

СВЯЗЬ HLA-ГАПЛОТИПОВ С РАЗВИТИЕМ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ В УСЛОВИЯХ КРЕМНИЙОРГАНИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

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

¹ ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» Министерства науки и высшего образования РФ, г. Чебоксары, Россия

² БУ «Республиканский эндокринологический диспансер» Министерства здравоохранения Чувашии, г. Чебоксары, Россия

Резюме. Одной из актуальных проблем современной медицины является поиск генетических маркеров хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ). В этой связи целью настоящего исследования явилось изучение связи HLA-гаплотипов с ХОБЛ у лиц, заболевание которых развилось в процессе профессиональной деятельности в цехе кремнийорганического производства ПАО «Химпром» (г. Новочебоксарск, Россия). В исследование включены больные ХОБЛ в стадии ремиссии, принадлежащие чувашской этнической группе России – 36 женщин и 26 мужчин (средний возраст – 45,4±2,3 года). Стаж работы составил в среднем 15,2±2,4 года, продолжительность ХОБЛ – 12,3±2,4 года. Курящие составляли 22,0±5,8% от общего числа больных. Группой сравнения служила когорта здоровых работников кремнийорганического производства. Типирование HLA-антигенов класса I проводили в стандартном микролимфоцитотоксическом тесте с использованием гистотипирующих анти-HLA-сывороток к 8 антигенам HLA-A локуса (A1, A2, A3, A9, A10, A11, A19, A28) и 18 антигенам HLA-B локуса (B5, B7, B8, B12, B13, B14, B15, B16, B17, B18, B21, B22, B27, B35, B40, B41, B42, B53) (ЗАО «Межрегиональный центр иммуногенетики и гистотипирующих реагентов «Гисанс», Санкт-Петербург). HLA-генотипирование аллелей класса II проводили методом мультипраймерной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в ДНК, полученной из ядерных клеток периферической крови, с использованием наборов реагентов НПФ «ДНК-Технология» (Москва), по методике производителя реагентов. Типировали по 14 аллелям локуса DRB1, 8 аллелям DQA1 и 11 аллелям DQB1. Частоты двухлокусных гаплотипов рассчитывали с использованием компьютерной программы Arlequin v. 3.01. Силу ассоциации HLA с ХОБЛ определяли с помощью величины относительного риска (ОР) по формуле J. Haldane. Статистическую достоверность отличия ОР от 1 определяли по точному двустороннему критерию Фишера. В результате проведенного исследования установлена положительная ассоциация ХОБЛ с гаплотипами: HLA-A9-DQA1*0501, A10-DQA1*0103, A28-DQA1*0102, B7-DQA1*0103. Данные гаплотипы можно отнести к генетическим маркерам предрасположенности к развитию ХОБЛ. Отрицательная ассоциация с заболеванием установлена для гаплотипических сочетаний аллелей HLA-A2-B8, A19-DQB1*0502-04, B12-DQB1*0502-04, B27-DQA1*0103, DRB1*01-DQA1*0101, DRB1*07-DQA1*0201, DRB1*13-DQA1*0102. Данный ряд гаплотипов можно

Адрес для переписки:

Карзакова Луиза Михайловна
ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» Министерства науки и высшего образования РФ
428015, Россия, г. Чебоксары, Московский пр., 15.
Тел.: 8 (903) 358-82-89.
E-mail: luizak58@mail.ru

Address for correspondence:

Karzakova Louise M.
I. Ulyanov Chuvash State University
428015, Russian Federation, Cheboksary, Moskovsky ave, 15.
Phone: 7 (903) 358-82-89.
E-mail: luizak58@mail.ru

Образец цитирования:

Л.М. Карзакова, О.М. Мучукова, Л.В. Борисова, С.И. Кудряшов «Связь HLA-гаплотипов с развитием хронической обструктивной болезни легких в условиях кремнийорганического производства» // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 2. С. 293–302.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-2-293-302

© Карзакова Л.М. и соавт., 2019

For citation:

L.M. Karzakova, O.M. Muchukova, L.V. Borisova, S.I. Kudryashov "Association between HLA haplotypes and risk of chronic obstructive pulmonary disease under the conditions of the silicon manufacturing facility", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2019, Vol. 21, no. 2, pp. 293–302. doi: 10.15789/1563-0625-2019-2-293-302

DOI: 10.15789/1563-0625-2019-2-293-302

отнести к разряду протективных генетических маркеров ХОБЛ в условиях кремнийорганического производства. Результаты проведенного исследования свидетельствуют об ассоциации ХОБЛ с рядом определенных HLA-гаплотипов.

Ключевые слова: HLA-гаплотипы, хроническая обструктивная болезнь легких

ASSOCIATION BETWEEN HLA HAPLOTYPES AND RISK OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE UNDER THE CONDITIONS OF THE SILICON MANUFACTURING FACILITY

Karzakova L.M.^a, Muchukova O.M.^a, Borisova L.V.^b, Kudryashov S.I.^a

^a I. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation

^b Republican Dispensary for Clinical Endocrinology, Cheboksary, Russian Federation

Abstract. A search for genetic markers of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is one of the urgent problems in modern medicine. The aim of the present study was to investigate the relationships between HLA haplotypes and COPD incidence among individuals whose illness developed during their professional work at the organic-silicon production facility of the PJSC “Khimprom” plant (Novocheboksarsk, Russia). The study included patients with COPD in remission, belonging to the Chuvash ethnic group of Russian Federation, i.e., 36 women and 26 men (mean age 45.4 ± 2.3 years). Their labor experience at the plant averaged 15.2 ± 2.4 years, with COPD duration of 12.3 ± 2.4 years. Smokers made up $22.0 \pm 5.8\%$ of the total number of patients. A cohort of healthy workers from the same silicon facility served as a comparison group, being specified as a “COPD-resistant” cohort. Class I HLA antigens were typed in the standard microlymphocytotoxic test using histotyping with anti-HLA sera to 8 HLA-A antigens of the A1, A2, A3, A9, A10, A11, A19, A28 locus, and to 18 HLA-B antigens of B5, B7, B8, B12, B13, B14, B15, B16, B17, B18, B21, B22, B27, B35, B40, B41, B42, B53 locus (CJSC “Interregional Center of Immunogenetics and Histotyping Reagents “Gisans”, St. Petersburg). HLA genotyping of class II alleles was carried out by the multi-primer DNA PCR technique. DNA was obtained from peripheral blood leukocytes with reagent kits by “DNA-Technology” (Moscow), according to the reagent manufacturer’s method. The genotyping was performed for 14 alleles of DRB1 locus; 8 alleles of DQA1, and 11 alleles for the DQB1 locus. The frequencies of the paired-locus haplotypes were calculated using the computer program “Arlequin v. 3.01”. The association strength of HLA with COPD was determined by the relative risks (RR) according to the J.Haldane equation. Statistical significance of the differences between RR and 1 was determined by the two-sided exact Fisher test. As a result of this study, the positive association of COPD was established with the following haplotypes: HLA-A9-DQA1*0501, A10-DQA1*0103, A28-DQA1*0102, B7-DQA1*0103. These haplotypes may be suggested as genetic predisposal markers for the development of COPD. Negative associations with occurrence of the disease were revealed for the haplotypic combinations of HLA-A2-B8, A19-DQB1*0502-04, B12-DQB1*0502-04, B27-DQA1*0103, DRB1*01-DQA1*0101, DRB1*07-DQA1*0201, and DRB1*13-DQA1*0102 alleles. These haplotypes can be attributed to the category of protective genetic markers for COPD incidence among workers of organic-silicon manufacture. Further research is needed in our upcoming studies in order to identify the “marker” HLA haplotypes for COPD in other ethnic populations, as well as under the influence of other aggressive air pollutants. The results of this study indicate to potential association of COPD with a number of specific HLA-haplotypes.

Keywords: HLA haplotypes, chronic obstructive pulmonary disease

Введение

Изучение этиологических и патогенетических факторов хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) остается одной из острых проблем современной медицины в связи с растущей распространенностью данного заболевания во всем мире (4,8% населения земного шара имеет диагностированную ХОБЛ), инвалидизацией

больных в молодом возрасте и значимым влиянием на общую смертность населения во всем мире [16]. Согласно международному стратегическому документу по ХОБЛ – GOLD в редакции от 2017 г., «ХОБЛ является общей, поддающейся профилактике и лечению болезнью, которая характеризуется постоянными респираторными симптомами и ограничением воздушного потока, обусловленными поражением дыхатель-

ных путей и/или альвеолярными аномалиями вследствие воздействия повреждающих частиц или газов» [17]. В основе развития ХОБЛ лежит атипичное аутоиммунное воспаление респираторного тракта и паренхимы легких, эмфизема легких и нарушение бронхиальной проходимости, вызванные табакокурением, вдыханием воздушных поллютантов — продуктов сгорания топлива или профессионального производства [14, 15]. В последние годы много внимания уделялось изучению влияния табачного дыма на патогенез ХОБЛ [9, 12], в то время как исследование влияния профессиональных факторов на развитие данного заболевания оставалось долгими годами в тени. Мы обратили внимание на то, что профессиональная деятельность в условиях кремнийорганического производства вызывает у большинства работников различные респираторные синдромы, предрасполагая к развитию ХОБЛ. Кремнийсодержащие соединения — органохлорсиланы, используемые для производства кремнийорганических полимеров («силиконов»), обладают чрезвычайно агрессивным действием на слизистые оболочки глаз и дыхательных путей [6]. Однако значительная часть работников кремнийорганического производства, имея респираторные симптомы, не заболевает ХОБЛ. Данный факт может служить основанием для предположения о том, что ХОБЛ развивается лишь у предрасположенных к заболеванию лиц. Единственная хорошо изученная на сегодня генетическая патология, ведущая к развитию данного заболевания — это дефицит α_1 -антитрипсина [7]. На роль генов восприимчивости к ХОБЛ могут претендовать аллели HLA (Human Leukocyte Antigens). В 2011 г. были опубликованы Брыляевой Е.В. и соавт. результаты изучения ассоциации ХОБЛ с аллельными генами локусов HLA класса II [2]. Результаты проведенного нами исследования не позволили подтвердить установленные данными авторами HLA-ассоциации ХОБЛ [4]. Крупномасштабные метааналитические исследования, проведенные в разных иммуногенетических центрах мира, показали, что лишь половина результатов изучения ассоциаций болезней с аллелями HLA воспроизводится в повторных исследованиях, и исследования на уровне аллелей генов не позволяют установить истинные HLA-ассоциации болезней. Для этих целей более эффективным является изучение гаплотипических маркеров заболеваний [11], чем и продиктована **цель настоящего исследования** — изучение ассоциации ХОБЛ с HLA-гаплотипами.

Материалы и методы

Нами проведено изучение связи сцепленных аллельных генов HLA класса I и класса II

с ХОБЛ у лиц, заболевание которых развилось в процессе профессиональной деятельности в цехе кремнийорганического производства ПАО «Химпром» (г. Новочебоксарск, Россия). В исследование включены больные ХОБЛ в стадии ремиссии — 36 женщин ($58,06 \pm 6,27\%$) и 26 мужчин ($41,94 \pm 6,27\%$) в возрасте 34–66 лет (средний возраст — $45,4 \pm 2,3$ года). Стаж работы составил в среднем $15,2 \pm 2,4$ года, продолжительность ХОБЛ — $12,3 \pm 2,4$ года. Курящие составляли $22,0 \pm 5,8\%$ от общего числа больных. У 13 пациентов ($20,97 \pm 5,17\%$) отмечалось наличие ХОБЛ среди близких родственников. Группой сравнения служила когорта не болеющих ХОБЛ работников кремнийорганического производства. Данная группа позиционировалась как «устойчивая» к развитию ХОБЛ. В нее вошли 36 женщин ($54,55 \pm 6,13\%$) и 30 мужчин ($45,45 \pm 6,13\%$), среди которых было $21,0 \pm 6,6\%$ курящих. Средний возраст данной когорты обследованных лиц составил $43,5 \pm 2,1$ года, стаж работы — $17,2 \pm 4,3$ года. Сформированные группы были однородны по половому, возрастному составу, продолжительности работы на химическом производстве, стажу курения. 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.

Типирование HLA-антигенов класса I проводили в стандартном микролимфоцитотоксическом тесте [3] с использованием гистотипирующих анти-HLA-сывороток к 8 антигенам HLA-A локуса (A1, A2, A3, A9, A10, A11, A19, A28) и 18 антигенам HLA-B локуса (B5, B7, B8, B12, B13, B14, B15, B16, B17, B18, B21, B22, B27, B35, B40, B41, B42, B53) (ЗАО «Межрегиональный центр иммуногенетики и гистотипирующих реагентов «Гисанс», Санкт-Петербург).

HLA-генотипирование аллелей класса II проводили методом мультипраймерной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в ДНК, полученной из ядерных клеток периферической крови, с использованием наборов реагентов НПФ «ДНК-Технология» (Москва), по методике производителя реагентов. Типировали по 14 аллелям локуса DRB1, 8 аллелям DQA1 и 11 аллелям DQB1.

Статистическую обработку проводили с использованием компьютерных программ Statistica v. 10.0 и Arlequin v. 3.01. При этом определяли частоты гаплотипов (H) и величины неравновесного сцепления (D). Силу ассоциации HLA-антигенов с ХОБЛ определяли с помощью величины относительного риска (OR), которую высчитывали по модифицированной формуле J. Haldane для малых выборок [5]. Достоверность ассоциации (p), различия в частоте распростра-

нения гаплотипов в группах обследованных оценивали по точному двустороннему тесту Фишера без корректировки на количество аллелей.

Результаты

Анализ гаплотипов локусов А-В (класс I) позволил выявить у больных ХОБЛ один характерный гаплотип, у устойчивых к ХОБЛ работников — 5 гаплотипических сочетаний (табл. 1).

Выраженность ассоциации обнаруженных А-В гаплотипов с ХОБЛ определялась по вели-

чине ОР. В результате установлена статистически значимая отрицательная ассоциация HLA-A2-B8 с ХОБЛ (табл. 2).

В ходе изучения сцепленности аллелей локусов HLA класса I и класса II было выявлено 11 вариантов статистически значимых двухлокусных гаплотипов у больных ХОБЛ и 9 у устойчивых к ХОБЛ лиц (табл. 3). При этом оказалось, что 2 гаплотипических сочетания — HLA-A9-DQB1*0301 и B35-DQA1*0301 — присущи для обеих групп исследованных лиц. Специфичными для груп-

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТЫ ГАПЛОТИПОВ HLA-A-B И ВЕЛИЧИНЫ НЕРАВНОВЕСНОГО СЦЕПЛЕНИЯ У РАБОТНИКОВ КРЕМНИЙОРГАНИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

TABLE 1. THE FREQUENCIES OF HLA-A-B HAPLOTYPES AND THE VALUES OF NONEQUILIBRIUM COUPLING IN WORKERS OF ORGANIC-SILICON PRODUCTION

| HLA-гаплотип HLA haplotype | Больные ХОБЛ Patients with COPD (n = 62) | Устойчивые к ХОБЛ Resistant to COPD (n = 66) |
|-------------------------------|--|--|
| A2-B40 | 476,0 270,0* | - |
| A3-B7 | — | 671,9 351,8*** |
| A11-B7 | — | 448,6 219,0* |
| A2-B8 | — | 1059,9 374,4* |
| A2-B12 | — | 1059,9 374,4* |
| A9-B22 | — | 480,7 205,0* |

Примечание. В верхней строке каждой ячейки таблицы — частота гаплотипа ($H \times 10000$), в нижней строке — величина неравновесного сцепления ($D \times 10000$); * — $p_{F2} < 0,05$; *** — $p_{F2} < 0,001$ — достоверность различия по двустороннему точному методу Фишера для четырехпольных таблиц.

Note. In the top line of each cell of the table — the frequency of the haplotype ($H \times 10000$), on the bottom line — the value of the nonequilibrium cohesion ($D \times 10000$); *, $p_{F2} < 0.05$; ***, $p_{F2} < 0.001$, reliability of the difference in the two-sided exact Fisher method for four-field tables.

ТАБЛИЦА 2. АССОЦИАЦИИ HLA-ГАПЛОТИПОВ ЛОКУСОВ А-В С ХОБЛ

TABLE 2. ASSOCIATION OF HLA HAPLOTYPES OF LOCI A-B WITH COPD

| HLA-гаплотип HLA haplotype | Частота гаплотипа Haplotype frequency | | ОР* RR* | 1/ОР 1/RR | P _F |
|-------------------------------|--|--|------------|--------------|----------------|
| | Больные ХОБЛ Patients with COPD (n = 62) | Устойчивые к ХОБЛ Resistant to COPD (n = 66) | | | |
| A2-B40 | 4 | 2 | 1,560 | 0,64 | NS** |
| A3-B7 | 2 | 6 | 0,430 | 2,32 | NS |
| A11-B7 | 2 | 4 | 0,520 | 1,92 | NS |
| A2-B8 | 0 | 8 | 0,059 | 16,90 | < 0,01 |
| A2-B12 | 2 | 8 | 0,260 | 3,84 | NS |
| A9-B22 | 0 | 4 | 0,130 | 7,69 | NS |

Примечание. * — относительный риск; ** — различие не достоверно ($p_F > 0,05$).

Note. *, relative risk; **, the difference is not reliable ($p_F > 0.05$).

ТАБЛИЦА 3. ЧАСТОТЫ HLA-ГАПЛОТИПОВ ЛОКУСОВ КЛАССА I, КЛАССА II И ВЕЛИЧИНЫ НЕРАВНОВЕСНОГО СЦЕПЛЕНИЯ У РАБОТНИКОВ КРЕМНИЙОРГАНИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

TABLE 3. THE FREQUENCIES OF HLA HAPLOTYPES OF LOCI OF CLASS I, CLASS II AND THE VALUE OF NONEQUILIBRIUM COHESION IN WORKERS OF ORGANIC-SILICON PRODUCTION

| HLA-гаплотип HLA haplotype | Больные ХОБЛ Patients with COPD (n = 48) | Устойчивые к ХОБЛ Resistant to COPD (n = 38) |
|-------------------------------|--|--|
| A3-DQA1*0301 | 1340 865* | – |
| A9-DQA1*0501 | 2362 1078* | – |
| A9-DQB1*0301 | 2094 1131* | 1065 767* |
| A10-DQA1*0103 | 621 500* | – |
| A11-DQA1*0103 | – | 541 496* |
| A19-DQA1*0102 | – | 823 654* |
| A19-DQB1*0502-04 | – | 823 681* |
| A28-DQA1*0102 | – | 646 511* |
| B5-DQA1*0103 | 426 379* | – |
| B7-DQA1*0103 | 646 575** | – |
| B7-DQB1*0601 | 420 379** | – |
| B8-DQA1*0103 | 541 481* | – |
| B12-DQB1*0502-04 | – | 823 681* |
| B22-DQA1*0102 | – | 823 654* |
| B27-DQA1*0103 | – | 541 512** |
| B35-DQA1*0301 | 1102 712* | 823 707* |
| B35-DQB1*0302 | 426 389* | – |
| B53-DQB1*0302 | 426 408** | – |

Примечание. В верхней строке каждой ячейки таблицы – частота гаплотипа (H × 10000), в нижней строке – величина неравновесного сцепления (D × 10000); * – $p_{F2} < 0,05$; ** – $p_{F2} < 0,01$ – достоверность различия по двустороннему точному методу Фишера для четырехпольных таблиц.

Note. in the top line of each cell of the table – the frequency of the haplotype (H × 10000), on the bottom line – the value of the nonequilibrium cohesion (D × 10000); *, $p_{F2} < 0.05$; **, $p_{F2} < 0.01$, reliability of the difference in the two-sided exact Fisher method for four-field tables.

ТАБЛИЦА 4. АССОЦИАЦИИ HLA-ГАПЛОТИПОВ ЛОКУСОВ КЛАССА I И КЛАССА II С ХОБЛ

TABLE 4. ASSOCIATION OF HLA HAPLOTYPES OF LOCI OF CLASS I AND CLASS II WITH COPD

| HLA-гаплотип HLA haplotype | Частота гаплотипа Haplotype frequency | | ОР* RR* | 1/ОР 1/RR | P _f |
|-------------------------------|--|--|---------|--------------|----------------|
| | Больные ХОБЛ Patients with COPD (n = 48) | Устойчивые к ХОБЛ Resistant to COPD (n = 38) | | | |
| A3-DQA1*0301 | 12 | 4 | 2,72 | 0,37 | NS** |
| A9-DQA1*0501 | 20 | 4 | 5,83 | 0,17 | 0,017 |
| A9-DQB1*0301 | 18 | 8 | 2,75 | 0,36 | NS |
| A10-DQA1*0103 | 6 | 0 | 9,98 | 0,10 | 0,040 |
| A11-DQA1*0103 | 2 | 4 | 0,42 | 2,38 | NS |
| A19-DQA1*0102 | 4 | 6 | 0,73 | 1,37 | NS |
| A19-DQB1*0502-04 | 0 | 6 | 0,07 | 14,30 | 0,009 |
| A28-DQA1*0102 | 6 | 0 | 9,00 | 0,11 | 0,040 |
| B5-DQA1*0103 | 4 | 0 | 7,59 | 0,13 | NS |
| B7-DQA1*0103 | 6 | 0 | 9,62 | 0,10 | 0,040 |
| B7-DQB1*0601 | 4 | 0 | 6,31 | 0,16 | NS |
| B8-DQA1*0103 | 2 | 4 | 0,39 | 2,56 | NS |
| B12-DQB1*0502-04 | 0 | 6 | 0,05 | 20,00 | 0,009 |
| B22-DQA1*0102 | 2 | 6 | 0,31 | 3,22 | NS |
| B27-DQA1*0103 | 0 | 4 | 0,10 | 9,90 | 0,043 |
| B35-DQA1*0301 | 10 | 6 | 1,79 | 0,56 | NS |
| B35-DQB1*0302 | 4 | 0 | 7,22 | 0,14 | NS |
| B53-DQB1*0302 | 4 | 0 | 7,78 | 0,13 | NS |

Примечание. * – относительный риск, ** – различие не достоверно ($p_f > 0,05$).

Note. *, relative risk; **, the difference is not reliable ($p_f > 0.05$).

пы больных были гаплотипы A3-DQA1*0301, A9-DQA1*0501, A10-DQA1*0103, B5-DQA1*0103, B7-DQA1*0103, B7-DQB1*0601, B8-DQA1*0103, B35-DQB1*0302 и B53-DQB1*0302, а для устойчивых к ХОБЛ лиц – A11-DQA1*0103, A19-DQA1*0102, A19-DQB1*0502-04, A28-DQA1*0102, B12-DQB1*0502-04, B22-DQA1*0102 и B27-DQA1*0103.

При оценке величины ОР для обнаруженных гаплотипических сочетаний достоверными оказались ассоциации с ХОБЛ 7 гаплотипов (табл. 4). При этом значения ОР для 4 гаплотипических сочетаний (A9-DQA1*0501, A10-DQA1*0103, A28-DQA1*0102, B7-DQA1*0103) оказались выше 1. Другие 3 гаплотипа (A19-DQB1*0502-04, B12-DQB1*0502-04, B27-DQA1*0103) имели значения ОР меньше 1.

В результате исследования наличия статистически значимой сцепленности аллелей локусов HLA класса II – DRB1 и DQA1 (табл. 5) выявлены характерные гаплотипы для больных ХОБЛ (DRB1*11-DQA1*0501 и DRB1*15-DQA1*0102) и для устойчивых к заболеванию лиц (DRB1*01-DQA1*0101, DRB1*07-DQA1*0201, DRB1*13-DQA1*0102, DRB1*14-DQA1*0101, DRB1*15-DQA1*0103 и DRB1*17).

Из аллельных сочетаний локусов DRB1 и DQB1 для больных ХОБЛ было присуще присутствие гаплотипа HLA-DRB1*15-DQB1*0601. Для группы устойчивых к ХОБЛ работников кремнийорганического производства был специфичным гаплотип DRB1*14-DQB1*0502-04.

Что касается сочетаний HLA-аллелей локусов DQA1 и DQB1, не было выявлено ни одного

ТАБЛИЦА 5. ЧАСТОТЫ ГАПЛОТИПОВ HLA-DRB1, DQA1, DQB1 И ВЕЛИЧИНЫ НЕРАВНОВЕСНОГО СЦЕПЛЕНИЯ У РАБОТНИКОВ КРЕМНИЙОРГАНИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

TABLE 5. THE FREQUENCIES OF HAPLOTYPES HLA-DRB1, DQA1, DQB1 AND THE VALUES OF NONEQUILIBRIUM COUPLING IN WORKERS OF ORGANIC-SILICON PRODUCTION

| HLA-гаплотип HLA haplotype | Больные ХОБЛ Patients with COPD (n = 48) | Устойчивые к ХОБЛ Resistant to COPD (n = 38) |
|-------------------------------|--|--|
| DRB1*01-DQA1*0101 | — | 1315 1728*** |
| DRB1*04-DQA1*0301 | 1185 1835** | 957 1115** |
| DRB1*07-DQA1*0201 | — | 1216 1416*** |
| DRB1*08-DQA1*0401 | 206 211* | 512 541** |
| DRB1*09-DQA1*0301 | 1891 2929*** | 707 823* |
| DRB1*11-DQA1*0501 | 1769 3876** | — |
| DRB1*13-DQA1*0102 | — | 654 823* |
| DRB1*13-DQA1*0103 | 775 871*** | 496 541* |
| DRB1*14-DQA1*0101 | — | 848 1115* |
| DRB1*15-DQA1*0102 | 984 1316** | — |
| DRB1*15-DQA1*0103 | — | 512 541** |
| DRB1*16-DQA1*0102 | 511 646* | 1125 1416** |
| DRB1*17-DQA1*0501 | — | 1254 1728** |
| DRB1*08-DQB1*0401-02 | 206 211* | 512 541** |
| DRB1*09-DQB1*0303 | 1804 2362*** | 496 541* |
| DRB1*11-DQB1*0301 | 1744 3230*** | 681 823* |
| DRB1*13-DQB1*0602-08 | 711 871** | 732 823** |
| DRB1*14-DQB1*0502-04 | — | 922 1115** |
| DRB1*15-DQB1*0601 | 544 646* | — |
| DRB1*15-DQB1*0602-08 | 1034 1324** | 481 541* |
| DRB1*16-DQB1*0502-04 | 604 646*** | 922 1115** |

Примечание. В верхней строке каждой ячейки таблицы – частота гаплотипа (H × 10000), в нижней строке – величина неравновесного сцепления (D × 10000); * – $p_{F2} < 0,05$; ** – $p_{F2} < 0,01$; *** – $p_{F2} < 0,001$ – достоверность различия по двустороннему точному методу Фишера для четырехпольных таблиц.

Note. In the top line of each cell of the table – the frequency of the haplotype (H × 10000), on the bottom line – the value of the nonequilibrium cohesion (D × 10000); *, $p_{F2} < 0.05$; **, $p_{F2} < 0.01$; ***, $p_{F2} < 0.001$, reliability of the difference in the two-sided exact Fisher method for four-field tables.

ТАБЛИЦА 6. СТАТИСТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ АССОЦИИ ГАПЛОТИПОВ HLA-DRB1, DQA1, DQB1 С ХОБЛ

TABLE 6. STATISTICALLY SIGNIFICANT ASSOCIATIONS OF HAPLOTYPES HLA-DRB1, DQA1, DQB1 WITH COPD

| HLA-гаплотип HLA haplotype | ОР* RR* | 1/ОР 1/RR | P _f |
|-------------------------------|------------|--------------|----------------|
| DRB1*01-DQA1*0101 | 0,031 | 32,20 | 0,0018 |
| DRB1*07-DQA1*0201 | 0,076 | 13,10 | 0,0035 |
| DRB1*13-DQA1*0102 | 0,110 | 9,09 | 0,0390 |

Примечание. * – относительный риск.

Note. *, relative risk.

статистически достоверного гаплотипического сочетания ни в группе больных ХОБЛ, ни в группе устойчивых к развитию заболевания лиц.

Изучение ассоциации с ХОБЛ обнаруженных двухлокусных гаплотипов, включающих аллели HLA-DRB1, DQA1, DQB1, выявило статистически значимую отрицательную ассоциацию заболевания с тремя гаплотипами – HLA-DRB1*01-DQA1*0101, DRB1*07-DQA1*0201 и DRB1*13-DQA1*0102 (табл. 6).

Обсуждение

Проведенные нами ранее исследования [4] по выявлению ассоциации полиморфных аллелей генов HLA с ХОБЛ не подтвердили известные литературные данные о HLA-ассоциациях данного заболевания [2]. В связи с этим было предпринято настоящее исследование, нацеленное на изучение распределения HLA-гаплотипов в двух группах работников кремнийорганического производства, испытывающих раздражающее влияние агрессивных соединений кремния (органохлорсиланов) на слизистую оболочку респираторного тракта – в группе больных ХОБЛ и в группе устойчивых к развитию ХОБЛ лиц. Известно, что изучение HLA-гаплотипов позволяет выявлять более тонкие межпопуляционные и межгрупповые различия и более эффективно при изучении HLA-ассоциаций болезней, нежели исследование на уровне аллельных генов [8]. Это объясняется тем, что количество гаплотипических сочетаний аллельных генов намного больше, чем аллельных вариантов одного гена.

В результате проведенного нами исследования выявлен целый ряд гаплотипов с положительным неравновесным сцеплением, часть из которых имела положительную ассоциацию ($OP > 1$) с ХОБЛ – это HLA-A9-DQA1*0501, A10-DQA1*0103, A28-DQA1*0102, B7-DQA1*0103. Данные гаплотипы можно отнести к генетическим маркерам предрасположенности к развитию ХОБЛ. 3 из 4-х протективных гаплотипов имели практически одинаковые величины ОР, близкие к значению 9. Следовательно, их наличие у работников кремнийорганического производства

повышает риск развития ХОБЛ в 9 раз. Особенностью обсуждаемых гаплотипов является то, что они содержат в своем составе по одному аллелю каждого из двух основных классов HLA. Кодированные HLA пептиды (антигены) класса I и класса II не равнозначны по биологическим эффектам. Если пептиды класса II участвуют преимущественно в представлении чужеродных (чаще всего инфекционных патогенов) лимфоцитам, то пептиды класса I способствуют узнаванию эффекторными клетками иммунной системы инвазивных клеток. Видимо, в формировании предрасположенности к заболеванию требуется участие характерных сочетаний аллелей генов обоих классов HLA, определяющих вариации иммунного ответа на различные антигены.

Отрицательная ассоциация с заболеванием установлена для гаплотипических сочетаний аллелей HLA-A2-B8, A19-DQB1*0502-04, B12-DQB1*0502-04, B27-DQA1*0103, DRB1*01-DQA1*0101, DRB1*07-DQA1*0201, DRB1*13-DQA1*0102, величина ОР для которых ниже 1. Данный ряд гаплотипов можно отнести к разряду протективных генетических маркеров ХОБЛ в условиях кремнийорганического производства. По мнению W. Bodmer и J. Bodmer (1978), проявление неравновесного сцепления в популяции обусловлено действием естественного отбора и обеспечивает наиболее благоприятные взаимоотношения с окружающей средой [10]. Видимо, присутствие в геноме у представителей чувашской популяции выявленных протективных гаплотипов обеспечивает резистентность к агрессивным поллютантам кремнийорганического производства, а также, возможно, и к другим факторам (курение, выхлопные газы автотранспорта, химические поллютанты и др.), способным вызывать развитие ХОБЛ. При оценке протективного эффекта в данном случае целесообразно пользоваться реципрокными значениями ОР, соответствующими 1/ОР, которые демонстрируют наибольший протективный эффект у гаплотипов DRB1*01-DQA1*0101 и B12-DQB1*0502-04: наличие в генотипе работников кремнийорганического производства данных га-

плотипов уменьшает риск развития ХОБЛ в 32,2 и 20 раз соответственно.

Установленные генетические маркеры предрасположенности и устойчивости к ХОБЛ можно использовать в прогностических целях и для формирования групп генетического риска при проведении профилактических медицинских осмотров и разработки программ профилактики развития такого социально значимого заболевания, как ХОБЛ.

Данные многих авторов свидетельствуют о зависимости HLA-ассоциаций болезней от этнической принадлежности исследуемых групп больных [1, 13]. В продолжение начатых нами исследований необходимо проведение дальнейших исследований по выявлению «маркерных» HLA-гаплотипов при ХОБЛ в других этнических популяциях, а также в условиях воздействия других агрессивных воздушных поллютантов.

Список литературы / References

1. Алексеев Л.П., Дедов И.И., Зилов А.В., Болдырева М.Н., Демидова И.Ю., Трофимов Д.Ю., Хаитов Р.М. Межпопуляционный подход в установлении ассоциированной с HLA генетической предрасположенности к инсулинзависимому сахарному диабету // Сахарный диабет, 1998. № 1. С. 19-21. [Alekseev L.P., Dedov I.I., Zilov A.V., Boldyreva M.N., Demidova I.Yu., Trofimov D.Yu., Khaitov R.M. An interpopulation approach to establishing of HLA-associated genetic predisposition to insulin-dependent diabetes mellitus. *Sakharniy diabet = Diabetes Mellitus*, 1998, no. 1. pp. 19-21. (In Russ.)]
2. Брыляева Е.В., Крюков Н.Н., Жестков А.В. Иммуногенетические исследования хронической обструктивной болезни легких // Практическая медицина, 2011. Т. 51, № 3. С. 55-57. [Brylyaeva E.V., Kryukov N.N., Zhestkov A.V. Immunogenetic studies of chronic obstructive pulmonary disease. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine*, 2011, Vol. 51, no. 3, pp. 55-57. (In Russ.)]
3. Зарецкая Ю.М. Клиническая иммуногенетика. М.: Медицина, 1983. 208 с. [Zaretskaya Yu.M. Clinical immunogenetics. Moscow: Medicine, 1983. 208 p.]
4. 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. Т. 1, № 62. С. 44-49. [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 organic-silicon manufacture. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2017, Vol. 1, no. 62, pp. 44-49. (In Russ.)]
5. Певницкий Л.А. Статистическая оценка ассоциаций HLA-антигенов с заболеваниями // Вестник АМН СССР, 1988. № 7. С. 48-51. [Pevnitsky L.A. Statistical evaluation of HLA antigens associations with diseases. *Vestnik Akademii meditsinskikh nauk SSSR = Bulletin of the Academy of Medical Sciences of the USSR*, 1988, no. 7, pp. 48-51. (In Russ.)]
6. Сусликов В.Л., Шевницына О.Ю., Козлов В.А. Изучение влияния химических веществ, используемых в производстве кремнийорганических соединений, на состояние работающих // Российский медицинский журнал, 2003. № 6. С. 30-31. [Suslikov V.L., Shevnitsyna O.Yu., Kozlov V.A. Adverse effects produced by chemical substances at the organic-silicon production facilities on the health conditions of workers. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal = Medical Journal of the Russian Federation*, 2003, no. 6, pp. 30-31. (In Russ.)]
7. Bashir A., Shah N.N., Hazari Y.M., Habib M., Bashir S., Hilal N., Banday M., Asrafuzzaman S., Fazili K.M. Novel variants of SERPIN1A gene: Interplay between alpha1-antitrypsin deficiency and chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Med.*, 2016, Vol. 117, pp. 139-149.
8. Begovich A.B., Moonsamy P.V., Mack S.J., Barcellos L.F., Steiner L.L., Grams S., Suraj-Baker V., Hollenbach J., Trachtenberg E., Louie L., Zimmerman P., Hill A.V., Stoneking M., Sasazuki T., Kononkov V.I., Sartakova M.L., Titanji V.P., Rickards O., Klitz W. Genetic variability and linkage disequilibrium within the HLA-DP region: analysis of 15 different populations. *Tissue Antigens*, 2001, Vol. 57, no. 5, pp. 424-439.
9. Bird Y., Staines-Orozco H. Pulmonary effects of active smoking and secondhand smoke exposure among adolescent students in Juárez, Mexico. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.*, 2016, Vol. 11, pp. 1459-1467.
10. Bodmer W.F., Bodmer J.G. Evolution and function of the HLA system. *Brit. Med. Bull.* 1978, Vol. 34, no. 3, p. 309.
11. Dorak M.T. Statistical analysis in HLA and disease association studies. Available at: <http://www.dorak.info/hla/stat.html>. Last updated 27 July 2009, last visited at 9 March 2018.
12. Hawari F.I., Obeidat N.A., Ghonimat I.M., Ayub H.S., Dawahreh S.S. The effect of habitual waterpipe tobacco smoking on pulmonary function and exercise capacity in young healthy males: A pilot study. *Respir. Med.*, 2017, Vol. 122, pp. 71-75.
13. Ikegami H., Kawabata Y., Noso S., Fujisawa T., Ogihara T. Genetics of type 1 diabetes in Asian and Caucasian populations. *Diab. Res. Clin. Pract.*, 2007, Vol. 77, Suppl. 1, pp. 116-121.
14. McLean S., Barbour V., Wild S., Simpson C., Sheikh A. Models for estimating projections for disease prevalence and burden: a systematic review focusing on chronic obstructive pulmonary disease. *J. Health Serv. Res. Policy*, 2015, Vol. 20, no. 4, pp. 246-253.

15. Słomiński J.M., Kedziora K. Is COPD an autoimmune disease caused by smoking? *Przegl. Lek.*, 2006, Vol. 63, no. 10, pp. 1138-1139.
16. Soriano J.B., Ancochea J., Miravittles M., García-Río F., Duran-Tauleria E., Muñoz L., Jiménez-Ruiz C.A., Masa J.F., Viejo J.L., Villasante C., Fernández-Fau L., Sánchez G., Sobradillo-Peña V. Recent trends in COPD prevalence in Spain: a repeated cross-sectional survey 1997-2007. *Eur. Respir. J.*, 2010, Vol. 36, no. 4, pp. 758-765.
17. Vogelmeier C.F., Criner G.J., Martinez F.J., Anzueto A., Barnes P.J., Bourbeau J., Celli B.R., Chen R., Decramer M., Fabbri L.M., Frith P., Halpin D.M., López Varela M.V., Nishimura M., Roche N., Rodriguez-Roisin R., Sin D.D., Singh D., Stockley R., Vestbo J., Wedzicha J.A., Agustí A. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive lung disease 2017 report. GOLD Executive Summary. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2017, Vol. 195, no. 5, pp. 557-582.

Авторы:

Карзакова Л.М. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой внутренних болезней с курсом клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» Министерства науки и высшего образования РФ, г. Чебоксары, Россия

Мучукова О.М. — аспирант кафедры внутренних болезней с курсом клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» Министерства науки и высшего образования РФ, г. Чебоксары, Россия

Борисова Л.В. — к.м.н., заведующая клинико-диагностической лабораторией БУ «Республиканский эндокринологический диспансер» Министерства здравоохранения Чувашии, г. Чебоксары, Россия

Кудряшов С.И. — ассистент кафедры внутренних болезней с курсом клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» Министерства науки и высшего образования РФ, г. Чебоксары, Россия

Authors:

Karzakova L.M., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Internal Diseases with a Course of Clinical Immunology, I. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation

Muchukova O.M., Postgraduate Student, Department of Internal Diseases with a Course of Clinical Immunology, I. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation

Borisova L.V., PhD (Medicine), Head, Clinical and Diagnostic Laboratory, Republican Dispensary for Clinical Endocrinology, Cheboksary, Russian Federation

Kudryashov S.I., Assistant Professor, Department of Internal Diseases with a Course of Clinical Immunology, Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation

Поступила 27.02.2018
Принята к печати 19.09.2018

Received 27.02.2018
Accepted 19.09.2018