

УДК: 616.24-056.3-097

АССОЦИАЦИЯ АЛЛЕЛЕЙ HLA-DRB1 И HLA-DQB1 С СЕЗОННЫМ АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ И АТОПИЧЕСКОЙ (ПЫЛЬЦЕВОЙ) БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Шамгунова Б.А., Попов Е.А., Левитан Б.Н.

ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия Минздрава России», Астрахань, e-mail: beas2@yandex.ru

Распределение частот аллелей локусов HLA II класса (DRB1, DQB1) изучено у 61 больного пыльцевой аллергией русской национальности. Установлено значимое повышение частоты встречаемости аллелей DRB1*15 и DRB1*08 при сезонном аллергическом рините и HLA-DQB1*05 при пыльцевой бронхиальной астме. Напротив, негативные ассоциации выявлены для аллелей HLA-DRB1*01 и DQB1*03 при сезонном аллергическом рините и для DRB1*13, DQB1*03, DQB1*06 при пыльцевой бронхиальной астме. Риск возникновения пыльцевой бронхиальной астмы у больных сезонным аллергическим ринитом негативно ассоциируется с наличием в генотипе аллелей DRB1*15 и DQB1*06. Полученные в настоящем исследовании данные позволяют утверждать что аллели HLA II класса играют важную роль в реализации фенотипов сезонного аллергического ринита и атопической бронхиальной астмы у больных пыльцевой аллергией.

Ключевые слова: пыльцевая аллергия, сезонный аллергический ринит, атопическая (пыльцевая) бронхиальная астма, HLA, DRB1, DQB1, аллели

ASSOCIATION OF HLA-DRB1 AND HLA-DQB1 ALLELES WITH SEASONAL ALLERGIC RHINITIS AND ATOPIC (POLLEN) BRONCHIAL ASTHMA

Shamgunova B.A., Popov E.A., Levitan B.N.

Astrakhan state medical academy, Astrakhan, e-mail: beas2@yandex.ru

The distribution of HLA II (DRB1, DQB1) locus allelic frequencies have been studied in 61 Russian patients with pollen allergy. The allele frequencies of DRB1*15 and DRB1*08 were significantly higher in patients with seasonal allergic rhinitis, and the frequency of HLA-DQB1*05 was higher among patients with atopic (pollen) bronchial asthma. Conversely, HLA-DRB1*01, DQB1*03 were negatively associated with seasonal allergic rhinitis, and DRB1*13, DQB1*03, DQB1*06 were significantly decreased in asthmatics. The risk of atopic (pollen) bronchial asthma appearance in patients with seasonal allergic rhinitis is negatively associated with DRB1*15 and DQB1*06 presence in genotype. The data of this study suggest that HLA II alleles may play an important role in seasonal allergic rhinitis and atopic asthma phenotype expression in patients with pollen allergy.

Keywords: pollen allergy, seasonal allergic rhinitis, atopic (pollen) bronchial asthma, HLA, DRB1, DQB1, alleles

Генетическая предрасположенность является наиболее важным фактором, определяющим возникновение и характер течения атопических заболеваний (АЗ). Известно, что АЗ по своей природе полигенны [4, 6]. Данные скрининговых исследований свидетельствуют, что гены атопии и ассоциированных с ней заболеваний расположены в основном в десяти участках человеческого генома [1]. Согласно данным полногеномных исследований, в регионе 6p21.1–23, на котором располагается комплекс HLA, локализованы ключевые гены атопии [1, 6, 7].

Выявление генетических факторов, обуславливающих предрасположенность или устойчивость к пыльцевой аллергии (ПА) имеет чрезвычайно важное клиническое значение, поскольку идентификация генов, ответственных за развитие ПА, позволит в ранние сроки приступить к проведению необходимых профилактических мероприятий у пока здоровых людей, а у уже заболевших лиц – предупредить переход заболевания в более тяжелую форму. Давно известно, что локусы HLA-DR, DQ и DP регулируют функциональную активность иммунокомпетент-

ных клеток, а HLA-DRB1 является главным геном иммунного ответа в организме человека. В настоящее время известны немногочисленные сообщения об ассоциациях аллелей HLA II класса с основными клиническими фенотипами ПА – сезонным аллергическим ринитом (САР) и атопической (пыльцевой) бронхиальной астмой (ПБА). К сожалению, подобные исследования в русской популяции никогда не проводились, что определяет актуальность этой проблемы.

Цель настоящего исследования состояла в выявлении взаимосвязи аллелей HLA II класса (DRB1 и DQB1) с восприимчивостью к ПБА и САР у больных русской национальности, проживающих в Астраханском регионе.

Материал и методы исследования

Генотипирование по аллелям HLA-DRB1 и HLA-DQB1 проведено у группы больных ПА русской национальности, проживающих в Астраханской области (61 человек). Основная группа состояла из двух подгрупп: больные САР (31 человек) и больные ПБА (30 человек). В качестве контрольных показателей использованы результаты HLA-генотипирования 94 здоровых доноров русской национальности, проживающих в Астраханской области.

Дизайн исследования: обсервационное, когортное, ретроспективное, популяционно-генетическое.

Критерии включения в исследование:

– наличие ПА (САР или САР в сочетании с ПБА) в течение как минимум 3 сезонов, доказанной результатами аллергологического обследования;

– принадлежность к популяции русских – коренных жителей Астраханской области;

– возраст старше 18 лет;

– согласие больного на проведение исследования.

Критерии исключения из исследования:

– НЛА-ассоциированные заболевания в анамнезе;

– наличие симптомов аллергического ринита (АР) и/или бронхиальной астмы (БА) вне сезона цветения аллергенных растений, связанных с сенсибилизацией к другим группам неинфекционных аллергенов (бытовым, эпидермальным; грибковым);

– проведение аллергенспецифической иммунотерапии в анамнезе.

Кожное тестирование осуществлялось при помощи скарификационных кожных проб с водно-солевыми экстрактами аллергенов из пыльцы растений производства ФГУП НПО «Аллерген» (г. Ставрополь) в период ремиссии ПА, вне сезона цветения аллергенных растений. В 1 мл водно-солевого экстракта каждого аллергена содержалось 10000 PNU. Диагностический набор включал 23 пыльцевых аллергена: лещина, ольха, дуб, береза, ясень, клен, тимopheevka, овсяница, ежа, рожь, мятлик, райграс, лисохвост, пырей, кукуруза, конопля, полевница, одуванчик, лебеда, амброзия, подсолнечник, полынь, циклахена. Кожное тестирование проводилось в период ремиссии заболевания вне сезона цветения растений.

У всех обследованных был определен общий уровень IgE в сыворотке крови методом одностадийного твердофазного иммуноферментного анализа (ИммуноФА-IgE, ЗАО «НВО Иммунотех», г. Москва). Общий уровень IgE считался повышенным при его значениях выше 100 МЕ/мл.

У пациентов с ПБА в период обострения заболевания проводилось изучение функции внешнего дыхания методом спирометрии и оценка обратимости бронхиальной обструкции путем проведения функциональной фармакологической пробы с сальбутамолом в ингаляционной дозе 400 мкг.

Диагнозы БА, АР верифицировались на основании критериев современных международных согласительных документов: «Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы» (пересмотр 2006 г.), «Диагностика и лечение аллергического ринита и его влияние на бронхиальную астму» (пересмотр 2008 г.) [2, 6].

Определение аллелей HLA-DRB1, HLA-DQB1 у больных ПА проводили методом полимеразной цепной реакции (PCR-SSP low resolution) с помощью наборов реагентов «Biotest» (Германия). Были определены 13 групп аллелей гена HLA-DRB1 (DRB1*01, -03, -04, -07, -08, -09, -10, -11, -12, -13, -14, -15, -16) и 8 специфичностей гена HLA-DQB1 (DQB1*0201, -0301, -0302, -0303, -0304, -04, -05, 06). У лиц контрольной группы генотипирование по аллелям HLA-DRB1, HLA-DQB1 проводили методом PCR-MSSP с использованием наборов реагентов «НПФ ДНК-Технология» (г. Москва, Россия) [3].

Статистическую оценку значимости различий частот встречаемости аллелей проводили с использованием критерия χ^2 . Относительный риск (RR) вычисляли по формуле Haldane. При $RR > 1$ определяли показатель этиологической фракции (EF). При $RR < 1$ использовали показатель превентивной фракции (PF). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Сведения о распределении специфичностей HLA-DRB1 и -DQB1 у больных САР и здоровых доноров представлены в табл. 1.

Таблица 1

Ассоциации аллелей HLA-DRB1 и -DQB1 с сезонным аллергическим ринитом

Аллели HLA	Больные САР $n = 31$		Контроль $n = 94$		χ^2	RR	EF	PF
	n	%	n	%				
DRB1*01	1	3,2	14	14,9	4,21	0,27	-	0,079
DRB1*15(02)	17	54,8	27	28,7	5,87	2,96	0,363	-
DRB1*16(02)	1	3,2	5	5,3	0,92	0,8	-	0,008
DRB1*17(03)	6	19,4	10	10,6	0,90	2,05	0,099	-
DRB1*04	7	22,6	19	20,2	0,0007	1,19	0,035	-
DRB1*11(05)	6	19,4	31	32,9	2,78	0,51	-	0,165
DRB1*12(05)	1	3,2	3	3,2	0,34	1,29	0,007	-
DRB1*13(06)	7	22,6	36	38,3	3,30	0,49	-	0,207
DRB1*14(06)	0	0	0	0	-	-	-	-
DRB1*07	5	16,2	30	31,9	3,72	0,44	-	0,18
DRB1*08	7	22,6	4	4,3	7,60	6,15	0,189	-
DRB1*09	1	3,2	5	5,3	0,92	0,80	-	0,008
DRB1*10	1	3,2	3	3,2	0,34	1,29	0,007	-
DRB1*х	2	6,5	Н/Д	Н/Д	-	-	-	-
DQB1*02	14	45,2	39	41,5	0,02	1,16	0,064	-
DQB1*03	10	32,3	68	72,3	17,72	0,19	-	0,755
DQB1*04	2	6,5	4	4,3	0,00	1,70	0,027	-
DQB1*05	7	22,5	21	22,3	0,05	1,05	0,01	-
DQB1*06	22	70,9	53	56,4	1,50	1,84	0,323	-
DQB1*х	7	22,6	Н/Д	Н/Д	-	-	-	-

Примечание: Н/Д – нет данных.

Анализ показал, что с САР статистически значимо положительно ассоциированы специфичности DRB1*15 (RR = 2,96; EF = 0,363; $p < 0,025$), DRB1*08 (RR = 6,15; EF = 0,189; $p < 0,01$). В то же время у больных САР отмечалось статистически значимое снижение частот встречаемости аллелей DRB1*01 (RR = 0,27; 1/RR = 3,70; PF = 0,079; $p < 0,05$) и DQB1*03 (RR = 0,19;

1/RR = 5,26; PF = 0,755; $p < 0,001$). Кроме того, приближались к статистически значимым показателям различия в величине относительного риска специфичности DRB1*07 (RR = 0,44; 1/RR = 2,27; PF = 0,180; $p > 0,05$).

Результаты сравнительного анализа распределения специфичностей HLA II класса у больных ПБА и у здоровых лиц представлены в табл. 2.

Таблица 2

Ассоциации аллелей HLA-DRB1 и HLA-DQB1 с атопической (пыльцевой) бронхиальной астмой

Аллели HLA	Больные ПБА $n = 30$		Контроль $n = 94$		χ^2	RR	EF	PF
	n	%	n	%				
DRB1*01	6	20	14	14,9	0,14	1,47	0,064	-
DRB1*15(02)	8	26,7	27	28,7	0,20	0,93	-	0,022
DRB1*16(02)	4	13,3	5	5,3	1,14	2,76	0,085	-
DRB1*17(03)	5	16,7	10	10,6	0,31	1,74	0,071	-
DRB1*04	3	10,0	19	20,2	2,40	0,49	-	0,095
DRB1*11(05)	9	30,0	31	32,9	0,28	0,89	-	0,039
DRB1*12(05)	1	3,3	3	3,2	0,31	1,33	0,008	-
DRB1*13(06)	5	16,7	36	38,3	5,84	0,35	-	0,255
DRB1*14(06)	1	3,3	0	0	0,37	9,60	0,03	-
DRB1*07	8	26,7	30	31,9	0,59	0,80	-	0,069
DRB1*08	4	13,3	4	4,3	1,78	3,42	0,099	-
DRB1*09	0	0	5	5,3	3,32	0,26	0	0
DRB1*10	0	0	3	3,2	2,80	0,43	0	0
DRB1*х	6	20,0	Н/Д	Н/Д	-	-	-	-
DQB1*02	10	33,3	39	41,5	1,02	0,72	-	0,133
DQB1*03	12	40,0	68	72,3	11,85	0,26	-	0,745
DQB1*04	5	16,7	4	4,3	3,52	4,34	0,128	-
DQB1*05	13	43,3	21	22,3	4,04	2,64	0,269	-
DQB1*06	8	26,7	53	56,4	9,27	0,29	-	0,459
DQB1*х	12	40	Н/Д	Н/Д	-	-	-	-

Примечание: Н/Д – нет данных.

Статистически значимые показатели относительного риска были получены в основном для специфичностей-протекторов: DRB1*13 (RR = 0,35; 1/RR = 2,86; PF = 0,255; $p < 0,025$), DQB1*03 (RR = 0,26; 1/RR = 3,85; PF = 0,745; $p < 0,001$), DQB1*06 (RR = 0,29; 1/RR = 3,45; PF = 0,459; $p < 0,005$). Нами установлено, что при наличии в составе HLA-генотипа специфичности DQB1*05 риск развития ПБА в 2,64 раза превышает таковой при его отсутствии (RR = 2,64; EF = 0,269; $p < 0,05$).

Как известно, БА и АР нередко сочетаются друг с другом. Причем в подавляющем большинстве случаев АР предшествует формированию БА [5]. У многих исследователей возникает вопрос: почему у одних больных аллергический процесс ограничивается клиникой АР, а у части пациентов развивается БА. Полученные сведения о закономерностях распределения антигенов HLA II класса и у больных с наиболее распространенными вариантами клиниче-

ского течения ПА – САР и ПБА – позволили нам провести сравнительный анализ HLA-профилей этих нозологий. Результаты анализа приведены в табл. 3.

Нами установлено, что у больных с сочетанной патологией (ПБА+САР) с большей частотой, чем у пациентов, страдающих изолированным САР, регистрируются специфичности DRB1*01 (20% против 3,2%), DRB1*16 (13,3% против 3,2%), DRB1*11 (30,0% против 19,4%), DRB1*14 (3,3% против 0%), DRB1*07 (26,7% против 16,2%), DQB1*03 (40,0% против 32,3%), DQB1*04 (16,7% против 6,5%), DQB1*05 (43,3% против 22,5%). Кроме того, гомозиготность по локусам DRB1 и DQB1 чаще встречалась у больных ПБА: соответственно в 20 и 40% против 6,5 и 22,6% случаев в группе сравнения. В то же время у больных САР с большей частотой, чем у больных с сопутствующей ПБА, встречались аллели DRB1*15 (54,8% против 26,7%), DRB1*17 (19,4% против 17,6%), DRB1*04

(22,6% против 10%), DRB1*13 (22,6% против 16,7%), DRB1*08 (22,6% против 13,3%), DRB1*09, DRB1*10 (в обоих случаях 3,2% против 0%), DQB1*02 (45,2% против 33,3%), DQB1*06 (70,9% против 26,7%).

Таблица 3

Сравнение распределения аллелей HLA-DRB1- и HLA-DQB1 у больных сезонным аллергическим ринитом и атопической (пыльцевой) бронхиальной астмой

Аллели HLA	Больные ПБА = 30		Больные САР n = 31		χ^2	RR	EF	PF
	n	%	n	%				
DRB1*01	6	20	1	3,2	2,73	5,39	0,163	-
DRB1*15(02)	8	26,7	17	54,8	6,24	0,31	-	0,431
DRB1*16(02)	4	13,3	1	3,2	0,94	3,45	0,095	-
DRB1*17(03)	5	16,7	6	19,4	0,37	0,85	-	0,03
DRB1*04	3	10,0	7	22,6	2,80	0,42	-	0,126
DRB1*11(05)	9	30,0	6	19,4	0,44	1,73	0,127	-
DRB1*12(05)	1	3,3	1	3,2	0,48	1,03	0,001	-
DRB1*13(06)	5	16,7	7	22,6	0,82	0,70	-	0,068
DRB1*14(06)	1	3,3	0	0	0,00	3,20	0,023	-
DRB1*07	8	26,7	5	16,2	0,48	1,82	0,12	-
DRB1*08	4	13,3	7	22,6	1,62	0,55	-	0,1
DRB1*09	0	0	1	3,2	4,00	0,33	0	0
DRB1*10	0	0	1	3,2	4,00	0,33	0	0
DRB1*x	6	20,0	2	6,5	1,41	3,13	0,136	-
DQB1*02	10	33,3	14	45,2	1,46	0,62	-	0,201
DQB1*03	12	40,0	10	32,3	0,13	1,38	0,111	-
DQB1*04	5	16,7	2	6,5	0,72	2,55	0,101	-
DQB1*05	13	43,3	7	22,5	2,11	2,52	0,261	-
DQB1*06	8	26,7	22	70,9	13,81	0,16	-	0,717
DQB1*x	12	40	7	22,6	1,42	2,21	0,219	-

Проведенный статистический анализ не выявил ассоциированные с ПБА HLA-II специфичности, однако, приближающиеся к достоверным значения RR, отражающие положительный характер связи, имеют аллели DRB1*01 (RR = 5,39; EF = 0,163; $p > 0,05$) и DQB1*05 (RR = 2,52; EF = 0,261; $p > 0,05$). Статистически значимо низкий риск развития ПБА отмечен у носителей специфичностей DRB1*15 (RR = 0,31; 1/RR = 3,23; PF = 0,431; $p < 0,025$) и DQB1*06 (RR = 0,16; 1/RR = 6,25; PF = 0,717; $p < 0,001$).

Выводы

Таким образом, положительная HLA-ассоциативная связь с САР определена для аллелей DRB1*15 и DRB1*08, а отрицательная – для специфичностей DRB1*01 и DQB1*03. Предрасположенность к развитию ПБА связана с HLA-DQB1*05. Присутствие в генотипе специфичностей DRB1*13, DQB1*03, DQB1*06 негативно ассоциировано с ПБА. Маркеры риска возникновения сезонной астмы у больных САР из числа HLA-II специфичностей нами не найдены. Низкий риск присоединения ПБА к САР ассоциирован с наличием в генотипе больного ПА аллелей DRB1*15 и DQB1*06.

Результаты проведенного исследования убедительно демонстрируют, что более широко внедрение в повседневную медицинскую практику в качестве рутинных исследований на наличие генетических предикторов атопии позволяет обосновывать

отбор пациентов в группы риска, вследствие чего повышается эффективность первичной профилактики ПА и других АЗ.

Список литературы

1. Генетика атопии: современное состояние / М.Б.Фрейдлин, Е.Ю. Брагина, Л.М. Огородова, В.П. Пузырев // Вестник ВОГиС. – 2006. – Т. 10, №3. – С. 492–503.
2. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (пересмотр 2006 г) / под ред. А.Г. Чучалина. – М.: Атмосфера, 2007. – 104 с.
3. Исследование ассоциаций аллелей HLA II класса с микобактериозами в русской популяции / Л.В. Сароянц, М.Н. Болдырева, И.А. Гуськова и др. // Иммунология. – 2007. – №1. – С. 13–15.
4. Локшина Э.Э. Голь генетических маркеров в ранней диагностике атопических заболеваний // Педиатрия. – 2006. – №3. – С. 87–89.
5. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) / J. Bousquet, N. Khaltaev, A.A. Cruz et al. // Allergy. – 2008. – Vol. 63 (Suppl. 86). – P. 8–160.
6. Cookson W.O.C. Genetic aspects of atopic allergy / W.O.C. Cookson // Allergy. – 1998. – Vol. 53. – P. 9–14.
7. Cookson W.O.C. Genetics of asthma and allergic disease / W.O.C. Cookson, M.M. Moffatt // Human Molecular Genetics. – 2000. – Vol. 9, № 16. – P. 2359–2364.

Рецензенты:

Эсаулова Т.А., д.м.н., профессор, зав. терапевтической службой Негосударственного учреждения здравоохранения «Медико-санитарная часть», г. Астрахань;

Астахин А.В., д.м.н., профессор, зам. главного врача по клинико-экспертной работе Государственного учреждения здравоохранения «Александро-Мариинская областная клиническая больница», г. Астрахань.

Работа поступила в редакцию 27.10.2011.