

Межпопуляционный подход в установлении ассоциированной с HLA генетической предрасположенности к инсулинзависимому сахарному диабету

Л.П. Алексеев, И.И. Дедов*, А.В. Зилов*, М.Н. Болдырева, И.Ю. Демидова*, Д.Ю. Трофимов, Р.М. Хаитов

ГНЦ "Институт иммунологии" МЗ РФ
(дир.-акад. РАМН Р.М. Хаитов), Москва

*Кафедра эндокринологии
(зав.-акад. РАМН И.И. Дедов)
Московской медицинской академии
им. И.М.Сеченова

Выявление генетических маркеров (вариантов генов или их комбинаций) предрасположенности к различным заболеваниям является одним из наиболее быстро развивающихся направлений медицинской науки.

Перспективной областью генома человека для поиска таких генетических маркеров является главный комплекс тканевой совместимости (HLA).

Система HLA, помимо участия в отторжении трансплантата, выполняет в организме ряд других функций, важнейшими из которых являются генетический контроль иммунного ответа и поддержание "нормального" иммунного гомеостаза. Так, в частности, реализуемое через систему HLA нарушение иммунологического гомеостаза лежит в основе целого ряда патологических процессов, включая аутоиммунные заболевания и развитие опухолей [1,2].

Гены DRB1, DQA1 и DQB1, относящиеся к II классу системы HLA, отличаются крайне выраженным полиморфизмом, т.е. разнообразием аллельных вариантов. Так, например, к настоящему времени известно уже 198 аллелей гена DRB1, 19 аллелей гена DQA1, 35 аллелей гена DQB1 [1,4].

Несмотря на то, что впервые ассоциация между HLA и инсулинзависимым сахарным диабетом (ИЗСД) была установлена более 20 лет назад, однако именно в последние 3 – 5 лет появилась возможность использования полученных данных в клинической практике. Это связано в первую очередь с возможностями молекулярно-генетических методов выявления HLA-специфичностей (генотипирование).

Для проведения настоящего исследования были выбраны 3 этнические группы: русские, буряты и уз-

беки. Выбор данных этнических групп был обусловлен следующими обстоятельствами. Русские и буряты относятся к двум основным расам, характерным для населения России и бывшего СССР, – соответственно к европеоидной и монголоидной. Узбекская этническая группа сформировалась около тысячи лет назад как монголоидная популяция с привнесением "европеоидного" генотипа. Кроме того, имелись сведения о том, что заболеваемость ИЗСД в этих трех этнических группах имеет значительные особенности. Так, если заболеваемость ИЗСД среди русских довольно высока (составляет от 1.5 до 5 на 1000 по разным данным) и практически не отличается от таковой среди большинства других европейских народов, то заболеваемость ИЗСД среди бурят, как и заболеваемость среди большинства других изученных групп монголоидов, чрезвычайно низка (у бурят она в 10 раз ниже, чем у русских). Заболеваемость ИЗСД среди узбеков так же высока, как и у европеоидов.

К моменту начала работы, благодаря проведенным ранее в рамках международных программ исследованиям [2], мы располагали данными о существенных различиях в распределении HLA-специфичностей (HLA профилю) среди здоровых представителей трех указанных этнических групп.

Типирование генов DRB1, DQA1 и DQB1 проводили с помощью одного из вариантов метода сиквенс-специфических праймеров на основе полимеразной цепной реакции [3]. Для типирования использовали наборы HLA генотипирующих реагентов фирмы "ДНК-Технология" (Россия), выявляющие 14 специфичностей гена DRB1 на уровне групп аллелей, 8 аллелей гена DQA1 и 10 аллелей и групп аллелей гена

DQB1 (наборы прошли контроль качества в рамках XII Международного рабочего совещания по HLA).

В контрольные группы вошли 145 здоровых русских жителей Москвы, 139 здоровых узбеков – жителей Ташкента, 100 здоровых бурят – жителей Бурятии.

Группы больных ИЗСД составили 85 русских – жителей Москвы, 47 узбеков – жителей Ташкента и 22 бурята (все больные ИЗСД, зарегистрированные и вновь выявленные в Бурятии в 1996 г.) – жители Бурятии.

Данные о частотах HLA аллелей в обследованных группах, для которых установлен тот или иной уровень ассоциаций (как положительных, так и отрицательных), приведены в табл. 1, где представлены данные об относительном риске развития ИЗСД при наличии этих аллелей. Степень предрасположенности к болезни выражается таким показателем, как относительный риск (ОР), который показывает, во сколько раз выше вероятность заболевания у человека, имеющего конкретный аллель в генотипе, по сравнению с человеком, у которого нет этого аллеля. Значимыми положительными ассоциациями являются такие, ОР которых равен или выше 2,0. При значениях ОР ниже 1,0 ассоциированные с патологией аллели рассматриваются как протекторы заболевания.

Для более наглядного представления материала мы приводим данные об аллелях – генетических маркерах ИЗСД, полученные в наших исследованиях (табл. 2, 3).

При анализе ассоциаций между ИЗСД и HLA DRB1 специфичностями обратил на себя внимание следующий факт. Если у русских выраженные ассо-

циации имеются со специфичностями, характерными для их расы в целом (HLA DRB1*04 и HLA DRB1*17 (03), то у бурят и особенно у узбеков установлена ассоциация с HLA DRB1*17 (03), ранее не считавшаяся характерной для монголоидов.

При анализе полученных результатов (см. табл. 1, 2) обращает на себя внимание обнаружение “новых” положительных ассоциаций у бурят, ранее не описанных ни в монголоидной, ни в европеоидной популяции. Это ассоциации с аллелем HLA DRB1 – 0401/2 (ОР=2,57) и аллелем HLA DQA1 – 0201/2 (ОР=2,42). В то же время отсутствуют ассоциации с аллелем DQA1 0501 (ОР=0,85) и DRB1 – 0201/2 (ОР=1,69). Значительно реже, чем в остальных монголоидных группах, отмечается ассоциация больных ИЗСД бурят с аллелями DQA1*0301 и DQB1*0302.

Таким образом, можно констатировать, что у бурят в отличие от других ранее обследованных, в том числе в рамках международных исследований монголоидных популяций, наиболее выраженные ассоциации с ИЗСД относятся к “новым” HLA генетическим маркерам – генам HLA DQA1 и DQB1. Возможно, эти “новые” маркеры выполняют “функцию” классических аллелей – маркеров, ассоциации с которыми у бурят значительно ниже, чем в других этнических группах.

Нами выявлены особенности в распределении маркеров резистентности к ИЗСД у бурят. Оказалось, что в отличие от других ранее обследованных монголоидных групп у бурят среди аллелей-протекторов находятся HLA DRB1*11 и HLA DQB1*301.

Таблица 1

Частоты аллелей DRB1, DQA1 и DQB1 в трех исследованных группах больных ИЗСД

Исследуемый аллель	Русские, %			Узбеки, %			Буряты, %		
	боль-ные	конт-роль	ОР	боль-ные	конт-роль	ОР	боль-ные	конт-роль	ОР
DRB1*01	6,56	8,60	0,75	2,63	10,28	0,23	0	2	0,62
DRB1*04	45,90	15,59	4,59	31,58	18,22	2,07	59	21	5,26
DRB1*07	3,28	16,13	0,18	11,84	9,81	1,24	1,96	9	0,23
DRB1*11	1,64	13,44	0,11	3,95	1,21	1,24	1,89	11	0,19
DRB1*13	7,38	1,83	0,59	1,32	13,08	0,09	0	7	0,08
DRB1*15	0,82	11,83	0,06	3,95	16,36	0,15	0	8	0,15
DRB1*17	31,15	8,06	5,16	38,16	7,01	89	9	2	4,85
DQA1*0101	6,56	13,44	0,45	3,95	17,29	0,20	5	10,61	0,44
DQA1*0102	4,92	16,13	0,27	1,32	19,63	0,05	5	9,09	0,52
DQA1*0103	4,10	8,06	0,49	2,63	9,81	0,25	5	9,60	0,50
DQA1*0201	4,10	16,67	0,21	13,16	11,21	0,57	25	12,12	2,42
DQA1*0301	44,26	15,59	4,30	34,21	21,03	1,95	37,5	25,76	1,73
DQA1*0501	36,07	29,57	1,34	43,42	20,09	3,05	20	22,73	0,85
DQB1*0201	35	23,12	1,79	53,95	18,69	5,10	23	13	1,69
DQB1*0301	3,98	24,19	0,14	6,58	17,29	0,34	23	34	0,58
DQB1*0302	42,86	8,60	7,85	28,95	11,21	1,59	6,86	7	0,96
DQB1*0402	0	0	-	1,32	0	-	20	9	2,57
DQB1*0602-8	7,91	17,20	0,35	2,63	20,56	0,10	2,24	13	0,15

Таблица 2

Аллели предрасположенности к ИЗСД в различных этнических группах

Популяционная группа	А л л е л и					
	DRB1		DQA1		DQB1	
Европеоиды	*-04	*-17(03)	*-0301	*0501	*-0201	*-0302
Русские	*-04	*-17(03)	*-0301			*-0302
Монголоиды	*-04		*-0301			*-0302
Буряты	*-04		*-0201	*-0301		*-04
Смешанная (узбеки)	*-04	*-17(03)		*-0501	*-0201	*-0402

Таблица 3

Аллели резистентности к ИЗСД в различных этнических группах

Популяционная группа	А л л е л и					
	DRB1		DQA1		DQB1	
Европеоиды	*-07	*-11	*15	*-0102	*-0103	*-0301
Русские	*-07	*-11	*15	*-0102	*-0103	*-0301
Монголоиды			*15	*-0102	*-0103	*-0601
Буряты		*-13	*15	*-0102	*-0103	
Смешанная (узбеки)		*-13	*15	*-0102	*-0103	

У узбеков в отличие от бурят в отношении аллелей HLA DQ локуса, имеющих ассоциации с ИЗСД (как положительные, так и отрицательные), установлено, что все они относятся к "классическим" аллелям-маркерам HLA DQ локуса (см. табл. 2). Однако и в этом случае "нестандартным" является то, что оба аллеля, с которыми выявлены выраженные ассоциации у узбеков, а именно HLA DQA1 *0501 (OR=3,05) и HLA DQB1*0201 (OR=5,1) являются маркерами ИЗСД только в европеоидных, но не в монголоидных популяциях. При этом следует отметить, что и из числа HLA DRB1 специфичностей одним из маркеров ИЗСД у узбеков является специфичность HLA DRB1*17 (03) (см. табл. 2), также характерная для европеоидов.

Анализ аллелей-протекторов показал, что они не отличаются друг от друга и от классических, установленных для ИЗСД.

Проведенный вслед за установлением отдельных аллелей HLA маркеров ИЗСД анализ ассоциаций между ИЗСД и HLA DQA1, DQB1 генотипов (сочетаний) у бурят и узбеков показал, что у первых наиболее выраженная ассоциация между HLA DQA1-DQB1 генотипом и ИЗСД отмечена для генотипа HLA DQA1*0301 – DQB1*0201 (OR=35,5), при $p < 0,005$. Частота данного генотипа у больных составила 13,8%, тогда как у здоровых он обнаружен не был.

При анализе HLA DQA1-DQB1 генотипов у больных ИЗСД узбеков наиболее выраженная ассоциация была установлена с "нестандартным" для монголоидов генотипом HLA DQA1*0501 – DQB1*0201, частота которого достигла у больных 51,2% при полном отсутствии у здоровых узбеков. В результате этого OR составил 21,6 ($p < 2,58$). Столь высокая ассоциация несомнен-

но позволяет использовать HLA генотипирование не только при семейном, но и индивидуальном анализе.

Важным выводом, вытекающим из результатов работы, является то, что для использования HLA генотипирования в клинической практике для прогнозирования развития ИЗСД необходимо учитывать особенности HLA аллелей и генотипов-маркеров ИЗСД, характерные для каждой популяции, хотя, конечно, в большинстве случаев маркеры могут быть идентичны.

Таким образом, в результате наших исследований выявлен полиморфизм в отношении HLA аллелей и генотипов, ассоциированных с ИЗСД в изученных этнических группах. Установлены как меж-, так и внутрирасовые, ассоциированные с HLA DR и DQ генотипами, различия в заболеваемости ИЗСД.

Использование межпопуляционного подхода при изучении ассоциаций генов и заболеваний является одним из наиболее перспективных для установления генетических основ заболеваний.

Литература

1. Хаитов Р.М., Алексеев Л.П. // Intern. of Immunol. - 1998. - N. 10. P. 30-38.
2. March B., Steimle V., Martinez-Soria E. et al. // Ann.Rev.Immunol.-1996.-Vol.14.- P.302-310.
3. Bodmer J., Mersha S., Albert E. et al. // Tissue Antigens-1997.- Vol.49.- P. 297-321.
4. Alexeev L. et al. // Genetic diversity of HLA. Proc. of the 12th Intern. Histocompatibility Workshop and Conf.-1997.-EDK, Paris, France.- P. 364-374.
5. Alexeev L., Boldyreva M., Trofimov D. et al. // Eur. J. of Immunogen.-1995.-V.22.- N. 1.- P. 87.