

УДК 612.6.05:616.921.5-618.3

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ HLA DRB1 СПЕЦИФИЧНОСТЕЙ У БЕРЕМЕННЫХ С ГРИППОМ A(H1N1)PDM2009

© 2014 Д.А. Тарбаева, Т.Е.Белокриницкая

Читинская государственная медицинская академия

Поступила в редакцию 07.12.2014

Проведено HLA-генотипирование локуса DRB1 у 163 заболевших гриппом A (H1N1)pdm2009 беременных. Обнаружена протекторная роль в отношении гриппа A(H1N1)pdm2009 генотипов HLA DRB1*01*04, DRB1*07*08, DRB1*11*13 ($p < 0,05$). Присутствие в фенотипе у беременных женщин DRB1*07*15 ассоциировано с осложненным течением гриппа (ОР=3,4; 95% ДИ 0,8-7,5). Генотип *16*16 отмечен только в 1 случае с крайне тяжелым течением гриппа.

Ключевые слова: *грипп A (H1N1)pdm2009, система HLA, DRB1-генотип, беременность*

Проблема гриппа A (H1N1)2009, вызвавшего пандемию, остается актуальной по настоящее время, поскольку ее печальные последствия, в том числе у беременных, еще не подведены. По данным официальной статистики в этот период в России переболело гриппом и ОРВИ 4,09% (13,26 млн.) населения [3]. В Забайкалье эта цифра составила 11,8% (128 463 случая). В целом в период эпидемии переболело гриппом 27,9% беременных края, у 9,4% из которых инфекционное заболевание осложнилось вирусно-бактериальными пневмониями. Среди заболевших беременных летальность была выше 0,12%, чем в общей популяции 0,05% ($p\chi^2=0,05$) [4].

В настоящее время установлено, что индивидуальные различия в характере иммунного реагирования на один и тот же антиген обусловлены генетически. Восприимчивость людей к инфекционным агентам всегда носит полигенный характер и определяется частотами встречаемости генов, которые варьируют в популяции, определяя варианты форм проявления болезни (легкое, среднетяжелое, тяжелое). При этом большое значение придается одной из наиболее полиморфных генетических систем человека – генам главного комплекса гистосовместимости (HLA – Human Leucocyte Antigens). Ген DR локуса DRB1* насчитывает более 400 аллельных вариантов и именно ему отводится роль одного из основных генов иммунного ответа человека [1]. Общеизвестно, что существуют HLA специфичности (аллели), обладающие

положительной ассоциацией с заболеванием, и, напротив, выполняющие роль «протекторов».

Цель исследования: выявление HLA маркеров предрасположенности к гриппу A(H1N1)pdm2009 и вариантам его течения у беременных женщин.

Материалы и методы исследования. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом Читинской государственной медицинской академии (протокол №4 от 17.11.12 г.). Для реализации поставленной цели обследовано 163 женщины (основная группа), перенесших грипп A(H1N1)pdm09 во время беременности, из них 67 женщин перенесли грипп тяжелой степени, 66 – средней степени тяжести, 30 – легкой степени. В группу сравнения были включены путем случайного отбора 44 женщины, проживающие в г. Чите, которые в эпидемию 2009 г. были беременными и не заболели гриппом A(H1N1)pdm09 и ОРВИ. Женщины обеих групп были сопоставимы по паритету и возрасту.

Молекулярно-генетическое типирование для выявления 14 групп аллелей гена DRB1 главного комплекса тканевой совместимости человека проведено на ДНК, полученной из периферической крови. В качестве метода исследования использована полимеразная цепная реакция с детекцией результатов в режиме реального времени (Амплификатор «ДТ-96», ООО «ДНК-Технология», Москва) с использованием комплекта реагентов для выделения ДНК ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА и ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА (ООО «НПО ДНК-Технология»). Статистический анализ выполнен в Центре БИОСТАТИСТИКА (руководитель В.П. Леонов). Для сравнения распределений частот генотипов и аллелей в двух группах использовался

Тарбаева Долгорма Александровна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета. E-mail: dolgorma35@mail.ru

Белокриницкая Татьяна Евгеньевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии педиатрического факультета. E-mail: tanbell24@mail.ru

критерий χ^2 с поправкой Йетса. Об ассоциации аллелей или генотипов с предрасположенностью к изучаемой патологии судили по величине относительного риска заболевания (ОР). Границы 95%-го доверительного интервала (CI) вычисляли методом В. Woolf. Значения уровня $p < 0,05$ рассматривались как статистически значимые.

Результаты и их обсуждение. Сравнительный анализ частот DRB1-специфичностей между заболевшими гриппом A(H1N1)2009 и здоровыми беременными женщинами, а также изучение полиморфизма в зависимости от степени перенесенной инфекции не выявил значимой разницы. Отмечена лишь некоторая тенденция в сторону накопления среди заболевших пациенток аллелей DRB1 *04 (27,6% против 20,5% в контроле), DRB1*01 (23,3 vs 18,2%), DRB1*03 (19 vs 13,6%), DRB1*09 (6 vs 0%) (табл. 1).

Носительство генотипа DRB1*01*04 отмечено только у 9,1% здоровых резидентов при отсутствии такового среди беременных с гриппом ($p=0,001$). Аналогично этому протекторами выступили генотипы DRB1*07*08 ($p=0,042$; ОР=11,11), DRB1*11*13 ($p=0,032$; ОР=3,7) (табл. 2). И, наоборот, генотипы *01*11, *07*15, *04*04, *04*13, *07*15 замечены только среди лиц с гриппом при их отсутствии в группе сравнения. В целом анализ распространенности генотипов в зависимости от степени тяжести перенесенной инфекции не выявил значимой разницы (табл. 3), однако риск тяжелого течения гриппа при носительстве генотипа DRB1*07*15 увеличивался в 3,4 раза (ОР=3,4; 95% ДИ 0,8-7,5). Генотип *16*16 встречался только у 1 едва не умершей женщины с тяжелым течением гриппа.

Таблица 1. HLA-фенотип у заболевших (по степени тяжести) и незаболевших гриппом беременных

Группы HLA-фенотип	Контрольная группа, n=44 абс.число (%), частота гена	Основная группа, n=163 абс.число (%), частота гена	Основная группа по степени тяжести перенесенной инфекции		
			легкое течение, n=30 абс.число (%), частота гена	среднетяжелое течение, n=66 абс.число (%), частота гена	тяжелое течение, n=67 абс.число (%), частота гена
01	8 (18,2%) 0,09	38 (23,3%) 0,12	10 (33,3%) 0,17	16 (24,2%) 0,12	12 (17,9%) 0,09
03	6 (13,6%) 0,07	31 (19,0%) 0,1	4 (13,3%) 0,07	16 (24,2%) 0,12	11 (16,4%) 0,08
04	9 (20,5%) 0,10	45 (27,6%) 0,14	6 (20,0%) 0,1	18 (27,3%) 0,14	21 (31,3%) 0,16
06	0	1 (0,6%) 0,00	1 (3,3%) 0,02	0	0
07	18 (40,9%) 0,20	45 (27,6%) 0,14	5 (16,7%) 0,09	17 (25,8%) 0,13	23 (34,3%) 0,17
08	4 (9,1%) 0,05	10 (6,1%) 0,03	3 (10,0%) 0,05	3 (4,5%) 0,02	4 (6,0%) 0,03
09	0	6 (3,7%) 0,02	1 (3,3%) 0,02	1 (1,5%) 0,01	4 (6,0%) 0,03
10	0	6 (3,7%) 0,02	2 (6,7%) 0,04	3 (4,5%) 0,02	1 (1,5%) 0,01
11	10 (22,7%) 0,11	36 (22,1%) 0,11	9 (30,0%) 0,15	16 (24,2%) 0,12	11 (16,4%) 0,08
12	2 (4,5%) 0,02	7 (4,3%) 0,02	1 (3,3%) 0,02	3 (4,5%) 0,02	3 (4,5%) 0,02
13	15 (34,1%) 0,17	42 (25,8%) 0,13	10 (33,3%) 0,17	15 (22,7%) 0,11	17 (25,4%) 0,13
14	2 (4,5%) 0,02	11 (6,7%) 0,03	2 (6,7%) 0,04	4 (6,1%) 0,03	5 (7,5%) 0,04
15	9 (20,5%) 0,11	39 (23,9%) 0,12	4 (13,3%) 0,07	19 (28,8%) 0,14	16 (23,9%) 0,12
16	5 (11,4%) 0,06	9 (5,5%) 0,03	2 (6,7%) 0,04	1 (1,5%) 0,01	6 (9,0%) 0,04

Примечание: сравнения частот HLA-фенотипов всех групп имеют значения $p > 0,05$.

Сложность выявления вариантов генов системы HLA, ассоциированных с благоприятным и неблагоприятным исходом различных инфекционных заболеваний, заключается в том, что гены HLA обладают высоким полиморфизмом и

это далеко не единственный фактор, определяющий исход инфекционного процесса. Следует учитывать, что изобретение эффективных противoinфекционных препаратов усложняет поиск ассоциаций HLA и исхода заболевания [1].

Таблица 2. Частоты DRB1 генотипов HLA у заболевших и незаболевших гриппом беременных

Генотип	Незаболевшие беременные n=44	Заболевшие гриппом беременные n=163	χ^2	p	ОР (95% ДИ)
	абс., (%)	абс., (%)			
*01*04	4 (9,1%)	0	10,6	0,001*	-
*01*01	0	5 (3%)	0,38	0,53	
*01*07	2 (4,5%)	3 (1,8%)	0,2	0,6	
*01*11	0	9 (5,5%)	1,39	0,24	
*01*13	2 (4,5%)	3 (1,8%)	0,23	0,62	
*01*15	1 (2,2%)	6 (3,7%)	0,00	0,9	
*03*04	0	4 (2,4%)	0,19	0,67	
*03*07	2 (4,5%)	5 (3,1%)	0,00	0,9	
*04*04	0	5 (3,1%)	0,3	0,5	
*04*07	4 (9,1%)	7 (4,3%)	0,77	0,37	
*04*13	0	9 (5,5%)	1,38	0,24	
*07*08	3 (6,8%)	1 (0,6%)	4,14	0,04*	11,11 (0,4;12,6)
*07*15	0	9 (5,5%)	1,39	0,24	
*11*13	6 (13,6%)	6 (3,6%)	4,59	0,03*	3,7 (0,6;6,5)
*11*15	2 (4,5%)	2 (1,2%)	0,64	0,42	
*12*13	2 (4,5%)	0	3,48	0,06	
*13*15	1 (2,3%)	6 (3,7%)	0,00	0,9	
*16*16	0	1 (0,6%)	0,5	0,48	

Примечание: ОР – относительный риск, 95% ДИ – 95% доверительный интервал; * – уровень значимости $p < 0,05$.

Таблица 3. Частоты HLA DRB1 генотипов у заболевших гриппом беременных в зависимости от степени тяжести гриппа

Генотип	Степень тяжести гриппа			1-2		1-3		2-3	
	легкая n=30 абс. (%)	средняя n=66 абс. (%)	тяжелая n=67 абс. (%)	χ^2	p	χ^2	p	χ^2	p
*01*01	1 (3,3%)	1 (1,5%)	3 (4,4%)	0,04	0,53	0,08	1,0	0,21	0,64
*01*11	3 (10%)	3 (4,5%)	3 (4,4%)	0,32	0,57	0,34	0,56	0,16	0,69
*03*04	0	2 (2,9%)	2 (2,9%)	0,04	1,0	0,03	1,0	0,24	0,62
*04*13	0	6 (9%)	3 (4,4%)	1,5	0,17	0,29	0,55	0,51	0,47
*07*08	0	0	1 (1,4%)	-	-	0,16	1,0	0,00	0,94
*07*15	0	2 (2,9%)	7 (10,4%)	0,1	0,6	3,3	0,07	1,84	0,175
*11*13	1 (3,3%)	3 (4,5%)	2 (2,9%)	0,07	1,0	0,2	1,0	0,00	0,98
*16*16	0	0	1 (1,4%)	-	-	0,17	1,0	0,00	0,99

Примечание: 1-2 – сравнение частот генотипов HLA DRB1 при легком и среднетяжелом течении гриппа; 1-3 – сравнение частот генотипов HLA DRB1 при легком и тяжелом течении; 2-3 – сравнение частот генотипов HLA DRB1 при среднетяжелом и тяжелом течении гриппа

В настоящее время опубликовано довольно много работ, посвященных поиску ассоциаций генетической системы HLA с ОРВИ. Показано, что молекулярно-генетическими предикторами заболеваемости ОРВИ у рабочих нефтегазопромыслов являлись A10, B18, DR1, а маркерами резистентности – антигены HLA-A9, B7, B27, B40 [2]; фенотип HLA-B14 детерминирует повышенный риск возникновения повторных ларинготрахеитов при ОРВИ [5]. Индивидуумы с фенотипом HLA-B15 относительно резистентны к повторным заболеваниям. Тяжелое течение гриппа А чаще регистрировалось у юношей-носителей HLA-локусов -A10, -B8, -B14. Вместе

с тем, среди пациентов с тяжелыми осложнениями гриппа в виде пневмонии со сливной формой инфильтрации HLA-B8 встречался в 2 раза реже, чем в целом в группе госпитализированных [6]. Тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС, атипичная пневмония), вызванный особым типом коронавирусов в 2002 году в Китае с летальностью до 4%, был ассоциирован с HLA-B*4601[7], а генам HLA 1 класса локуса С – Cw1502 и 2 класса локуса DR – 0301 присвоена протекторная роль [8].

Полученные нами результаты носят предварительный характер и требуют дальнейших популяционных исследований. Некоторые

ассоциативные связи HLA с гриппом, выявленные нами, объяснимы, с одной стороны, множественностью антигенных детерминант у возбудителя инфекции, с другой – полигенным контролем иммунного ответа, что ограничивает реализацию биологических эффектов, детерминированных различными генами системы HLA. Возможно, генотипы, обнаруженные только у заболевших гриппом беременных, такие как *01*11, *04*04, *04*13, *07*15 могут претендовать на статус молекулярно-генетических маркеров повышенной восприимчивости к вирусу гриппа, а генотипы DRB1*01*04, *07*08, *11*13, напротив, могут выступать самостоятельными протекторами. При этом детерминанты HLA*07*15, *16*16 ассоциированы с тяжелым течением гриппа A(H1N1)pdm2009.

Выводы:

1. Носительство генов HLA DRB1*01*04, DRB1*07*08, DRB1*11*13 выполняет протекторную роль в отношении гриппа A(H1N1)pdm2009.

2. Присутствие в фенотипе у беременных женщин DRB1*07*15 ассоциировано с тяжелым течением гриппа.

3. Генотип DRB1*16*16 выявлен только в 1 случае едва не умершей женщины с гриппом A(H1N1)pdm2009.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Болдырева, М.Н. HLA (класс II) и естественный отбор. "Функциональный" генотип, гипотеза преимущества "функциональной" гетерозиготности: Автореф. дис. докт. мед. наук. – М., 2007. 47 с.
2. Ильинских, Н.Н. Маркеры системы HLA у больных респираторными инфекциями у рабочих нефтегазопромыслов севера Томской области / Н.Н. Ильинских, Е.Н. Ильинских, Е.В. Ямкова и др. // Сборник научных трудов «Актуальные проблемы современной науки». – Томск, 2013. С. 67-68.
3. О санитарно-эпидемиологической обстановке в Российской Федерации в 2009 году: Государственный доклад. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. 456 с.
4. Родина, Н.Н. Клинико-эпидемиологическая характеристика гриппа A(H1N1)09 / Н.Н. Родина, Е.М. Скрипченко, А.А. Дорожкова // Мат. Всеросс. научно-практической конференции с международным участием «Итоги эпидемии гриппа». – Чита, 2010. С. 165-167.
5. Савченко, Н.А. Клинико-генетические аспекты острых стенозов гортани, трахеи и бронхов при острых респираторных вирусных инфекциях у детей: Автореф. дисс. канд. мед. наук. – СПб., 1994. 15 с.
6. Цыбалова, Л.М. Значение гетерогенности человеческой популяции по антигенам гистосовместимости и некоторых экологических факторов для эпидемического процесса при гриппе и ОРЗ: дисс... докт. мед. наук. – СПб., 2003. 329 с.
7. Lin, M. Association of HLA class I with severe acute respiratory syndrome coronavirus infection / M. Lin et al. // BMC Medical Genetics. 2003. V. 4. P. 9.
8. Wang, S.F. Human-leukocyte antigen class I Cw 1502 and class II DR 0301 genotypes are associated with resistance to severe acute respiratory syndrome (SARS) infection / S.F. Wang et al. // Viral Immunol., 2011. V. 24, N 2. P. 421-426.

GENETIC POLYMORPHISM OF HLA DRB1 SPECIFICITY AT PREGNANT WOMEN WITH INFLUENZA A(H1N1)PDM2009

© 2014 D.A. Tarbaeva, T.E. Belokrinitskaya

Chita State Medical Academy

Frequency of HLA-DRB1 locus was study in 163 cases of influenza A (H1N1) pdm2009 pregnant. Genotypes HLA DRB1*01*04, DRB1*07*08, DRB1*11*13 have a protective role from influenza A(H1N1)pdm2009 ($p < 0,05$). HLA DRB1*07*15 was associated with severe complicated flu (H1N1)pdm09 at pregnant women (RR = 3.4; 95% CI 0,8-7,5). Genotype DRB1*16*16 was observed only in one near miss case of influenza.

Key words: influenza A (H1N1) pdm2009, HLA system, genotype DRB1, pregnancy

Dolgoma Tarbaeva, Candidate of Medicine, Assistant at the Department of Obstetrics and Gynecology at Pediatrics Faculty. E-mail: dolgorma35@mail.ru

Tatiana Belokrinitskaya, Doctor of Medicine, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology at Pediatrics Faculty. E-mail: tanbell24@mail.ru