Иммунозависимые заболевания и иммуногенетика человека (достижения и перспективы)

Дедов И.И.¹, Хаитов Р.М.², Алексеев Л.П.²

 1 ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва 2 ФГБУ Государственный научный центр Институт иммунологии ФМБА, Москва

На примере наиболее хорошо изученного, в том числе с точки зрения иммуногенетики человека, иммунозависимого заболевания — сахарного диабета 1 типа (СД1) разработан, апробирован и внедрен в клинику принципиально новый подход к установлению иммуногенетически обусловленной предрасположенности и устойчивости к заболеваниям аутоиммунного генеза. Подход основан на анализе не отдельных HLA-DRB1-гаплотипов, а целого HLA-DRB1-генотипа обследуемых лиц, результатом чего является более эффективное и персонализированное формирование групп риска развития иммунозависимых заболеваний, и в первую очередь СД1, за счет исключения из групп риска значительных контингентов населения. Ключевые слова: сахарный диабет 1 типа; иммуногенетика; иммунозависимые заболевания

Immunity-mediated diseases and human immunogenetics (accomplishments and prospects)

Dedov I.I.¹, Khaitov R.M.², Alexeev L.P.²

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation.

Type 1 diabetes mellitus (T1DM) was used from the viewpoint of human immunogenetics as an example of the most widely studied immunity-mediated disease. This was done in order to develop, approve and implement a new clinical approach to determine immunity-mediated susceptibility or resistance to autoimmune diseases. The approach is based on analysis of entire HLA-DRB1 genotypes (not separate HLA-DRB1 haplotypes) of the study participants. Therefore, more effective and personalised classification of T1DM risk groups was achieved by exclusion from significant contingents.

Key words: type 1 Diabetes mellitus; immunogenetics; immunity-mediated diseases

DOI: 10.14341/DM7775

дной из основных проблем мирового здравоохранения в период конца XX — начала XXI вв. является резкий рост иммунозависимых заболеваний. Это относится не только к синдрому приобретенного иммунодефицита (СПИД), который остается одной из основных угроз человечеству, но и к «новым» вызовам. В первую очередь, это касается неуклонного роста иммунозависимых патологий самого различного генеза. Они заставляют говорить о развитии эпидемии патологий, например, аутоиммунного генеза, как диабет и еще целый ряд системных заболеваний, в которых значительная роль принадлежит иммунным эндокринопатиям.

Следует также отметить, что наибольшие успехи в противостоянии таким вызовам обусловлены решением ряда фундаментальных и прикладных аспектов молекулярной иммуногенетики. Данная отрасль современной медицины в последние годы не только значительно расширила представления о генезе развития аутоиммунных заболеваний, но и предложила принципиально новые подходы к профилактике и доклинической диагностике наиболее актуальных для здравоохранения патологий.

Наибольший успех достигнут в области изучения сахарного диабета 1 типа (СД1). На сегодняшний день СД1 является наиболее хорошо изученным в плане установления механизмов реализации иммуногенетической предрасположенности или же устойчивости к его развитию. Уже около 40 лет данное заболевание занимает приоритетное место в международных программах исследований, направленных на изучение роли и механизмов реализации иммунозависимых заболеваний.

Отечественные исследователи, прежде всего из Эндокринологического научного центра МЗ РФ и Института иммунологии ФМБА России, внесли значимый вклад в решение задач как фундаментального, так и прикладного характера, поставленных данным перспективным направлением мирового здравоохранения.

Разумеется, интенсивные исследования в области изучения роли генов иммунного ответа человека ведутся и в отношении других заболеваний, в основе которых лежит развитие аутоиммунной атаки на различные органы, ткани и физиологические системы человека. Но основные принципы и механизмы развития патологических процессов, вероятнее всего, в значительной

²National Research Centre – Institute of Immunology, Moscow, Russian Federation

степени близки или идентичны, как это было установлено в отношении СД1.

Это же относится и к наиболее перспективным путям дальнейшего развития фундаментальных и прикладных задач медицины и здравоохранения, которые целесообразно сегодня решать опять таки на примере хорошо изученной, с точки зрения иммуногенетики, патологии — СД1.

Особого внимания заслуживает тот факт, что сама история развития исследований в области изучения иммуногенетических основ СД1 и полученные результаты свидетельствуют о необходимости дальнейшего развития персонализированной медицины, поскольку только индивидуальный анализ, выполненный на молекулярно-генетическом уровне, предоставляет в руки исследователя и практического врача возможность объективно оценить вероятность развития заболевания у конкретного лица.

CД1 — заболевание с выраженной генетической составляющей [1], в пользу чего свидетельствует значительная, однако не полная конкордантность у монозиготных и дизиготных близнецов [2].

Приблизительно 40—50% семейной кластеризации СД1 связывают с *HLA*-регионом, о чем сообщалось в широкомасштабном многонациональном исследовании семей с СД1 [3]. Генетические, функциональные, структурные и модельные исследования свидетельствуют о том, что гены *HLA* класса II (*HLA-DRB1* и *-DQB1*), вероятно, сами являются первичными факторами локуса IDDM1. Частоты чувствительных аллелей *HLA* класса II также хорошо коррелируют с популяционной частотой СД1 [4]. Полногеномные исследования СД1, проведенные на членах более 2000 «ядерных» семей, еще раз подтвердили, что локус *HLA*, расположенный на хромосоме 6р21 (IDDM1) является главным локусом, определяющим генетический риск развития СД1 [5].

Подавляющее большинство исследований по генетике СД1 было выполнено среди европейских популяций. В этих исследованиях было показано, что самыми высокоассоциированными с СД1 вариантами НLА являются DR3 и DR4 [6], а самым распространенным генотипом среди больных СД1 является *DR3/DR4*. Частота этого генотипа среди большинства этнических групп, населяющих Европу, составляет 38,1%, в то время как в общей популяции коренных европейцев - только 2,5% [7]. Что касается этнических групп неевропейского происхождения, может наблюдаться иная картина, так, например, указанный генотип (DR3/4) может иметь меньшее значение для развития СД1: например, у больных СД1 филиппинцев генотип *DR3/4* был менее частым, чем DR3/3 и DR3/9 [8]. В совместном исследовании, проведенном сотрудниками Эндокринологического научного центра и Институтом иммунологии, было показано, что генотип DRB1*03/*04 является наиболее частым среди большинства популяций [9], населяющих Россию, однако в некоторых популяционных группах более часто встречались другие варианты *DRB1*-генотипов, например DRB1*01/*04 у марийцев [10].

Со времени установления ассоциаций между предрасположенностью к СД1 и определенными специфичностями (в первую очередь) *HLA-DRB1*03*4*, наличие в генотипе члена семьи, включающей больных СД1 (ядерной семьи), указанных специфичностей служило основанием для включения их в группу риска развития СД1. Естественно, еще больший риск развития СД1 представляли указанные выше специфичности в гомозиготном состоянии или в гаплотипе *HLA-DRB1*3/DRB1*4*. В случае наличия *HLA-DRB1*03* и *04 в гетерозиготном варианте роль второй специфичности не принималась во внимание.

В то же время является хорошо установленным фактом повышение вероятности заболевания СД1 при генотипе HLA-DRB1*3/DRB1*4 по сравнению с генотипом HLA-DRB1*4/*4, как и HLA-DRB1*3/DRB1*3. То есть ясно, что отличный гаплотип в гетерозиготе может привести к эффекту гомозиготы.

Таким образом, эти факты свидетельствуют о том, что предрасположенность к СД1 возрастает в том случае, если в генотипе присутствуют две различных *HLA-DRB1* специфичности, положительно ассоциированные с СД1. В данном случае может иметь место синергический эффект.

Для проверки этой гипотезы было проведено исследование, основанное на изучении возможной роли в предрасположенности к СД1 «однонаправленных» — положительно или отрицательно, так и нейтрально ассоциированных с СД1 *HLA-DRB1* гетерозиготных комбинаций и разнонаправленных (один гаплотип ассоциирован положительно, второй — отрицательно). Естественно, что при этом уровень выраженности той или иной специфичности в расчет не принимался [12].

Выбор конкретных специфичностей осуществлялся на основе собственных и литературных данных.

В качестве положительно ассоциированных с развитием СД1 были выбраны HLA-DRB*01, DR*03, DR*04, DR*08, DR*09, DR*10, в качестве отрицательных (или нейтральных) — HLA-DRB*07, DR011, DRB13, DR014, DR15. Первую из этих групп HLA-гаплотипов обозначили как маркерную, вторую — как немаркерную.

На основании этих данных было сделано предположение о целесообразности проведения анализа роли ассоциированных и неассоциированных *HLA0DRB1*-гаплотипов в предрасположенности или устойчивости к развитию СД1. Для проведения такого анализа коллектив исследователей ЭНЦ и ИИ провел иммуногенетическое обследование 1004 больных СД1 и 1547 «здоровых» добровольцев. Результаты исследований опубликованы в журнале «Вестник РАМН» [11].

Согласно полученным данным, относительный риск в группе, где оба HLA-DRB1-гаплотипа были положительно ассоциированы с СД1, составил 7,8 (при P=2,8×10⁻¹⁸), то есть имела место выраженная положительная ассоциация. При смешанном HLA-DRB1-генотипе, где один гаплотип был положительно ассоциирован с СД1, а второй — отрицательно или нейтрально, относительный риск развития СД1 составил

Таблица 1

Относительный риск развития СД1 в зависимо	сти от комбинаций гаплотипов	в HLA-DRB1-генотипе у детей, больных СД1
	(семейный анализ)	

Nº	Комбинация HLA-DRB1-гаплотипов	Количество обследованных	Относительный риск (OP)	Р (вероятность)	
1	2 гаплотипа, положительно ассоциированных с СД1	84	17,0	7,0×10-31	
2	1 гаплотип, положительно ассоциированный с СД1	28	0,49	0,001	
3	Отсутствие гаплотипов, ассоциированных с СД1	5	0,005	2,7×10-20	

0,59 (P=8,8×10⁻¹¹). И наконец, в случаях, когда в генотипе обследованных положительно ассоциированный гаплотип *HLA-DRB1* отсутствовал, значение относительного риска было равно 0,11 (P=2,7×10⁻⁸³). Таким образом, в двух последних группах (особенно в третьей) выявлена повышенная устойчивость к СД1.

В таблице 1 представлены данные семейного анализа (89 ядерных семей), проведенного сотрудниками ИИ и ЭНЦ.

Как следует из представленных в табл. 1 данных, результаты семейного обследования принципиально не отличаются от данных, полученных при популяционном анализе. При этом принципиальным является тот факт, что предрасположенность к СД1 реализовалась лишь у детей, несущих в генотипе два ассоциированных с СД1 гаплотипа (OP=17). Присутствие одного гаплотипа не было ассоциировано с риском развития заболевания (OP=0,49).

С целью изучения вопроса о том, какое влияние оказывало на результаты анализа в группе №2 (один гаплотип положительно ассоциирован с СД1) (см. табл. 1) присутствие «классических» HLA-маркеров СД1 (HLA-DR1*03, HLA-DRB1*04), мы оценили, насколько данные HLA-специфичности представлены среди анализируемых гаплотипов. Было установлено, что в анализируемой группе данные гаплотипы среди больных СД1 представлены в 24,6% случаев по сравнению с 21,2% в контрольной группе (см. табл. 1). Относительный риск развития СД1 при этом составлял 1,21 (p=0,01).

В анализируемой группе дети, больные СД1, составили 21,2%, при этом относительный риск развития СД1 составил 1,1 (p=0,01) (см. табл. 1).

Примечательно, что при популяционных исследованиях в группе 1 (см. табл. 1) суммарный процент генотипов, состоящих из высокоассоциированных с СД1 гаплотипов — HLA-DRB1*03/*03; HLA-DRB1*04/*04 и HLA-DRB1*03/*04 среди больных СД1 составил 37% по сравнению со здоровым контролем — 4,5%. В этой же таблице в группе 2 суммарный процент гаплотипов HLA-DRB1*03 и -*04 (второй гаплотип был иным, нежели *03 или *04) среди больных СД1 составил 25%.

Из представленного семейного анализа следует, что в группе 1 (см. табл. 1) с наиболее высоким относительным риском развития СД1 (при популяционном анализе) только в 37% случаев предрасположенность к СД1 была связана с генотипами, включающими HLA-DRB1*03/*04 (в различных вариантах). В то же время большая часть анализированных больных СД1 (63%) несли генотип, включающий иные, нежели HLA-DRB1*03/*04, гаплотипы. В то же время, в группе 2, где в генотипе присутствовал лишь один из гаплотипов HLA-DRB1*03/*04,

среднее значение относительного риска определялось на уровне, недостаточном для осуществления клинического прогнозирования, а именно: OP~1.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что наличие в генотипе лишь одного маркерного гаплотипа из числа HLA-DRB1*03/*04 существенным образом не оказывает влияния на уровень относительного риска развития СД1. В то же время, стало ясным, что учет наличия в HLA-DRB1-генотипе положительно ассоциированных с СД1, но не относящихся к HLA-DRB1*03/*04 гаплотипов, играет существенную роль в предрасположенности к СД1.

Иначе говоря, открывается возможность исключения из числа лиц, которые ранее рассматривались как имеющие генетическую предрасположенность к СД1 (за счет наличия у них одной маркерной HLA-специфичности), тех, кто имеет вторую «нейтральную» или отрицательно ассоциированную HLA-DRB1-специфичность.

Тем самым, естественно, повышается уровень установления генетической предрасположенности и появляется возможность установления индивидуального риска развития СД1 при популяционном анализе.

В то же время индивидуальный анализ обследуемых позволяет выявить с более высокой точностью, чем это было возможно ранее, так называемых членов ядерных семей.

Какие же еще возможности и перспективы открывает развитие молекулярной иммуногенетики? Первая — это, безусловно, возможность повышения эффективности и уровня персонализации за счет перехода на иммуногенетический метод анализа, а именно анализа исследуемого генотипа на уровне аллельных вариантов генов *HLA*.

Следует также отметить, что основанное на результатах данного исследования заключение об отсутствии положительной ассоциации с СД1 HLA-DRB1-генотипов, включающих отрицательно ассоциированный гаплотип, естественно, касается и тех случаев, когда вторым HLA-DRB1-гаплотипом являлся HLA-DRB1*03 или DRB1*04.

Таким образом, предложен новый, инновационный, эффективный способ оценки индивидуальной и семейной генетической предрасположенности к развитию СД1, который позволяет оценивать генетический риск развития СД1 вне зависимости от этнической принадлежности обследуемого на основе молекулярногенетического метода *HLA-DRB1*-генотипирования с использованием отечественной высокоэффективной приборно-реагентной базы. В том числе, наиболее перспективным для оснащения региональных учреждений, обеспечивающих мониторинг заболеваемости СД1, яв-

ляется отечественный прибор DTprime (производство ЗАО «НПФ ДНК-технология»), позволяющий в автоматическом режиме проводить широкомасштабный иммуногенетический мониторинг населения, а также создавать Центры медико-генетического консультирования в различных регионах Российской Федерации.

Такой подход позволяет в короткие сроки объективно оценить индивидуальный и семейный риск развития СД1, связанный с генами HLA вне зависимости от этнической принадлежности обследуемого.

Вместе с тем, возникает вопрос о возможных механизмах взаимодействия *HLA-DRB1*-специфичностей, расположенных на различных, но гомологичных хромосомах, в реализации предрасположенности к СД1. В этом плане наиболее вероятной представляется предложенная ранее гипотеза по формированию трансдимеров между аллелями HLA, расположенными на гомологичных хромосомах, и названная «формированием трансдимеров». Это предположение было ранее сформулировано на основе анализа взаимодействия HLA-DQA1 и HLA-DQB1, расположенных на гомологичных хромосомах, в эффекте предрасположенности к СД1 [13]. Есть основания предполагать, что этот механизм может быть реализован при взаимодействии HLA-DRB1 аллелей, также расположенных на гомологичных хромосомах. При этом, как и в случаях с НLА-DQ-аллелями, это взаимодействие может быть реализовано в усилении предрасположенности к СД1. Следует отметить, что гипотеза, выдвинутая H. Erlich с соавт. [13], базировалась на результатах исследований, выполненных в тот период, когда *HLA-DQ* молекулы рассматривались в качестве основного участника реализации иммуногенетической предрасположенности к СД1. В настоящее время более вероятными кандидатами являются HLA-DRB1-гены, обладающие значительно более выраженным аллельным полиморфизмом по сравнению с DQ и, соответственно, более выраженной ассоциацией на уровне аллельных вариантов. При этом роль *HLA-DQ* рассматривается как вторичная за счет неравновесного сцепления с *HLA-DRB1*. Таким образом, можно предположить, что более вероятной основой совместного эффекта являются *HLA-DRB1*-специфичности (и скорее всего, определенные их аллельные варианты), участвующие в трансдимерном взаимодействии.

Разумеется, в дальнейшем целесообразно провести подобный анализ и на уровне отдельных аллелей DRB1, для части которых, и в первую очередь входящих в специфичность DRB1*04, уже хорошо установлено наличие как положительных, так и отрицательных ассоциаций с СД1.

Вторая возможность для повышения эффективности формирования групп повышенного риска развития СД1 на основе внедрения высоких технологий, позволяющих осуществлять персонализированный мониторинг в целях профилактики и эффективной терапии СД1, открывается в случае перехода прикладного иммуногенотипирования на более высокий уровень установления аллельных вариантов, составляющих *HLA-DRB1*-генотип обследуемых. Такие исследования были проведены сотрудниками коллективов Эндокринологического научного центра Минздрава РФ и Института иммунологии ФМБА России. В работе были исследованы частоты встречаемости аллельных вариантов высокоассоциированной *HLA*, среди них *HLA-DRB1*04* в 7 этнических группах, населяющих Россию.

Если предыдущие исследования были проведены на основании *HLA*-генотипирования на уровне низкого разрешения, то на уровне высокого разрешения, т.е. на уровне выявления аллельных вариантов генов *HLA*, представлялось целесообразным представить данные о межэтническом *HLA*-разнообразии на уровне аллельного полиморфизма одной лишь специфичности — *HLA-DRB1*04*. Выбор именно данной специфичности не случаен, поскольку она является «классическим» маркером предрасположенности к СД1, а также потому, что при проведении данного исследования впервые были установлены выраженные различия в *HLA*-полиморфизме на уровне отдельных аллельных вариантов одного гена, не только на межэтническом, но и на внутриэтническом уровне [14, 15].

В таблице 2 представлены данные по исследованию частоты встречаемости аллельных вариантов гена *HLA-DRB1*04* в 7 популяционных группах России. Выбор для анализа аллельных вариантов именно данного гена связан с тем, что с отдельными его аллелями *HLA-DRB1*0401*, *HLA-DRB1*0404* и *HLA-DRB1*0405* ас-

Таблица 2

Tactora Berperaemoctin annenbhaix Baphantob tena til A-Ditot 04 B pashin haix honymanonhaix i pytillax i occini									
Nº	Русские- москвичи	Русские- поморы	Саамы	Татары	Мари	Тувинцы	Ненцы		
04	11,64	35,37	33,52	17,78	16,34	28,74	17,39		
0401*	3,80	16,21	9,14	5,61	12,65	12,13	0,73		
0402	1,66	0	0,76	0,93	0	0	0		
0403**	0,95	1,47	8,38	1,87	1,05	5,75	7,16		
0404*	3,09	17,69	5,33	7,9	0,53	1,28	10,14		
0405*	0	0	0	0	0	5,75	0		
0407	1,66	0	0	0	0,53	0	0		
0408	1,19	0	16,00	1,87	1,58	2,93	0		
0410	0	0	0	0	0	1,28	0		

Частота встречаемости адлельных вариантов гена HLA-DRB1*04 в различных популяционных группах Росс

^{* –} ассоциация с предрасположенностью к СД1

^{** –} ассоциация с устойчивостью к СД1.

социирована предрасположенность к СД1. В то же время с другим аллелем — HLA-DRB1*0403 — ассоциирована устойчивость к развитию данного заболевания.

Из представленных в таблице 2 данных следует, что, помимо выраженных различий в частоте встречаемости гена *HLA-DRB1*-04 (верхняя строка табл. 2), аналогичная картина наблюдается и в 8 проанализированных аллельных вариантах данного гена. Наибольшие значения как в частоте встречаемости самого гена, так и его аллельных вариантов, ассоциированных с предрасположенностью к СД1, отмечены у русских-поморов (жителей Архангельской области). В то же время для них характерен один из наиболее низких показателей встречаемости аллельных вариантов, ассоциированных с устойчивостью к СД1. При этом следует отметить, что именно в этой этнической группе русского населения России установлен наиболее высокий уровень заболеваемости СД1. Более того, эта группа занимает по данному показателю второе место в мире, уступая лишь финнам. Относительно высокая встречаемость вариантов генов, ассоциированных с предрасположенностью к СД1 (аллели 0401 и 0404), отмечена также среди русских-москвичей, татар, саамов, мари и тувинцев. Для ненцев характерна следующая особенность распределения маркерных аллелей: ассоциация с 0401 является минимальной для всех обследованных групп, в которых были выявлены данные аллели. В то же время частота встречаемости аллельного варианта 0404 оказалась одной из самых выраженных. Что касается тувинцев, то только у них обнаружен ассоциированный с предрасположенностью к СД1 аллельный вариант 0405. По литературным данным, данный аллельный вариант распространен только среди некоторых групп монголоидного происхождения. Что касается аллельного варианта HLA-DRB1*0403, ассоциированного с устойчивостью к СД1, можно отметить следующее. Наиболее его высокое значение выявлено среди саамов, ненцев и тувинцев.

Анализ результатов, представленных в данной таблице, выявляет следующую закономерность. Более высокая заболеваемость СД1 отмечается в группах, для которых характерна высокая частота встречаемости положительно ассоциированных с СД1 аллельных вариантов гена *HLA-DRB1*04* при низком уровне встречаемости аллельных вариантов, ассоциированных с устойчивостью. В то же время в случаях одновременного выявления в популяции аллельных вариантов, ассоциированных как с предрасположенностью, так и устойчивостью с приблизительно равной частотой, что характерно для монголоидных популяций, заболеваемость СД1 была низкой. Следует отметить следующее. В данном исследовании были изучены только 8 из числа более 30 известных аллельных вариантов гена *HLA-DRB1*04*. Выбор именно этих аллельных вариантов обусловлен тем, что они, по данным литературы, являются наиболее распространенными на территории Евразии. То есть, полученные данные представляют собой наглядный пример межэтнического полиморфизма в распределении аллельных вариантов гена *HLA-DRB1*04* — одного из наиболее клинически значимых генов при выявлении генетической предрасположенности к аутоиммунным заболеваниям. Вместе с тем эта таблица служит наглядным доказательством внутриэтнических различий по распределению аллелей *HLA*. Так, внутри русской популяции между москвичами и жителями Архангельской области имеются выраженные различия по аллелям *HLA-DRB1*0401* и -*0404. Причем, оба аллеля имеют выраженную ассоциацию с предрасположенностью к СД1, его частота достаточно высока в обеих указанных группах.

По-видимому, в дальнейшем также станет целесообразным проведение аналогичного исследования по изучению роли HLA-полиморфизма на уровне аллельных вариантов в отношении аллелей генов HLA-DQA1 и -DQB1, которые, несмотря на выраженную генетическую связь с HLA-DRB1-генами, также могут вносить самостоятельный вклад в реализацию генетической предрасположенности к СД1. Об этом, в частности, может свидетельствовать тот факт, что HLA-молекулы, кодируемые генами DQA1 и DQB1, обладают индивидуальными пептид-связывающими сайтами, отличающимися от пептид-связывающих сайтов молекул HLA-DRB1.

С точки зрения клинической диабетологии и клиники аутоиммунных заболеваний в целом, на наш взгляд, несомненный интерес представляет возможность установления индивидуального риска развития заболевания, открывающаяся на основании анализа полного HLA-DRB1 генотипа. Сопоставляя присутствие в нем «диабетогенных», нейтральных и протективных *HLA-DRB1* специфичностей, можно прийти к заключению о наличии или отсутствии у данного лица, в том числе, из числа членов семьи со случаями диабета, повышенной предрасположенности к развитию заболевания. Таким образом, подобный подход открывает принципиальную возможность установления индивидуального риска развития СД1. Разумеется, дальнейшие исследования в области иммуногенетики СД1 могут резко повысить эффективность этого подхода. Тот уровень (*HLA-DRB1*генотипирование), на котором удалось установить такую возможность, уже сегодня позволяет проводить подобного рода оценку не только в специализированных научных центрах, но и в любом практическом учреждении, имеющем обычную ПЦР лабораторию и осуществляющем *HLA*-генотипирование на уровне низкого и среднего разрешения. Последнее в значительной мере облегчает методику *HLA*-генотипирования.

Как указывалось выше, в настоящее время развитие молекулярной генетики позволяет проводить HLA-генотипирование на уровне высокого разрешения, при котором выявляются отдельные аллельные варианты HLA-специфичности. При этом, в частности, было установлено, что отдельные аллельные варианты, входящие в ту или иную специфичность, могут иметь «разнонаправленные» ассоциации с заболеваниями, для которых данная специфичность является маркерной. Естественно, что в этой ситуации наличие в HLA-генотипе аллельного варианта, имеющего высокую степень ассоциации с предрасположенностью к заболеванию, OP может значительно возрастать. Более того,

не исключено, что, во всяком случае, в отдельных этнических группах речь может идти о возможности использования HLA-генотипирования на уровне высокого разрешения для проведения скрининговых исследований с целью выявления лиц с генетической предрасположенностью к тем или иным заболеваниям.

Все больные, *HLA-DRB1*-генотип которых был гомозиготен и содержал две идентичные специфичности из числа положительно ассоциированных с СД1, учитывались в группе, где относительный риск имел положительное значение. Таким образом, наличие *HLA-DRB1*-гомозиготных по этим специфичностям индивидуумов существенно повышает вероятность развития у них СД1. Это относится и к другим заболеваниям аутоиммунного генеза, например, хроническому гломерулонефриту, который также в значительном проценте случаев поражает лиц молодого возраста. При этом известно, что среди больных хроническим гломерулонефритом жителей г. Москвы процент *HLA-DRB1*-гомозигот вдвое превышает средний показатель по г. Москве [16].

Естественно, что представленные выше данные не только могут найти широкое применение в практике борьбы с СД1, а также, возможно, и другими аутоиммунными заболеваниями, но и открывают перспективы для фундаментальных исследований, целью которых явится установление молекулярных механизмов взаимодействия продуктов двух *HLA*-гаплотипов, в состав которых входят синергически действующие *HLA*-специфичности. Результатом такого синергического взаимодействия и является генетически обусловленная предрасположенность к развитию СД1. В пользу роли такого синергизма свидетельствует факт отсутствия реализации генетической предрасположенности в случае наличия *HLA*-специфичности лишь в одном из гаплотипов.

Что касается преимуществ определения *HLA*-генотипа (вместо *HLA*-гаплотипа — как это имело место до настоящего времени) в установлении генетической предрасположенности к СД1, у нового подхода, на наш взгляд, имеются значительные дополнительные преимущества и перспективы.

Дело в том, что СД1 в ходе всего процесса развития человечества относился к заболеваниям, поражавшим в основном нерепродуктивные контингенты. С учетом генетического характера наследования, заболеваемость СД1 поддерживалась на определенном относительно невысоком уровне. Разработка и применение поддерживающей инсулинотерапии в XX в. в корне изменили сложившуюся ситуацию, это в значительной степени позволяет говорить об ограничении влияния СД1 на репродуктивный процесс, что не могло не привести к повышению заболеваемости СД1. Именно поэтому мировое здравоохранение в начале XX в. столкнулось с эпидемией СД. Вместе с тем необходимо учитывать, что потенциальные родители в семьях, включающих членов с установленным диагнозом СД1, как правило, информированы о вероятности развития заболевания у потомства.

Таким образом, переход на иммуногенотипирование с учетом анализа полного *HLA-DRB1*-генотипа (то есть

обоих гаплотипов) уже сейчас позволяет в значительном проценте случаев «выводить» из группы риска развития СД1 значительные контингенты населения (в первую очередь, детей и молодежь). Нет сомнения, что развитие иммуногенетических исследований, и, в частности, переход на более высокий уровень разрешения при генотипировании, позволит повысить эффективность иммуногенетического прогноза вероятности развития и мониторинга не только СД1, но и других аутоиммунных заболеваний и прежде всего — эндокринопатий.

Следует заметить, что варианты *01, *03 и *04, наиболее часто обнаруживаемые у больных с аутоиммунной патологией, являются чрезвычайно распространенными среди населения планеты вариантами гена DRB1. В самых разных популяциях различной расовой принадлежности эти три варианта встречаются с частотами до 18-25% [17]. Вероятно, такая распространенность аутоиммунных маркеров неслучайна. Как указывалось в начале главы, установлено, что DRB1-специфичности, входящие в группу аутоиммунных маркеров, часто являются одновременно «маркерами», обеспечивающими эффективный иммунный ответ на вирусы гепатита С [18, 19], HIV-1 [20], тяжелой малярии [21].

И наоборот, DRB1-специфичности, входящие в группу DRB1-специфичностей, которые являются «протекторами» аутоиммунитета — *07, *11, *12, *13, *14, *15 и *16, ассоциированы с чувствительностью к HIV-1 [20], к гепатиту В [22], лепре [23], легочному туберкулезу [24]. Тем не менее, большинство перечисленных вариантов гена DRB1 не является чем-то уникальным, будучи широко распространенными среди представителей разных популяционных групп [17].

Помимо «классического» направления в развитии иммуногенетики СД и других аутоиммунных заболеваний, в самые последние годы получило развитие новое направление — исследование роли генов иммунного ответа человека, не входящих в систему *HLA*, в развитии аутоиммунных заболеваний.

В самое последнее время классическая иммуногенетика человека, достижения которой базировались, в первую очередь, на использовании знаний в области главного комплекса генов тканевой совместимости (включающего как классические, так и неклассические гены иммунного ответа), была дополнена новыми данными и представлениями. Так, помимо данных о неклассических генах *HLA*, были получены данные о роли генов, контролирующих звенья иммунного ответа, не находящиеся под прямым контролем генов *HLA*. Развитию данного направления способствовало появление новых возможностей молекулярной генетики, позволяющих идентифицировать присутствующие в генотипе того или иного человека варианты генов, регулирующих различные этапы иммунного ответа. Наличие таких вариантов (генный полиморфизм) обусловлено, как правило, присутствием в геноме одиночных нуклеотидных замен -SNP (single nucleotide polymorphism).

Биологическим эффектом этих SNP может быть изменение экспрессии гена (если полиморфизм затра-

гивает регуляторные участки гена) или изменение аминокислотного состава продукта.

При обследовании больных СД1 среди SNP были установлены следующие замены одиночных нуклеотидов: -238 G/A и -308 G/A в гене *TNF* (tumor necrosis factor, member 2) и +874 T/A в гене *IFNG* (interferon gamma), ассоциированные с развитием СД1 [25, 26]. Следует отметить, что, согласно литературным данным [27], белковые продукты данных генов обладают широким спектром иммуномодулирующих, противовирусных и противоопухолевых эффектов, что позволило выдвинуть предположение о том, что изменение уровня их экспрессии, в том числе обусловленное заменами одиночных нуклеотидов, может повлиять на развитие иммунного ответа по отношению к вирусным инфекциям, а также привести к повреждению β-клеток поджелудочной железы.

Следует отметить, что при проведении аналогичных исследований в русской популяции жителей г. Москвы ассоциация между наличием вышеуказанных SNP и предрасположенностью к СД1 не выявлена. Есть основания говорить, что данные ассоциации могут быть характерны только для определенных этнических групп [28, 29].

В пользу этого, в частности, может свидетельствовать следующее. Ассоциации СД1 с аллельными вариантами генов *HLA*, характерные для одних этнических групп, отсутствуют в других. Между тем, чрезвычайно выраженный на уровне аллельных вариантов полиморфизм системы HLA является, по существу, следствием возникших на разных этапах развития человека одиночных нуклеотидных замен, закрепившихся вследствие своей биологической целесообразности. Например, благодаря повышению устойчивости носителей определенных SNP к инфекционным заболеваниям. Именно тот факт, что прародители представителей тех или иных этнических групп сталкивались с различными вызовами для их иммунной системы, нашел отражение в современном различии между вариантами генов, регулирующих иммунный ответ.

Иная картина имела место при изучении SNP, ассоциация которых с развитием СД1 установлена при изучении различных популяционных групп. Речь идет об однонуклеотидной замене +49A/G (rs231775) в гене CTLA4 (cytotoxic T-lymphocyte associated antigen-4, поверхностный антиген цитотоксических Т-лимфоцитов) [28–32]. Данная замена нуклеотида, в свою очередь, приводит к замене аминокислоты в 17-й позиции белкового продукта гена CTLA4, участвующего в регуляции активации Т-лимфоцитов, и, соответственно, к изменению его физиологического действия. Изменение свойств белкового продукта гена CTLA4 может привести к нарушению регуляции деятельности Т-лимфоцитов и развитию аутоиммунного процесса. При проведении совместных исследований сотрудниками ФГБУ «ГНЦ «Института иммунологии» ФМБА России и ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации была установлена ассоциация с предрасположенностью к СД1 у 70% больных СД1 из числа не имеющих ассоциаций с HLA-DRB1-генами,

при отсутствии у них HLA-маркеров СД1, в то время как в контрольной группе частота генотипа 49GG не превышала 10%. Эти данные позволили сделать вывод, что генотип CTLA4 49GG может маркировать предрасположенность к СД1, не зависимую от HLA.

Таким образом, установление SNPCTLA4 49GG позволяет повысить эффективность прогноза развития СД1 при совместном генотипировании как по генам HLA, так и по данному SNP. Во всяком случае, в данном исследовании такой подход позволил установить генетические маркеры предрасположенности к СД1 у 94% из обследованной группы больных [28].

Расчетный уровень вклада *HLA* в генетически обусловленную предрасположенность к СД1 составляет, по разным оценкам, от 40 до 70%. Вклад СТLА-4 оценивается приблизительно в 10%. Естественно, что эти цифры достаточно приблизительны, то есть при суммировании процентных содержаний всех известных на сегодняшний день генетических маркеров СД1, получается цифра, значительно превышающая 90%. Таким образом, имеется практическая возможность повысить «общую» достоверность и клиническую значимость прогнозирования развития СД1, поскольку несколько генетических маркеров предрасположенности к СД1 могут присутствовать в одном геноме одновременно. Целесообразно было бы использовать вышеописанный подход для установления других маркеров, определяющих персональную предрасположенность к СД1 независимо друг от друга, но в сумме повышающих уровень предрасположенности к СД1.

Заключение

Представленные в статье данные, полученные на основании анализа роли HLA-DRB1-генотипов в предрасположенности и реализации наиболее хорошо изученного с точки зрения его иммуногенетических основ развития заболевания — СД1, делают перспективным выполнение подобного анализа и при других аутоиммунных патологиях, особенно эндокринопатий.

Весьма вероятна возможность того, что проведение такого исследования может открыть новые эффективные возможности при формировании групп повышенного риска развития аутоиммунных патологий, а также их профилактики и ранней диагностики. Перспективой развития данного направления является создание новых подходов в противостоянии Российского здравоохранения наблюдаемой в последние годы «мировой эпидемии» аутоиммунных заболеваний.

Информация о финансировании и конфликте интересов

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

Поисково-аналитическая работа по подготовке статьи проведена за личные средства авторов.

Список литературы

- Risch N. Assessing the role of HLA-linked and unlinked determinants of disease. Am J HumGenet. 1987;40(1):1-14.
- Hirschhorn JN. Genetic epidemiology of type 1 diabetes. Pediatric Diabetes. 2003;4(2):87-100. doi: 10.1034/j.1399-5448.2001.00013.x
- Concannon P, Erlich HA, Julier C, et al. Type 1 Diabetes: Evidence for Susceptibility Loci from Four Genome-Wide Linkage Scans in 1,435 Multiplex Families. Diabetes. 2005;54(10):2995-3001. doi: 10.2337/diabetes.54.10.2995
- Rønningen KS, Keiding N, Green A. Correlations between the incidence of childhood-onset type I diabetes in Europe and HLA genotypes. Diabetologia. 2001;44 Suppl 3:B51-59.
- Concannon P, Chen WM, Julier C, et al. Genome-Wide Scan for Linkage to Type 1 Diabetes in 2,496 Multiplex Families From the Type 1 Diabetes Genetics Consortium. Diabetes. 2009;58(4):1018-1022. doi: 10.2337/db08-1551
- Svejgaard A, Christy M, Green A, et al. HLA and diabetes. Prog Clin Biol Res. 1982;103 Pt B:55-64.
- Emery LM, Babu S, Bugawan TL, et al. Newborn HLA-DR,DQ genotype screening: age- and ethnicity-specific type 1 diabetes risk estimates. Pediatric Diabetes. 2005;6(3):136-144. doi: 10.1111/j.1399-543X.2005.00117.x
- Bugawan TL, Klitz W, Alejandrino M, et al. The association of specific HLA class I and II alleles with type 1 diabetes among Filipinos. Tissue Antigens. 2002;59(6):452-469. doi: 10.1034/j.1399-0039.2002.590602.x
- Болдырева М.Н., Хаитов Р.М., Дедов И.И, и др. Новый взгляд на механизм HLA-ассоциированной предрасположенности к сахарному диабету 1 типа. Теоретические и прикладные аспекты //Иммунология. - 2005. -№6 – C. 324–329. [Boldyreva MN, Khaitov RM, Dedov II, et al. Novyy vzglyad na mekhanizm HLA assotsiirovannoy predraspolozhennosti k sakharnomu diabetu 1 tipa. Teoreticheskie i prikladnye aspekty. Immunology. 2005;(6): 324-329/(In Russ).]
- 10. Болдырева М.Н. HLA(класс II) и естественный отбор. «Функциональный» генотип, гипотеза преимущества «функциональной» гетерозиготности. Дисс... докт. мед. наук. – Москва; 2007. [Boldyreva MN. HLA (klass II) i estestvennyy otbor. «Funktsional'nyy» genotip, gipoteza preimushchestva «funktsional'noy» geterozigotnosti. [dissertation] Moscow; 2007. (In Russ).]
- 11. Дедов И.И., Хаитов Р., Алексеев Л. Иммуногенетика сахарного диабета 1 типа. Lambert Academic Publishing; 2013. [Dedov II, Khaitov RM, Alekseev LP. Immunogenetika sakharnogo diabeta 1 tipa. Lambert Academic Publishing; 2013. (In Russ).]
- 12. Алексеев Л.П., Дедов И.И., Хаитов Р.М., и др. Иммуногенетика сахарного диабета 1 типа — от фундаментальных исследований к клинике // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2012. – Т. 67. – №1 – С. 75. [Alekseev LP, Dedov II, Khaitov RM, et al. Immunogenetika sakharnogo diabeta 1 tipa — ot fundamental' nykh issledovaniy k klinike. Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk. 2012(1):6. (In Russ).] doi: 10.15690/vramn. v67i1.114
- Erlich H, Valdes AM, Noble J, et al. HLA DR-DQ Haplotypes and Genotypes and Type 1 Diabetes Risk: Analysis of the Type 1 Diabetes Genetics Consortium Families, Diabetes, 2008:57(4):1084-1092, doi: 10.2337/db07-1331
- 14. Хаитов Р.М., Алексеев Л.П. Геномика НLA: новые возможности молекулярной генетики человека в диагностике и терапии // Молекулярная медицина. – 2003. – №1 – С. 17–31. [Khaitov RM, Alekseev LP. Genomika HLA: novye vozmozhnosti molekulyarnoy genetiki cheloveka v diagnostike i terapii. Molekulyarnaya meditsina. 2003;1:7-31. (In Russ).]
- 15. Хаитов Р.М., Алексеев Л.П. Физиология генов иммунного ответа // Российский Физиологический Журнал им. Сеченова. – 2003. – T. 3. - №89. - C. 313-328. [Khaitov RM, Alekseev LP. Fiziologiya genov immunnogo otveta. Rossiyskiy Fiziologicheskiy Zhurnal im. Sechenova. 2003;3(89):313 - 328. (In Russ).]
- 16. Alexeev LP, Dolbin AG, Sechkin AV. Renal transplants in Russia / Clinical Transplants 2000. Ed by Cecka MJ, Terasaki Pl. Los Angeles; 2001. P.392-393.

- 17. Alexeev L, Khaitov R, Boldyreva M, et al. Buriat Normal. In: HLA. Ed by: Terasaki PI, Gjertson. UCLA Tissue Typing Laboratory; 1998. P.258-259.
- 18. Cramp ME, Carucci P, Underhill J, et al. Association between HLA class II genotype and spontaneous clearance of hepatitis C viraemia. J. Hepatol. 1998;29(2):207-213. doi: 10.1016/s0168-8278(98)80005-6
- 19. McKiernan SM, Hagan R, Curry M, et al. Distinct MHC class I and II alleles are associated with hepatitis C viral clearance, originating from a single source. J. Hepatol. 2004;40(1):108-114. doi: 10.1002/hep.20261
- Motta P, Marinic K, Sorrentino A, Lopez R, et al. Associationof HLA-DQ and HLA-DR alleles with susceptibility or resistance to HIV-1 infection among the population of Chaco Province, Argentina. Medicina (B Aires). 2002;3(.62):245-48.
- Hill AVS, Allsopp CEM, Kwiatkowski D, et al. Common West African HLA antigens are associated with protection from severe malaria. Nature. 1991;352(6336):595-600. doi: 10.1038/352595a0
- 22. Park Y, Eisenbarth GS. Genetic susceptibility factors of Type 1 diabetes in Asians. Diabetes/Metabolism Research and Reviews. 2001;17(1):2-11. doi: 10.1002/1520-7560(2000)9999:9999<::aid-dmrr164>3.0.co;2-m
- van Eden W, de Vries RRP, Mehra NK, et al. HLA Segregation of Tuberculoid Leprosy: Confirmation of the DR2 Marker. J InfectDis. 1980;141(6):693-701. doi: 10.1093/infdis/141.6.693
- 24. Amirzargar AA, Yalda A, Hajabolbaghi M, et al. The association of HLA-DRB, DQA1, DQB1 alleles and haplotype frequency in Iranian patients with pulmonary tuberculosis. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. 2004;8(8):1017-1021.
- 25. Badenhoop K, Schwarz G, Bingley P, et al. TNF-alpha Gene polymorphisms: association with type i (insulin-dependent) diabetes mellitus. J. Immunogenet. 1989;16(6):455-460. doi: 10.1111/j.1744-313X.1989.tb00494.x
- 26. Siekiera U, Jarosz-Chobot P, Janusz J, Koehler B. [Polymorphism of TNF-alpha (308 A/G), IL-10 (1082 A/G, 819 C/T 592 A/C), IL-6 (174 G/C), and IFNgamma (874 A/T); genetically conditioned cytokine synthesis level in children with diabetes type 1]. Endokrynol Diabetol Chor Przemiany Materii Wieku Rozw. 2002;8(1):29-34.
- Epstein FH, Atkinson MA, Maclaren NK. The Pathogenesis of Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. N Engl J Med. 1994;331(21):1428-1436. doi: 10.1056/nejm199411243312107
- Абрамов Д.Д., Дедов И.И., Трофимов Д.Ю., и др. Полиморфизм гена CTLA4 (49A/G)в русской популяции у больныхсахарным диабетом 1 типа и здоровых доноров // Сахарный диабет. – 2007. – Т. 10. – №3 – C. 2-3. [Abramov DD, Dedov II, Trofimov DY, Boldyreva MN, Kuraeva TL, Alekseev LP. Polimorfizm gena CTLA4 (49A/G) v russkoy populyatsii u bol'nykhsakharnym diabetom 1 tipa i zdorovykh donorov. Diabetes mellitus. 2007;10(3):2-3. doi: 10.14341/2072-0351-5989]
- Абрамов Д.Д., Дедов И.И., Хаитов Р.М, и др. Сравнение вклада системы HLA и других генов иммунного ответа в формирование генетической предрасположенности к развитию сахарного диабета 1 типа // Иммунология. – 2012. – Т. 1. – №33. – С. 4-6. [Comparison of the contribution of the HLA system and other immune response genes to the development of genetic predisposition to type 1 diabetes mellitus. Immunology. 2012;33(1):4-6]
- 30. Chistiakov DA, Savost'anov KV, Nosikov VV. CTLA4 gene polymorphisms are associated with, and linked to, insulin-dependent diabetes mellitus in a Russian population. BMC Genetics. 2001;2:6-6. doi: 10.1186/1471-2156-2-6
- Kavvoura FK. CTLA-4 Gene Polymorphisms and Susceptibility to Type 1 Diabetes Mellitus: A HuGE Review and Meta-Analysis. Am J Epidemiol . 2005;162(1):3-16. doi: 10.1093/aje/kwi165
- Kropshofer H, Hammerling GJ, Vogt AB. The impact of the non-classical MHC proteins HLA-DM and HLA-DO on loading of MHC class II molecules. ImmunolRev. 1999;172(1):267-278. doi: 10.1111/j.1600-065X.1999. tb01371.x

Дедов Иван Иванович

Хаитов Рахим Мусаевич

вице-президент РАН, академик РАН, директор ФГБУ «Эндокринологический научный центр»

Минздрава России, Москва, Российская Федерация

академик РАН, научный руководитель ФГБУ ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России,

Москва, Российская Федерация

E-mail: rkhaitov@mail.ru

Алексеев Леонид Петрович

член-корреспондент РАН, профессор, д.м.н., заведующий отделом иммуногенетики ФГБУ ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России, Москва, Российская Федерация

Рукопись получена: 02.11.2015. Принята к публикации: 14.01.2016.