

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИГЕНОВ ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ СРЕДИ БОЛЬНЫХ ОТОСКЛЕРОЗОМ

Ш. М. Исмаилов

*Кафедра оториноларингологии (зав.—доц. Х. А. Алиматов)  
Казанского медицинского университета*

Значительная распространенность отосклероза в популяции (0,1—2% среди европейцев [13], 0,2% среди населения бывшего Советского Союза [3], 8,3% у белых американцев [14]) и полиморфизм его клинических проявлений требуют разработки дополнительных методов диагностики заболевания. В литературе имеются сообщения о донозологической диагностике отосклероза путем определения риска развития заболевания при семейных его формах [6, 8, 10], однако его проведение на практике довольно затруднительно [12].

Информативным признаком предрасположенности к развитию широкого спектра болезней человека, в том числе и патологии среднего уха, являются группоспецифические антигены HLA — продукты генов главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) человека [1, 5, 9]. Механизмы подобных ассоциаций во многом неизвестны, однако использование антигенов ГКГ человека в качестве маркеров широко распространенных заболеваний способно оптимизировать их диагностику, существенно влиять на раскрытие этиологии и патогенеза болезней, а также уточнять пути наследственной передачи склонности к развитию заболеваний [1, 7].

Имеется ряд разноречивых сообщений об ассоциации отосклероза с системой HLA [10, 11, 15].

Целью настоящего исследования было изучение ассоциированности отосклероза, особенностей его клинического течения, значения наследственного фактора в развитии отосклероза и степени участия HLA системы в генезе семейных и несемейных форм заболевания в популяции жителей г. Казани.

Всем больным были проведены общесоматическое клиническое обследование, полный комплекс аудиологического исследования, гистотипирование и при положительном семейном

анамнезе — генеалогическое исследование с составлением родословной.

Нами исследовано распределение антигенных частот ГКГ среди 105 больных отосклерозом казанской популяции (татар — 52, русских — 53). Контрольной группой служили 113 здоровых коренных жителей г. Казани — доноров Республиканской станции переливания крови, результаты исследования которой были опубликованы ранее [2]. Фенотип ГКГ лимфоцитов, выделенных из гепаринизированной венозной крови больных отосклерозом путем седиментации в фиккол-верографинном градиенте плотности, определялся методом двухступенчатой микролимфоцитарной цитотоксичности [1]. Использовали панель гистотипирующих сывороток Санкт-Петербургского НИИ гематологии и переливания крови, выделяющей 9 антигенов локуса А, 17 антигенов локуса В и 5 антигенов локуса С.

Статистический анализ результатов исследования выполняли с использованием критериев Стьюдента, Фишера, Пирсона и коэффициента корреляции. Вычисляли генные частоты (р), показатели гаметной ассоциации (D), их степень (г), вероятность ошибки (P), ее скорректированное значение (P<sub>c</sub>), а также величину комбинированного риска (RR), этиологическую (EF) и превентивную (PF) фракции [1, 4].

Исследование было двухэтапным. На первом этапе обследовано 85 больных отосклерозом. Наследственный фактор по результатам генеалогического анализа выявлен у 15,3% больных, что согласуется с литературными данными [6]. Заболевание встречалось с одинаковой частотой у больных татарской (50,6%) и русской (49,4%) национальностей, составляющих большинство коренных жителей г. Казани. Тем не менее на основании фактов маркирования некоторых заболеваний разными антигенами HLA в различных национальностях [7] на

первом этапе исследований мы учитывали национальную принадлежность больных отосклерозом.

Больные были разделены на две подгруппы: 1г — 43 человека татарской национальности и 1р — 42 пациента русской национальности. Соответственно этому контрольная (2-я) группа также состояла из двух подгрупп: 2г (55 татар) и 2р (58 русских). Анализ полученных данных показал наличие значимых различий между группами больных отосклерозом и здоровых лиц в отношении антигенов A28, B18, B27, B38, B39, Vx и CWI. Частота неопределяемой аллели локуса В (Vx) в группе больных отосклерозом была выше, чем в контроле. Все остальные аллели встречались у больных отосклерозом реже. Эти тенденции были характерны как для татар, так и для русских в отношении всех антигенов, кроме B27 (последний не найден ни у одного лица татарской национальности). Степень некорректированной достоверности ( $P < 0,05$ ;  $P_c > 0,05$ ) была достигнута и в подгруппе русских у антигенов B40, Vx и CWI. Разница частот антигенов A28 и B38 была достоверна лишь у татар, а B18, B27 и B39 — лишь у русских. Следовательно, этнический признак не оказывает существенного влияния на формирование особенностей полиморфизма HLA больных отосклерозом. Хотя различия частот антигенов A28 и B38 более выражены у лиц татарской национальности, а антигенов B18, B27 и B38 — у русских, общие тенденции их снижения, особенно частот антигенов B40, Vx, CWI, у больных отосклерозом не зависят от национальности.

Как было показано ранее [2], популяции татар и русских, проживающих в г. Казани, достаточно близки между собой по частотному HLA-антигенному профилю. Два из трех антигенов, по содержанию которых различаются подгруппы татар и русских (A1 и A3), не участвуют в ассоциации с отосклерозом в национальных подгруппах. Третий антиген, определяющий эту разницу, — B27, не встретился ни у одного лица татарской национальности. Это позволяет объединить этнические подгруппы больных отосклерозом и на более обширном материале проанализировать

HLA-ассоциированность клинических особенностей течения, а также специфичность их аудиологических показателей.

Достоверную ассоциацию с отосклерозом проявили несколько антигенов. В их число вошли как антигены, ассоциированные с отосклерозом в этнических подгруппах (A28, B12, B18, B27, B40, Vx, CWI), так и два «новых» — A2 и Cx. Частота антигенов B38 и B39 не отличалась от контроля в объединенной группе больных отосклерозом, что свидетельствует или о случайности их ассоциации в этнических подгруппах, или об их ассоциированности с отосклерозом только в пределах «своей» национальности: B38 — в татарской, B39 — в русской.

В локусе А антиген A2 встречался достоверно чаще ( $P < 0,02$ ;  $RR = 1,96$ ;  $EF = 0,253$ ), а антиген A28 — реже ( $P < 0,02$ ;  $RR = 0,156$ ;  $PF = 5,081$ ). Степень их ассоциированности практически одинакова, что может быть связано с псевдоассоциированностью этих антигенов с отосклерозом в связи с наличием выраженной перекрестной реактивности их между собой [1, 5]. Поэтому мы воздерживаемся от выводов о наличии или отсутствии ассоциации отосклероза с антигенами A2 и A28 до результатов дальнейших исследований (панель гистотипирующих сывороток, использованная в нашем исследовании, не имела моноспецифических антисывороток к антигену A28).

Другой аллелью HLA, более частой в группе больных отосклерозом, оказался антиген B12 ( $P < 0,03$ ;  $RR = 2,249$ ;  $EF = 0,150$ ). При разделении больных в зависимости от формы тугоухости (тимпанальной, смешанной, кохлеарной) встречаемость антигена B12 у лиц со смешанной формой отосклероза оказалась выше, чем у лиц с остальными формами.

Неопределяемые аллели локусов В и С (Vx и Cx) наблюдались у больных отосклерозом чаще, чем в контроле ( $P < 0,0003$ ;  $P_c < 0,004$ ;  $RR = 2,44$ ;  $EF = 0,141$  и  $P < 0,04$ ;  $P_c > 0,5$ ;  $RR = 1,62$ ;  $EF = 2,98$  соответственно). Это может быть связано с повышением гомозиготности по локусу В больных отосклерозом. Число лиц с неопределяемой второй аллелью локуса В среди больных составляет 38,8%, что превышает число подобных слу-

чаев в контроле (25,7%). У 7 (8,2%) больных отосклерозом определялся фенотип В12Вх. В контроле его имели лишь 2,7% индивидов, что свидетельствует о возможной ассоциированности отосклероза с гомозиготностью по В12, обусловленной или рецессивным характером сцепленного с В12 гена, от которого зависит предрасположенность к отосклерозу, или дозозависимым эффектом этого гена на развитие болезни.

Факт более высокой частоты Вх и Сх можно объяснить и наличием антигенов, ассоциированных с отосклерозом, определение которых было невозможно в наших исследованиях из-за отсутствия соответствующих антисывороток. На это указывает большая (9,4%), чем в контроле (3,5%), встречаемость фенотипа ВхВх у больных отосклерозом.

Антигены В18, В27, В40, СW1 наблюдались у больных отосклерозом несколько реже. Уровень скорректированного значения достоверности различий среди этих антигенов был зарегистрирован у антигена В40 ( $P < 0,001$ ;  $P_c < 0,04$ ;  $RR = 0,086$ ;  $PF = 9,643$ ). Снижение частоты антигена В40 было известно и ранее [11]. Антиген В27 не обнаружен ни у одного японца, больного отосклерозом [15]. Факт снижения частоты антигенов В18 и СW1 в группе больных отосклерозом установлен нами впервые. При обследовании больных данной категории в зависимости от форм заболевания антиген В40 был выявлен лишь при тимпанальной форме. Это свидетельствует, по нашему мнению, о неслучайности снижения частоты этого антигена в общей группе больных и дает возможность предположить своеобразное «протективное» воздействие антигена В40 на развитие отосклероза.

Таким образом, представляется немалым участие генетической системы HLA в детерминации предрасположенности к отосклерозу. Для выяснения тождественности генов постулируемым генам отосклероза [8] группа из 85 человек была разделена на две подгруппы: «наследственную» (15,3%) и «ненаследственную». В первую подгруппу вошли 13 человек со строго установленной семейной передачей болезни в нескольких поколениях. Вторую подгруппу составили

больные (72), у которых семейная передача была исключена на протяжении не менее чем двух поколений (по крайней мере, доступные сведения о родственниках не подтверждали семейную природу заболевания). Оказалось, что степень ассоциированности ненаследственной формы отосклероза с антигенами практически не отличается от таковой в общей группе, а по некоторым аллелям даже превышает силу ассоциаций: это касается антигенов А2, В12 и В18, показавших большую величину достоверности ассоциации. Антигены А28 и Сх, в отличие от таковых в общей группе, не проявили ассоциированности с несемейной формой отосклероза. Больные с «семейным» отосклерозом не имели ни одного антигена со значимой разницей частот по сравнению с контролем. С целью исключить возможность отсутствия данной разницы в связи с малочисленностью этой подгруппы (второй этап исследований) мы провели дополнительное гистотипирование еще 20 лиц, страдающих отосклерозом с семейной агрегацией. Результаты этих исследований подтвердили предположение об отсутствии HLA-ассоциированности семейных форм отосклероза: частоты антигенов объединенной подгруппы с наследственной формой отосклероза (33 чел.) практически не отличались от таковых в контрольной группе.

Анализ теоретических частот гаплотипов (гаметных ассоциаций) выявил 18 положительных и 5 отрицательных двухлокусных сочетаний аллелей HLA, встречающихся достоверно чаще или реже ожидаемого, исходя из закона случайного распределения. Три обнаруженных гаплотипа были более характерны для всей популяции в целом (В5-СW1, В27-СW1, А10-В38), остальные — для обследованной группы.

Гаплотипы с участием локуса С наблюдались гораздо чаще. Отрицательные гаметные ассоциации антигена А2 с антигеном В18 ( $D = -0,01$ ;  $g = -0,12$ ) и В38 ( $D = -0,0063$ ;  $g = -0,13$ ), между антигенами В12 и А28 ( $D = -0,0038$ ;  $g = -0,07$ ) и между В12 и СW1 ( $D = -0,0029$ ;  $g = -0,08$ ) свидетельствуют о вторичности отрицательной связи В18, В38, и СW1 с отосклерозом, связанной с неравновесным сцеплением этих анти-

генов с антигенами В12 и А2. В то же время антигены В27, В39 и В40 не имеют отрицательной ассоциированности с положительно маркирующими отосклероз антигенами А2, В12 и Вх.

Согласно результатам исследований, полиморфизм антигенов HLA в группе больных отосклерозом отличается некоторыми особенностями по сравнению с контролем. Они, скорее всего, не зависят от этнической предрасположенности больных. Наиболее вероятным HLA маркером, от которого в существенной степени зависит снижение риска развития отосклероза, является антиген В40; в исследованной группе он встречался с корреktированной достоверностью реже, чем в контроле. Как показал анализ гаметных ассоциаций, эта связь не определялась вторичной ассоциацией HLA—В40 с антигенами, более частыми в группе больных отосклерозом. Отрицательно ассоциировано это заболевание с антигенами В27 и В39 у лиц русской национальности. Снижение частоты HLA—А28, —В18, —В38 и СW1, скорее всего, вторично и обусловлено их отрицательной гаметной ассоциацией с антигенами, чаще наблюдавшимися у больных отосклерозом (А2, В12, Вх). Не исключено, что появление пары антигенов локуса А, положительно (А2) и отрицательно (А28) связанных с отосклерозом, носит характер псевдоассоциации, объясняемой перекрестной реактивностью.

Повышенная встречаемость неопределяемых аллелей локуса В (Вх) у больных отосклерозом свидетельствует, по нашему мнению, об увеличении числа гомозигот. Увеличение числа носителей антигена В12 указывает на его предрасполагающую роль в возникновении отосклероза, более выраженную при гомозиготной форме. Повидимому, ген В12 или сегрегирующий с ним ген чувствительности к отосклерозу обладает дозозависимым аддитивным эффектом.

Обнаруженные в общей группе больных отосклерозом ассоциации сохранились лишь в подгруппе с ненаследственной формой заболевания, что свидетельствует, по нашему мнению, о несоответствии гипотетического ауто-сомно-доминантного гена (или генов), обуславливающего развитие семейных форм отосклероза, генам системы HLA, детерминирующих устойчивость

или предрасположенность к развитию отосклероза при отсутствии семейного анамнеза.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Зарецкая Ю. М. Клиническая иммуногенетика.— М., 1983.
2. Исмагилов М. Ф., Курмышкин А. А., Исмагилов Ш. М., Тананов А. Т.//Казанский мед. ж.—1992.—№ 3.—С. 161—164.
3. Никитина Ю. М. Потребность городского населения в сурдологической помощи, организации труда врачей и среднего медицинского персонала аудиторских кабинетов: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук.— М., 1979.
4. Певницкий Л. А.//Вестник АМН СССР.— 1888.— № 7.— С. 48—51.
5. Прокоп О., Геллер В. Группа крови человека: Пер. с нем.— М., 1991.
6. Сватко Л. Г. Отосклероз. Патогенез, морфогистология и хирургическое лечение отосклероза.— Казань, 1974.
7. Соченев А. М., Алексеев Л. П., Тананов А. Т. Антигены системы HLA при различных заболеваниях и трансплантации.— 1973.— № 6.— С. 51—56.
8. Холматов И. Б.//Вестн. оторинолар.— 1973.— № 6.— С. 51—56.
9. Шабалин Р. К., Серова Л. Д. Клиническая иммуногенетология.— Л., 1988.
10. Causo J. R., Causo J. B.//Am. J. Otol.— 1984.— Vol. 5.— P. 211—223.
11. Dahlqvist A., Diamant H., Rantapää Dahlqvist, Cedergren B.//Acta Otolaryngol. (Stokh.).— 1985.— Vol. 100.— P. 33—35.
12. Davis G. L.//Am. J. Otol.— 1987.— Vol. 8.— P. 273—281.
13. Friedmann J. Pathology of the ear. Blackwell scientific publications.— Oxford, 1974.
14. Yoo T. J.//Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.— 1984.— Vol. 93.— P. 28—33.
15. Nibu K.-I., Okuno T., Nomura G. et al.// J. Otolaryngol. Jap.— 1990.— Vol. 93.— P. 606—610.

Поступила 01.10.94.

#### DISTRIBUTION OF HISTOCOMPATIBILITY ANTIGENS AMONG PATIENTS WITH OTOSCLEROSIS

Sh. M. Ismagilov

#### Summary

HLA-A-B-C phenotypes in 105 patients with otosclerosis, verified during operation and correlated with the results of histoidentification of 113 healthy persons are determined. It is suggested that the ethnic sign does not influence the formation of the peculiarities of HLA polymorphism. The patients were divided into two groups: with familial predisposition to otosclerosis (33) and without it (72). A2, B12, Bx, Cx antigens are more frequent among them and A28, B18, B27, B40 and Cw1 are less common. The associations, intending among the patients, are absent in patients with familial aggregation. The conclusions are made of the absence of the HLA-association of familial forms of otosclerosis and the existence of the gene, determining the stability to the development of otosclerosis (HLA-B40). It is not inconceivable that genes exist, predisposing to the development of infamilial form of the disease (B12).