

Финансирование. Исследование было поддержано грантом РНФ Соглашение № 16-15-00118.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 2—20 см. REFERENCES)

1. Насонов Е.Л. Антифосфолипидный синдром. М.: Литтерра; 2004.
21. Созина А.В., Неустроева Ю.А., Тихомирова Т.А., Лапин С.В. Сочетанная встречаемость аутоантител у больных с диффузными болезнями соединительной ткани. Медицинская иммунология. 2007; 9(1): 69—76.

REFERENCES

1. Nasonov E.L. Antiphospholipid Syndrome [Antifosfolipidnyy sindrom]. Moscow: Litterra; 2004. (in Russian)
2. Miyakis S., Lockshin M.D., Atsumi T., Branch D.W., Cervera R. et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J. Thromb. Haemost. 2006; 4(2): 295—488.
3. Barbhayia M., Erkan D. Top 10 clinical research developments in antiphospholipid syndrome. Curr. Rheumatol. Rep. 2013; 15(10): 367.
4. Devreese K.M. Standardization of antiphospholipid antibody assays. Where do we stand? Lupus. 2012; 21(7): 718—2.
5. Urbanus R.T., de Groot P.G. Antiphospholipid antibodies—we are not quite there yet. Blood Rev. 2011; 25(2): 97—106.
6. De Groot P.G., Derksen R.H., de Laat B. Twenty-two years of failure to set up undisputed assays to detect patients with the antiphospholipid syndrome. Semin. Thromb. Hemost. 2008; 34(4): 347—55.
7. Pierangeli S.S., Favaloro E.J., Lakos G., Meroni P.L., Tincani A., Wong R.C. et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta2 glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin. Chim. Acta. 2012; 413(1-2): 358—60.
8. Ichikawa K., Khamashta M.A., Koike T., Matsuura E., Hughes G.R. Beta 2-Glycoprotein I reactivity of monoclonal anticardiolipin antibodies from patients with the antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum. 1994; 37(10): 1453—61.
9. Ichikawa K., Tsutsumi A., Atsumi T., Matsuura E., Kobayashi S., Hughes G.R. et al. A chimeric antibody with the human gamma1 constant region as a putative standard for assays to detect IgG beta2-glycoprotein I-dependent anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I antibodies. Arthritis Rheum. 1999; 42(11): 2461—70.
10. Egerer K., Roggenbuck D., Buttner T., Lehmann B., Kohn A., Von L.P. et al. Single-step autoantibody profiling in antiphospholipid syndrome

- using a multi-line dot assay. Arthritis Res. Ther. 2011; 13(4): R118.
11. Tincani A., Filippini M., Scarsi M., Galli M., Meroni P.L. European attempts for the standardisation of the antiphospholipid antibodies. Lupus. 2009; 18(10): 913—9.
 12. Tincani A., Allegrì F., Balestrieri G., Reber G., Sanmarco M., Meroni P. et al. Minimal requirements for antiphospholipid antibodies ELISAs proposed by the European Forum on antiphospholipid antibodies. Thromb. Res. 2004; 114(5-6): 553—8.
 13. Reber G., Tincani A., Sanmarco M., de Moerloose P., Boffa M.C. Proposals for the measurement of anti-beta2-glycoprotein I antibodies. Standardization group of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies. J. Thromb. Haemost. 2004; 2(10): 1860—2.
 14. Wong R.C., Australasian aCL Working Party. Consensus guidelines for anticardiolipin antibody testing. Thromb. Res. 2004; 114(5-6): 559—71.
 15. Devreese K.M., Pierangeli S.S., de Laat B., Tripodi A., Atsumi T., Ortel T.L. et al. Testing for antiphospholipid antibodies with solid phase assays: guidance from the SSC of the ISTH. J. Thromb. Haemost. 2014; 12(5): 792—5.
 16. Covelli M., Lapadula G., Numo R. Immunoenzymatic test for the study of anti-cardiolipin antibodies. Evaluation of a commercial kit. Quad. Sclavo. Diagn. 1987; 23(4): 447—53.
 17. Reber G., Boehlen F., de Moerloose P. Technical aspects in laboratory testing for antiphospholipid antibodies: is standardization an impossible dream? Semin. Thromb. Hemost. 2008; 34(4): 340—6.
 18. Decavele A.S., Schouwers S., Devreese K.M. Evaluation of three commercial ELISA kits for anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I antibodies in the laboratory diagnosis of the antiphospholipid syndrome. Int. J. Lab. Hematol. 2011; 33(1): 97—108.
 19. Ieko M., Nakabayashi T., Tarumi T., Yoshida M., Naito S., Atsumi T. et al. Phosphatidylserine-dependent anti-prothrombin antibody as a new marker for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. Rinsho Byori. 2006; 54(3): 256—62.
 20. Atsumi T., Ieko M., Bertolaccini M.L., Ichikawa K., Tsutsumi A., Matsuura E. et al. Association of autoantibodies against the phosphatidylserine-prothrombin complex with manifestations of the antiphospholipid syndrome and with the presence of lupus anticoagulant. Arthritis Rheum. 2000; 43(9): 1982—93.
 21. Sozina A.V., Neustroeva Yu.A., Tikhomirova T.A., Lapin S.V. Coincidence of autoantibodies among patients with diffuse connective tissue disorders. Meditsinskaya immunologiya. 2007; 9(1): 69—76. (in Russian)

Поступила 27.06.16

Принята к печати 01.08.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.24-007.272-092:612.6.02.017.1].613.6

Карзакова Л.М.¹, Мучукова О.М.¹, Борисова Л.В.², Кудряшов С.И.¹

ИССЛЕДОВАНИЕ HLA-АССОЦИАЦИЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ В УСЛОВИЯХ КРЕМНИЙОРГАНИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

¹ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова» Минобрнауки России, 428015, г. Чебоксары;

²БУ «Республиканский эндокринологический диспансер» Минздрава Чувашии, 428009, г. Чебоксары

Цель работы — изучить ассоциации полиморфных аллельных генов HLA класса II — DRB1, DQA1 и DQB1 и их гаплотипических сочетаний с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) у работников кремнийорганического производства в чувашской популяции. Проведено HLA-генотипирование 50 больных ХОБЛ и 38 здоровых работников кремнийорганического производства, принадлежащих к чувашской этнической популяции. Генотипирование проводили по трем генам HLA: DRB1 (14 аллелей), DQA1 (8 аллелей) и DQB1 (11 аллелей) методом мультипраймерной полимеразной цепной реакции. Для типирования использовали наборы фирмы «ДНК-Технология» (Россия). Степень ассоциации HLA-аллелей и гаплотипов с развитием ХОБЛ в условиях кремнийорганического производства определяли по значению относительного риска (ОР). Обнаружены отрицательные ассоциации ХОБЛ с аллелями HLA-DRB1*01 (ОР = 0,021; $p < 0,001$); DQA1*0101 (ОР = 0,013; $p < 0,001$); DQB1*0501 (ОР = 0,021; $p < 0,001$) и гаплотипами DRB1*01-DQA1*0101 (ОР = 0,031; $p < 0,01$); DRB1*07-DQA1*0201 (ОР = 0,076; $p < 0,01$); DRB1*13-DQA1*0102 (ОР = 0,11; $p < 0,05$). Установлены HLA-маркеры устойчивости к развитию ХОБЛ в условиях кремнийорганического производства в чувашской популяции.

Для корреспонденции: Карзакова Луиза Михайловна, д-р мед.наук, зав.каф. госпитальной терапии с курсом клин. иммунологии, e-mail: luizak58@mail.ru

Ключевые слова: HLA-ассоциация заболеваний; хроническая обструктивная болезнь легких; чувашская популяция; кремнийорганическое производство.

Для цитирования: Карзакова Л.М., Мучукова О.М., Борисова Л.В., Кудряшов С.И. Исследование HLA-ассоциаций хронической обструктивной болезни легких в условиях кремнийорганического производства. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62 (1): 44-49. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-1-44-49>

Карзакова Л.М.¹, Мучукова О.М.¹, Борисова Л.В.², Кудряшов С.И.¹

THE STUDY OF HLA-ASSOCIATIONS OF CHRONIC OBSTRUCTIVE DISEASE OF LUNGS IN CONDITIONS OF ORGANIC-SILICON MANUFACTURE

¹The I.N. Ulianov Chuvashskii` state university of the Minobrnauka of Russia, 428015 Cheboksary, Russia

²The Respublikanskii` endocrinology dispensary of the Minzdrav of Chuvashiia, 428009 Cheboksary, Russia

*The purpose of study is to examine associations of polymorphic allele genes HLA class II - DRB1, DQA1 and DQB1 and their haplotypic combinations with chronic obstructive disease of lungs in workers of organocilic manufacture in Chuvash population. The HLA-genotyping was implemented to 50 patients with chronic obstructive disease of lungs and 38 healthy workers of organocilic manufacture, belonging to Chuvash ethnic population. The genotyping was implemented on three genes HLA: DRB1 (14 alleles), DQA1 (8 alleles) and DQB1 (11 alleles) using multi-primary polymerase chain reaction technique. The typing was implemented using kits manufactured by "DNA-Technology" (Russia). The degree of association of HLA-alleles and gaplotypes with development of chronic obstructive disease of lungs in conditions of organocilic manufacture was determined by value of relative risk (rr). The study established negative associations of chronic obstructive disease of lungs with alleles HLA-DRB1*01 (rr=0.021; p<0.001); DQA1*0101 (rr=0.013; p<0.001); DQB1*0501 (rr=0.021; p<0.001) and gaplotypes DRB1*01-DQA1*0101 (rr=0.031; p<0.01); DRB1*07-DQA1*0201 (rr=0.076; p<0.01); BKII1*13-DQA1*0102 (rr=0.11; p<0.05). The HLA-markers of resistance to development of chronic obstructive disease of lungs in conditions of organocilic manufacture in Chuvash population.*

Key words: HLA-association of diseases; chronic obstructive disease of lungs; Chuvash population; organocilic manufacture

For citation: Karzakova L.M., Muchukova O.M., Borisova L.V., Kudriashov S.I. The study of HLA-associations of chronic obstructive disease of lungs in conditions of organo-silicon manufacture. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62 (1): 44-49. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-1-44-49>

For correspondence: Karzakova L.M., doctor of medical sciences, head of the chair of hospital therapy with course of clinical immunology. e-mail: luizak58@mail.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support

Received 15.06.2016

Accepted 28.06.2016

Введение. О возможности развития патологии бронхиального дерева, связанной с воздействием вредных производственных факторов, известно на протяжении нескольких столетий [3]. В настоящее время известны две нозологические формы профессионального поражения воздухоносных путей легких — профессиональный бронхит и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) профессиональной этиологии [13]. В соответствии с программным документом экспертов глобальной инициативы по борьбе с ХОБЛ — Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD), «ХОБЛ — болезненное состояние, характеризующееся не полностью обратимой бронхиальной обструкцией» [16]. Обструкция прогрессирует и является следствием атипичной воспалительной реакции легких на раздражающие частицы и газы. Главным фактором риска в 80—90% случаев ХОБЛ выступает курение. Существенная часть (4,5—24,6%) случаев ХОБЛ может быть связана с производственной деятельностью человека [7, 14]. Среди основных факторов риска профессиональной природы наиболее агрессивными считаются кадмий и кремний [1]. Кремнийорганические соединения вызывали в эксперименте повреждение слизистой оболочки бронхиального дерева, эмфизематозное расширение просветов альвеол с истончением межальвеолярных перегородок [4]. В связи с этим наше внимание привлекли высокие показатели заболеваемости ХОБЛ, рост заболеваемости с временной утратой трудоспособности по болезням органов дыхания у работников цеха по производству кремнийорганических соединений ПАО «Химпром», г. Новочебоксарск Чувашской Республики [11].

Вместе с тем не у всех курящих и не у всех работников, подвергающихся вредному воздействию промышленных аэрозолей, развивается бронхиальная обструкция [16]. Сле-

довательно, в формировании ХОБЛ участвуют внутренние индивидуальные факторы. Предполагается наличие группы генов восприимчивости к ХОБЛ, включающей гены фактора некроза опухоли альфа, трансформирующего фактора роста бета1 [12]. На роль генов, определяющих предрасположенность индивида к развитию ХОБЛ, могут претендовать и аллели генов системы гистосовместимости человека — HLA (human leukocyte antigens) [21]. HLA-гены класса II, чрезвычайно важные для развития иммунного ответа, рассматриваются в качестве маркеров целого ряда заболеваний, в патогенезе которых участвуют иммунологические механизмы [17, 18, 20]. Известны единичные работы, посвященные изучению ассоциации генов HLA с ХОБЛ [2, 6]. В чувашской популяции выявлена связь ХОБЛ с HLA-аллелями DRB1*11, DQB1*0301 [6]. В русской популяции населения Ульяновской области России данное заболевание было ассоциировано с аллелями DQB1*0201, DQA1*0101 [2]. Противоречивость приведенных данных может быть связана с этническими особенностями HLA-профиля обследуемых и разнородностью состава обследованных групп, обусловленных различиями в этиопатогенетических механизмах развития ХОБЛ.

Целью настоящего исследования явилось определение роли генов HLA (класс II) в развитии ХОБЛ в условиях кремнийорганического производства в чувашской популяции.

Материал и методы. Обследованы 88 работников цеха кремнийорганического производства (ПАО «Химпром», г. Новочебоксарск, Россия). Обследуемую когорту разделили на две группы. Первую группу составили больные ХОБЛ в стадии ремиссии — 50 человек (в том числе 20 мужчин и 30 женщин в возрасте 28—66 лет), у которых симптомы заболевания в виде кашля и одышки развились в течение 3—5 лет после начала работы на химкомбинате. ХОБЛ диагностировали в

соответствии с диагностическими критериями GOLD [16]. Длительность заболевания — $12,3 \pm 2,4$ года. Вторую группу составили 38 человек (22 мужчины и 16 женщин в возрасте 32—64 лет), работающих и живущих в тех же условиях на протяжении 15—30 лет и не имеющих заболеваний, связанных с профессиональной деятельностью. Эта группа работников, устойчивых к развитию ХОБЛ, условно названа группой «резистентных» к заболеванию. Сформированные группы были однородны по половому, возрастному составу, продолжительности работы на химическом производстве, стажу курения. Средний возраст группы больных ХОБЛ составил $45,4 \pm 2,3$ года, лиц группы «резистентных» — $43,5 \pm 2,1$ года. В обеих группах преобладали лица мужского пола, составляющие $66,0 \pm 6,7\%$ в первой группе и $68,4 \pm 7,5\%$ — во второй. В первой группе доля курящих равнялась $22,0 \pm 5,8\%$, во второй — $21,0 \pm 6,6\%$. С целью исключения этнических различий в обследуемые группы отбирались лишь коренные жители Чувашии, предки которых как минимум в трех последних поколениях принадлежали к чувашской этнической популяции.

HLA-генотипирование аллелей II класса проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) согласно методике производителя в ДНК, полученной из ядерных клеток периферической крови (ПК), с использованием наборов реагентов НПФ «ДНК-Технология» (Москва). Типировали по 14 аллелям DRB1, 8 аллелям DQA1 и 11 аллелям DQB1-локусов. Параллельно с иммуногенетическими исследованиями проводили иммунофенотипирование мононуклеарных клеток ПК обследуемых методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител CD3, CD4, CD8, CD20, CD25, CD71, CD95 («Сорбент», Москва), определение концентрации сывороточных IgM, IgG, IgA по Манчини, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) методом осаждения полиэтиленгликолем (ПЭГ-6000), изучение фагоцитарной активности нейтрофилов в латекс-тесте согласно стандартным методикам [10]. Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 10.0. Частоту аллелей и гаплотипов (H) вычисляли по формулам, предложенным Р. Mattiuz и соавт. [19]. Силу ассоциации анализируемых признаков определяли с помощью величины относительного риска (ОР), которую высчитывали по модифицированной формуле J. Haldane для малых выборок [8]. Достоверность ассоциации, а также разницы в частоте распространения аллелей в группах обследованных оценивали с помощью четырехпольной таблицы сопряженности с поправкой Йетса на непрерывность вариации (χ^2) и точному двухстороннему тесту Фишера (модуль Nonparametrics/Distrib.). Коррекцию p (p_c) проводили путем умножения величины p на число исследованных HLA-аллелей [8]. При изучении количественных показателей CD3, CD4, CD8, CD20, CD25, CD71, CD95-лимфоцитов, IgM, IgG, IgA, ЦИК учитывалось их распределение. Если оно приближалось к нормальному, то данные представляли в виде $M \pm SD$ (где M — среднее арифметическое, SD — среднее квадратичное отклонение), при этом достоверность различия количественных показателей определяли с помощью t -параметрического критерия Стьюдента (p). Если распределение отличалось от нормального, то данные представляли в виде $Me \{P_{10}; P_{90}\}$, где Me — медиана, P_{10} — нижний и P_{90} — верхний перцентили, и при сравнении двух независимых выборок использовали непараметрический критерий Манна—Уитни [9].

Результаты и обсуждение. Анализ частот обнаруженных аллелей HLA класса II в обследованных группах выявил отсутствие у больных ХОБЛ аллелей DRB1*01, DQA1*0101 и DQB1*0501. При этом все три данных аллеля являлись наиболее часто встречающимися HLA-специфичностями у представителей группы «резистентных» работников кремнийорганического производства (табл. 1).

Выраженность ассоциации аллелей HLA с развитием ХОБЛ определялась по значению ОР. Значения ОР, превышающие 1, свидетельствуют о положительной ассоциации аллеля с развитием рассматриваемого заболевания; значения ОР меньше 1 указывают на ассоциацию вариантов HLA-генов с устойчивостью к развитию заболевания. У больных ХОБЛ установлены отрицательные ($OP < 1$) связи HLA-генов DRB1*01, DQA1*0101 и DQB1*0501 с развитием заболевания. Более наглядными являются реципрокные значения, представляющие собой величины, обратные ОР ($1/OP$), которые показывают, во сколько раз меньше риск развития заболевания у лиц, имеющих в своем генотипе конкретный аллель, чем у лиц

Таблица 1

Частоты распределения аллелей HLA класса II среди больных ХОБЛ и устойчивых к развитию ХОБЛ работников кремнийорганического производства, %

HLA-аллель	Больные ХОБЛ (n = 50)	Устойчивые к ХОБЛ (n = 38)	p
DRB1*01	0	15,8	< 0,001
*15(02)	14,0	5,3	NS
*16(02)	6,0	10,5	NS
*17(03)	6,0	13,2	NS
*18(03)	0	0	NS
*04	12,0	7,9	NS
*11(05)	26,0	7,9	NS
*12(05)	6,0	2,6	NS
*13(06)	10,0	6,6	NS
*14(06)	0	5,3	NS
*07	2,0	13,1	NS
*08	2,0	5,3	NS
*09	16,0	6,1	NS
*10	0	0	NS
DQA1*0101	0	21,0	< 0,001
*0102	18,0	18,4	NS
*0103	12,0	5,3	NS
*0201	2,0	13,1	NS
*0301	28,0	13,1	NS
*0401	2,0	5,3	NS
*0501	38,0	23,7	NS
*0601	0	0	NS
DQB1*0201	6,0	23,7	NS
*0301	34,0	15,8	NS
*0302	4,0	0	NS
*0303	22,0	7,9	NS
*0305	2,0	2,6	NS
*0401/0402	2,0	5,3	NS
*0501	0	15,8	< 0,01
*0502/0504	6,0	15,8	NS
*0503	0	0	NS
*0601	6,0	2,6	NS
*0602-8	18,0	10,5	NS

Примечание. NS — различие статистически недостоверно ($p > 0,05$).

Таблица 2

Частота HLA-ассоциаций у больных ХОБЛ и у устойчивых к ХОБЛ работников кремнийорганического производства

HLA-аллель	Частота HLA-аллеля, %		ОР	I/ОР	p _c
	Больные ХОБЛ	Устойчивые к ХОБЛ			
DRB1*01	0	15,8	0,021	47,6	0,0001
DQA1*0101	0	21,0	0,013	76,9	0,0001
DQB1*0501	0	15,8	0,021	47,6	0,0001

без этого аллеля. Наличие у работников кремнийорганического производства в генотипе аллелей DRB1*01, DQA1*0101 и DQB1*0501 снижает риск возникновения ХОБЛ в 47,6; 76,9 и 47,6 раза соответственно (табл. 2).

Для анализа генетической структуры популяции большее значение, по сравнению с отдельными аллелями, имеют устойчивые гаплотипические сочетания, которым свойственно достоверное положительное неравновесное сцепление [5]. Из парных сочетаний аллелей локусов HLA-DRB1 и HLA-DQA1, имеющих статистически значимое положительное сцепление, гаплотипы HLA-DRB1*01-DQA1*0101, HLA-DRB1*07-DQA1*0201, HLA-DRB1*13-QA1*0102, HLA-DRB1*14-DQA1*0101, HLA-DRB1*15-QA1*0103 и DRB1*17-DQA1*0501 определялись лишь в группе резистентных лиц и не обнаружены у больных ХОБЛ (табл. 3). Два гаплотипических сочетания: HLA-DRB1*11-DQA1*0501 и HLA-DRB1*15-DQA1*0102 не выявлялись у устойчивых к развитию ХОБЛ работников, но встречались у больных ХОБЛ.

Анализ аллельных сочетаний локусов DRB1 и DQB1 показал, что для больных ХОБЛ характерно присутствие гаплотипа DRB1*15-DQB1*0601, в то время как у резистентных к заболеванию лиц специфичным был гаплотип DRB1*14-DQB1*0502-04. Среди аллелей локусов DQA1 и DQB1 не было выявлено ни одного статистически достоверного гаплотипического сочетания ни в группе больных, ни в группе устойчивых к развитию заболевания лиц.

В результате изучения степени ассоциации HLA-гаплотипов с развитием ХОБЛ с использованием показателя ОР установлено, что из перечисленного выше ряда гаплотипических сочетаний лишь три гаплотипа — DRB1*01-DQA1*0101, DRB1*07-DQA1*0201 и DRB1*13-DQA1*0102 — имели статистически значимую ассоциацию с ХОБЛ (табл. 4), причем все связи имели обратный характер. Следовательно, наличие данных гаплотипов в генотипе работников кремнийорганического производства обеспечивает устойчивость к развитию ХОБЛ.

По мнению W. Vodmer и J. Vodmer [15], проявление неравновесного сцепления в популяции обусловлено действием естественного отбора. Неравновесное сцепление обеспечивает наиболее благоприятное взаимоотношение с окружающей средой. Видимо, присутствие в геноме у представителей чувашской популяции гаплотипов DRB1*01-DQA1*0101, DRB1*07-DQA1*0201 и DRB1*13-DQA1*0102 обеспечивает резистентность к отрицательным факторам внешней среды и обуславливает устойчивость к развитию ХОБЛ в условиях кремнийорганического производства, а также, возможно, в условиях воздействия и других факторов, способных вызывать развитие данного заболевания (курение, выхлопные газы автотранспорта, химические поллютанты и др.). Данные гаплотипы можно рассматривать как протективные маркеры заболевания.

Вероятно, гаплотипы устойчивости к ХОБЛ обеспечивают оптимальное функционирование иммунной системы, выполняя регулирующую функцию в отношении иммунного ответа.

Таблица 3

Частота HLA-гаплотипов со статистически значимой и положительной величиной неравновесного сцепления у работников кремнийорганического производства

HLA-гаплотип	Больные ХОБЛ	Устойчивые к ХОБЛ
DRB1*01-DQA1*0101	—	1315
		1728***
DRB1*04-DQA1*0301	1185	957
	1835**	1115**
DRB1*07-DQA1*0201	—	1216
		1416***
DRB1*08-DQA1*0401	206	512
	211*	541**
DRB1*09-DQA1*0301	1891	707
	2929***	823*
DRB1*11-DQA1*0501	1769	—
	3876**	
DRB1*12-DQA1*0501	—	—
DRB1*13-DQA1*0102	—	654
		823*
DRB1*13-DQA1*0103	775	496
	871***	541*
DRB1*14-DQA1*0101	—	848
		1115*
DRB1*15-DQA1*0102	984	—
	1316**	
DRB1*15-DQA1*0103	—	512
		541**
DRB1*16-DQA1*0102	511	1125
	646*	1416**
DRB1*17-DQA1*0501	—	1254
		1728**
DRB1*08-DQB1*0401-02	206	512
	211*	541**
DRB1*09-DQB1*0303	1804	496
	2362***	541*
DRB1*11-DQB1*0301	1744	681
	3230***	823*
DRB1*13-DQB1*0602-08	711	732
	871**	823**
DRB1*14-DQB1*0502-04	—	922
		1115**
DRB1*15-DQB1*0601	544	—
	646*	
DRB1*15-DQB1*0602-08	1034	481
	1324**	541*
DRB1*16-DQB1*0502-04	604	922
	646***	1115**

Примечание. Верхняя строка в каждой ячейке таблицы — частота гаплотипа (H × 10 000), нижняя строка — величина неравновесного сцепления (D × 10 000).

* — p < 0,05; ** — p < 0,01; *** — p < 0,001 — достоверность по двухстороннему точному методу Фишера для четырехпольных таблиц.

Таблица 4

Статистически значимые ассоциации гаплотипических сочетаний с ХОБЛ у работников кремнийорганического производства

HLA-гаплотип	ОР	1/ОР	p
DRB1*01-DQA1*0101	0,031	32,2	0,0018
DRB1*07-DQA1*0201	0,076	13,1	0,0035
DRB1*13-DQA1*0102	0,11	9,09	0,039

Поиск механизмов иммунорегуляторной роли HLA-молекул поставил задачу изучения ассоциаций HLA-гаплотипов с иммунологическими параметрами, отражающими функционирование различных звеньев иммунной системы у здоровых людей. Для решения этой задачи исследуемая когорта здоровых работников была разделена на подгруппы в зависимости от наличия и отсутствия в генотипе обследуемого рассматриваемого гаплотипа, и для каждой подгруппы были определены медиана и перцентильные значения иммунологического показателя в пределах P_{10} — P_{90} (табл. 5).

Маркер устойчивости к ХОБЛ-гаплотип DRB1*01-DQA1*0101 имел наибольшее влияние на иммунологические параметры: его наличие в генотипе здоровых лиц определяло более высокие уровни содержания клеток с хелперным фенотипом (CD4), преобладание экспрессии на мононуклеарных клетках активационных маркеров позитивной активации CD25 (рецепторов цитокина с регулирующей Т-клеточной функцией — интерлейкина-2) над маркером негативной активации — CD95 (Fas-рецептором апоптоза). Другой гаплотип — DRB1*13-DQA1*0102 определял низкий уровень экспрессии рецептора активационного апоптоза. Гаплотипическое сочетание аллелей DRB1*07 и DQB1*0201 отрицательно влияло на число эозинофильных клеток в ПК. Таким образом, влияние гаплотипических маркеров устойчивости к развитию ХОБЛ на функционирование иммунной системы сводится к их стимулирующему влиянию на количественные и активационные показатели клеточного звена адаптивного иммунитета. В связи с полученными данными значительный интерес представляет сравнение показателей функционирования различных звеньев иммунной системы больных ХОБЛ и устойчивых к развитию заболевания работников кремнийорганического производства (табл. 6).

Иммунный статус у больных ХОБЛ отличался низкими уровнями содержания в ПК лимфоцитов, связанных с клеточным механизмом адаптивного иммунитета — CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺-клеток. Наблюдался дисбаланс экспрессии

Таблица 6

Статистически значимые различия иммунологических показателей у больных ХОБЛ и здоровых работников кремнийорганического производства ($M \pm SD$)

Иммунологический показатель	Больные ХОБЛ (n = 50)	Устойчивые к ХОБЛ (n = 38)
CD3 ⁺ -клетки, %	42,3 ± 9,3***	52,6 ± 6,2
CD3 ⁺ -клетки, абс.	830,6 ± 217,6***	1016,3 ± 266,5
CD4 ⁺ -клетки, %	22,6 ± 4,9***	32,2 ± 4,8
CD4 ⁺ -клетки, абс.	438,1 ± 199,2***	610,1 ± 222,3
CD8 ⁺ -клетки, %	21,3 ± 6,1*	23,6 ± 5,0
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,2 ± 0,4***	1,4 ± 0,4
CD25 ⁺ -клетки, %	4,1 ± 0,9*	4,5 ± 0,6
CD71 ⁺ -клетки, %	3,8 ± 0,8***	4,4 ± 0,7
CD95 ⁺ -клетки, %	19,8 ± 5,9***	11,2 ± 3,8
ЦИК, усл. ед.	17,9 ± 10,7**	13,0 ± 5,8
IgA, г/л	3,4 ± 1,6***	2,6 ± 1,1

активационных маркеров на клетках: число мононуклеаров, несущих маркеры положительной активации CD25 и CD71, оказалось меньше, чем в группе резистентных лиц, а число клеток, имеющих маркер негативной активации — Fas-рецептор апоптоза, напротив, увеличено. У больных уровни ЦИК и IgA в сыворотке крови были выше, чем у здоровых, что может являться свидетельством активации на системном уровне гуморального звена адаптивного иммунного ответа. Характер изменений в функционировании иммунной системы у больных ХОБЛ в целом противоположен сдвигам в иммунологических параметрах, обусловленных регулирующим влиянием на них гаплотипических маркеров устойчивости к ХОБЛ. Следовательно, обнаруженные в настоящем исследовании HLA-сцепленные генетические факторы устойчивости к развитию ХОБЛ опосредованы, возможно, HLA-ассоциированной устойчивостью факторов иммунной защиты организма человека к отрицательному влиянию на них химических факторов.

Заключение. В генотипе работников кремнийорганического производства выявлены маркеры устойчивости к развитию ХОБЛ — HLA-аллели DRB1*01, DQA1*0101 и DQB1*0501 и гаплотипические сочетания HLA — DRB1*01-DQA1*0101, DRB1*07-DQA1*0201 и DRB1*13-DQA1*0102. Протективные HLA-маркеры ХОБЛ ассоциированы с более высокими показателями клеточного механизма адаптивного иммунитета, находящимися под HLA-сцепленным генетическим контролем.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 13—21 см. REFERENCES)

1. Айсанов З.Р., Кокосов А.Н., Овчаренко С.И., Хмелькова Н.Г., Цой А.Н., Чучалин А.Г. и др. Хронические обструктивные болезни легких. Федеральная программа. *Русский медицинский журнал*. 2001; 9(1): 9—33.
2. Брыляева Е.В., Крюков Н.Н., Жестков А.В. Иммуногенетические исследования хронической обструктивной болезни легких. *Практическая медицина*. 2011; 51(3): 55—7.

Таблица 5

Связь показателей иммунного статуса с HLA-гаплотипами устойчивости к ХОБЛ в чувашской популяции

HLA-гаплотип	Показатель иммунного статуса	Значение показателя Me {P ₁₀ ; P ₉₀ }		p
		в присутствии гаплотипа	в отсутствие гаплотипа	
DRB1*01-DQA1*0101	CD4 ⁺ -клетки, %	34,5 {33; 42}	31 {24; 35}	0,002
	CD25 ⁺ -клетки, %	6 {4; 8}	4 {3; 5}	0,045
	CD95 ⁺ -клетки, %	8,5 {4; 14}	11 {8; 19}	0,013
	CD95 ⁺ -клетки, абс.	140 {80; 280}	200 {130; 350}	0,011
DRB1*13-DQA1*0102	CD95 ⁺ -клетки, %	8 {7; 9}	11 {8; 19}	0,035
DRB1*07-DQA1*0201	Эозинофилы, %	2 {1; 2}	3 {1; 4}	0,006

Примечание. Здесь и в табл. 6: абс. — абсолютное значение содержания клеток (·10⁹/л).

3. Деметьев Е.М. *Фабрика, что она дает населению и что она у него берет*. 2-е изд. М.: Издательство Товарищества И.Д. Сытина; 1897.
4. Диденко М.Н., Стежка В.А. Влияние наночастиц аморфного высокодисперсного кремнезема на морфологическую структуру внутренних органов крыс. *Биотехнология*. 2009; 2(1): 80—6.
5. Зарецкая Ю.М., Абрамов В.Ю. Новые антигены тканевой совместимости человека. М.: Медицина; 1986.
6. Карзакова Л.М., Ухтерова Н.Д., Борисова Л.В., Сунгоркина Е.П., Мучукова О.М., Сунгоркина Т.М. Роль иммунологических и иммуногенетических факторов в развитии хронической обструктивной болезни легких. *Здравоохранение Чувашии*. 2008; (2): 45—51.
7. Мазитова Н.Н. Профессиональные факторы риска хронической обструктивной болезни легких: результаты когортного исследования. *Казанский медицинский журнал*. 2011; 92(4): 537—41.
8. Певницкий Л.А. Статистическая оценка ассоциаций HLA-антигенов с заболеваниями. *Вестник Академии медицинских наук СССР*. 1988; (7): 48—51.
9. Платонов А.Е. *Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы*. М.: Медицина; 2000.
10. Хайтов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. *Экологическая иммунология*. М.: Издательство ВНИРО; 1995.
11. Шевничина О.Ю. Иммуно-физиологическая реакция организма человека в условиях кремнийорганического производства: Дисс. ... канд. мед. наук. Чебоксары; 2004.
12. Янбаева Д.Г., Байнак О.Ф., Корыгина Г.Ф., Зигидуллин Ш.З., Викторова Т.В. Полиморфные варианты генов провоспалительных цитокинов как маркеры предрасположенности к хронической обструктивной болезни легких. *Пульмонология*. 2004; (5): 17—22.
7. Mazitova N.N. Occupational risk factors of chronic obstructive pulmonary disease: results of cohort study. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2011; 92(4): 537—41. (in Russian)
8. Pevnitskiy L.A. Statistical evaluation of HLA antigens associations with diseases. *Vestnik Akademii meditsinskikh nauk SSSR*. 1988; (7): 48—51. (in Russian)
9. Platonov A.E. *Statistical Analysis in Biology and Medicine: Challenges, Terminology, Logic, Computer Methods [Statisticheskiy analiz v meditsine i biologii: zadachi, terminologiya, logika, komp'yuternye metody]*. Moscow: Meditsina; 2000. (in Russian)
10. Khaitov R.M., Pinegin B.V., Istamov Kh.I. *Ecological Immunology [Ekologicheskaya immunologiya]*. Moscow: Izdatel'stvo VNIRO; 1995. (in Russian)
11. Shevnitsina O.Yu. *Immune and Physiological Reaction of a Human Body in the Conditions of Silicon-organic Production: Diss.* Cheboksary; 2004. (in Russian)
12. Yanbaeva D.G., Baynak O.F., Korytina G.F., Zigidullin Sh.Z., Viktorova T.V. Polymorphic variants of genes of proinflammatory cytokines as markers of susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease. *Pul'monologiya*. 2004; (5): 17—22. (in Russian)
13. Ameille J., Dalphin J.C., Descatha A., Pairen J.C. Occupational chronic obstructive pulmonary disease: a poorly understood disease. *Rev. Mal. Respir.* 2006; 23(4 Suppl.): 119—30.
14. Bergdahl I.A., Torén K., Eriksson K., Hedlund U., Nilsson T., Flodin R. et al. Increased mortality in COPD among construction workers exposed to inorganic dust. *Eur. Respir. J.* 2004; 23(3): 402—6.
15. Bodmer W.F., Bodmer J.G. Evolution and function of the HLA system. *Brit. Med. Bull.* 1978; 34(3): 309—16.
16. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. *Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease*. Available at: http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/GOLD_Report_2015_Apr2.pdf. (accessed 2 April 2015)
17. Kuranov A.B., Kozhamkulov U.A., Vavilov M.N., Belova E.S., Bismilda V.L., Alenova A.H. et al. HLA-class II alleles in patients with drug-resistant pulmonary tuberculosis in Kazakhstan. *Tissue Antigens*. 2014; 83(2): 106—12.
18. Lenz T.L., Deutsch A.J., Han B., Hu X., Okada Y., Eyre S. et al. Widespread non-additive and interaction effects within HLA loci modulate the risk of autoimmune diseases. *Nat. Genet.* 2015; 47(9): 1085—90.
19. Mattiuz P.L., Ihde D., Piazza A., Ceppellini R., Bodmer W.F. New approaches to the population genetic and segregation analysis of the HLA system. In: Terasaky P.I., ed. *Histocompatibility Testing*. Munksgaard Copenhagen; 1970: 193—205.
20. Okada Y., Han B., Tsoi L.C., Stuart P.E., Ellinghaus E., Tejasvi T. et al. Fine mapping major histocompatibility complex associations in psoriasis and its clinical subtypes. *Am. J. Hum. Genet.* 2014; 95(2): 162—72.
21. Wain L.V., Shrine N., Miller S., Jackson V.E., Ntalla I., Soler Artigas M. et al. Novel insights into the genetics of smoking behaviour, lung function, and chronic obstructive pulmonary disease (UK BiLEVE): a genetic association study in UK Biobank. *Lancet Respir. Med.* 2015; 3(10): 769—81.

REFERENCES

1. Aysanov Z.R., Kokosov A.N., Ovcharenko S.I., Khmel'kova N.G., Tsoy A.N., Chuchalin A.G. et al. Chronic obstructive pulmonary diseases. Federal program. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. 2001; 9(1): 9—33. (in Russian)

2. Brylyaeva E.V., Kryukov N.N., Zhestkov A.V. Immunogenetic researches of a chronic obstructive pulmonary disease. *Prakticheskaya meditsina*. 2011; 51(3): 55—7. (in Russian)

3. Dement'ev E.M. *Factory: What it Gives to the Population and what it Takes from Last [Fabrika, chto ona daet naseleniyu i chto ona u nego берет]*. 2nd ed. Moscow: Izdatel'stvo Tovarishchestva I.D. Sytina; 1897. (in Russian)

4. Didenko M.N., Stezhka V.A. Influence of nanoparticles of amorphous high-disperse silicon dioxide on morphological structure of internals of rats. *Biotehnologiya* (Ukrainian). 2009; 2(1): 80—6. (in Russian)

5. Zaretskaya Yu.M., Abramov V.Yu. *New Antigens of Tissue Compatibility of the Person [Novye antigeny tkanevoy sovместимости cheloveka]*. Moscow: Meditsina; 1986. (in Russian)

6. Karzakova L.M., Ukhterova N.D., Borisova L.V., Sungorkina E.P., Muchukova O.M., Sungorkina T.M. Role of immunological and immunogenetic factors in development of a chronic obstructive pulmonary disease. *Zdravoохранение Chuvashii*. 2008; (2): 45—51. (in Russian)

Поступила 15.06.16
Принята к печати 28.06.16