
ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРИ ЯЗВЕННОМ КОЛИТЕ У ВЗРОСЛОГО НАСЕЛЕНИЯ МОСКОВСКОГО РЕГИОНА

Д.С. Ставцев^{1,2}, Т.А. Астрелина³, М.М. Азова¹,
О.А. Майорова⁴, В.Ю. Зинкин⁴, Л.Л. Лебедева⁴,
Т.В. Пухликова⁴, А.А. Чумак⁴, О.В. Князев⁵

¹Кафедра биологии и общей генетики медицинского факультета
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198

²Лаборатория HLA-типирования ГБУЗ «Стация переливания
крови Департамента здравоохранения города Москвы»
ул. Поликарпова, 14, Москва, Россия, 125284

³Сектор организации внедрения и изучения эффективности
НИР МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора
ул. Адмирала Макарова, 10, Москва, Россия, 125212

⁴Стация переливания крови
Департамента здравоохранения города Москвы
ул. Поликарпова, 14, Москва, Россия, 125284

⁵Лаборатория биотерапии отдела патологии кишечника
ГБУЗ Московский клинический научно-практический центр
Шоссе Энтузиастов, 86, Москва, Россия, 111123

В статье представлены результаты исследования генетического полиморфизма HLA-антигенов 65 больных язвенным колитом (ЯК) славян Московского региона в возрасте от 20 до 73 лет. Обнаружено, что определенные группы аллелей HLA тесно ассоциированы с патогенезом ЯК, выявлены иммуногенетические факторы предрасположенности и протекции к возникновению этого заболевания в зависимости от пола и возраста, отмечена взаимосвязь с клиническими формами, течением заболевания ЯК и ответом на терапию глюкокортикоидами.

Ключевые слова: антигены HLA-системы, язвенный колит.

Язвенный колит (ЯК) относится к хроническим неспецифическим воспалительным заболеваниям кишечника и характеризуется иммунным воспалением слизистой толстой кишки [1]. Встречаемость заболевания варьирует от 20 до 270 случаев на 100 тыс. населения, в России этот показатель находится на уровне около 20 случаев на 100 тыс. населения [1; 8].

Этиология ЯК неизвестна, в связи с чем особый интерес представляет наличие генетической предрасположенности. Были выявлены гены, имеющие значительную ассоциацию с возникновением ЯК, в числе которых и гены HLA-системы человека (Human Leukocyte Antigen) [2—5]. Отмечено, что у представителей разных этнических групп развитие ЯК ассоциировано с различными аллелями HLA [2; 3; 6; 7]. Не исключено существование различных механизмов возникновения заболевания, зависящих от региона проживания, этнической принадлежности, а также сочетания прочих факторов, в том числе и генетических.

Цель исследования: изучить особенности генетического полиморфизма HLA-антигенов при язвенном колите у взрослого населения Московского региона.

Материал и методы исследования. В исследование было включено 65 образцов периферической крови больных ЯК Московского региона в возрасте от 20 до 73 лет (31 женщина и 34 мужчины, средний возраст составил $43,75 \pm 12,6$ лет), полученных в 2010—2013 гг.

Диагноз ЯК был выставлен согласно клиническим рекомендациям по диагностике и лечению взрослых больных ЯК, основанным на международных стандартах, разработанных Европейским доказательным консенсусом по диагностике и лечению ЯК, а также на основе международных классификаций ЯК [1; 8; 9]. Контрольную группу составили 1700 образцов пуповинной крови новорожденных условно здоровых детей Московского региона, типированных по системе HLA и внесенных в реестр неродственных доноров в г. Москве за период с 2004 по 2009 г. [10]. Пациенты ЯК и доноры контрольных групп являлись этническими славянами.

Изучение вариантов групп аллелей HLA проводили методом генотипирования с применением полимеразной цепной реакции (ПЦР). Исследование проводилось с использованием коммерческих наборов по методу SSO (Sequence Specific Oligonucleotides) с применением специфических олигонуклеотидных зондов и по методу SSP (Sequence Specific Primer) с применением специфических праймеров.

Статистическая обработка осуществлялась с помощью программного обеспечения Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health или «Open Epi», версия 3.01 от 2013/04/06. Рассчитывались показатели: встречаемость в долях f ; уровень достоверности (p); отношение шансов (ОШ).

Результаты и обсуждение. Группы аллелей, встречающиеся достоверно чаще у пациентов с ЯК, могут быть определены как маркеры предрасположенности к заболеванию, а встречающиеся достоверно реже — маркеры протекции (см. табл. 1).

В общей группе пациентов с ЯК по сравнению с контрольной группой достоверно чаще встречались группы аллелей A*26, B*38, B*58 и C*12 ($p = 0,003$, $p = 0,03$, $p = 0,02$ и $p = 0,02$, соответственно), достоверно реже — B*15, C*04, DRB1*07 и DQB1*02 ($p = 0,03$, $p = 0,04$, $p = 0,03$ и $p = 0,01$, соответственно).

При оценке характера распределения групп аллелей HLA при ЯК в зависимости от пола при сравнении с контрольной группой был выявлен маркер протекции к ЯК у мужчин — B*15 ($p = 0,04$) и маркеры предрасположенности к ЯК у женщин — A*26, B*38 и C*12 ($p = 0,004$, $p = 0,03$ и $p = 0,02$, соответственно).

Пациенты с ЯК в зависимости от протяженности поражения кишечника были разделены на 3 группы: с тотальным колитом — 37 пациентов (21 мужчина и 16 женщин, средний возраст $41 \pm 11,8$), с левосторонним колитом — 25 пациентов (13 женщин и 12 мужчин, средний возраст $45,0 \pm 11,5$), с проктитом — 3 пациента (1 мужчина и 2 женщины, средний возраст $66,6 \pm 3,7$). Группу пациентов с проктитом не анализировали ввиду ее малочисленности.

Таблица 1

HLA-маркеры предрасположенности и протекции к язвенному колиту в исследованных группах

Группа аллелей HLA	Отношение шансов (ОШ)*										
	Группа пациентов с ЯК (общая группа)	Группа пациентов с тотальным колитом	Группа пациентов с левосторонним колитом	Группа пациентов с неравным течением	Группа пациентов со среднетяжелым течением	Группа пациентов с гормоно-рефрактерным течением	Группа пациентов с гормоночувствительным течением	Мужчины	Женщины	Пациенты до 35 лет	Пациенты старше 35 лет
A*26	n = 65	n = 37	n = 25	n = 27	n = 57	n = 22	n = 43	n = 34	n = 31	n = 36	n = 29
B*15	2,583	2,595		4,704	2,25	6,513			3,849		3,584
B*38	2,391	3,394		3,696		4,928		0,0	3,08		3,36
B*52							3,573			3,127	
B*56			5,713								
B*58	4,033						4,963				
C*04	0,4441										
C*12	1,847			3,182					2,433		2,401
C*17						4,631					
DRB1*07	0,46				0,4131	0,1205					
DRB1*14				4,558							
DQB1*02	0,4586				0,4516		0,4632			0,2466	

*Если ОШ меньше 1, группа аллелей HLA является маркером протекции, если ОШ больше 1, группа аллелей HLA является маркером предрасположенности.

При тотальном поражении кишечника у больных ЯК по сравнению с контрольной группой достоверно чаще встречались и ассоциированы с предрасположенностью к данной форме заболевания группы аллелей A*26 и B*38 ($p = 0,04$ и $p = 0,008$ соответственно). С левосторонним поражением кишечника при ЯК ассоциирована группа аллелей V*56, встречающаяся достоверно чаще в данной группе пациентов по сравнению с контрольной группой ($p = 0,04$).

Пациенты с ЯК в зависимости от течения заболевания были распределены на следующие группы: с острым течением — 6 пациентов (3 мужчин и 3 женщин, средний возраст $41 \pm 10,5$), на момент исследования заболевание было впервые выявлено, и время от его дебюта составляло менее 6 месяцев; с хроническим непрерывным течением — 27 пациентов (13 женщин и 14 мужчин, средний возраст $46,2 \pm 10,6$); с хроническим рецидивирующим течением — 32 пациента (17 мужчин и 15 женщин, средний возраст $41,9 \pm 14,1$).

Группу пациентов с острым течением ЯК не оценивали ввиду ее малочисленности.

При сравнении встречаемости групп аллелей HLA у пациентов с хроническим рецидивирующим течением и в контрольной группе статистически значимых различий не выявлено. В группе пациентов с хроническим непрерывным течением ЯК выявлены следующие иммуногенетические особенности: группы аллелей A*26, V* 38, C*12 и DRB1*14 ($p = 0,001$, $p = 0,01$, $p = 0,003$ и $p = 0,03$, соответственно) встречаются достоверно чаще, чем в контрольной группе, и могут являться маркерами предрасположенности к данной форме заболевания.

При оценке степени тяжести течения заболевания ЯК было выявлено, что у значительной части пациентов ($n = 57$) имеется заболевание средней степени тяжести. Группы пациентов с тяжелым и легким течением заболевания ЯК оказались малочисленными, в связи с чем не анализировались. Обнаружено, что встречаемость A*26 в группе пациентов со среднетяжелым течением была достоверно выше ($p = 0,02$), а встречаемость групп аллелей DRB1*07 и DQB1*02 — достоверно ниже ($p = 0,02$ и $p = 0,01$, соответственно), чем в контроле. Следовательно, указанные группы аллелей могут являться, соответственно, маркерами предрасположенности и протекции к данной форме течения заболевания.

При оценке ответа на терапию глюкокортикоидами выделяли гормональную зависимость — усиление активности заболевания при снижении дозы препарата, и гормональную резистентность — отсутствие эффекта от применения адекватных доз гормональных препаратов.

В связи с тем что у части пациентов наблюдается развитие гормональной резистентности на фоне гормональной зависимости, т.е. указанные явления могут быть взаимосвязаны, нами была сформирована группа пациентов с гормональной рефрактерностью, которая представлена 22 пациентами (14 пациентов с гормональной зависимостью и 8 пациентов с гормональной резистентностью). Выявлено, что у больных ЯК с гормональной рефрактерностью к терапии по сравнению с контрольной группой достоверно чаще встречаются группы аллелей A*26

($p = 0,0002$), C*17 ($p = 0,01$) и В*38 ($p = 0,004$) и достоверно реже — DRB1*07 ($p = 0,02$). В группе больных ЯК с гормональной восприимчивостью к терапии по сравнению с контрольной группой значимо выше встречаемость В*52 и В*58 ($p = 0,008$ и $p = 0,02$) и достоверно ниже встречаемость DQB1*02 ($p = 0,04$).

Пациенты с ЯК в зависимости от возраста установления диагноза были разделены на 2 группы: выявление ЯК в возрасте младше 35 лет — 36 пациентов (23 мужчины и 13 женщин, в возрасте от 20 до 48 лет, средний возраст составил $31,3 \pm 6,7$ лет; средний возраст установления диагноза — $25,0 \pm 4,7$ лет) и выявление ЯК в возрасте старше 35 лет — 29 больных (9 мужчин и 20 женщин, в возрасте от 44 до 72 лет, средний возраст составил $56,7 \pm 6,9$ лет, средний возраст установления диагноза — $49,3 \pm 6,5$ лет).

При анализе характера распределения аллельных групп генов HLA-системы в двух указанных возрастных группах пациентов с ЯК и в контрольной группе были обнаружены достоверные различия. Так, у пациентов с выявлением заболевания ЯК в возрасте до 35 лет группа аллелей В*52 встречается достоверно чаще ($p = 0,04$), а DQB1*02 — достоверно реже ($p = 0,003$). У пациентов с возрастом установления диагноза ЯК старше 35 лет наблюдается достоверно более высокая встречаемость групп аллелей А*26, В*38 и С*12 ($p = 0,01$, $p = 0,02$ и $p = 0,02$ соответственно).

Таким образом, в проведенном исследовании выявлено, что определенные группы аллелей HLA тесно ассоциированы с патогенезом ЯК у взрослого славянского населения Московского региона. Установлены иммуногенетические факторы предрасположенности и протекции к возникновению заболевания в целом, а также в зависимости от пола и возраста. Обнаружены положительная и отрицательная ассоциации групп аллелей HLA с клинической формой, течением заболевания ЯК и ответом на терапию глюкокортикоидами, в частности выявлено, что В*15 является маркером протекции к ЯК у мужчин, а группы аллелей А*26, В*38 и С*12 являются маркерами предрасположенности к ЯК в целом, причем у женщин риск возникновения заболевания выше. Также указанные группы аллелей генов HLA-системы ассоциированы с тотальным колитом, хроническим непрерывным течением и рефрактерностью к гормональной терапии.

Полученные результаты указывают на необходимость проведения исследований полиморфизма генов HLA-системы не только в отношении заболевания в целом, но и в отдельных клинических группах больных.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Воробьев Г.И., Халиф И.Л. Неспецифические воспалительные заболевания кишечника. М.: Миклош, 2008.
- [2] Michelle M.A. Fernando, Christine R. Stevens, Emily C. Walsh et al. Defining the Role of the MHC in Autoimmunity: A Review and Pooled Analysis // PLoS Genet. 2008. April; 4(4): e1000024.

- [3] *John D. Rioux, Philippe Goyette, Timothy J. Vyse et al.* Mapping of multiple susceptibility variants within the MHC region for 7 immune-mediated diseases // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009. Nov 3. 106(44). P. 18680—18685.
- [4] *Хаитов Р.М.* Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2011.
- [5] *Ярилин А.А.* Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.
- [6] *Jun Yun, Chang-Tai Xu, Bo-Rong Pan.* Epidemiology and gene markers of ulcerative colitis in the Chinese // *World J Gastroenterol*. 2009. February 21; 15(7). P. 788—803.
- [7] *Stephen Ahn, Hee-Back Choi, Tai-Gyu Kim.* HLA and Disease Associations in Koreans // *IMMUNE NETWORK*. 2011. December. Vol. 11. No. 6. P. 324—335.
- [8] Рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных язвенным колитом // *Коллопроктология*. 2013. 45(3). P. 39—72.
- [9] *Silverberg M.S., Satsangi J., Ahmad T. et al.* Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a working party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology // *Can. J. Gastroenterol*. 2005. 19 (Suppl. A). P. 5—36.
- [10] *Лебедева Л.Л.* Генетический полиморфизм антигенов гистосовместимости здорового детского населения Московского региона и при острых лейкозах у детей: дисс. ... канд. биол. наук. М., 2010.

REFERENCES

- [1] *Vorob'ev G.I., Khalif I.L.* Nonspecific inflammatory bowel diseases. М.: Miklosh, 2008.
- [2] *Michelle M.A. Fernando, Christine R. Stevens, Emily C. Walsh et al.* Defining the Role of the MHC in Autoimmunity: A Review and Pooled Analysis // *PLoS Genet*. 2008. April; 4 (4): e1000024.
- [3] *John D. Rioux, Philippe Goyette, Timothy J. Vyse et al.* Mapping of multiple susceptibility variants within the MHC region for 7 immune-mediated diseases // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009. Nov 3. 106(44). P. 18680—18685.
- [4] *Khaitov R.M.* Immunology. М.: GEOTAR Media, 2011.
- [5] *Yarilin A.A.* Immunology. М.: GEOTAR Media, 2010.
- [6] *Jun Yun, Chang-Tai Xu, and Bo-Rong Pan.* Epidemiology and gene markers of ulcerative colitis in the Chinese // *World J Gastroenterol*. 2009. February 21; 15 (7). P. 788—803.
- [7] *Stephen Ahn, Hee-Back Choi and Tai-Gyu Kim.* HLA and Disease Associations in Koreans // *IMMUNE NETWORK*. 2011. December. Vol. 11. No. 6. P. 324—335.
- [8] Recommendations for the diagnosis and treatment of adult patients with ulcerative colitis // *Coloproctology*. 2013. 45 (3). P. 39—72.
- [9] *Silverberg M.S., Satsangi J., Ahmad T. et al.* Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a working party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology // *Can. J. Gastroenterol*. 2005. 19 (Suppl. A). P. 5—36.
- [10] *Lebedeva L.L.* Genetic polymorphism of histocompatibility of antigens in healthy child population of the Moscow region and in acute leukemia in children: Ph. D. thesis in Biol. Sciences. Moscow, 2010. 132 p.

IMMUNOGENETIC MARKERS FOR ULCERATIVE COLITIS IN ADULT POPULATION OF MOSCOW REGION

D.S. Stavtsev

HLA-typing laboratory
GBUZ “Blood transfusion station of the Department
of Health of the City of Moscow”
Polikarpov str., 14, Moscow, Russia, 115541

T.A. Astrelina

Sector of Implement Organization and Study
of the Effectiveness of NIR FGBUN “Gabrichevsky Moscow Research Institute
of Epidemiology and Microbiology”
Admiral Makarov str., 10, Moscow, Russia, 125212

M.M. Azova

Department of Biology and General Genetics
Peoples’ Friendship University of Russia
Miklukho-Maklaya str., 8, Moscow, Russia, 117198

O.V. Knyazev

Biotherapy Laboratory of the Department of Bowel Pathology
GBUZ Moscow Clinical Research Center
Enthusiastov hwy, 86, Moscow, Russia, 111123

**O.A. Mayorova, V.Yu. Zinkin, L.L. Lebedeva,
T.V. Pukhlikova, A.A. Chumak**

GBUZ “Blood transfusion station
of the Department of Health of the City of Moscow”
Polikarpov str., 14, Moscow, Russia, 115541

The article presents the results of the study of the genetic polymorphism of HLA-antigens in 65 adult patients with ulcerative colitis (UC) living in Moscow region. It was found that certain groups of HLA alleles are associated with the pathogenesis of UC. Immunogenetic factors of predisposition and sustainability to this disease depending on gender and age were revealed. The relationship of immunogenetic factors with clinical forms of the disease, course of the UC and response to therapy with glucocorticoids were shown.

Key words: HLA-antigens, ulcerative colitis, immunogenetic factors.