

УДК 616-092.19

АССОЦИАЦИЯ ГЕНОВ HLA II КЛАССА С УРОВНЕМ ОБЩЕГО IGE У БОЛЬНЫХ ПОЛЛИНОЗОМ

Шамгунова Б. А., Умерова А. Р., Левитан Б. Н., Еременко И. А., Сартова А. Р.

ГБОУ ВПО Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России, Астрахань, e-mail: beas2@yandex.ru

Распределение частот генов HLA II класса DRB1 и DQB1 изучено у 61 больного пыльцевой аллергией русской национальности. Пациенты с пыльцевой аллергией (ПА) были разделены на две группы в зависимости от уровня общего IgE в сыворотке крови. У 39 человек из 61 основной группы общий уровень IgE превышал 100 МЕ/мл, а у 22 – был ниже 100 МЕ/мл. У больных ПА с высоким уровнем продукции общего IgE по сравнению с контрольной группой статистически значимые различия с положительным характером ассоциативной связи установлены для специфичности DRB1*08. Негативная ассоциация с высоким уровнем общего IgE-ответа обнаружена для специфичностей DRB1*13. Сравнительный анализ данных в двух группах показал, что наибольшая величина относительного риска (RR=2,78) была определена для специфичности DRB1*01, которая встречалась у больных ПА с высоким уровнем IgE-ответа в 3 раза чаще, чем в группе сравнения, однако различия между группами не достигли статистически значимых значений ($p > 0,05$). Проведенный анализ показал, что статистически значимыми генетическими маркерами низкой IgE-продуктивности являются специфичности DRB1*14 и DRB1*10. Полученные результаты свидетельствуют, что специфичности HLA-II DRB1*10 и DRB1*14 вовлечены в регуляцию продукции общего IgE у больных ПА в качестве генов-протекторов.

Ключевые слова: пыльцевая аллергия, общий IgE, гены, HLA-DRB1, HLA-DQB1.

ASSOCIATION OF HLA II GENES WITH TOTAL IGE LEVEL IN PATIENTS WITH POLLINOSIS

Shamgunova B. A., Umerova A. R., Levitan B. N., Eremenko I. A., Sartova A. R.

Astrakhan state medical university, Astrakhan, Russia, 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. Patients with pollen allergy were divided into two groups depending on the level of total IgE in the serum. 39 people have the overall level of IgE more than 100 IU/ml, and 22 patients have level of total IgE below 100 IU/ml. The allele frequencies of DRB1*08 were significantly higher in patients with high level of total IgE. Negative association with high levels of IgE response has been detected for DRB1*13. Comparative analysis of two groups of data showed that the relative risk (RR = 2.78) was determined for the DRB1 * 01, patients with high levels of IgE response in 3 times more than in the comparison group, however, differences between groups have not reached statistically significant values ($p > 0.05$). The analysis showed that statistically significant genetic markers of low total IgE productivity are DRB1 * 14 and DRB1* 10. The results show that the HLA-DRB1* 10 and DRB1* 14 involved in the regulation of total IgE production in patients with pollinosis.

Keywords: pollen allergy, total IgE, HLA, genes, HLA-DRB1, HLA-DQB1.

Аллергические заболевания ассоциированы с высоким уровнем продукции общего сывороточного IgE. Нередко уровень общего IgE коррелирует с тяжестью атопического заболевания. Так, по данным некоторых исследователей, у больных бронхиальной астмой общий уровень реактивных антител в несколько раз выше, чем у пациентов, страдающих аллергическим ринитом [5]. Регуляция синтеза IgE – малоизученный процесс со сложными механизмами регуляции. Известно, что за продукцию общего IgE и специфических IgE отвечают разные генетические структуры. Среди генов, контролирующих продукцию специфических IgE, главная роль отводится аллелям HLA II класса [7,9]. Немногочисленные исследования показали, что гены HLA II класса могут определять предрасположенность к

чрезмерной продукции общего IgE. В популяции иранцев высокий уровень общего IgE (>200 IU/ml) у больных *Dermatophagoides pteronyssinus*-ассоциированной бронхиальной астме (БА) был сцеплен с HLA-DRB1*11, DRB1*1401, DQA1*0505 и DQB1*0301 [7]. Moffat M. et al. установили, что аллель HLA-DRB1*01 предопределяет высокий, а HLA-DRB1*13 – низкий уровень общего IgE у белых австралийцев, больных atopической БА [6]. По данным Woszczek G. et al., у поляков, как и у австралийцев, высокий уровень общего IgE у больных ПА (злаки) ассоциирован с аллелем HLA-DRB1*01 [9]. Исследование GWAS показало, что гены, контролирующие синтез общего IgE, отличны от аллелей, определяющих предрасположенность к БА. По мнению исследователей, подобный феномен объясняется вторичностью атопии по отношению к БА. Однако следует отметить, что в число генов, отвечающих на продукцию общего IgE, отнесены и аллели HLA-DRB1 [9] и HLA-DQ [10], связь которых с предрасположенностью к БА доказана во множестве исследований. Как видно, в разных популяционных группах продукция общего IgE регулируется несовпадающими HLA специфичностями, что объясняется чрезвычайным полиморфизмом генов HLA. Это утверждение справедливо и для клинических фенотипов атопии.

В ранее проводившихся исследованиях были типированы иммуногенетические маркеры некоторых инфекционных и соматических заболеваний в популяции русских Астраханской геногеографической зоны [1]. В этот своеобразный «банк данных» вошли и респираторные аллергические заболевания [2,3,4]. Так, было установлено, что в популяции русских Астраханской области маркерами предрасположенности к ПА и аллергической БА являются специфичности DRB1*08 и DQB1*05 соответственно [2].

Целью нашего исследования было обнаружение ассоциативных связей между продукцией общего IgE у больных пылевой аллергией (ПА) представителей русской этнической группы Астраханской области и специфичностями HLA II класса.

Материал и методы. Типирование аллелей HLA-DRB1, HLA-DQB1 было проведено у 61 больного ПА, принадлежащих к русской популяционной группе Астраханской геногеографической области. В обследованной группе 30 пациентов страдали atopической (пылевой) бронхиальной астмой (АПБА), у 31 человека был диагностирован пылевой аллергический ринит (ПАР). Контрольную группу составили 94 здоровых доноров русской национальности, проживающих в Астраханской области.

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

Критерии включения в исследование:

- наличие ПА (ПАР или ПАР в сочетании с АПБА) 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:

- HLA-ассоциированные заболевания в анамнезе;
- наличие симптомов аллергического ринита и/или бронхиальной астмы вне сезона цветения аллергенных растений, связанных с сенсibilизацией 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, тимopheевка, овсяница, ежа, рожь, мятлик, райграс, лисохвост, пырей, кукуруза, конопля, полевица, 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 (ИмуноФА-IgE, ЗАО «НВО Иммунотех», г. Москва). Общий уровень IgE считался повышенным при его значениях выше 100 МЕ/мл.

Типирование аллелей HLA-DRB1, HLA-DQB1 у больных ПА проводили методом полимеразной цепной реакции (PCR-SSP lowre solution) с помощью наборов реагентов «Biotest» (Германия) в иммуногенетической лаборатории ЗАО «Межрегиональный центр иммуногенетики и гистотипирующих реагентов "Гисанс"» (г. Санкт-Петербург, Россия).

Частоты аллелей и их гаплотипов рассчитывали с использованием EM-алгоритма методом максимального правдоподобия (maximum like lihood) с помощью программы для популяционно-генетических исследований ARLEQUIN ver 3.11. Статистическая обработка данных иммуногенетического исследования включала в себя также расчет и анализ величины относительного риска (RR). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. При сравнении групп коррекция на количество исследуемых признаков не вводилась.

Результаты. У 39 человек из 61 основной группы общий уровень IgE превышал 100 МЕ/мл, а у 22 – был ниже 100 МЕ/мл. В группе больных ПА с уровнем общего IgE более 100 МЕ/мл 18 человек страдали CAP и 21 – АПБА+CAP. Данные о частотах специфичностей DRB1 и DQB1 у больных ПА с высоким уровнем IgE-ответа представлены в таблице 1.

Таблица 1

**Распределение аллелей HLA-DRB1 и HLA-DQB1 у больных пыльцевой
аллергией с общим уровнем IgE>100 МЕ/мл**

Аллели HLA	Больные ПА с уровнем общего IgE>100 МЕ/мл n=39		Контроль n=94		χ^2	RR	EF	PF
	n	%	n	%				
DRB1*01	6	15,4	14	14,9	0,04	1,08	0,011	-
DRB1*15(02)	17	43,6	27	28,7	2,12	1,91	0,208	-
DRB1*16(02)	4	10,3	5	5,3	0,43	2,06	0,053	-
DRB1*17(03)	8	20,5	10	10,6	1,53	2,17	0,111	-
DRB1*04	6	15,4	19	20,2	0,80	0,75	-	0,050
DRB1*11(05)	8	20,5	31	32,9	2,71	0,54	-	0,157
DRB1*12(05)	1	2,6	3	3,2	0,56	1,02	0,0005	-
DRB1*13(06)	8	20,5	36	38,3	4,78	0,43	-	0,230
DRB1*14(06)	0	0	0	0	0	0	0	0
DRB1*07	8	20,5	30	31,9	2,36	0,57	-	0,143
DRB1*08	7	17,9	4	4,3	5,13	4,64	0,141	-
DRB1*09	1	2,6	5	5,3	1,34	0,63	-	0,015
DRB1*10	0	0	3	3,2	3,13	0,33	0	0
DRB1*x	4	10,3	Н/Д	Н/Д	-	-	-	-
DQB1*02	17	43,6	39	41,5	0,0	1,09	0,037	-
DQB1*03	13	33,3	49	52,1	4,70	0,47	-	0,332
DQB1*04	4	10,3	4	4,3	0,45	2,55	0,062	-
DQB1*05	12	30,8	21	22,3	0,65	1,55	0,110	-
DQB1*06	19	48,7	53	56,4	1,00	0,74	-	0,203
DQB1*x	13	33,3	Н/Д	Н/Д	-	-	-	-

Примечание: Н/Д – нет данных.

У больных ПА с высоким уровнем продукции общего IgE по сравнению с контрольной группой статистически значимые различия с положительным характером ассоциативной связи установлены для специфичности DRB1*08. По нашим данным, предрасположенность к гиперпродукции общего IgE в случае присутствия в генотипе аллеля DRB1*08 увеличивается в 4,64 (RR=4,64; EF=0,141; p<0,05). Негативная ассоциация с высоким уровнем общего IgE-ответа обнаружена для специфичностей DRB1*13 (RR=0,43; 1/RR=2,33; PF=0,230; p<0,05) и DQB1*03 (RR=0,047; 1/RR=2,13; PF=0,332; p<0,05).

Из 22 больных ПА с уровнем общего сывороточного IgE<100 МЕ/мл 13 человек страдали САР, у 9 была диагностирована сочетанная патология – АПБА+САР. Как видно, у «низких» IgE-респондеров доля больных АПБА была меньше, чем в группе пациентов с высоким уровнем IgE-ответа, однако различия оказались статистически незначимы ($\chi^2=0,5$; p=0,48).

Как видно из данных, представленных в таблице 2, у больных ПА с общим уровнем IgE<100 МЕ/мл по сравнению со здоровой популяцией статически значимо реже встречается аллель DRB1*13 (RR=0,39; 1/RR=2,56; PF=0,237; p<0,05).

Таблица 2

Распределение аллелей HLA-DRB1 и HLA-DQB1 у больных пылевой аллергией с общим уровнем IgE<100 МЕ/мл

Аллели HLA	Больные ПА с уровнем общего IgE<100 МЕ/мл n=22		Контроль n=94		χ^2	RR	EF	PF
	n	%	n	%				
DRB1*01	1	4,5	14	14,9	2,74	0,39	-	0,067
DRB1*15(02)	8	36,4	27	28,7	0,20	1,44	0,111	-
DRB1*16(02)	1	4,5	5	5,3	0,47	1,14	0,005	-
DRB1*17(03)	3	13,6	10	10,6	0,0	1,44	0,042	-
DRB1*04	4	18,2	19	20,2	0,26	0,94	-	0,012
DRB1*11(05)	7	31,8	31	32,9	0,13	0,98	-	0,009
DRB1*12(05)	1	4,5	3	3,2	0,11	1,82	0,021	-
DRB1*13(06)	4	18,2	36	38,3	4,15	0,39	-	0,237
DRB1*14(06)	1	4,5	0	0	0,63	13,19	0,042	-
DRB1*07	5	22,7	30	31,9	1,22	0,66	-	0,111
DRB1*08	4	18,2	4	4,3	3,43	4,89	0,145	-
DRB1*09	0	0	5	5,3	2,85	0,36	0	0
DRB1*10	1	4,5	3	3,2	0,11	1,82	0,021	-
DRB1*x	4	18,2	Н/Д	Н/Д	-	-	-	-
DQB1*02	7	31,8	39	41,5	1,16	0,68	-	0,150
DQB1*03	9	40,9	49	52,1	1,40	0,65	-	0,232
DQB1*04	3	13,6	4	4,3	1,36	3,61	-	0,099
DQB1*05	8	36,4	21	22,3	1,20	2,00	0,182	-
DQB1*06	11	56,4	53	56,4	0,61	0,78	-	0,176
DQB1*x	6	27,3	Н/Д	Н/Д	-	-	-	-

Примечание: Н/Д – нет данных.

Нами был проведен сравнительный анализ выявленных HLA-профилей. Результаты анализа приведены в таблице 3.

Наибольшая величина относительного риска (RR=2,78) была определена для специфичности DRB1*01, которая встречалась у больных ПА с высоким уровнем IgE-ответа в 3 раза чаще, чем в группе сравнения, однако различия между группами не достигли статистически значимых значений (p>0,05). Проведенный анализ показал, что генетическими маркерами низкой IgE-продуктивности являются специфичности DRB1*14 (RR=0,18; 1/RR=5,56; p<0,05) и DRB1*10 (RR=0,18; 1/RR=5,56; p<0,05).

**Сравнение распределения аллелей HLA-DRB1 и HLA-DQB1 у больных
пыльцевой аллергией в зависимости от общего уровня IgE**

Аллели HLA	Больные ПА с уровнем общего IgE>100 МЕ/мл n=39		Больные ПА с уровнем общего IgE<100 МЕ/мл n=22		χ^2	RR	EF	PF
	n	%	n	%				
DRB1*01	6	15,4	1	4,5	0,73	2,78	0,099	-
DRB1*15(02)	17	43,6	8	36,4	0,08	1,33	0,107	-
DRB1*16(02)	4	10,3	1	4,5	0,09	1,82	0,046	-
DRB1*17(03)	8	20,5	3	13,6	0,10	1,50	0,069	-
DRB1*04	6	15,4	4	18,2	0,41	0,80	-	0,039
DRB1*11(05)	8	20,5	7	31,8	1,67	0,56	-	0,150
DRB1*12(05)	1	2,6	1	4,5	1,36	0,56	-	0,020
DRB1*13(06)	8	20,5	4	18,2	0,01	1,11	0,020	-
DRB1*14(06)	0	0	1	4,5	5,72	0,18	0	0
DRB1*07	8	20,5	5	22,7	0,28	0,86	-	0,034
DRB1*08	7	17,9	4	18,2	0,14	0,95	-	0,010
DRB1*09	1	2,6	0	0	0,09	1,75	0,011	-
DRB1*10	0	0	1	4,5	5,72	0,18	0	0
DRB1*x	4	10,3	4	18,2	1,63	0,52	-	0,088
DQB1*02	17	43,6	7	31,8	0,40	1,61	0,165	-
DQB1*03	13	33,3	9	40,9	0,76	0,72	-	0,131
DQB1*04	4	10,3	3	13,6	0,67	0,71	-	0,042
DQB1*05	12	30,8	8	36,4	0,53	0,78	-	0,092
DQB1*06	19	48,7	11	56,4	0,13	0,95	-	0,032
DQB1*x	13	33,3	6	27,3	0,04	1,29	0,076	-

При сравнительном анализе распределения частот двухлокусных гаплотипов HLA-DRB1-DQB1 в группах с разными уровнями общего IgE и в группе больных ПА в целом (таблица 4) установлено, что самым частым гаплотипическим сочетанием в группах сравнения является DRB1*15-DQB1*06: оно выявлено в 38,5 %, 36,4 % и 37,7 % случаев соответственно. У больных ПА, имевших общий уровень IgE>100 МЕ/мл, с большей частотой, чем в сравниваемой группе «низких» IgE-ответчиков, регистрировались гаплотипы DRB1*01-DQB1*05 (12,8 % против 4,5 %; RR=2,29), DRB1*03-DQB1*02 (17,9 % против 9,1 %; RR=1,89), DRB1*08-DQB1*02 (12,8 % против 4,5 %; RR=2,28).

Таблица 4

**Сравнение частот некоторых двухлокусных гаплотипов HLA-DRB1-DQB1 у
больных пыльцевой аллергией в зависимости от общего уровня IgE**

Гаплотипы DRB1-DQB1	Больные ПА с уровнем общего IgE>100 МЕ/мл n=39,%	Больные ПА с уровнем общего IgE<100 МЕ/мл n=22,%	RR ₁ p ₁	ПА n=61,%	RR ₂ p ₂	RR ₃ p ₃

01-05	12,8	4,5	2,29 p ₁ >0,05	9,8	1,36 p ₂ >0,05	0,60 p ₃ >0,05
03-02	17,9	9,1	1,89 p ₁ >0,05	14,8	1,28 p ₂ >0,05	0,67 p ₃ >0,05
04-03	12,8	18,2	0,66 p ₁ >0,05	14,8	0,88 p ₂ >0,05	1,34 p ₃ >0,05
07-02	15,4	22,7	0,62 p ₁ >0,05	18	0,85 p ₂ >0,05	1,38 p ₃ >0,05
08-02	12,8	4,5	2,28 p ₁ >0,05	6,6	2,04 p ₂ >0,05	0,89 p ₃ >0,05
11-x	12,8	9,1	1,31 p ₁ >0,05	11,5	1,16 p ₂ >0,05	0,87 p ₃ >0,05
11-05	10,3	13,6	0,71 p ₁ >0,05	11,5	0,92 p ₂ >0,05	1,30 p ₃ >0,05
15-06	38,5	36,4	1,08 p ₁ >0,05	37,7	1,04 p ₂ >0,05	0,96 p ₃ >0,05

Примечание: RR₁ – величина относительного риска общего уровня IgE>100 МЕ/мл.
 RR₂ – величина относительного риска общего уровня IgE>100 МЕ/мл у больных ПА.
 RR₃ – величина относительного риска общего уровня IgE<100МЕ/мл у больных ПА.

С низкой частотой у больных с высоким общим уровнем сывороточного IgE регистрировались гаплотипические сочетания DRB1*04-DQB1*03 (12,8 % против 18,2 %; RR=0,66) и DRB1*07-DQB1*02 (15,4 % против 22,7 %; RR=0,62). Однако анализ ни в одном случае не выявил статистически значимые различия между группами.

Полученные результаты свидетельствуют, что специфичности HLA-II DRB1*10 и DRB1*14 вовлечены в регуляцию продукции общего IgE у больных ПА в качестве генов-протекторов. Кроме того, нами установлено, что за синтез общего IgE и предрасположенность к АЗ отвечают разные специфичности HLA.

Список литературы

1. Левитан Б. Н., Попов Е. А. Современные аспекты клинической иммуногенетики: монография. – Астрахань: АГМА, 2004. – 236 с.
2. Шамгунова Б. А., Левитан Б. Н., Маркова М. М. Иммуногенетические маркеры манифестации бронхиальной астмы у больных аллергическим ринитом // Медицинская Иммунология. – 2015. – Т. 17, № 3. – С.80.
3. Шамгунова Б. А., Левитан Б. Н., Сартова А. Р. Распределение четырехлокусных гаплотипов HLA-A-B-DRB1-DQB1 у больных пыльцевой аллергией // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2015. – № 1. – С.60-63.

4. Шамгунова Б. А., Попов Е. А., Левитан Б. Н. Ассоциация аллелей HLA-DRB1 и HLA-DQB1 с сезонным аллергическим ринитом и атопической (пыльцевой) бронхиальной астмой // *Фундаментальные исследования*. – 2011. – №11 (3). – С.578-581.
5. Marsh D. G., Mayers D. A., Bias W. B. The epidemiology and genetics of atopic allergy // *N.Engl J Med*. – 1981. – Vol. 305. – P. 151-1559.
6. Moffat M. F. Association between quantitative traits underlying asthma and the HLA-DRB1 locus in a family-based population study // *European Journal of Human Genetics*. – 2001. –Vol. 9. – P.341-346.
7. Movahedi M. Association of HLA class II alleles with childhood asthma and total IgE levels // *Iran J Allergy Asthma Immunol*. – 2008. – Vol.7 (4). – P. 215-200.
8. Potaczek D. P., Kabesch M. Current concepts of IgE regulation and impact of genetic determinants // *ClinExp Allergy*. 2012 Jun.; 42(6). P.852-71.
9. Woszczek G. Association of asthma and total IgE levels with human leukocyte antigen-DR in patients with grass allergy // *Eur Respir J*. 2002. Vol. 20. P. 79-85.
10. Zhang Y., Moffatt M. F., Cookson W. O. Genetic and genomic approaches to asthma: new insights for the origins // *Curr Opin Pulm Med*. 2012 Jan.; 18(1). P. 6-13.