogenetics problems of AIDS.” 3rd Baltic Region Conference Together against AIDS Latvija, 2003.g Rīga.

Izmantotā literatūra

1. www.apvienibahiv.lv
2. www.aids.lv
3. Roe D L, et al., 2007; M Thursz et al., 1999
4. Altshuler D, Daly M. J., and Lander E. S. Genetic Mapping in Human Disease. 2008 Science 322, 881-888
5. The Nobel Assembly of Karolinska Institutet has decided today to award the Nobel Prize in Physiology or Medicine for 1980 jointly to Baruj Benacerraf, Jean Dausset and George Snell for their discoveries concerning "genetically determined structures on the cell surface that regulate immunological reactions." http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1980/press.html
6. Benacerraf B. Antigen processing and presentation. The biologic role of MHC molecules in determinant selection *J Immunol.* 1988; 141: 17S-20S
7. Zinkernagel R M, Doherty P C. MHC-restricted cytotoxic T cells: studies on the biological role of polymorphic major transplantation antigens determining T-cell restriction-specificity, function, and responsiveness. *Adv Immunol.* 1979 ;27 :51-177 92183 Cit:929
8. Zinkernagel R M, Doherty P C. Restriction of in vitro T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogeneic system. *Nature.* 1974 Apr 19;248 (450):701-2 4133807 Cit:757
9. Mullis K, (1990). The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Scientific American* April 56-65
10. Mullis, K. and Faloona, F. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol* 155: 335-350
11. Cintado A, Sorell L, Galvan JA, Martinez L, Castaneda C, Fragoso T, *et al.* HLA DQA1*0501 and DQB1*02 in Cuban celiac patients. *Hum Immunol* 2006; 67:639-642.
12. Shawkatova I, Michalkova D, Barak L, Fazekasova H, Kuba D, Buc M. HLA class II allele frequencies in type 1A diabetes mellitus Slovak patients. *Bratisl Lek Listy* 2006; 107:76-79.
13. Gao J, Lin Y, Qiu C, Liu Y, Ma Y, Liu Y. Association between HLA-DQA1, -DQB1 gene polymorphisms and susceptibility to asthma in northern Chinese subjects. *Chin Med J (Engl)* 2003; 116:1078-1082.
14. Carrington M, O'Brien SJ. The influence of HLA genotype on AIDS. *Annu Rev Med* 2003; 54:535-551.
15. Hanne C. Lie, Leigh W. Simmons, and Gillian Rhodes Does Genetic Diversity Predict Health in Humans? *PLoSOne.* 2009; 4(7): e6391. Published online 2009 July 27.

16. Баранов В.С. Генетические основы предрасположенности к некоторым частым мультифакториальным заболеваниям // Медицинская генетика. 2004. № 3. С.102–111.
17. Yang S, Wang JY, Gao M, Liu HS, Sun LD, He PP, *et al.* Association of HLA-DQA1 and DQB1 genes with vitiligo in Chinese Hans. *Int J Dermatol* 2005; 44:1022-1027.
18. Kees de Joncheere, Irina Eramova, Jenni Kehler, Ulrich Laukamm-Josten, Signe Rotberga, Anna Zakowicz and Roger Drew A Report Prepared by Evaluation of the access to HIV/AIDS treatment and care in Latvia. May 2009. <http://web.worldbank.org/asap> (www.apvienibahiv.lv/docs/729/Darbibas_parskati/report_ART_Latvia_2010.doc)
19. Delves Peter J, Martin Seamus J, Burton Dennis R, Roitt Ivan M. "Roitt's Essential Immunology" eleventh edition, publishing Blackwell 2008. 75-85pp.
20. Parham P. Ed (1999) Genomic organisation of the MHC: structure, origin and function *Immunological reviews* 167.
21. HLA nomenklatūra 2010. <http://hla.alleles.org/class2.html>. Last Updated: 01-01-2011.
22. SGE Marsh, ED Albert, WF Bodmer, RE Bontrop, B Dupont, HA Erlich, M Fernández-Vina, DE Geraghty, R Holdsworth, CK Hurley, M Lau, KW Lee, B Mach, WR Mayr, M Maiers, CR Müller, P Parham, EW Petersdorf, T Sasazuki, JL Strominger, A Svejgaard, PI Terasaki, JM Tiercy, J Trowsdale Nomenclature for Factors of the HLA System, 2010 *Tissue Antigens* 2010 75:291-455.
23. SGE Marsh, ED Albert, WF Bodmer, RE Bontrop, B Dupont, HA Erlich, M Fernández-Vina, DE Geraghty, R Holdsworth, CK Hurley, M Lau, KW Lee, B Mach, WR Mayr, M Maiers, CR Müller, P Parham, EW Petersdorf, T Sasazuki, JL Strominger, A Svejgaard, PI Terasaki, JM Tiercy, J Trowsdale An Update to HLA Nomenclature, 2010 *Bone Marrow Transplantation* 2010 45:846-8.
24. Chapel H., Haeney M., Misbah S., Snowden N. "Essential Clinical Immunology" 5 –th edition publishing Blackwell 2006. Lpp. 5-32.
25. Bryant PW, Roos P, Ploegh HL, Sant AJ Deviant trafficking of I-A(d) mutant molecules is reflected in their peptide binding properties. // *Eur J Immunol* - 1999 Sep; 29(9): 2729-2739.
26. Delves Peter J., Martin Seamus J., Burton Dennis R., Roitt Ivan M. "Roitt's Essential Immunology" eleventh edition, publishing Blackwell 2008. 97-104.pp
27. Klein Jan, Sato Akie. The HLA System. *N Engl J Med* 2000; 343:702-709.

28. Chapman H.A. „Endosomal proteases in antigen presentation” *Current Opinion in immunology* 2006.18, 78-84.
29. Yvonne Jones E, Fugger Lars, Jack L. Strominger and Christian Siebold MHC class II proteins and disease: a structural perspective *Nature Reviews Immunology* 6, 271-282 (April 2006) doi:10.1038.
30. Fairweather D.”Autoimmune Disease: Mechanisms” *encyclopedia of life sciences & 2007*, John Wiley & Sons, Ltd. www.els.net
31. Хайтов Р. М., Алексеев Л. П., Болдырева М. Н. Новые представления о функции главного комплекса генов иммунного ответа человека (HLA и естественный отбор) // *Рос. физиол. журн.* - 2006. Т. 92, № 4. С. 393-401.
32. <http://pathology.dn.ua/Lectures/Immune Anormalities.shtml>
33. Crawford DC., Nickerson DA. Definition and clinical importance of haplotypes. *Annu. Rev. Med.* 2005. 56:303–20.
34. Fellay J., Shianna K.V., Ge D., et al. A Whole-Genome Association Study of Major Determinants for Host Control of HIV-1 // *Science.* - Jul 19, 2007. - 10.1126/science.1143767.
35. Ann W Morgan, James I Robinson , Philip G Conaghan Stephen G Martin , Elizabeth MA Hensor , Michael D Morgan Lori Steiner , Henry A Erlich , Hock-Chye Gooi , Anne Barton , Jane Worthington and Paul Emery for UKRAG Consortium and the YEAR Consortium. Evaluation of the rheumatoid arthritis susceptibility loci HLA-DRB1, PTPN22, LIG3/TNFAIP3, STAT4 and TRAF1/C5 in an inception cohort. *Arthritis Research & Therapy* 2010, 12:R57
36. Fries JF, Wolfe F, Apple R, Erlich H, Bugawan T, Holmes T, Bruce B. HLA-DRB1 genotype associations in 793 white patients from a rheumatoid arthritis inception cohort: frequency, severity, and treatment bias. *Arthritis Rheum.* 2002; 46(9):2320-9.
37. Irigoyen P, Lee AT, Wener MH, Li W, Kern M, Batliwalla F, Lum RF, Massarotti E, Weisman M, Bombardier C, Remmers EF, Kastner DL, Seldin MF, Criswell LA, Gregersen PK. Regulation of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in rheumatoid arthritis: contrasting effects of HLA-DR3 and the shared epitope alleles. *Arthritis Rheum.* 2005;52(12):3813-8.
38. Lundstrom E, Kallberg H, Smolnikova M, Ding B, Ronnelid J, Alfredsson L, Klareskog L, Padyukov L. Opposing effects of HLA-DRB1*13 alleles on the risk of developing anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2009; 60(4):9, 24-30 pp.
39. Brown MA. Genetics and the pathogenesis of ankylosing spondylitis. *Curr Opin Rheumatol.* 2009 Jul;21(4):318-23.

40. Miguel A. Gonzalez-Gay MD, PhD1, Carlos Gonzalez-Juanatey MD, PhD1, Javier Martin MD. *Arthritis Care & Research* Volume 59, Issue 3, pages 455–456, 15 March 2008.
41. Lee HS, Lee AT, Criswell LA, Seldin MF, Amos CI, Carulli JP, Navarrete C, Remmers EF, Kastner DL, Plenge RM, Li W, Gregersen PK. Several regions in the major histocompatibility complex confer risk for anti-CCP-antibody positive rheumatoid arthritis, independent of the DRB1 locus. *Mol Med.* 2008 May-Jun;14(5-6):293-300.
42. Hinks, A., Martin, P., Flynn, E., Eyre, S., Packham, J., Barton, A., (CAPS), C., UKRAG, J., BSPAR_Study_Group, W., Worthington, J. & Thomson, W (2010). Investigation of type 1 diabetes and coeliac disease susceptibility loci for association with juvenile idiopathic arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*, 69(12), 2169-2172. Full text DOI:10.1136/ard.2009.126938PubMed entry PMID: 20647273.
43. Gideon M. Hirschfield, M.R.C.P., Ph.D., Xiangdong Liu, Ph.D., un cit. *Primary Biliary Cirrhosis* *N Engl J Med* 06. 2009; 360.
44. Lars-Egil Fallang, Elin Bergseng, Kinya Hotta, Axel Berg-Larsen, Chu-Young Kim & Ludvig M Sollid. Differences in the risk of celiac disease associated with HLA-DQ2.5 or HLA-DQ2.2 are related to sustained gluten antigen presentation Tissue-mediated control of immunopathology in coeliac disease *Nature Reviews Immunology* Review (01 Dec 2009)
45. Geboes K. Crohn's disease, ulcerative colitis or indeterminate colitis: how important is it to differentiate? *Acta Gastroenterol Belg* 2001; 64: 197–200.
46. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a working party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol.* 2005; 19 (Suppl. A): 5–36.
47. Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, Colombel JF. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus and implications. *Gut* 2006; 55: 749–53.
48. Van der Woude Diane; Lie Benedicte A; Lundström Emeli; Balsa Alejandro; Feitsma Anouk L; Houwing-Duistermaat Jeanine J; Verduijn Willem; Nordang Gry B N; Alfredsson Lars; Klareskog Lars; Pascual-Salcedo Dora; Gonzalez-Gay Miguel A; Lopez-Nevot Miguel A; Valero Fernando; Roep Bart O; Huizinga Tom W J; Kvien Tore K; Martín Javier; Padyukov Leonid; de Vries René R P; Toes René E M. Protection against anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis is predominantly associated with HLA-DRB1*1301: a meta-analysis of HLA-DRB1 associations with anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein

- antibody-negative rheumatoid arthritis in four European populations. *Arthritis and rheumatism* 2010; 62(5):1236-45.
49. Van der Slik A R; van den Eng I; Eerligh P; Doxiadis I I N; Koeleman B P C; Roep B O; Giphart M J. Sequence variation within the major histocompatibility complex subregion centromeric of HLA class II in type 1 diabetes. *Tissue antigens* 2007;69(4):348-53.
 50. Kretowski A. L-selectin gene T668C mutation in type 1 Diabetes patients and their first degree relatives. *Immunology Letters*, Elsevier Science Publishing Company, Inc 2000 ISSN 0165-2478 pp 225 – 228.
 51. Sirikong M, Tsuchiya N, Chandanayingyong D, Bejrachandra S, Suthipinittharm P, Luangtrakool K, *et al.* Association of HLA-DRB1*1502-DQB1*0501 haplotype with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Thais. *Tissue Antigens* 2002; 59:113-117.
 52. Jacobi AM, Mei H, Hoyer BF, Mumtaz IM, Thiele K, Radbruch A, Burmester GR, Hiepe F, Dörner T. HLA-DRhigh/CD27high plasmablasts indicate active disease in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2010 Jan;69(1):305-8.
 53. Lavado-Valenzuela R., José Bravo M., Junqueira-Kipnis A. P., Ramos de Souza M., Moreno C., Alonso A., Liberman-Kipnis T., da Silva W. D., Caballero A. Distribution of the HLA class II frequency alleles in patients with leprosy from the mid-west of Brazil. *International Journal of Immunogenetics* 16 JAN 2011.
 54. Vanderborgh P R, Pacheco A G , Moraes M E, Antoni G , Romero M , Verville A , H Thai V, Huong N T, Ba N N, Schurr E , Sarno E N and Moraes M O. HLA-DRB1*04 and DRB1*10 are associated with resistance and susceptibility, respectively, in Brazilian and Vietnamese leprosy patients *Genes and Immunity* (2007) 8, 320–324.
 55. Borrás SG, Cotruello C, Racca L, Recarte M, Garcías C, Biondi C, Bottasso O, Racca A. Association of leprosy with HLA-DRB1 in an Argentinean population. *Ann Clin Biochem.* 2008 Jan;45(Pt 1):96-8.
 56. Vijaya Lakshmi , Shilpa S. Rakh, B. Anu Radha, V. Hari Sai Priya, Vinod Pantula, Susmita Jasti, G. Suman Latha and K.J.R. Murthy. Role of HLA-B51 and HLA-B52 in susceptibility to pulmonary tuberculosis *Infection, Genetics and Evolution*, Volume 6, Issue 6, November 2006, Pages 436-439.
 57. Shankarkumar, U Phd; Pawar, A Phd; Prabu, G Msc; Ghosh, K . Role of HLA Class I (HLA-A, B) and HLA Class II (HLA-DRB, DQB) in HIV-1 Patients With and Without Pulmonary Tuberculosis *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*: August 2009 - Volume 51 - Issue 5 - pp 640-641.

58. Ruangrong Cheepsattayakorn MD. Human Genetic Influence on Susceptibility of Tuberculosis: From Infection to Disease. *J Med Assoc Thai* 2009; 92 (1): 136-41.
59. De Vries, RRP (René R P) Protection from ACPA-positive rheumatoid arthritis (RA) is predominantly associated with HLA-DRB1*1301:"A meta-analysis of HLA-DRB1 associations with ACPA-positive and ACPA-negative RA in four European populations" *Arthritis Rheum.* 2010 Jan 29;: 20131291
60. Kankonkar S, Shankarkumar U. HLA DRB Alleles in Chronic Hepatitis B Infected Patients *Int J Hum Genet*, 8(4): 331-334 (2008)
61. Liang HX, Yu ZJ, Jiang HQ, Zhang XQ. Study on the association between severe chronic hepatitis B and HLA-DRB1 gene polymorphism *PubMed - indexed for MEDLINE* 2009 Oct;23(5):364-6.
62. Huang YW, Hu CY, Chen CL, Liao YT, Liu CJ, Lai MY, Chen PJ, Yang SS, Hu JT, Chen DS, Kao JH. Human leukocyte antigen-DRB1*1101 correlates with less severe hepatitis in Taiwanese male carriers of hepatitis B virus. *J Med Virol.* 2009 Apr;81(4):588-93.
63. William G. H. Abbott, PT, Euphemia L, Trevarton A, Ofanoa M, Hornell J, Edward J. G, Stephen RM, and Allen GR. Associations between HLA Class I Alleles and Escape Mutations in the Hepatitis B Virus Core Gene in New Zealand-Resident Tongans *Journal of Virology*, January 2010, p. 621-629, Vol. 84, No. 1
64. Saradha Kankonkar¹, Umaphathy Shankarkumar. HLA DRB Alleles in Chronic Hepatitis B Infected Patients. *Int J Hum Genet*, 8(4): 331-334 (2008).
65. William G. H. Abbott, Peter Tsai, Euphemia Leung, Alex Trevarton, Malakai Ofanoa, John Hornell, Edward J. Gane, Stephen R. Munn, and Allen G. Rodrigo. Associations between HLA Class I Alleles and Escape Mutations in the Hepatitis B Virus Core Gene in New Zealand-Resident Tongans *Journal of Virology*, January 2010, p. 621-629, Vol. 84, No. 1.
66. Diepstra A, Niens M, Vellenga E, van Imhoff GW, Nolte IM, Schaapveld M, van der Steege G, van den Berg A, Kibbelaar RE, te Meerman GJ, Poppema S. Association with HLA class I in Epstein-Barr-virus-positive and with HLA class III in Epstein-Barr-virus-negative Hodgkin's lymphoma. *Lancet.* 2005 Jun 25-Jul 1;365(9478):2216-24.
67. De Jager P. L., Simon K. C., Munger K. L., Rioux J. D., Hafler D. A., and A. Ascherio. Integrating risk factors: HLA-DRB1*1501 and Epstein-Barr virus in multiple sclerosis *Neurology* March 25, 2008 70:1113-1118; published ahead of print February 13, 2008.

68. Paul J. Farrell. Role for HLA in susceptibility to infectious mononucleosis. *J Clin Invest.* 2007; 117(10).
69. Marijke Niens, Ruth F. Jarrett, Bouke Hepkema, Ilja M. Nolte, Arjan Diepstra, Mathieu Platteel, Niels Kouprie, Craig P. Delury, Alice Gallagher, Lydia Visser, Sibbrand Poppema, Gerard J. te Meerman, and Anke van den Berg HLA-A*02 is associated with a reduced risk and HLA-A*01 with an increased risk of developing EBV+ Hodgkin lymphoma. *Blood*, 1 November 2007, Vol. 110, No. 9, pp. 3310-3315.
70. Contu L., Carcassi C., Orrù S., Mulargia M., Arras M, Boero R., Gessa S, Loizedd A.L. HLA-B35 frequency variations correlate with malaria infection in Sardinia. *Tissue Antigens*. Volume 52, Iss. 5, pages 452–461.
71. Osafo-Addo AD, Koram KA, Oduro AR, Wilson M, Hodgson A, Rogers WO. HLA-DRB1*04 allele is associated with severe malaria in northern Ghana. *Am J Trop Med Hyg.* 2008 Feb; 78(2):251-5.
72. Hananantachai H, Patarapotikul J, Ohashi J, Naka I, Looareesuwan S, Tokunaga K. Polymorphisms of the HLA-B and HLA-DRB1 genes in Thai malaria patients. *Jpn J Infect Dis.* 2005 Feb; 58(1):25-8.
73. Соколов В. Н, Харламова Ф.С. Менингококковая инфекция у детей практика педиатрии 2009 medi.ru/doc/j0107126.htm
74. Lipsitch M, et al. Transmission Dynamics and Control of Severe Acute Respiratory Syndrome *Science* 300, 1966 (2003).
75. Stanevicha V, Eglite J, Zavadska D., Sochnevs A, Shantere R., Gardovska D. HLA class II DR and DQ genotypes and haplotypes associated with rheumatic fever among a clinically homogeneous patient population of Latvian children. *Journal Arthritis Research & Therapy*, 10.07.2007,9:
76. Chang LY, Chang IS, Chen WJ, Huang YC, Chen GW, Shih SR, Juang JL, Shih HM, Hsiung CA, Lin TY, Huang LM. "HLA-A33 is associated with susceptibility to enterovirus 71 infection". *Pediatrics* 2008. Dec; 122 (6):1271-6.
77. Alves-Leon SV, Veluttini-Pimentel ML, Gouveia ME, Malfetano FR, Gaspareto EL, Alvarenga MP, Frugulhetti I, Quirico-Santos T. Acute disseminated encephalomyelitis: clinical features, HLA DRB1*1501, HLA DRB1*1503, HLA DQA1*0102, HLA DQB1*0602, and HLA DPA1*0301 allelic association study. *Arq Neuropsiquiatr.* 2009 Sep; 67(3A):643-51.
78. Zeltiņa I, Eglīte E, Rozentale B, Sočņevs A. HLA II klases gēnu pētījumi Ērcu encefālīta slimniekiem. 2007. 29.martā Rīgas Stradiņa universitātē. *Zinātniskie Raksti*, 2005; 6-9. Lpp.
79. Lebon P., Ponsot G., Gony J., Hors J. HLA antigens in acute measles encephalitis. *Tissue Antigens*, Volume 27, Issue 2, pages 75–77, February 2008.

80. Singh R, Kaul R, Kaul A, Khan K. A comparative review of HLA associations with hepatitis B and C viral infections across global populations. *World J Gastroenterol.* 2007 Mar 28;13(12):1770-87.
81. Simanis R, Eglite J, Lejniece S, Chernevskas G, Kovalova Z, Gardovska D, Jeruma A, Kuze V, Viksna L, Sochnevs A. Natural clearance of hepatitis C virus in Hemophilia patients. Lithuania, "Medicinos teorija ir praktika", *Medicina (Kaunas)*2008.44(1) pp 15-21.
82. Mosaad YM, Farag RE, Arafa MM, Eletreby S, El-Alfy HA, Eldeek BS, Tawhid ZM. Association of human leucocyte antigen Class I (HLA-A and HLA-B) with chronic hepatitis C virus infection in Egyptian patients. *Scand J Immunol.* 2010 Dec; 72(6):548-53.
83. Ksiaa L, Ayed-Jendoubi S, Sfar I, Gorgi Y, Najjar HA, Abdallah TB, Ayed K. Clearance and persistence of hepatitis C virus in a Tunisian population: association with HLA class I and class II. *Viral Immunol.* 2007 Summer; 20(2):312-9.
84. Kim AY, Kuntzen T, Timm J, Nolan BE, Baca MA, Reyor LL, Berical AC, Feller AJ, Johnson KL, Wiesch JS, Robbins GK, Chung RT, Walker BD, Carrington M, Allen TM, Lauer GM. Spontaneous Control of HCV Is Associated With Expression of HLA-B*57 and Preservation of Targeted Epitopes. *Gastroenterology.* 2011 Feb; 140(2):686-696.
85. McKiernan SM, Hagan R, Curry M, McDonald GS, Kelly A, Nolan N, Walsh A, Hegarty J, Lawlor E, Kelleher D. Distinct MHC class I and II alleles are associated with hepatitis C viral clearance, originating from a single source. *Hepatology.* 2004 Jul; 40(1):108-14.
86. Leslie, A., Matthews, P. C., Listgarten, J., Carlson, J. M., Kadie, C., Ndung'u, T., Brander, C., Coovadia, H., Walker, B. D., Heckerman, D., Goulder, P. J. R. (2010). Additive Contribution of HLA Class I Alleles in the Immune Control of HIV-1 Infection. *J. Virol.* 84: 9879-9888.
87. Chapel H., Haeney M., Misbah S., Snowden N."Essential Clinical Immunology" 5 –th edition publishing Blackwell 2006. 251-271.pp
88. Gallo RC & Montagnier L. (2002) Historical essay. Prospects for the Future. *Science* 298(5599): 1730-1 (29 November). PMID 12459577
89. Gallo RC, Montagnier L. The discovery of HIV as the cause of AIDS. *New Engl J Med* 2003; 349: 2283–5.
90. Poiesz et al.," Isolation of a new type C retrovirus (HTLV) in primary uncultured cells of a patient with Sézary T-cell leukaemia" *Nature* 294, 268 - 271 (19 November 1981).
91. Delves Peter J., Martin Seamus J., Burton Dennis R., Roitt Ivan M. "Roitt's Essential Immunology" eleventh edition, publishing Blackwell 2008. 321.pp

92. Delves Peter J, Martin Seamus J, Burton Dennis R, Roitt Ivan M. "Roitt's Essential Immunology" eleventh edition, publishing Blackwell 2008. 324-332.pp.
93. Liu J., Bartesaghi A., Borgnia M.J., Sapiro G., Subramaniam S. «Molecular architecture of native HIV-1 gp120 trimers» *Nature*. 2008 Sep 4; 455(7209):109-13. Epub 2008 Jul 30
94. Pancera M., Majeed S., Ban Y.-E. A., Chen L., Huang C.-c., Kong L., Kwon Y.D., Stuckey J., Zhou T., Robinson J.E., Schief W.R., Sodroski J., Wyatt R., and Kwonga P.D. «Structure of HIV-1 gp120 with gp41-interactive region reveals layered envelope architecture and basis of conformational mobility» *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Jan 19;107(3):1166-71.
95. Watts J.M., Dang K.K., Gorelick R.J., Leonard C.W., Bess J.W. Jr, Swanstrom R., Burch C.L., Weeks K.M. "Architecture and secondary structure of an entire HIV-1 RNA genome" *Nature*. 2009 Aug 6;460(7256):711-6
96. Anthony S. Fauci, Eugene Braunwald, Dennis L. Kasper, Stephen L. Hauser, Dan L. Longo, J. Jameson L, and Loscalzo J. Featuring the complete contents of Harrison's Principles of Internal Medicine, 17e. Chapter 182 Human Immunodeficiency Virus Disease: AIDS and Related Disorders 01/25/10: Subclinical JC Virus Reactivation in Patients Treated with Natalizuma.
97. Moir S., Chun T-W, and Fauci A.S. Immunology and pathogenesis of Human Immunodeficiency Virus infection. Sexually transmitted diseases, 4-th edition, King Holmes et.al. Medical, 2008. 341.pp
98. Montagnier L, Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, Dauguet C, Axler-Blin C, Vézinet-Brun F, Rouzioux C, Rozenbaum W, (1983). "Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS)". *Science* 220 (4599): 868–871.
99. Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, Gallo RC (1984). "Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS". *Science* 224(4648):497-500.
100. Sheng-Yung P. Chang, Barbara H. Bowman, Judith B. Weiss, Rebeca E. Garcia & Thomas J. White (1993). "The origin of HIV-1 isolates HTLV-IIIb". *Nature* 363 (6428): 466–469.
101. [http://www.niaid.nih.gov/National institutes of health USA](http://www.niaid.nih.gov/National_institutes_of_health_USA) <http://www.aegis.gov>
102. <http://noah.cuny.edu/aids/> NOAH (New York Online Access to Health)
103. <http://galen.library.uesf.edu/aids/> NASCP National AIDS and STDs Control Programme

104. John G. Bartlett, M.D. Joel E. Gallant, M.D., M.P.H. 2002-2003 Medical Management of HIV Infection. Baltimore, Maryland, 2002; 1-429.
105. www.AIDS.net.lv.
106. Sade A, M.G.Eliopoulos, R.C. Moellering. The Sanford Guide To HIV/AIDS Therapy 2006-2007 - 15 Edition, - USA, 2006; 1-176 .
107. Diane V. Havlir. Preventing opportunistic infection in the HAART Era. // HIV Journal, 1999; 5:60-67.
108. Dworkin M., Hansosn D., Jones J. The risk of Pneumocystis Carinii pneumonia and disseminated non-tuberculosis mycobacteriosis after an antiretroviral therapy associated increase in the CD4+T lymphocyte count. 6th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Chicago, Ill. 1999. abstr. 692.
109. Casado JL., Arrizabalaga J., Salas A. Long-term of cytomegalovirus retinitis in patients receiving HAART: a five-year, prospective, multicenter study. 8th European conference on clinical aspects and treatment of HIV-infection. Athens, 28-31 oct.2001, abstr. P282.
110. Jean K. Fleischman. CD4:CD8 ration may predict HIV coinfection in patients with tuberculosis. // AIDS Patients Care STD, 2000; 14: 79-83.
111. Bonnet M., Pinoges L.L.P, Varaine F.F.V. Tuberculosis after HAART initiation in HIV – positive patients from five countries with high tuberculosis burden. // AIDS, 2006; 20:1275-1279.
112. Mazjānis I., Tirāns E. Infekciju slimības. 2. izdevums-rokasgrāmata-2006, Nacionālais apgāds, Latvija; 1-1006 .
113. The Sanford Guide To HIV/AIDS Therapy 2006-2007 - 15 Edition, A.Sade, M.G.Eliopoulos, R.C. Moellering - USA, 2006; 1-176 .
114. M.Shapiro, B. Clotet, L.Menender-Arias –Spain, Joncheere K. et al. Guide to management of HIV resistance, antiretrovirals pharmacokinetics and viral hepatitis in HIV infected subjects 2006 – sixth edition 1-440,
115. “Evaluation of access to HIV/AIDS treatment and care in Latvia”, WHO and UNODC (May 2009). Online:www.unodc.org/documents/balticstates/Library/Other/Report_ART_Latvia.pdf. 6. European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe.HIV/AIDS surveillance in Europe 2008. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2009.
116. HIV ārstēšanas vadlīnijas. Valsts aģentūra” Latvijas infektoloģijas centrs”. 2006. Latvija; 1-18.
117. <http://www.zva.gov.lv>: Zāļu reģistrs. Pretvīrusu līdzekļu sistēmiskai lietošanai.) V/A Latvijas infektoloģijas centrs „ HIV infekcijas ārstēšanas vadlīnija 2009.g. PVO HIV/AIDS protocols on treatment and care European Region (2007, atsevišķas daļas pārskatītas 2008.) WHO

- clinical protocol 1 Patients evaluation and antiretroviral treatment of Adults and Adolescents.
118. Malhotra U, Berrey MM, Huang Y. Effect of combination antiretroviral therapy on T-cell immunity in acute human immunodeficiency virus type 1 infection. // *Journal of Infectious Diseases*, 2000; 181(1):121-131.
 119. Editors Chaisson R.E., Bishai W.R. *HIV Clinical Management*. 5th ed., 1999, p.1-34.
 120. Dewar, R.L. et al. 1994. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *J. Infect. Dis.* 170:1172-1179. [Medline]
 121. Erlich H, Bugawan T, Begovich A, Scharf S, Griffith R, Saiki R, Higuchi R, Walsh PS. HLA-DR, DQ and DT typing using PCR amplification and immobilized probes. *Eu J of Immunogen* 1991,33-35.
 122. Walsh PS, Erlich H, Higuchi R: Preferential PCR amplification of alleles: mechanisms and solutions. *PCR Methods and Applications*. 1992; 1:241-250.
 123. Limfocītu subpopulāciju CD4, CD8 noteikšana Nagel et al., 1981; Пинегин и др., 1995.
 124. Human Genome Sequencing Consortium Initial sequencing and analysis of the human genome www.ncbi.nih.nlm.gov
 125. Avoti no interneta: DOS StatCalc. (Excoffier et al., 2005)
 126. Avoti no interneta ARLEQUIN 3.11 datorprogramma; <http://lgb.unige.ch/arlequin/>
 127. Singh R, Kaul R, Kaul A, Khan KA comparative review of HLA associations with hepatitis B and C viral infections across global populations. *World J Gastroenterology*. 2007 Mar 28; 13(12):1770-87.)

PATEICĪBAS

No sirds pateicos mana zinātniskā darba vadītājiem profesoram, *Dr. habil. med.*, Artūram Sočņevam un *Dr. habil. med.*, profesorei Ludmilai Vīksnai.

Nenovērtējuma palīdzību sniedza RSU KIIS laboratorijas kolektīvs.

Liels paldies par nesavtīgu darbu “Latvijas Infektoloģijas centra” 6. nodaļas vadītājai *Dr.med.*, Guntai Stūrei.

Neapstāties pie sasniegtā un meklēt aizvien jaunus izaicinājumus pētniecībā aicināja profesors Viestūrs Baumanis, kā arī *Dr.med.*, Liana Pliss, *Dr.med.*, Liene Ņikitina-Zaķe no Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centra.

Daudzas ieceres paliktu nerealizētas bez RSU zinātņu prorektores profesores Ivetas Ozolantas un zinātniskās sekretāres Ingunas Kreiles palīdzības.