

АЛЛЕЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ У ДЕТЕЙ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА, ЗАБОЛЕВШИХ В ДОШКОЛЬНОМ ВОЗРАСТЕ



© Д.Н. Лаптев¹, И.А. Еремина¹, Е.С. Шубина², Т.Э. Янкевич³, Е.А. Сечко¹, Н.А. Гончарова^{1*}, В.А. Петеркова¹

¹ГНЦ РФ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии», Москва

²Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова, Москва

³ООО «НПФ ДНК-Технология», Москва

ОБОСНОВАНИЕ. Сахарный диабет 1 типа (СД1) — хроническое аутоиммунное заболевание, характеризующееся поражением инсулинопродуцирующих клеток поджелудочной железы, что со временем приводит к потребности в заместительной инсулинотерапии. Клиническая картина СД1 гетерогенна: начало заболевания в раннем возрасте характеризуется более острой манифестацией и быстрым истощением остаточной секреции инсулина. Вариации HLA-генов, вероятно, могут определять клинические особенности течения СД1. Установлены возрастные особенности HLA-генов в различных популяциях, однако для российской популяции такие данные отсутствуют.

ЦЕЛЬ. Изучить влияние HLA-генов на предрасположенность к СД1 в дошкольном возрасте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Одноцентровое одномоментное исследование, включающее 885 детей (1–18 лет) с СД1, находящихся на интенсифицированной инсулинотерапии. Участники разделены на две группы: с манифестацией СД1 <7 лет и ≥7 лет. Проанализированы возраст диагностики СД1, SDS индекса массы тела, уровни гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) и С-пептида, частота выявления аутоантител к глутаматдекарбоксилазе (GADA), тирозинфосфазе (IA-2A), транспортеру цинка (ZnT8A), генов HLA I и II классов.

РЕЗУЛЬТАТЫ. В группе с манифестацией СД1 <7 лет выявлены более низкие показатели С-пептида (0 против 0,3 нг/мл, $p < 0,001$), реже определялись AT GADA (48% против 67%, $p = 0,028$), IA-2 (52% против 62%, $p = 0,014$), ZnT8 (44% против 71%, $p = 0,002$). Не было значимых различий по полу, уровню HbA_{1c} и SDS ИМТ. В группе с манифестацией СД1 <7 лет отмечалась большая частота наиболее сильного предрасполагающего генотипа *DRB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01* (*DR3-DQ2*)/*DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02* (*DR4-DQ8*) (27,5% против 21,5%, $p = 0,039$) и меньшая частота протекторного гаплотипа *DRB1*01-DQA1*01-DQB1*05:01* (19,1% против 24,9%, $p = 0,035$). В группе с манифестацией <7 лет была большая частота предрасполагающего гаплотипа *A*24:02* (35,6% против 24,1%, $p = 0,002$). Независимо от возраста начала и длительности заболевания, отсутствие остаточной секреции С-пептида (<0,1 нг/мл) было связано с предрасполагающим гаплотипом *DR4-DQ8* (65,7% против 60,8%, $p = 0,04$) и *B*18:01* (20,9% против 16,9%, $p = 0,026$), с меньшей частотой протекторных гаплотипов *DRB1*15-DQA1*01:03-DQB1*06:03* или *DRB1*15-DQA1*01:02-DQB1*06:02* (1,3% против 3,3%, $p = 0,047$). Наличие IA-2A и ZnT8A было ассоциировано с гаплотипом *DR4-DQ8* (28,2% против 16,5%, $p = 0,037$, и 33,3% против 15,4%, $p = 0,018$). GADA связаны с предрасполагающим гаплотипом *DR3-DQ2* (55,0% против 34,5%, $p = 0,03$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. В российской популяции установлены предрасполагающие и протекторные HLA гаплотипы I и II класса, связанные с манифестацией СД1 в дошкольном возрасте и резервной функцией бета-клеток. Показана взаимосвязь наличия островковых AT с предрасполагающими *DR3/DR4* гаплотипами, что может определять различные механизмы формирования и течения аутоиммунного процесса.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сахарный диабет 1 типа; главный комплекс гистосовместимости; аутоантитела; подростки; дети дошкольного возраста.

ALLELIC VARIANTS OF GENES OF THE MAIN HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX IN CHILDREN WITH TYPE 1 DIABETES MELLITUS WHO BECAME ILL AT PRESCHOOL AGE

© Dmitry N. Laptev¹, Irina A. Eremina¹, Jekaterina S. Shubina², Tatjana E. Yankevich³, Elena A. Sechko¹, Natalia A. Goncharova^{1*}, Valentina A. Peterkova¹

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

²National Medical Research Center For Obstetrics, Gynecology And Perinatology Named After Academician V.I. Kulakov, Moscow, Russia

³NPF DNA Technology LLC, Moscow, Russia

BACKGROUND: Type 1 diabetes mellitus (DM1) is a chronic autoimmune disease characterized by damage to insulin-producing cells of the pancreas, which eventually leads to the need for insulin replacement therapy. The clinical picture of DM1 is heterogeneous: the onset of the disease at an early age is characterized by a more acute manifestation and rapid depletion of residual insulin secretion. Variations of HLA genes can probably determine the clinical features of the course of DM1. To date, age-related features of HLA genes have been established in various populations, at the same time, such data are not available in the Russian population.

AIM: To study the effect of HLA genes on predisposition to DM1 in preschool age.

MATERIALS AND METHODS: A single-center, one-stage study, including data from 885 children (1 year — 18 years old) with previously diagnosed DM1 who are on intensified insulin therapy. The study participants're divided into two groups: a group with a manifestation of DM1 <7 years and a group with a manifestation of DM1 ≥7 years. The age of diagnosis of DM1, SDS body mass index, glycated hemoglobin (HbA_{1c}) and C-peptide levels, specific islet autoantibodies glutamate decarboxylase (GADA), tyrosine phosphatase (IA-2A), zinc transporter (ZnT8A), HLA genes of classes I and II (NGS genotyping by high-performance sequencing) were analyzed.

RESULTS: In the group with manifestations of DM1 <7 years, lower levels of C-peptide're detected (0 vs. 0.3 ng/ml, $p<0.001$), AT GAD was less often determined (48% vs. 67%, $p=0.028$), IA-2 (52% vs. 62%, $p=0.014$), ZnT8 (44% vs. 71%, $p=0.002$). There were no significant differences in the sex ratio, the level of HbA_{1c} and SDS BMI. In the group with manifestations of DM1 <7 years, there was a high frequency of the most severe predisposing genotype DRB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01 (DR3-DQ2)/DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02 (DR4-DQ8) (27.5% vs 21.5%, $p=0.039$) and a lower frequency of the protective haplotype DRB1*01-DQA1*01-DQB1*05:01 (19.1% vs. 24.9%, $p=0.035$). With respect to class I HLA genes, in the group with manifestation <7 years, there was a high frequency of predisposing haplotype A*24:02 (35.6% vs. 24.1%, $p=0.002$). Regardless of the age of onset and duration of the disease, the absence of residual C-peptide secretion (<0.1 ng/ml) was associated with the presence of the predisposing haplotype DR4-DQ8 (65.7% vs. 60.8%, $p=0.04$) and B*18:01 (20.9% vs. 16.9%, $p=0.026$), and also with a lower frequency of tread haplotypes DRB1*15-DQA1*01:03-DQB1*06:03 or DRB1*15-DQA1*01:02-DQB1*06:02 (1.3% vs. 3.3%, $p=0.047$). The presence of IA-2A and ZnT8A was associated with the DR4-DQ8 haplotype (28.2% vs. 16.5%, $p=0.037$, and 33.3% vs. 15.4%, $p=0.018$, respectively). GADAs were associated with the predisposing haplotype DR3-DQ2 (55.0% vs. 34.5%, $p=0.03$).

CONCLUSION: Predisposing and protective HLA haplotypes of class I and II associated with the manifestation of DM1 in preschool age and the reserve function of beta cells have been established in the Russian population. The relationship of the presence of islet AT with predisposing DR3/DR4 haplotypes is shown, which can determine various mechanisms of formation and course of the autoimmune process.

KEYWORDS: type 1 diabetes mellitus; HLA; autoantibodies; adolescents; preschool children.

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет 1 типа (СД1) — хроническое, аутоиммунное заболевание, характеризующееся поражением инсулинпродуцирующих клеток поджелудочной железы, что со временем приводит к истощению и развитию потребности в заместительной инсулинотерапии. Несмотря на общие основные черты, клиническая картина СД1 может быть достаточно гетерогенной, особенно ярко это проявляется при манифестации СД1 в различные возрастные периоды. Так, заболевание в более раннем возрасте характеризуется более острой манифестацией и быстрым истощением остаточной секреции инсулина [1]. В то же время во взрослом возрасте аутоиммунный процесс может протекать в гораздо более мягкой форме, что, в частности, привело к выделению латентной формы аутоиммунного сахарного диабета — LADA (latent autoimmune diabetes in adults, LADA) [2]. В связи с этим на сегодняшний день — в зависимости от возраста манифестации СД1, — выделяют так называемые эндотипы СД1, характеризующиеся различной иммунологической и морфологической картиной [3, 4].

Наличие данных обстоятельств может указывать на различные этиологические и патогенетические механизмы формирования и развития аутоиммунного процесса, которые модулируются генетическими особенностями каждого индивидуума. Основная генетическая связь с СД1 определяется генами главного комплекса гистосовместимости (HLA, human leukocyte antigen), наиболее значимыми из которых являются DR-DQ локусы [5].

Вариации HLA-генов могут определять различную чувствительность и специфичность клеточного иммунитета к различным аутоантигенам, что, вероятно, и определяет предрасположенность конкретного индивидуума к СД1 и, возможно, клинические особенности течения.

На сегодняшний день установлены возрастные особенности HLA-генов в различных европейских [6] и азиатских популяциях [7], в то же время в российской популяции такие данные отсутствуют.

ЦЕЛЬЮ данного исследования являлось изучение влияния HLA-генов на предрасположенность к СД1 в дошкольном возрасте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Место и время проведения исследования

Место проведения. Набор пациентов, биохимические, гормональные и иммунологические исследования проводились в детском отделении сахарного диабета ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России. Генетическое исследование и биоинформационная обработка данных проведены в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» МЗ РФ и ООО «НПФ ДНК-Технология».

Время исследования. В исследование включены пациенты, проходившие стационарное обследование с января 2022 по декабрь 2022 гг.

Исследуемые популяции

В исследование были включены 885 детей в возрасте от 1 года до 18 лет с ранее диагностированным СД1, находившихся на интенсифицированной инсулинотерапии.

Анализ в подгруппах

В зависимости от возраста диагностики СД1 участники исследования были разделены на две группы: 1 группа — с манифестацией СД1 <7 лет, 2 группа — с манифестацией СД1 ≥7 лет.

Дизайн исследования

Одноцентровое одномоментное исследование.

Методы

Общеклинические данные включали показатели возраста диагностики СД1, возраст на момент обследования пациентов, индекс массы тела (ИМТ) и его Z-оценку (SDS).

Уровень гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) определялся методом жидкостной ионообменной хроматографии на анализаторе BioRad D10 (BioRad, США). Уровень С-пептида оценивался методом усиленной хемилюминесценции на анализаторе COBAS 6000 фирмы Roche Diagnostics (Швейцария). Референсные значения С-пептида: 1,1–4,4 нг/мл. Уровень С-пептида менее 0,1 нг/мл оценивался как остаточный.

Иммунологическое исследование: количественное определение аутоантител (АТ) к глутаматдекарбоксилазе (GADA) и тирозинфосфатазе (IA-2) — с использованием иммуноферментных наборов Medizym фирмы Medipan MGBH, к транспортеру цинка 8 (ZnT8) — иммуноферментных наборов Zinc Transporter 8 Autoantibody Human ELISA фирмы BioVendor. Результаты считались положительными при значениях $ZnT8A > 30$ мМЕ/мл, $IA-2A > 30$ мМЕ/мл, $GADA > 30$ мМЕ/мл. Данные по GADA АТ были проанализированы у 135, по IA-2 АТ у 228 и по ZnT8 АТ у 130 участников исследования с длительностью СД1 менее 3 лет.

Генетическое исследование HLA

Выделение геномной ДНК проводили из цельной крови с помощью набора ПРОБА-МЧ МАКС (производство ООО «ДНК-Технология ТС» РУ №РЗН 2021/14391). Типирование генов HLA I и II классов проводили с помощью «Набора реагентов для подготовки библиотек фрагментов ДНК генов HLA I и II классов для генотипирования высокопроизводительным секвенированием (NGS) HLA-Эксперт» (производство ООО «ДНК-Технология ТС» РУ №РЗН 2019/9208) и программного обеспечения «HLA-Эксперт», входящего в состав набора.

Для анализа ассоциаций были отобраны ранее описанные в литературе предрасполагающие и протекторные в отношении СД1 DR-DQ гапло- и генотипы, а также не-DR-DQ локусы в пределах HLA-региона: HLA-A, HLA-B, HLA-C. В анализ были включены только аллели с частотой встречаемости не менее 1,0% в общей группе [8]. Анализировались частоты как гаплотипов, так и генотипов по аллелям DR и DQ, обладающие дополнительным риском или защитой по отношению к изолированному гаплотипу.

Статистический анализ

Статистическая обработка проводилась в Python 3.10.2 с использованием открытой библиотеки statsmodels 0.13.2 [9].

Совокупности количественных показателей описывались при помощи значений медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей [Q1; Q3]. Различия между количественными признаками в независимых выборках оценивалось с помощью критерия Манна-Уитни.

Номинативные данные описывались в виде абсолютной (n) и относительной частоты (%). Доверительный интервал (ДИ) для биномиальных пропорций (частот) рассчитывался методом Агрести-Коуллала. Для сравнения частот в каждой изучаемой группе использовались таблицы кросс-табуляции и статистика χ^2 с поправкой на непрерывность, когда это необходимо (количество ожидаемых наблюдений в любой из ячеек <5). Корректировка на конфаундеры была выполнена с использованием логистической регрессии. Поправка Бонферрони на множественные сравнения не применялась из-за ее чрезмерно консервативного характера.

Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Этическая экспертиза

Протокол исследования одобрен локальным Комитетом по этике ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (выписка из протокола №26 от 22.12.2021). Информированное согласие подписывали родители участников исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика участников исследования

Общая и клиническая характеристики участников исследования представлены в табл.1. По сравнению с группой с манифестацией СД1 ≥7 лет, помимо паспортного возраста, возраста манифестации и длительности СД1, участники в группе с манифестацией СД1 <7 лет имели более низкие показатели уровня С-пептида (0 (0–0,2) против 0,3 (0–0,9) нг/мл), у них реже выявлялись АТ GAD (48% против 67%), IA-2 (52% против 62%), ZnT8 (44% против 71%). Не было значимых различий по соотношению полов, уровню HbA_{1c} и стандартизированной оценке (SDS) ИМТ.

Распределение HLA генов в зависимости от возраста манифестации

Частоты различных HLA гапло- и генотипов представлены в табл. 2. Среди всех предрасполагающих DR-DQ генотипов в группе с манифестацией СД1 <7 лет отмечалась большая частота генотипа $DRB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01/DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02$ (27,5% (23,7–31,7) против 21,5% (17,8–25,8)). Данная связь была опосредована большей частотой гаплотипа $DRB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01$ в этой группе (55,3% (50,8–59,7) против 46,7% (42,0–51,6)), так как частота гаплотипа $DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02$ между группами не различалась. Значимых различий в частоте протекторного DR-DQ генотипа между группами не было, однако в группе с манифестацией СД1 <7 лет реже встречался протекторный гаплотип $DRB1*01-DQA1*01-DQB1*05:01$ (19,1% (15,8–22,9) против 24,9% (21,0–29,3)).

Таблица 1. Характеристика групп по возрасту манифестации

Показатель	Общая популяция	Манифестация СД1 <7 лет	Манифестация СД1 ≥7 лет	Уровень р
n	885	472	413	
Возраст, лет	10,8 [7,2; 14]	7,5 [5,1; 10,8]	13,2 [11,1; 15,6]	<0,001
Пол (муж/жен), n (%)	464/422 (52/48)	249/223 (53/47)	215/198 (52/48)	0,836
Длительность диабета, лет	2,5 [1,2; 5,3]	3 [1,4; 6,7]	2,2 [1,1; 4,1]	<0,001
Возраст манифестации, лет	6,6 [3,7; 9,6]	3,9 [2,4; 5,4]	9,8 [8,4; 12,1]	<0,001
SDS ИМТ	0,3 [-0,5; 0,9]	0,3 [-0,3; 0,8]	0,3 [-0,6; 0,9]	0,464
GAD* АТ+, n (%)	80 (59)	27 (48)	53 (67)	0,028
IA-2* АТ+, n (%)	131 (57)	52 (52)	79 (62)	0,0141
ZnT8* АТ+, n (%)	78 (60)	24 (44)	54 (71)	0,002
Уровень HbA _{1c} , %	7,7 [6,9; 8,7]	7,7 [6,9; 8,5]	7,6 [6,7; 8,9]	0,973
С-пептид, нг/мл	0,1 [0; 0,4]	0 [0; 0,2]	0,3 [0; 0,9]	<0,001

Примечание. данные предоставлены в виде Ме [Q1; Q3] или в виде n (%). Для сравнения групп использован критерий Манна-Уитни. СД1 — сахарный диабет 1 типа; SDS ИМТ — стандартное отклонение индекса массы тела; GAD АТ — антитела к глутаматдекарбоксилазе; IA-2 АТ — антитела к тирозинфосфатазе; ZnT8 АТ — антитела к транспортеру цинка 8; HbA_{1c} — гликированный гемоглобин.

*Участники с длительностью СД1 менее 3 лет.

Таблица 2. Связь HLA-генов с возрастом манифестации сахарного диабета 1 типа

	Манифестация СД1 <7 лет n=474	Манифестация СД1 ≥7 лет n=417	р
Генотипы и гаплотипы по аллелям генов HLA II класса			
Предрасполагающие			
DR3-DQ2/DR4-DQ8	27,5% (23,7–31,7)	21,5% (17,8–25,8)	0,039
DR4-DQ8/DR4-DQ8	4,2% (2,7–6,5)	4,8% (3,1–7,4)	0,665
DR3-DQ2/DR1	3,6% (2,2–5,7)	4,4% (2,7–6,8)	0,564
DR3-DQ2/DR3-DQ2	5,5% (3,8–8,0)	4,6% (2,9–7,1)	0,540
DR4-DQ8/X	23,7% (20,1–27,8)	27,4% (23,3–31,9)	0,216
DR3-DQ2/X	16,3% (13,2–19,9)	14,5% (11,4–18,3)	0,464
DR4-DQ8	64,0% (59,6–68,2)	63,9% (59,2–68,4)	0,985
DR3-DQ2	55,3% (50,8–59,7)	46,7% (42,0–51,6)	0,011
Протекторные			
DR4/DR13 или DR15	0,8% (0,2–2,2)	2,2% (1,1–4,2)	0,100
DR1	19,1% (15,8–22,9)	24,9% (21,0–29,3)	0,035
DR4-DQ7	6,8% (4,8–9,4)	6,1% (4,1–8,8)	0,661
DR13 или DR15	1,5% (0,7–3,1)	2,7% (1,4–4,8)	0,215
DR8	5,7% (3,9–8,2)	5,3% (3,5–8,0)	0,798
Аллели генов HLA I класса			
Предрасполагающие			
B*39:06	2,7% (1,4–5,0)	2,8% (1,3–5,5)	0,937
A*24:02	35,6% (30,9–40,6)	24,1% (19,5–29,4)	0,002
A*02:05	3,2% (1,8–5,6)	1,4% (0,4–3,7)	0,130
C*06:02	19,9% (16,2–24,3)	16,4% (12,6–21,2)	0,249
A*02:01	52,0% (46,9–57,1)	54,9% (49,1–60,6)	0,464
B*18:01	19,7% (15,9–24,0)	19,2% (15,1–24,2)	0,886
A*03:01	25,1% (20,9–29,7)	23,4% (18,9–28,7)	0,627
Протекторные			
B*44:03	4,3% (2,6–6,9)	3,1% (1,6–6,0)	0,439

Примечание. Данные представлены как % и 95% доверительный интервал. Для сравнения частот в каждой изучаемой группе использовались статистика χ^2 . DR3-DQ2 — DRB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01; DR4-DQ8 — DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02; DR4-DQ7 — DRB1*04-DQA1*03-DQB1*03:01; DR1 — DRB1*01-DQA1*01-DQB1*05:01; DR13 — DRB1*13-DQA1*01:03-DQB1*06:03; DR15 — DRB1*15-DQA1*01:03-DQB1*06:03 или DRB1*15-DQA1*01:02-DQB1*06:02; DR8 — DRB1*08-DQA1*04:01-DQB1*04:02; X — любой гаплотип за исключением DR3-DQ2 или DR4-DQ8.

В отношении генов HLA I класса в группе с манифестацией <7 лет была большая частота предрасполагающего гаплотипа *A*24:02* (35,6%(30,9–40,6) против 24,1% (19,5–29,4)), других различий в предрасполагающих и протекторных генах отмечено не было.

Распределение HLA-генов в зависимости от уровня С-пептида

В табл. 3 представлен анализ частот HLA-генов в зависимости от уровня секреции С-пептида, непосредственно и с учетом возраста манифестации и длительности СД1. Различий в частоте предрасполагающих DR-DQ генотипов между группами не было. В то же время у пациентов с уровнем С-пептида <0,1 нг/мл после коррекции на возраст манифестации и длительность СД1 частота гаплотипа *DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02* была выше (65,7% (61,7–69,5) против 60,8% (55,5–65,9)).

Также у пациентов с уровнем С-пептида <0,1 нг/мл реже встречался протекторный генотип *DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02/DRB1*15-DQA1*01:03-DQB1*06:03* или *DRB1*13-DQA1*01:03-DQB1*06:03* (0,7% (0,2–1,9) против 2,7% (1,3–5,1)), однако после коррекции на возраст манифестации и длительность СД1 данная связь отсутствовала. В то же время отдельно частота протекторного гаплотипа *DRB1*15-DQA1*01:03-DQB1*06:03* или *DRB1*13-DQA1*01:03-DQB1*06:03* была значимо выше у пациентов с остаточной секрецией С-пептида (3,3% (1,8–5,8) против 1,3% (0,6–2,6)), как с коррекцией на возраст манифестации и длительность СД1 так и без нее.

В отношении HLA I класса у пациентов с уровнем С-пептида <0,1 нг/мл после коррекции на возраст манифестации и длительность СД1 отмечалась большая частота гаплотипа *B*18:01* (20,9% (17,3–25,0) против 16,9% (12,5–22,4)).

Таблица 3. Связь HLA-генов с уровнем С-пептида с коррекцией на возраст манифестации и длительность СД1

	С-пептид <0,1 нг/мл n=335	С-пептид ≥0,1 нг/мл n=370	p	p*
Генотипы и гаплотипы по аллелям генов HLA II класса				
Предрасполагающие				
<i>DR3-DQ2/DR4-DQ8</i>	26,7% (23,2–30,6)	22,0% (17,9–26,7)	0,066	0,390
<i>DR4-DQ8/DR4-DQ8</i>	4,5% (3,0–6,6)	4,5% (2,7–7,3)	0,941	0,670
<i>DR3-DQ2/DR1</i>	4,3% (2,9–6,4)	3,6% (2,0–6,2)	0,813	0,797
<i>DR3-DQ2/DR3-DQ2</i>	5,8% (4,1–8,1)	3,9% (2,2–6,5)	0,267	0,455
<i>DR4-DQ8/X</i>	25,3% (21,8–29,1)	25,2% (20,9–30,1)	0,669	0,108
<i>DR3-DQ2/X</i>	15,3% (12,6–18,6)	16,0% (12,5–20,3)	0,386	0,128
<i>DR4-DQ8</i>	65,7% (61,7–69,5)	60,8% (55,5–65,9)	0,065	0,040
<i>DR3-DQ2</i>	54,0% (49,8–58,1)	47,5% (42,2–52,8)	0,109	0,907
Протекторные				
<i>DR13 или DR15</i>	0,7% (0,2–1,9)	2,7% (1,3–5,1)	0,022	0,092
<i>DR1</i>	22,4% (19,1–26,0)	21,1% (17,0–25,7)	0,613	0,511
<i>DR4-DQ7</i>	6,0% (4,2–8,3)	7,1% (4,8–10,4)	0,335	0,368
<i>DR13, DR15</i>	1,3% (0,6–2,6)	3,3% (1,8–5,8)	0,019	0,047
<i>DR8</i>	4,9% (3,3–7,0)	6,5% (4,3–9,7)	0,515	0,758
Аллели генов HLA I класса				
Предрасполагающие				
<i>B*39:06</i>	3,2% (1,9–5,4)	1,8% (0,5–4,6)	0,22	0,095
<i>A*24:02</i>	32,0% (27,8–36,6)	27,6% (22,1–33,7)	0,253	0,730
<i>A*02:05</i>	2,8% (1,5–4,9)	1,8% (0,5–4,6)	0,220	0,851
<i>C*06:02</i>	18,3% (15,0–22,3)	18,7% (14,1–24,3)	0,566	0,681
<i>A*02:01</i>	51,3% (46,6–56,0)	57,3% (50,8–63,6)	0,394	0,230
<i>B*18:01</i>	20,9% (17,3–25,0)	16,9% (12,5–22,4)	0,521	0,026
<i>A*03:01</i>	25,5% (21,6–29,8)	22,2% (17,3–28,1)	0,253	0,633
Протекторные				
<i>B*44:03</i>	3,7% (2,3–6,0)	4,0% (2,0–7,5)	0,788	0,386

Примечание. Данные представлены как % и 95% доверительный интервал. Для сравнения частот в каждой изучаемой группе использовались статистика χ^2 .

*Корректировка на конфаундеры [длительность диабета, возраст манифестации СД1] была выполнена с использованием логистической регрессии.

Сокращения: *DR3-DQ2* — *DRB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01*; *DR4-DQ8* — *DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02*; *DR4-DQ7* — *DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:01*; *DR1* — *DRB1*01-DQA1*01:03-DQB1*05:01*; *DR13* — *DRB1*13-DQA1*01:03-DQB1*06:03*; *DR15* — *DRB1*15-DQA1*01:03-DQB1*06:03* или *DRB1*15-DQA1*01:02-DQB1*06:02*; *DR8* — *DRB1*08-DQA1*04:01-DQB1*04:02*; *X* — любой гаплотип за исключением *DR3-DQ2* или *DR4-DQ8*.

Таблица 4. Связь HLA-генов с уровнем антител к GAD, IA2, ZnT8 у пациентов с длительностью сахарного диабета 1 типа менее 3 лет с коррекцией на возраст манифестации и длительность заболевания

HLA-гены	GAD AT+ n=80	GAD AT- n=55	p	p*
DR3-DQ2	55,0% (44,1–65,4)	34,5% (23,3–47,8)	0,019	0,03
	IA-2 AT+ n=131	IA-2 AT- n=97		
DR4-DQ8	64,9% (56,4–72,5)	41,2% (32,0–51,2)	<0,001	0,002
DR4-DQ8/X	28,2% (21,2–36,5)	16,5% (10,3–25,2)	0,038	0,037
	ZnT8 AT+ n=78	ZnT8 AT- n=52		
DR4-DQ8/X	33,3% (23,8–44,4)	15,4% (7,7–27,8)	0,023	0,018

Примечание. Данные представлены как % и 95% доверительный интервал. Для сравнения частот в каждой изучаемой группе использовались статистика χ^2 .

*Корректировка на конфаундеры [длительность диабета, возраст манифестации СД1] была выполнена с использованием логистической регрессии.

Сокращения: DR3-DQ2 — *DRB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01*; DR4-DQ8 — *DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02*; DR1 — *DRB1*01-DQA1*01-DQB1*05:01*; DR15 — *DRB1*15-DQA1*01:03-DQB1*06:03* или *DRB1*15-DQA1*01:02-DQB1*06:02*; X — любой гаплотип за исключением DR3-DQ2 или DR4-DQ8.

Ассоциация HLA-генов с аутоантителами

Статистически значимые ассоциации с коррекцией на возраст манифестации и длительность СД1, между HLA-генами и АТ к GAD, IA-2, ZnT8 представлены в табл. 4.

Наличие GADA было связано с большей частотой гаплотипа *DRB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01* (55,0% (44,1–65,4) против 34,5% (23,3–47,8)) независимо от другого DR-DQ аллеля, в том числе после коррекции на возраст манифестации и длительность СД1.

Наличие IA-2A было связано с большей частотой predisposing генотипа *DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02*, как независимо от другого DR-DQ аллеля (64,9% (56,4–72,5) против 41,2% (32,0–51,2)), так и при исключении других основных predisposing аллелей DR3/4 (28,2% (21,2–36,5) против 16,5% (10,3–25,2)).

Наличие ZnT8 AT было ассоциировано с большей частотой predisposing гаплотипа *DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02* (33,3% (23,8–44,4) против 15,4% (7,7–27,8)), независимо от другого DR-DQ аллеля.

Обсуждение

Среди всех генов, ассоциированных с СД1, генетическая связь с HLA является наиболее сильной. При этом генетические характеристики индивидуума могут определять клиническую картину и возраст манифестации заболевания. В нашем исследовании проведена оценка взаимосвязи генов HLA с возрастом манифестации, степенью остаточной секреции инсулина и наличием островковых АТ.

По нашим данным, раннее начало заболевания в дошкольном возрасте связано с наличием генотипа *DRB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01/DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02*, который имеет наибольший эффект, predisposing к развитию СД1 [5]. В основном связь этого генотипа с дошкольным возрастом манифестации реализовалась за счет гаплотипа *DRB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01*, так как нами не отмечено независимой связи аллеля *DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02* с возрастом манифестации. В европейской популяции лица с более ранним возрастом манифестации СД1 также имеют более высокую частоту predisposing генотипа

*DRB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01/DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02*, но и более низкую частоту защитного *DRB1*15:01-DQB1*06:02* и *DRB1*07:01-DQB1*03:03* гаплотипов, чем у лиц с более старшим возрастом начала заболевания [6]. В азиатской популяции у пациентов с дебютом СД1 во взрослом возрасте была более низкая частота генотипов высокого риска DR3/DR4 и DR3/DR9 [7].

В нашей работе среди протекторных гаплотипов обратная связь с возрастом манифестации СД1 была показана только в отношении гаплотипа *DRB1*01-DQA1*01-DQB1*05:01*. По данным «Type 1 Diabetes Genetics Consortium (T1DGC)», данный гаплотип имеет умеренный протекторный эффект в отношении развития СД1 в европейской популяции [10].

В отношении генов HLA I класса в нашей работе возраст манифестации в дошкольном возрасте определялся наличием predisposing к СД1 гаплотипа *A*24:02*. По данным исследований в европейских и азиатских популяциях, гаплотип *A*24:02* связан с повышенным риском развития СД1 [11, 12]. Кроме того, имеются данные, что *A*24:02* связан с ранней и полной деструкцией бета-клеток [13, 14] и более ранним началом СД1 [15, 16].

Считается, что в более раннем возрасте течение СД1 имеет более «агрессивный» характер, с быстрым прогрессированием болезни с начальных проявлений до клинической стадии и более редким возникновением ремиссии СД1 — «медового месяца» [17]. Основным показателем, определяющим клиническое течение СД1, является остаточная секреция инсулина, определяемая по уровню С-пептида. В связи с этим нами была изучена взаимосвязь HLA-генов с уровнем секреции С-пептида. Учитывая, что уровень секреции зависит от длительности и возраста манифестации СД1 [18], при оценке нами была проведена коррекция на эти факторы. По нашим данным, после учета влияния возраста начала и длительности заболевания отсутствие остаточной секреции С-пептида было связано с наличием predisposing к СД1 гаплотипов *DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02* и *B*18:01*. В то же время наличие остаточной секреции С-пептида было связано с наличием протекторного гаплотипа

DRB1*15-DQA1*01:03-DQB1*06:03 или DRB1*15-DQA1*01:02-DQB1*06:02. Таким образом, по нашим данным, дошкольный возраст манифестации СД1 и отсутствие остаточной секреции С-пептида связаны с разными HLA-генами. Это может указывать на то, что более ранняя манифестация СД и быстрое прогрессирование болезни в детском возрасте является не только результатом более быстрого снижения остаточной секреции инсулина, но и меньшей изначальной бета-клеточной массой или структурными и функциональными дефектами бета-клетки у детей дошкольного возраста, как предполагалось ранее [19].

После учета влияния возраста манифестации и длительности СД1 мы обнаружили, что DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02 был связан с наличием IA-2 и ZnT8 AT, что согласуется с более ранними выводами [20, 21]. Предыдущие исследования показали, что ZnT8A и IA-2A являются индикаторами более выраженного островкового аутоиммунитета и более быстрого прогрессирования заболевания, которое обычно проявляется ближе к клинической стадии СД1 [20, 22]. Также в нашем исследовании GAD AT были связаны с предрасполагающим гаплотипом DRB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01. Ранее уже было показано, что DR3 связан с GADA.

Значение связи определенных HLA-генов с AT может определяться различными этиологическими и патогенетическими механизмами формирования аутоиммунного процесса при СД1. При этом, как показано недавними исследованиями, антиген-специфическая иммунотерапия может быть наиболее эффективной при нацеливании на специфический HLA-гаплотип/аллель, связанный с толерантным антигеном [23]. Кроме того, эффективность неспецифической иммунотерапии, вероятно, также определяется наличием определенных HLA-гено-/гаплотипов и островковых AT с лучшей чувствительностью при наличии HLA-DR4 и отсутствии HLA-DR3, а также отсутствии AT ZnT8 [24]. Все это указывает на перспективность изучения HLA-аллелей в связи с их эффектами на иммуномодулирующую терапию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На достаточной выборке детей с СД1 в российской популяции нами установлены предрасполагающие

и протекторные HLA-гаплотипы I и II класса, связанные с манифестацией СД1 в дошкольном возрасте и резервной функцией бета-клеток. Показана взаимосвязь наличия островковых AT с предрасполагающими DR3/DR4 гаплотипами, что может определять различные механизмы формирования и течения аутоиммунного процесса.

Изучение характеристик генетического профиля HLA генов в зависимости от возраста манифестации СД1, степени остаточной секреции инсулина и специфических островковых AT может улучшить понимание гетерогенности заболевания и особенностей его развития в разном возрасте, а также сформировать задел для персонализированной иммуномодулирующей терапии.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Исследование выполнено в рамках исполнения государственного задания № 123021000040-9.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.

Участие авторов. Лаптев Д.Н. — концепция и дизайн исследования, набор материала, написание и редактирование текста, получение, анализ, статистическая обработка и интерпретация полученных данных; Еремина И.А. — концепция и дизайн исследования, набор материала, написание и редактирование текста, получение, анализ, статистическая обработка и интерпретация полученных данных; Шубина Е.С. — концепция и дизайн исследования, набор материала, написание и редактирование текста, получение, анализ, статистическая обработка и интерпретация полученных данных; Янкевич Т.Э. — концепция и дизайн исследования, набор материала, написание и редактирование текста, получение, анализ, статистическая обработка и интерпретация полученных данных; Сечко Е.А. — набор материала, редактирование текста; Гончарова Н.А. — концепция и дизайн исследования, набор материала, написание текста, получение, анализ, статистическая обработка и интерпретация полученных данных; Петеркова В.А. — концепция и дизайн исследования, редактирование текста.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Romanenkova EM, Zufarova IM, Sorokin DY, et al. Islet autoantibodies and residual beta-cell function in children with type 1 diabetes depending on age of manifestation. *Diabetes Mellit.* 2023;26(3):204-212. doi: <https://doi.org/10.14341/DM12955>
2. ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR, et al. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Care in Diabetes—2023. *Diabetes Care.* 2023;46(Supplement_1):S19-S40. doi: <https://doi.org/10.2337/dc23-S002>
3. Carré A, Richardson SJ, Larger E, Mallone R. Presumption of guilt for T cells in type 1 diabetes: lead culprits or partners in crime depending on age of onset? *Diabetologia.* 2021;64(1):15-25. doi: <https://doi.org/10.1007/s00125-020-05298-y>
4. Battaglia M, Ahmed S, Anderson MS, et al. Introducing the Endotype Concept to Address the Challenge of Disease Heterogeneity in Type 1 Diabetes. *Diabetes Care.* 2020;43(1):5-12. doi: <https://doi.org/10.2337/dc19-0880>
5. Noble JA, Erlich HA. Genetics of Type 1 Diabetes. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2(1):a007732-a007732. doi: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007732>
6. Inshaw JRJ, Cutler AJ, Crouch DJM, Wicker LS, Todd JA. Genetic variants predisposing most strongly to type 1 diabetes diagnosed under age 7 years lie near candidate genes that function in the immune system and in pancreatic B-cells. *Diabetes Care.* 2020. doi: <https://doi.org/10.2337/dc19-0803>
7. Ren W, Yang D, Jiang Z, et al. Adult-onset type 1 diabetic patients with less severe clinical manifestation have less risk DR-DQ genotypes than childhood-onset patients. *Diabetes Metab Res Rev.* 2021;37(1). doi: <https://doi.org/10.1002/dmrr.3357>
8. Redondo MJ, Geyer S, Steck AK, et al. A Type 1 Diabetes Genetic Risk Score Predicts Progression of Islet Autoimmunity and Development of Type 1 Diabetes in Individuals at Risk. *Diabetes Care.* 2018;41(9):1887-1894. doi: <https://doi.org/10.2337/dc18-0087>
9. Seabold S, Perktold J. Statsmodels: Econometric and Statistical Modeling with Python. In: *Proceedings of the 9th Python in Science Conference.*; 2010:92-96. doi: <https://doi.org/10.25080/Majora-92bf1922-011>

10. Sharp SA, Rich SS, Wood AR, et al. Development and Standardization of an Improved Type 1 Diabetes Genetic Risk Score for Use in Newborn Screening and Incident Diagnosis. *Diabetes Care*. 2019;42(2):200-207. doi: <https://doi.org/10.2337/dc18-1785>
11. Noble JA, Valdes AM, Varney MD, et al. HLA Class I and Genetic Susceptibility to Type 1 Diabetes. *Diabetes*. 2010;59(11):2972-2979. doi: <https://doi.org/10.2337/db10-0699>
12. Zhang J, Zhao L, Wang B, et al. HLA -A*33- DR 3 and A*33- DR 9 haplotypes enhance the risk of type 1 diabetes in Han Chinese. *J Diabetes Investig*. 2016;7(4):514-521. doi: <https://doi.org/10.1111/jdi.12462>
13. Koskinen MK, Mikk M-L, Laine A-P, et al. Longitudinal Pattern of First-Phase Insulin Response Is Associated With Genetic Variants Outside the Class II HLA Region in Children With Multiple Autoantibodies. *Diabetes*. 2020;69(1):12-19. doi: <https://doi.org/10.2337/db19-0329>
14. Nakanishi K, Inoko H. Combination of HLA-A24, -DQA1*03, and -DR9 Contributes to Acute-Onset and Early Complete β -Cell Destruction in Type 1 Diabetes. *Diabetes*. 2006;55(6):1862-1868. doi: <https://doi.org/10.2337/db05-1049>
15. Inshaw JRJ, Cutler AJ, Crouch DJM, Wicker LS, Todd JA. Genetic variants predisposing most strongly to type 1 diabetes diagnosed under age 7 years lie near candidate genes that function in the immune system and in pancreatic B-cells. *Diabetes Care*. 2020. doi: <https://doi.org/10.2337/dc19-0803>
16. Nejentsev S, Howson JMM, Walker NM, et al. Localization of type 1 diabetes susceptibility to the MHC class I genes HLA-B and HLA-A. *Nature*. 2007;450(7171):887-892. doi: <https://doi.org/10.1038/nature06406>
17. Besser REJ, Bell KJ, Couper JJ, et al. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2022: Stages of type 1 diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2022;23(8):1175-1187. doi: <https://doi.org/10.1111/pedi.13410>
18. Romanenkova EM, Eremina IA, Titovich EV, et al. C-peptide levels and the prevalence of islets autoantibodies in children with type 1 diabetes mellitus with different duration of the disease. *Diabetes mellitus*. 2022;25(2):155-165. (In Russ.) doi: <https://doi.org/10.14341/DM12843>
19. Roep BO, Thomaidou S, van Tienhoven R, Zaldumbide A. Type 1 diabetes mellitus as a disease of the β -cell (do not blame the immune system?). *Nat Rev Endocrinol*. 2021;17(3):150-161. doi: <https://doi.org/10.1038/s41574-020-00443-4>
20. Gorus FK, Balti E V., Messaoui A, et al. Twenty-Year Progression Rate to Clinical Onset According to Autoantibody Profile, Age, and HLA-DQ Genotype in a Registry-Based Group of Children and Adults With a First-Degree Relative With Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. 2017;40(8):1065-1072. doi: <https://doi.org/10.2337/dc16-2228>
21. Vermeulen I, Weets I, Asanghanwa M, et al. Contribution of Antibodies Against IA-2 β and Zinc Transporter 8 to Classification of Diabetes Diagnosed Under 40 Years of Age. *Diabetes Care*. 2011;34(8):1760-1765. doi: <https://doi.org/10.2337/dc10-2268>
22. Ziegler AG, Rewers M, Simell O, et al. Seroconversion to Multiple Islet Autoantibodies and Risk of Progression to Diabetes in Children. *JAMA*. 2013;309(23):2473. doi: <https://doi.org/10.1001/jama.2013.6285>
23. Hannelius U, Beam CA, Ludvigsson J. Efficacy of GAD-alum immunotherapy associated with HLA-DR3-DQ2 in recently diagnosed type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2020;63(10):2177-2181. doi: <https://doi.org/10.1007/s00125-020-05227-z>
24. Herold KC, Bundy BN, Long SA, et al. An Anti-CD3 Antibody, Teplizumab, in Relatives at Risk for Type 1 Diabetes. *N Engl J Med*. 2019. doi: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1902226>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Гончарова Наталья Андреевна [Natalia A. Goncharova]**; адрес: Россия, 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-9765-868X>; eLibrary SPIN: 7768-2745; e-mail: nata.goncharova.9595@mail.ru

Лаптев Дмитрий Никитич, д.м.н. [Dmitry N. Laptev, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4316-8546>;

ResearcherID: O-1826-2013; Scopus Author ID: 24341083800; eLibrary SPIN: 2419-4019; e-mail: laptevdn@ya.ru

Еремина Ирина Александровна, к.м.н. [Irina A. Eremina, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7021-1151>;

ResearcherID: S-3979-2016; Scopus Author ID: 6701334405; eLibrary SPIN: 9411-4710; e-mail: ieremina58@gmail.com

Шубина Екатерина Сергеевна, к.б.н. [Jekaterina S. Shubina, PhD in Biology];

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4383-7428>; Scopus Author ID: 57817222400; eLibrary SPIN: 7994-9637;

e-mail: e_shubina@oparina4.ru

Янкевич Татьяна Эдуардовна, к.м.н. [Tatjana E. Yankevich, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0603-3394>;

ResearcherID: 57221439561; eLibrary SPIN: 1841-7970; e-mail: tat-shapovalov@yandex.ru

Сечко Елена Александровна, к.м.н. [Elena A. Sechko, PhD]; ORCID <https://orcid.org/0000-0002-8181-5572>;

ResearcherID: S-4114-2016; Scopus Author ID: 55880018700; eLibrary SPIN: 4608-5650; e-mail: elena.sechko@bk.ru

Петеркова Валентина Александровна, д.м.н., профессор, академик РАН [Valentina A. Peterkova, PhD,

Professor, Academician of Russian Academy of Medical Sciences]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5507-4627>;

eLibrary SPIN: 4009-2463; e-mail: peterkovava@hotmail.com

ЦИТИРОВАТЬ:

Лаптев Д.Н., Еремина И.А., Шубина Е.С., Янкевич Т.Э., Сечко Е.А., Гончарова Н.А., Петеркова В.А. Аллельные варианты генов главного комплекса гистосовместимости у детей с сахарным диабетом 1 типа, заболевших в дошкольном возрасте // *Сахарный диабет*. — 2024. — Т. 27. — №4. — С. 313-320. doi: <https://doi.org/10.14341/DM13101>

TO CITE THIS ARTICLE:

Laptev DN, Eremina IA, Shubina ES, Yankevich TE, Sechko EA, Goncharova NA, Peterkova VA. Allelic variants of genes of the main histocompatibility complex in children with type 1 diabetes mellitus who became ill at preschool age. *Diabetes Mellitus*. 2024;27(4):313-320. doi: <https://doi.org/10.14341/DM13101>