

УДК: 616.24-002.5:575.113

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА HLA-DRB1 У ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫХ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ В АСТРАХАНСКОМ РЕГИОНЕ

Н. А. Степанова<sup>1\*</sup>, кандидат медицинских наук,  
Х. М. Галимзянов<sup>1</sup>, доктор медицинских наук,  
Б. И. Кантемирова<sup>1</sup>, доктор медицинских наук,  
Н. А. Попова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, 414000, Россия, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121

<sup>2</sup> ГБУЗ АО «Областной клинический противотуберкулезный диспансер», 414000, Россия, г. Астрахань, ул. Началовское шос., д. 7у

*Работа выполнена в рамках реализации гранта Президента РФ по государственной поддержке молодых российских ученых, выделенного для выполнения научного исследования «Разработка алгоритмов персонализированного лечения и профилактики осложнений туберкулеза органов дыхания в Астраханском регионе» (МД – 6325.2015.7)*

### РЕЗЮМЕ

**Цель** – изучить полиморфизм гена HLA-DRB1 у впервые выявленных больных туберкулезом легких в Астраханском регионе.

**Материал и методы.** У 51 пациента с впервые выявленным туберкулезом легких (с различными клиническими формами болезни) проведено генотипирование по HLA-DRB1 и анализ ассоциаций специфичностей в зависимости от клинической картины заболевания.

**Результаты.** У пациентов с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания аллели HLA-DRB1 \*16, \*11, \*01 в генотипе встречались чаще остальных (по 17,6%). У пациентов, имеющих в генотипе аллели HLA-DRB1 \*04, \*11, \*13, \*16, определяется выраженная катаболическая направленность обменных процессов, аллели \*04, \*11, \*12, \*13 и \*16 ассоциируются с длительным субфебрилитетом, выраженным бронхолегочным синдромом и осложненным течением заболевания. У пациентов с аллелями \*01, \*08, \*14, \*15 клинические проявления туберкулеза органов дыхания имели минимальную степень выраженности.

**Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о возможной ответственности аллелей HLA-DRB1 \*04, \*11 и \*16 за выраженность клинических симптомов заболевания.

**Ключевые слова:** туберкулез легких, генотип, клиническая картина.

\* Ответственный за переписку (corresponding author): stepaniida@yandex.ru.

Одной из генетических систем, задействованных в возникновении и патогенезе туберкулеза, считается комплекс HLA, который является чрезвычайно полиморфным. Антигены гистосовместимости (HLA-комплекс) – система, состоящая из комплекса генов и их продуктов и выполняющая различные биологические функции: в первую очередь, это обеспечение генетического контроля над иммунным ответом и взаимодействием клеток, которые реализуют этот ответ. В нашей стране ведется большая работа по изучению роли HLA-комплекса в заболевании туберкулезом разных этнических групп [2, 6]. Наибольшее значение при этом имеет определение антигенов локуса HLA-DR, поскольку в этом локусе располагаются гены иммунного ответа (в ч. DRB1). В электронной базе данных Huge Net содержится информация более чем о 300 генах, исследованных на предмет ассоциаций с туберкулезом [11]. Доказано наличие минимум трех форм генетической предрасположенности к

туберкулезу: полигенной (совокупности аллелей со слабыми эффектами), майоргенной (один или несколько генов с сильным эффектом) и моногенной (один ген с детерминистским эффектом) [7, 8]. В работах отечественных ученых имеются данные о представительстве антигена HLA-DR2, обуславливающим высокий риск возникновения специфического воспаления, с более крупными полостями распада и выраженным обсеменением, чем у лиц с отсутствием этих генетических маркеров. Сочетания в генотипе пациентов аллели HLA-DQB1\*05 и аллели HLA-DRB1\*16, аллели HLA-DQB1\*02 и аллели HLA-DRB1\*04 положительно ассоциируются с развитием хронических, прогрессирующих форм заболевания [3–5, 9]. Изученные полиморфные варианты генов способствуют изменчивости количественных и качественных показателей при туберкулезе, поскольку их белковые продукты влияют на иммунный ответ при туберкулезе и, соответственно, на клиническую картину заболевания [1].

Цель исследования: изучение полиморфизма гена HLA-DRB1 у впервые выявленных больных туберкулезом легких в Астраханском регионе.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В условиях стационара № 1 ГБУЗ АО «Областной клинический противотуберкулезный диспансер» г. Астрахани обследован 51 впервые выявленный больной туберкулезом легких (мужчин – 32 (62,7%), женщин – 19 (37,3%), возраст – 18–68 лет). Распределение пациентов в зависимости от клинической формы туберкулеза: инфильтративный – у 29 (56,9%), диссеминированный – у 16 (31,4%), фиброзно-кавернозный – у 6 (11,7%). Диагноз устанавливался на основании стандартных клинико-лабораторных критериев. Микобактерии туберкулеза (МБТ) выделены у 42 (82,4%) человек. Все больные получали лечение согласно основным положениям приказа МЗ РФ № 951 от 29.12.2014 «Об утверждении методических рекомендаций по совершенствованию диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания». Проведено генотипирование русской популяционной группы пациентов с туберкулезом органов дыхания по HLA-DRB1 и анализ ассоциаций специфичностей гена HLA-DRB1 с выраженностью клинических проявлений туберкулеза, в частности степенью и сроками снижения массы тела, длительностью субфебрилитета, характеристикой кашля. Геномную ДНК выделяли из периферической крови методом высаливания по стандартной процедуре [12]. Генотипирование образцов по HLA-DRB1 специфичностям проводили методом мультипраймерной полимеразной цепной реакции [10] с использованием наборов HLA-ДНК-Тех («НПФ ДНК-Технология», Россия). Амплификацию осуществляли на термоциклере

ДТ-96 в режиме реального времени («НПФ ДНК-Технология», Россия). Результаты обрабатывали методами описательной статистики с использованием пакета программ Statistica для Windows 7,0, вычисляли коэффициент корреляции Пирсона для оценки взаимосвязи двух величин; различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследуемой выборке аллели HLA-DRB1 \*01, \*11 и \*16 определялись чаще остальных (по 17,6%) (рис.).

При оценке степени и сроков снижения массы тела (табл. 1) выявлено, что у больных, имеющих в генетическом паспорте аллели HLA-DRB1 \*04, \*11, \*13 и \*16, наиболее выражена катаболическая направленность обменных процессов ( $r = 0,6$ ).

На субфебрилитет, сохраняющийся более 2 месяцев до выявления и госпитализации, жаловались 55,6% лиц с HLA-DRB1\*16. У 50% пациентов с аллелью HLA-DRB1\*13 длительность субфебрилитета также составила более 2 месяцев. У носителей HLA-DRB1\*04 в 57,1% случаев температура оставалась повышенной более 2 месяцев и в 28,6% – до 1 месяца. Больные с аллелью HLA-DRB1\*11 отмечали повышение температуры длительностью более двух месяцев в 55,6% случаев и менее 1 месяца – в 22,2%. В 50% случаев субфебрилитет сохранялся в течение 1 месяца у больных с HLA-DRB1\*07.

У лиц с HLA-DRB1\*01 в 88,9% случаев не было субфебрилитета до госпитализации, только 1 больного субфебрилитет беспокоил в течение примерно 1 месяца. Пациенты с аллелями HLA-DRB1\*14 и HLA-DRB1\*15 повышения температуры тела не отмечали (табл. 2).

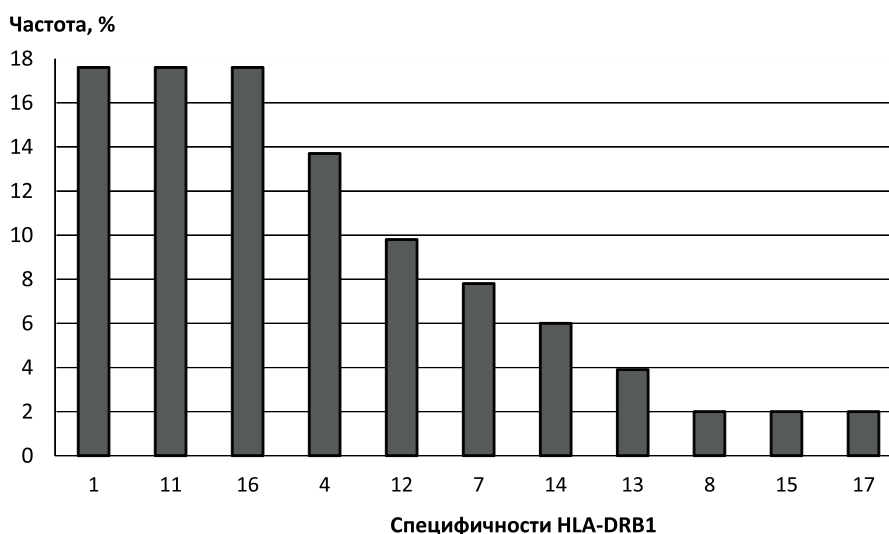


Рис. Частота специфичностей локуса HLA-DRB1 у впервые выявленных больных туберкулезом органов дыхания

**Таблица 1.** Степень и сроки снижения массы тела у пациентов с разными вариантами специфичностей по HLA-DRB1\*

Специфичности гена HLA-DRB1*	Число пациентов, абс.				
	со степенью снижения массы тела			со сроком снижения массы тела	
	до 5 кг	6–10 кг	более 10 кг	3 месяца	6 месяцев
HLA-DRB1*01 (n = 9)	2	0	0	0	2
HLA-DRB1*04 (n = 7)	1	3	1	2	3
HLA-DRB1*07 (n = 4)	0	0	0	0	0
HLA-DRB1*08 (n = 1)	1	0	0	0	1
HLA-DRB1*11 (n = 9)	2	5	0	4	3
HLA-DRB1*12 (n = 5)	4	0	0	0	4
HLA-DRB1*13 (n = 2)	0	2	0	2	0
HLA-DRB1*14 (n = 3)	0	0	0	0	0
HLA-DRB1*15 (n = 1)	0	0	0	0	0
HLA-DRB1*16 (n = 9)	2	4	3	8	1
HLA-DRB1*17 (n = 1)	0	0	0	0	0

**Таблица 2.** Длительность субфебрилитета у пациентов с разными вариантами специфичностей по HLA-DRB1\* до госпитализации

Специфичности гена HLA-DRB1*	Число пациентов					
	с отсутствием субфебрилитета		с длительностью субфебрилитета			
			до 1 месяца		2 месяца и более	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
HLA-DRB1*01 (n = 9)	8	88,9	1	11,1	–	–
HLA-DRB1*04 (n = 7)	–	–	2	28,6	4	57,1
HLA-DRB1*07 (n = 4)	1	25	2	50	–	–
HLA-DRB1*08 (n = 1)	–	–	1	100	–	–
HLA-DRB1*11 (n = 9)	2	22,2	2	22,2	5	55,6
HLA-DRB1*12 (n = 5)	–	–	1	20	1	20
HLA-DRB1*13 (n = 2)	–	–	–	–	1	50
HLA-DRB1*14 (n = 3)	–	–	–	–	–	–
HLA-DRB1*15 (n = 1)	–	–	–	–	–	–
HLA-DRB1*16 (n = 9)	–	–	3	33,3	5	55,6
HLA-DRB1*17 (n = 1)	–	–	1	100	–	–

Сухой кашель беспокоил 100% пациентов с аллелью HLA-DRB1\*14; 50% пациентов с HLA-DRB1\*13 и 50% с HLA-DRB1\*07. Кашель с мокротой – 100% больных с аллелью HLA-DRB1\*11; 88,9% – с HLA-DRB1\*16; по 50% – с аллелями \*04, \*07 и \*13. Кровахарканье имело место у 57,1% пациентов с аллелью HLA-DRB1\*04; у 55,6% с HLA-DRB1\*16; у 40% – с HLA-DRB1\*12 и у 33,3% – с HLA-DRB1\*11. Пациенты с аллелями HLA-DRB1 \*01, \*08, \*15, \*17 на кашель не жаловались ( $r = 0,7$ ;  $p < 0,05$ ).

## ВЫВОДЫ

Таким образом, у впервые выявленных больных туберкулезом органов дыхания аллели HLA-DRB1\*01, \*16, \*11 в генотипе встречались чаще остальных (по 17,6%). При наличии аллелей

HLA-DRB1 \*04, \*11, \*13, \*16 у пациентов наблюдается выраженная катаболическая направленность обменных процессов. Субфебрилитет, сохраняющийся более 2 месяцев до выявления и госпитализации, беспокоил больных, имеющих в генотипе аллели HLA-DRB1 \*04, \*11, \*12, \*13 и \*16. Данные варианты специфичностей положительно ассоциируются с выраженностью бронхолегочного синдрома и с осложненным течением специфического процесса. У пациентов с аллелями HLA-DRB1 \*01, \*08, \*14, \*15 в генотипе клинические проявления туберкулеза органов дыхания имели минимальную степень выраженности. Полученные результаты свидетельствуют о том, что аллели HLA-DRB1 \*04, \*11 и \*16, возможно, ответственны за выраженность клинических симптомов заболевания.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов-кандидатов многофакторных заболеваний с туберкулезом легких / Н. П. Бабушкина [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2015. – № 10. – С. 10–18.
2. Антигены комплекса HLA у больных туберкулезом и здоровых лиц в различных популяциях / А. Г. Хоменко [и др.] // Иммунология. – 1985. – № 1. – С. 22–24.
3. Васильев, А. В. Иммуногенетические предпосылки развития локальных форм первичного туберкулеза у детей / А. В. Васильев, И. Ф. Довгалик // Проблемы туберкулеза. – 1991. – № 10. – С. 61–62.
4. Дорошенкова, А. Е. Генетические особенности детей, больных различными формами туберкулеза органов дыхания / А. Е. Дорошенкова, Н. В. Ставицкая // Туберкулез и болезни легких. – 2011. – № 4. – С. 132–133.
5. Значение иммуногенетических характеристик больного в клиническом течении туберкулеза легких / М. В. Павлова [и др.] // Медицинский альянс. – 2013. – № 2. – С. 37–41.
6. Изучение связи распределения антигенов локуса DR системы HLA и туберкулеза в различных популяциях / Л. Е. Поспелов [и др.] // Проблемы туберкулеза. – 1987. – № 10. – С. 54–56.
7. Поиск генов подверженности туберкулезу с использованием результатов полногеномного исследования болезни Крона / А. А. Рудко [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2013. – Т. 12, № 3. – С. 61–68.
8. Рудко, А. А. Наследственная предрасположенность к туберкулезу / А. А. Рудко, М. Б. Фрейдин, В. П. Пузырев // Молекулярная медицина. – 2011. – № 3. – С. 3–10.
9. Течение инфильтративного туберкулеза лёгких в зависимости от генотипа больного / С. В. Федосеева [и др.] // Проблемы туберкулеза. – 1993. – № 2. – С. 8–10.
10. Трофимов, Д. Ю. Разработка метода мультипраймерной ПЦР для типирования генов HLA класса II : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 14.00.36 / Трофимов Дмитрий Юрьевич. – М., 1996. – 24 с.
11. Al-Muhsen, S. The genetic heterogeneity of Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases / S. Al-Muhsen, J. L. Casanova // J. Allergy Clin. Immunol. – 2008. – Vol. 122. – P. 1043–1053.
12. Miller, S. A. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells / S. A. Miller, D. E. D. Dikes, H. F. Polesky // Nucleic Acid Res. – 1988. – Vol. 16. – P. 1215.

---

**HLA-DRB1 GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS REVEALED FOR THE FIRST TIME IN ASTRAKHAN REGION**

N. A. Stepanova, H. M. Galimzianov, B. I. Kantemirova, N. A. Popova

**ABSTRACT**

**Objective** – to study HLA-DRB1 gene polymorphism in patients with pulmonary tuberculosis revealed for the first time in Astrakhan region.

**Material and methods.** Gene typing by HLA-DRB1 and specificity association analysis in dependence on the disease clinical picture were performed in 51 patients with pulmonary tuberculosis revealed for the first time.

**Results.** HLA-DRB1 \*16, \*11, \*01 alleles in the genotype were detected more often than other ones (17,6%) in patients with pulmonary tuberculosis revealed for the first time. Manifested catabolic direction of metabolic processes, \*04, \*11, \*12, \*13 \*16 alleles were associated with prolonged subfebrile condition, expressed bronchopulmonary syndrome and complicated course of the disease in patients which have HLA-DRB1 \*04, \*11, \*13, \*16 alleles. Clinical manifestations of respiratory organs tuberculosis were expressed in minimal degree in patients with \*01, \*08, \*14, \*15 alleles.

**Conclusions.** The obtained results testified to possible responsibility of HLA-DRB1 \*04, \*11 and \*16 alleles for the manifestation of the disease clinical symptoms.

**Key words:** pulmonary tuberculosis, genotype, clinical picture.