

Я.Ю. Иллек, д-р мед. наук, профессор, И.Г. Суетина, канд. мед. наук, Н.В. Хлебникова, канд. мед. наук, Е.В. Сулова, канд. мед. наук, ГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России, Г.Н. Безрукова, ГБУЗ «Детская городская клиническая больница им. З.А. Башляевой Департамента здравоохранения г. Москвы»

HLA-АССОЦИАЦИИ У ДЕТЕЙ С АТОПИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Ключевые слова: дети, atopические заболевания, антигены главного комплекса гистосовместимости

Keywords: children, atopic diseases, major histocompatibility complex antigens

Резюме. Цель исследования – определить особенности распределения антигенов главного комплекса гистосовместимости у больных с atopическими заболеваниями. Материал и методы. Проведено HLA-генотипирование 137 детей возрасте 5–10 лет (34 пациента со среднетяжелым течением atopического дерматита, 25 – со среднетяжелым течением atopического дерматита с сопутствующим персистирующим аллергическим ринитом, 25 – со среднетяжелым течением персистирующего аллергического ринита, 53 – со среднетяжелым течением atopической бронхиальной астмы). Серологическое типирование лимфоцитов по HLA I класса выполнялось в стандартном микролимфоцитотоксическом тесте с помощью гистотипирующих панелей HLA-A и HLA-B (ЗАО «Гисанс», г. Санкт-Петербург), которые позволяют идентифицировать 19 HLA-антигенов локуса A и 35 HLA-антигенов локуса B. Молекулярное типирование HLA-генов II класса выполняли методом полимеразной цепной реакции с набором сиквенс-специфических праймеров. Расчет иммуногенетических параметров осуществляли с помощью формул, принятых в популяционной статистике. Результаты. У больных atopическим дерматитом констатирована высокая частота аллелей HLA B15, DRB1*13 и DQB1*0602-8, у больных atopическим дерматитом с сопутствующим персистирующим аллергическим ринитом – HLA B12, B13 и DQB1*01, у больных персистирующим аллергическим ринитом – HLA A10 и DQB1*201, у больных atopической бронхиальной астмой – HLA B18. Заключение. Представительство указанных аллелей генов HLA ассоциируется с увеличением относительного риска возникновения atopических заболеваний в 2,3–4,6 раза.

Summary. The purpose of the study was to determine the features of the distribution of antigens of the major histocompatibility complex in patients with atopic diseases. Materials and methods. HLA-genotyping was performed in 137 children aged 5–10 years (34 patients with a moderate course of atopic dermatitis; 25 patients with a moderate course of atopic dermatitis with concomitant persistent allergic rhinitis; 25 patients with a moderate course of persistent allergic rhinitis; 53 patients with a moderate course of atopic bronchial asthma). Serological typing of lymphocytes for HLA class I was performed in a standard microlymphocytotoxic test using HLA-A and HLA-B histotyping panels (Gisans, St. Petersburg), which make it possible to identify 19 HLA antigens of the A locus and 35 HLA antigens locus B. Molecular typing of class II HLA genes was performed by polymerase chain reaction with a set of sequence-specific primers. The calculation of immunogenetic parameters was carried out using the formulas adopted in population statistics. Results. In patients with atopic dermatitis, a high frequency of HLA B15, DRB1*13 and DQB1*0602-8 alleles of the genes was stated, in patients with atopic dermatitis with concomitant persistent allergic rhinitis – HLA B12, B13 and DQB1*01, in patients with persistent allergic rhinitis – HLA A10 and DQB1*201, in patients with atopic bronchial asthma – HLA B18. Conclusion. The representation of these HLA alleles of the genes is associated with an increase in the relative risk of developing atopic diseases by 2.3–4.6 times.

Для цитирования: HLA-ассоциации у детей с atopическими заболеваниями / Я.Ю. Иллек, [и др.] // Практика педиатра. 2023. № 2. С. 60–63.

For citation: Illek Ya.Yu. [et al.]. HLA-associations in children with atopic diseases. Pediatrician's Practice. 2023;(2):60–63. (In Russ.)

ВВЕДЕНИЕ

Атопический дерматит, аллергический ринит и atopическая бронхиальная астма часто диагностируются у детей. В патогенезе этих заболеваний главную роль играют эндогенные факторы [1–3]:

- при atopическом дерматите – наследственная предрасположенность, atopия, гиперреактивность кожи,

- при аллергическом рините – гиперреактивность слизистой оболочки носа,
- при бронхиальной астме – гиперреактивность бронхов.

Отличие atopических заболеваний от других аллергических заболеваний заключается в том, что развитие первых может быть вызвано только ал-

лергической реакцией немедленного типа, тогда как развитие вторых – аллергическими реакциями любого типа. Манифестация атопических заболеваний у предрасположенных детей происходит при воздействии этиологически значимых аллергенов и других экзогенных факторов.

Принимая во внимание схожесть звеньев патогенеза, можно предположить, что атопические заболевания у детей ассоциированы с одними и теми же иммуногенетическими параметрами. Однако результаты собственных исследований кафедры педиатрии Кировского ГМУ позволили выявить существенные различия в распределении антигенов главного комплекса гистосовместимости при атопических заболеваниях.

Цель данного исследования – определить особенности распределения антигенов главного комплекса гистосовместимости у больных: 1) атопическим дерматитом, 2) атопическим дерматитом с сопутствующим персистирующим аллергическим ринитом, 3) персистирующим аллергическим ринитом и 4) атопической бронхиальной астмой.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Под наблюдением в течение 2 лет в КОГБУЗ «Кировская областная детская клиническая больница» и КОГБУЗ «Детский клинический консультативно-диагностический центр» находилось 137 детей в возрасте 5–10 лет с атопическими заболеваниями. У 34 пациентов было среднетяжелое течение атопического дерматита, у 25 – среднетяжелое течение атопического дерматита с сопутствующим персистирующим аллергическим ринитом, у 25 – среднетяжелое течение персистирующего аллергического ринита, у 53 – среднетяжелое течение атопической бронхиальной астмы.

У пациентов исследовали иммуногенетические параметры в лаборатории иммуногематологии ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» ФМБА России.

Серологическое типирование лимфоцитов по HLA (human leucocytes antigens) I класса выполнялось в стандартном микролимфоцитотоксическом тесте [4] с помощью гистотипирующих панелей HLA-A и HLA-B (ЗАО «Гисанс», г. Санкт-Петербург), которые позволяют идентифицировать 19 HLA-антигенов локуса A и 35 HLA-антигенов локуса B. Лимфоциты для постановки микролимфоцитотоксической пробы выделяли из гепаринизированной крови методом градиентного центрифугирования с применением раствора фикола-верографина. Пробу выполняли в микропланшетах Терасаки.

Молекулярное типирование HLA-генов *DRB1* и *DQB1* (HLA II класса) выполняли методом полимеразной цепной реакции с набором сиквенс-специфических праймеров [5], который включает серию различных участков HLA-генов II класса и называ-

ется PCR-mSSR (polymerase-chain reaction sequence primer mixed). Набор реагентов позволяет выявлять 14 аллелей гена *DRB1* (*DRB1*01, 04, 07, 08, 09, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18*) и 12 аллелей и групп аллелей гена *DQB1* (*DQB1*0201, 0301, 0302, 0303, 0304, 0305, 0401-2, 0501-4, 0503, 0601, 0602-8*). ДНК выделяли из мононуклеаров крови пациентов путем трехкратной обработки лизирующим буфером и центрифугированием. Выделенную ДНК амплифицировали в полимеразной цепной реакции.

Расчет иммуногенетических параметров осуществляли с помощью формул, принятых в популяционной статистике. Частоту встречаемости аллелей генов HLA определяли как процентное отношение числа индивидов, у которых выделена та или иная аллель гена HLA, к общему числу обследованных в группе [6] и сопоставляли с распределением аллелей в здоровой популяции детей, проживающих в Кировской области.

Для установления существенности различий в характере распределения аллелей генов HLA в сравниваемых группах больных определяли критерий согласия (χ^2) с поправкой на непрерывность вариаций по формуле: $\chi^2 = [(ad - bc) - 0,5]^2 / ((a + b)(c + d)(a + c)(b + d))$, где *a* – число пациентов, имеющих данный антиген, аллель или сочетание, *b* – число пациентов, у которых данный антиген, аллель или сочетание отсутствует, *c* – число здоровых детей, имеющих данный антиген, аллель или сочетание, *d* – число здоровых детей, у которых отсутствует данный антиген, аллель или сочетание. С помощью специальных математических формул χ^2 переводили в коэффициент достоверности различий Стьюдента (*p*).

Степень ассоциации того или иного иммуногенетического параметра с особенностями иммунологической реактивности у больных оценивали по уровню относительного риска (relative risk, RR), вычисленного по формуле: $RR = f_n(1 - f_k) / (f_k(1 - f_n))$, где f_n – частота встречаемости антигена в исследуемой группе (в десятичных дробях), f_k – частота встречаемости того же антигена в контрольной группе (в десятичных дробях). Этот показатель отражает то, насколько чаще данное заболевание или ответная реакция организма развивается у лиц, имеющих определенный HLA-антиген, по сравнению с теми, у кого его нет. При нулевом значении одного из составляющих величину RR рассчитывали по модифицированной формуле J. Haldane для малых выборок [7]. Принято считать, что при RR, равном 2,0 и более, существует положительная ассоциация признака с заболеванием (предрасположенность к развитию болезни), тогда как значения RR менее 1,0 указывают на резистентность индивида к данной патологии.

Этиологическую фракцию (etiologiical fraction, EF), характеризующую силу положительной HLA-

ассоциации [8], рассчитывали при значении RR более 2,0 по формуле: $EF = (RR-1/RR)F$, где F – частота встречаемости HLA-антигена, выраженная в виде десятичной дроби. Превентивную фракцию (PF), характеризующую силу отрицательной HLA-ассоциации [8], рассчитывали при значении RR менее 1,0 по формуле: $PF = (1 - RR)F/(RR(1 - F)+F)$, где F – частота встречаемости HLA-антигена, выраженная в виде десятичной дроби. При одинаковых значениях RR значение EF будет больше в том случае, когда связанный с развитием болезни HLA-маркер имеет большое распространение. Если RR менее 1,0 (при сниженном риске развития заболевания), вместо EF используют PF. Данный показатель характеризует превентивные свойства определенного HLA-маркера на популяционном уровне, а также зависит как от показателя RR, так и от частоты встречаемости данного HLA-маркера в исследуемой группе.

Контрольную группу составили 153 практически здоровых ребенка.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В группе больных атопическим дерматитом отмечалась высокая частота встречаемости HLA I класса B15 (28,1% против 7,8% в контроле; $\chi^2 = 8,9$, $p < 0,01$, $RR = 4,6$, $EF = 0,22$), HLA II класса DRB1*13 (32,0% против 13,6% в контроле; $\chi^2 = 4,9$, $p < 0,05$, $RR = 3,1$, $EF = 0,22$) и DQB1*0602-8 (70,0% против 37,9% в контроле; $\chi^2 = 8,4$, $p < 0,01$, $RR = 3,8$, $EF = 0,50$) (см. таблицу). Представительство указанных антигенов ассоциировалось с повышением относительного риска развития атопического дерматита у детей в 3,1–4,6 раза ($RR = 3,1-4,6$). В то же время в группе больных атопическим дерматитом было выявлено выраженное снижение частоты встречаемости HLA II класса DRB1*07 (10,0% против 30,1% в контроле; $\chi^2 = 6,0$, $p < 0,02$, $RR = 0,3$, $PF = 0,22$), DRB1*11 (10,0% против 25,2% в контроле; $\chi^2 = 4,1$, $p < 0,05$, $RR = 0,3$, $PF = 0,17$) и DQB1*0303 (7,0% против 23,3% в контроле; $\chi^2 = 5,2$, $p < 0,05$, $RR = 0,2$, $PF = 0,18$), что ассоциировалось с определенной резистентностью к развитию заболевания ($RR = 0,17-0,22$).

В группе больных атопическим дерматитом с сопутствующим персистирующим аллергическим ринитом констатировано выраженное повышение частоты встречаемости HLA I класса B12 (52,0% против 20,3% в контроле; $\chi^2 = 10,0$, $p < 0,01$, $RR = 3,3$, $EF = 0,36$) и B13 (48,0% против 13,1% в контроле; $\chi^2 = 15,5$, $p < 0,01$, $RR = 4,2$, $EF = 0,37$), HLA II класса DQB1*01 (56,0% против 31,1% в контроле; $\chi^2 = 4,4$, $p < 0,05$, $RR = 2,3$, $EF = 0,31$) (см. таблицу), что ассоциировалось у носителей указанных признаков с повышением относительного риска развития заболеваний в 2,3–4,2 раза ($RR = 2,3-4,2$). Вместе с тем в этой группе пациентов обнаружено снижение ча-

стоты встречаемости HLA I класса B21 (4,0% против 9,1% в контроле; $\chi^2 = 0,2$, $RR = 0,4$, $PF = 0,05$) и HLA II класса DQB1*302 (4,0% против 19,4% в контроле; $\chi^2 = 2,4$, $RR = 0,2$, $PF = 0,13$), что ассоциировалось с определенной резистентностью к развитию атопического дерматита с сопутствующим персистирующим аллергическим ринитом ($RR = 0,2-0,4$).

В группе больных самостоятельным персистирующим аллергическим ринитом имело место выраженное повышение частоты встречаемости HLA I класса A10 (32,0% против 7,8% в контроле; $\chi^2 = 10,3$, $p < 0,01$, $RR = 3,7$, $EF = 0,23$) и HLA II класса DQB1*11 (64,0% против 29,1% в контроле; $\chi^2 = 9,2$, $p < 0,01$, $RR = 3,2$, $EF = 0,44$) (см. таблицу), что ассоциировалось с повышением относительного риска развития заболевания в 3,2–3,7 раза ($RR = 3,2-3,7$). Отмечалось также снижение частоты встречаемости HLA I класса B16 (4,0% против 13,7% в контроле; $\chi^2 = 1,1$, $RR = 0,3$, $PF = 0,09$), HLA II класса DRB1*11 (12,0% против 25,2% в контроле; $\chi^2 = 1,3$, $RR = 0,5$, $PF = 0,23$) и DQB1*303 (4,0% против 23,3% в контроле; $\chi^2 = 3,6$, $RR = 0,2$, $PF = 0,20$), что ассоциировалось с определенной резистентностью к развитию персистирующего аллергического ринита ($RR = 0,2-0,5$).

В группе больных атопической бронхиальной астмой констатировано выраженное повышение частоты встречаемости в тканях HLA I класса B18 (24,5% против 6,5% в контроле; $\chi^2 = 11,1$, $p < 0,01$, $RR = 4,6$, $EF = 0,19$) (см. таблицу), что ассоциировалось у носителей этого признака с повышением относительного риска развития заболевания в 4,6 раза ($RR = 4,6$). В то же время у больных атопической бронхиальной астмой имело место снижение частоты встречаемости HLA I класса A9 (15,1% против 32,5% в контроле; $\chi^2 = 5,2$, $p < 0,05$, $RR = 0,4$, $PF = 0,21$) и B35 (9,4% против 24,8% в контроле; $\chi^2 = 4,8$, $p < 0,05$, $RR = 0,3$, $PF = 0,17$), HLA II класса DRB1*01 (10,1% против 31,1% в контроле; $\chi^2 = 4,0$, $RR = 0,5$, $PF = 0,11$), что ассоциировалось с определенной резистентностью к развитию заболевания ($RR = 0,11-0,21$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У больных атопическим дерматитом, атопическим дерматитом с сопутствующим персистирующим аллергическим ринитом, самостоятельным персистирующим аллергическим ринитом и атопической бронхиальной астмой выявлена ассоциативная связь риска этих заболеваний с разными антигенами главного комплекса гистосовместимости. В качестве иммуногенетического маркера у больных атопическим дерматитом может служить высокая частота встречаемости HLA B15, DRB1*13 и DQB1*0602-8, у больных атопическим дерматитом с сопутствующим персистирующим аллергическим ринитом – HLA B12, B13 и DQB1*01, у больных пер-

Распределение антигенов HLA-комплекса у детей с atopическими заболеваниями

Аллель гена HLA	Частота выявления, %		χ^2	p	RR	EF	PF
	Здоровые дети, n = 153	Больные					
Больные atopическим дерматитом, n = 34							
B15	7,8	28,1	8,9	<0,01	4,6	0,22	–
DRB1*13	13,6	32,0	4,9	<0,05	3,1	0,22	–
DQB1*0602-8	37,9	70,0	8,4	<0,01	3,8	0,50	–
DRB1*07	30,1	10,0	6,0	<0,02	0,3	–	0,22
DRB1*11	25,2	10,0	4,1	<0,05	0,3	–	0,17
DQB1*0303	23,3	7,0	5,2	<0,05	0,2	–	0,18
Больные atopическим дерматитом с сопутствующим персистирующим аллергическим ринитом, n = 25							
B12	20,3	52,0	10,0	<0,01	3,3	0,36	–
B13	13,1	48,0	15,5	<0,01	4,2	0,37	–
DQB1*01	31,1	56,0	4,4	<0,05	2,3	0,31	–
B21	9,1	4,0	0,2	0,64	0,4	–	0,05
DQB1*302	19,4	4,0	2,4	0,12	0,2	–	0,13
Больные самостоятельным персистирующим аллергическим ринитом, n = 25							
A10	7,8	32,0	10,3	<0,01	3,7	0,23	–
DQB1*201	29,1	64,0	9,2	<0,01	3,2	0,44	–
B16	13,7	4,0	1,1	0,30	0,3	–	0,09
DQB1*11	25,2	12,0	1,3	0,25	0,5	–	0,23
DQB1*303	23,3	4,0	3,6	0,06	0,2	–	0,20
Больные atopической бронхиальной астмой, n = 53							
B18	6,5	24,5	11,1	<0,01	4,6	0,19	–
A9	32,5	15,1	5,2	<0,05	0,4	–	0,21
B35	24,8	9,4	4,8	<0,05	0,3	–	0,17
DRB1*01	31,1	10,1	4,0	0,07	0,5	–	0,11

Примечание: RR – relative risk, относительный риск; EF – etiological fraction, этиологическая фракция; PF – превентивная фракция.

стирующим аллергическим ринитом – HLA A10 и DQB1*201, у больных atopической бронхиальной астмой – HLA B18. Представительство указанных аллелей генов HLA ассоциируется с увеличением относительного риска возникновения atopических заболеваний в 2,3–4,6 раза. Обнаружение соответствующих антигенов HLA-комплекса является дополнительным диагностическим критерием диагноза atopического дерматита, atopического дерматита с сопутствующим персистирующим аллергическим ринитом, персистирующего аллергического ринита и atopической бронхиальной астмы у детей в период клинической ремиссии. ■

Литература

1. Бронхиальная астма у детей / И.И. Балаболкин [и др.] // Детская аллергология. Руководство для врачей / под ред. А.А. Баранова, И.И. Балаболкина. М., 2006. С. 298–371.
2. Аллергические риниты / И.И. Балаболкин [и др.] // Детская аллергология. Руководство для врачей / под ред. А.А. Баранова, И.И. Балаболкина. М., 2006. С. 372–385.
3. Atopический дерматит / И.И. Балаболкин [и др.] // Детская аллергология. Руководство для врачей / под ред. А.А. Баранова, И.И. Балаболкина. М., 2006. С. 424–485.
4. Terasaki P.I. Microdroplet lymphocyte cytotoxicity: manual of tissue typing techniques. Bethesda, 1970. P. 42–45.
5. Поиск неродственного донора для трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Пособие для врачей / Л.П. Алексеев [и др.]. 2002.
6. Зарецкая Ю.М. Клиническая иммуногенетика. М., 1988. 288 с.
7. Певницкий Л.А. Статистическая оценка ассоциаций HLA-антигенов с заболеваниями // Вестник Академии медицинских наук СССР. 1988. № 7. С. 48–55.
8. Sveigaard A., Ryder L.P. HLA and disease associations: detecting the strongest associations // Tissue Antigens. 1994. Vol. 43. P. 18–27.