Генетические маркеры и функция β-клеток в ранних (доклинических) стадиях СД типа 1

Т.Л. Кураева, Е.В. Титович, Г.С. Колесникова, В.А. Петеркова

Государственное учреждение
Эндокринологический научный центр
(дир. – акад. РАМН И.И.Дедов) РАМН, Москва

Главное звено патогенеза сахарного диабета типа 1 (СД 1) – это генетически обусловленное разрушение β-клеток, имеющее аутоиммунную природу. Разрушение β-клеток происходит постепенно и вначале не сопровождается нарушениями углеводного обмена. На рис. 1 представленна схема патогенеза развития СД [14]. I стадия – генетическая предрасположенность, которая обусловлена комбинацией генетических систем и, в первую очередь, генами, относящимися к области HLA. У ближайших родственников больных СД 1 типа риск диабета существенно повышен. У родных братьев и сестер больных СД в московской популяции он составляет 4-6% против 0,2% в общей популяции [2, 9]. II стадия – пусковой момент, который вызывает развитие III стадии. Этот процесс происходит под действием факторов окружающей среды (вирусов, инфекций, стрессовых факторов). Вирусные инфекции, обладая цитотропным действием, могут индуцировать аутоиммунную реакцию против β-клеток у лиц с генетической предрасположенностью к заболеванию.

Известны и токсические вещества (стрептозотоцин, диазоксид, аллоксан), избирательно поражающие β-клетки и индуцирующие аутоиммунную реакцию.

III стадия – активного аутоиммунного процесса. Развивается инсулит, который начинается с мононуклеарной инфильтрации островков. Разворачивается каскад биохимических реакций с участием провоспалительных цитокинов, макрофагов, с синтезом NO, свободных радикалов кислорода и других медиаторов воспаления, ведущих к разрушению инсулярного аппарата. Результатом этого является появление антител к структурам β-клеток, большинство из которых не обладают β-токсичностью, за исключением антител к глютаматдекарбоксилазе. В этой стадии, несмотря на аутоиммунный процесс, еще сохраняется значительный пул β-клеток, способных секретировать инсулин. Первоначально лица даже с иммунными нарушениями имеют нормальную секрецию инсулина.

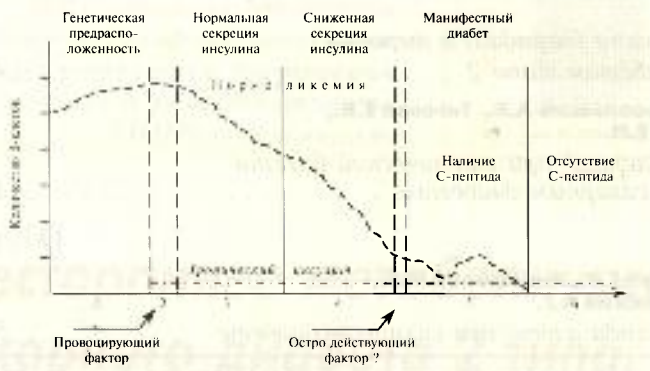


Рис. 1. Стадии развития СД 1 типа [14].

IV стадия – при выраженных иммунных нарушениях отмечается снижение секреции инсулина в ответ на введение глюкозы; гликемия остается нормальной.

V стадия – клиническая манифестация, которая развивается после гибели 80-90% β-клеток; сохраняется остаточная секреция инсулина.

VI стадия – полная деструкция β-клеток.

Особенностью патогенеза СД типа 1 являются: длительное существование скрытой доклинической стадии заболевания; волнообразное течение инсулита, не всегда достигающего клинической манифестации.

Успешная профилактика СД типа 1 возможна лишь в ранних (доклинических) стадиях заболевания. Поэтому в настоящее время проводятся исследования, направленные на выявление лиц в ранних доклинических стадиях развития СД. Используется комплексный подход с проведением молекулярно-генетических, иммунологических и гормонально-метаболических исследований. Прогностическая ценность отдельных исследуемых маркеров колеблется от 20 до 60-70%, при комплексном исследовании достигает 80-90% [7, 8].

Наследственная предрасположенность к СД 1 реализуется через неблагоприятные комбинации генов, кодирующих разные звенья аутоиммунных реакций. Перспективной областью генома человека для изучения генетических маркеров аутоиммунных заболеваний явился главный комплекс тканевой совместимости – HLA. Впервые ассоциация между HLA и СД 1 типа установлена более 30 лет назад. Более 90% больных СД 1 типа европейской популяции имеют антигены DR3 или DR4 по сравнению с 54% в популяции (34% из них гетерозиготы) [4, 11].

Система HLA локализована на коротком рукаве 6-й хромосомы и состоит из 3 классов различных полиморфных белков (рис. 2).

Ведущая роль в развитии СД 1 отводится полиморфным генам II класса (HLA) -DQ и DR генов,

вклад которых в развитие заболевания составляет около 30-40% в различных популяциях [7, 12]. Гены DQA1 и DQB1 отличаются выраженным полиморфизмом; известно около 19 аллелей гена DQA1 и 35 аллелей гена DQB1 [1].

При оценке предрасположенности к СД 1 используются два подхода: по носительству предрасполагающих аллелей и их комбинаций; по степени генетической общности между больными и здоровыми сибсами по предрасполагающим аллелям.

Наиболее часто в русской популяции больных СД 1 по сравнению с общей популяцией встречаются аллели DQA1*0301 и *0401, DQB1*0201 и *0302. Наибольший риск развития диабета имеют носители аллелей DQA1*0301, DQB1*0302, а также DR $^{3}/_{4}$ антигенов (рис. 3).

Более высокая ассоциация с заболеванием наблюдается, когда в качестве маркеров рассматриваются не отдельные аллелли генов, а их комбинации с учетом наличия или отсутствия остатков аргинина в 52 положении и аспарагина в 57 положении в α– и β-цепях HLA-DQ генов (Arg52+, Asp57-). Сравнительная «сила» маркера может быть оценена по показателю относительного риска RR, который показывает, во сколько раз риск развития заболевания в популяции выше у лиц, имеющих этот маркер, по сравнению с лицами, не имеющими данного генетического маркера. Представленные комбинации на рис. 4 определяют высокий и средний генетический риск развития СД 1 типа.

Комбинация из четырех предрасполагающих аллелей (S-Asp57-, Arg52+) имеет наиболее высокий показатель относительного риска – 24,4. Генотипы DRB1*04-DQA1*0301X-DQB1*0302X, DRB1*04-DQA1*301, DQA1*301-DQB1*302 также высоко ассоциированы с заболеванием (RR составляет 17, 15, 12 соответственно). Носители следующих комбинаций аллелей (DQA1*501-DQB1*201, DRB1*17-DQB1*201, DRB1*17-DQA1*501) определяют средний генетический риск (RR – 7,5, 5 соответственно).

Кроме оценки риска по носительству тех или иных генетических маркеров, в семейных исследованиях применяется еще один подход, получивший название метода определения идентичности по гаплотипам, наследуемым от предков, или гаплоидентичности. Суть данного метода состоит в следующем (рис. 5). В отличие от соматических клеток половые клетки имеют не диплоидный, а гаплоидный набор хромосом. В результате оплодотворения вновь образуется диплоидный набор хромосом. При этом дети могут иметь одинаковый набор генов (AC и AC), т.е. быть идентичными по двум гаплотипам либо быть наполовину идентичными (по 1 гаплотипу – например, AC и AD), либо быть полностью различными (идентичность по 0 гаплотипам, AC и BD).

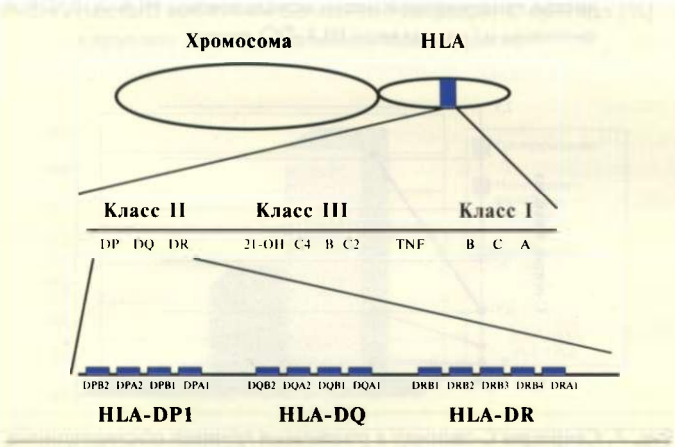


Рис. 2. Строение HLA-локуса.

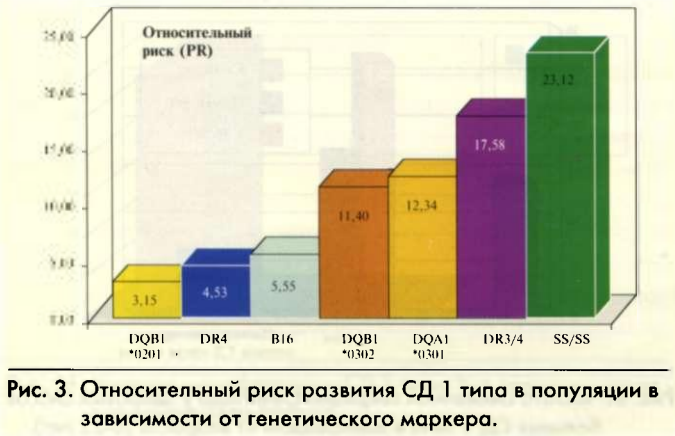


Рис. 3. Относительный риск развития СД 1 типа в популяции в зависимости от генетического маркера.

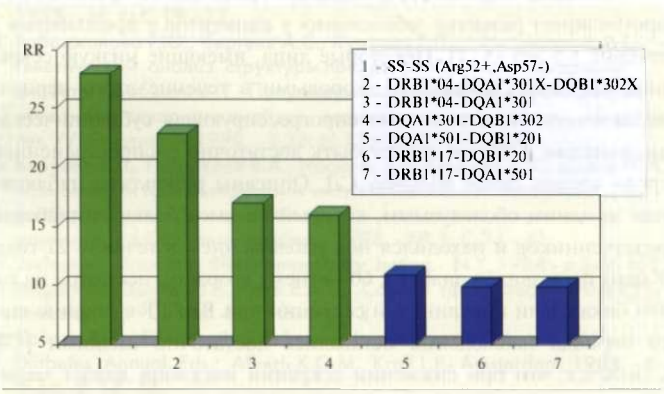


Рис. 4. Сравнительная характеристика комбинаций предрасполагающих аллелей HLA-DQ и DR генов по показателю относительного риска (RR).

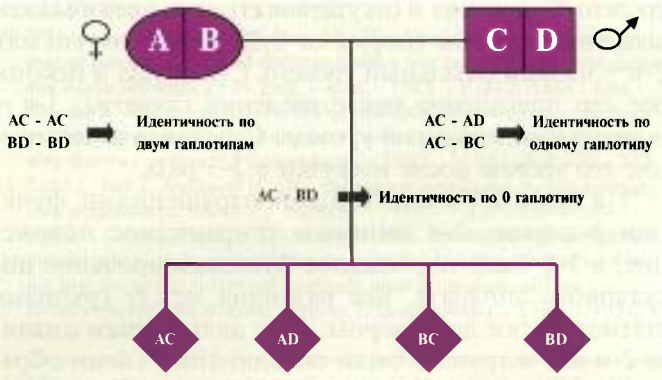


Рис. 5. Схема распределения гаплоидентичности среди сибсов.

Как показали наши расчеты по методике, разработанной в Институте генетики А.С. Сергеевым, риск развития диабета у здорового сибса составляет 18%, если он полностью HLA-идентичен с больным, что почти в 3 раза выше среднего риска развития СД среди сибсов. Среди сибсов, идентичных с больным по одному гаплотипу, этот риск близок к среднему (6,4%) и составляет 3%. У гаплоразличных сибсов риск развития диабета низкий – 0.9%, однако этот показатель выше среднего риска развития СД 1 типа в популяции (0,2%) [3]. Это может быть косвенным подтверждением участия других генетических систем, помимо HLA, в развитии СД 1 типа (рис. 6).

Следующим этапом работы являлось изучение секреции С-пептида при проведении внутривенного глюкозотолерантного теста (ВВГТТ) у родственников I степени родства, входящих в группы различного генетического и иммунологического риска. Тест проведен у 58 обследованных. Состояние инсулиновой секреции в группах риска развития диабета является наименее изученным показателем. Ранее считалось, что сниженная секреция инсулина (С-пептида) говорит о далеко зашедшем патологическом процессе в β-клетках у родственников I степени родства в преклинической стадии.

Снижение первой фазы секреции инсулина во время ВВГТТ прогнозирует развитие заболевания у пациентов с предиабетом в течение 1,5 лет [5, 7]. Некоторые лица, имеющие низкую секрецию инсулина, оставались здоровыми в течение этого периода наблюдения. Известно, что непрогрессирующая субклиническая дисфункция β-клеток может быть достаточно распространенной среди членов семьи больных СД. Описаны результаты наблюдения за одним обследуемым, который не имел больных диабетом родственников и находился под наблюдением в течение 21 года. У него не развился диабет к 60-летнему возрасту, несмотря на то, что показатели инсулиновой секреции при ВВГТТ в течение всего периода наблюдения оставались достаточно низкими [13]. Считается, что при снижении секреции инсулина диабет манифестирует в течение 5 лет [6, 10].

Исследование секрециии С-пептида при ВВГТТ позволило разделить обследованных нами здоровых сибсов на 3 группы (рис. 7): 1-я – низкий исходный уровень С-пептида и отсутствие его повышения после введения глюкозы (норма от 0,28 – 1,22 пмоль/мл); 2-я – низкий базальный уровень С-пептида и некоторое его повышение после введения глюкозы; 3-я – нормальный исходный уровень С-пептида и повышение его уровня после нагрузки в 2-3 раза.

1-я группа была с явными нарушениями функции β-клеток, 2-я занимала пограничное положение, в 3-й было нормальное функционирование инсулярного аппарата. Все различия между группами статистически достоверны. При дальнейшем анализе 2-я и 3-я группы были объединены. Таким образом, группа с дисфункцией β-клеток была отобрана по строгим критериям.

Низкая секреция С-пептида отмечалась у 14% обследованных, что в 2 раза выше, чем средний риск развития СД 1 типа среди сибсов (6,4%). Низкая секреция С-пептида достоверно чаще наблюдалась у детей в допубертатном и пубертатном возрасте (26,7% и 16,7%) по сравнению с постпубертатной группой (рис. 8). Высокая частота дисфункции островкового аппарата у детей является косвенным подтверждением волнообразного течения инсулита с возможностями β-клеток к регенерации. Снижение частоты дисфункции с возрастом может быть

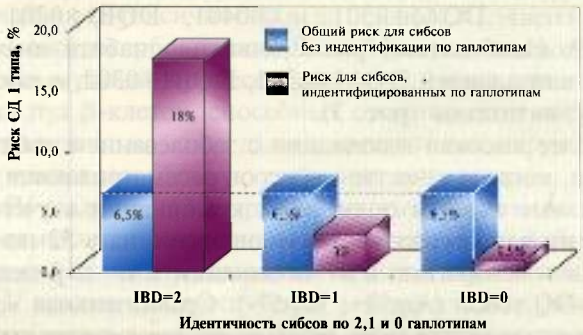


Рис. 6. Оценка риска СД 1 типа среди сибсов в зависимости от идентичности их по генетическим маркерам (гаплотипам). (метод разработан А.С. Сергеевым, ИМГ, 1994). В качестве генетической метки использованы HLA-A, B, DR – антигены и/или аллели HLA-DQ-генов.

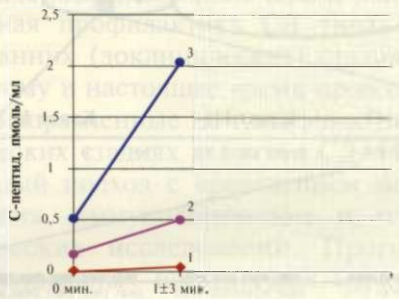


Рис. 7. Секреция С-пептида в различных группах обследованных. 1, 2, 3 – группы обследованных.



Рис. 8. Частота сниженной секреции С-пептида у здоровых сибсов больных СД 1 типа в зависимости от возраста (6-22 лет).

связано с манифестацией заболевания у одних детей и восстановлением функциональных возможностей β-клеток – у других.

Выявленная нами сниженная секреция С-пептида коррелировала с наличием высокого генетического риска. У сибсов, имеющих предрасполагающие аллели, частота выявления сниженной суммарной секреции С-пептида достоверно выше – 22,7% по сравнению 0% у обследованных, не имеющих этих аллелей (рис. 9). Выявлена тенденция более высокого распространения сниженной секреции С-пептида у сибсов, идентичных по двум гаплотипам – 33,3%, по сравнению с идентичными по одному гаплотипу – 15% и по сравнению с гаплоразличными – 0% (рис. 10).

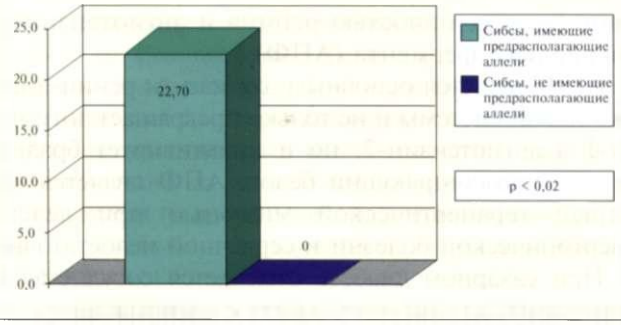


Рис. 9. Частота выявления сниженной секреции С-пептида (%) в группах различного генетического риска

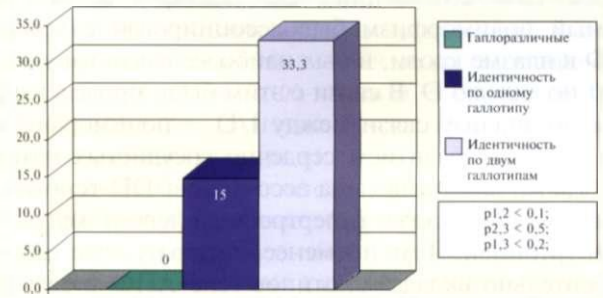


Рис. 10. Частота выявления сниженной секреции С-пептида (%) у гаплоидентичных и гаплоразличных сибсов.

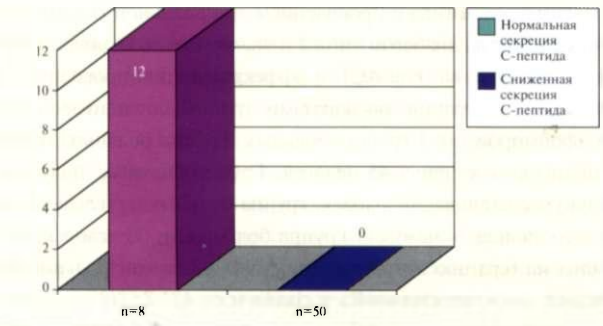


Рис. 11. Частота манифестации СД 1 типа % в зависимости от гормонального статуса.

Проспективное наблюдение за обследованными составило от 1 года до 4 лет. Из 8 детей со сниженной инсулиновой секрецией СД развился в одном случае (12%), а из 50 лиц с нормальным состоянием инсулярного аппарата – ни в одном случае (рис. 11).

Необходимо подчеркнуть, что к настоящему времени много известно о ранних доклинических стадиях СД 1 типа. Но патогенез развития заболевания и его ранняя преклиническая фаза не изучены. Можно сказать, что инсулит с дисфункцией β-клеток распространен среди родственников больных СД 1 типа широко, однако далеко не всегда это приводит к клинической манифестации заболевания. Вероятно, развитию манифестации диабета способствуют повторные влияния провоцирующих факторов. Не существует маркеров клинической манифестации, имеющих 100% значимость. Профилактику СД 1 типа необходимо проводить достаточно широко, однако средства профилактики должны быть абсолютно безвредны для организма.

Литература

1. Алексеев Л.П., Дедов И., Зилов А.В., Болдырева М.Н., Демидова И.Ю. и др. Межпопуляционый подход в установлении ассоциированной с HLA генетической предрасположенности к инсулинзависимому сахарному диабету. // Сахарный диабет. - 1998. - N. 1: С.19 - 22.
2. Бабаджанова Г.Ю., Сергеев А.С., Кураева Т.Л., Мазовецкий А.Г. Генетический анализ структуры предрасположения к сахарному диабету. Сообщение IY. Популяционно-генетическое исследование двух типов сахарного диабета, возникшего в возрасте от 20 до 40 лет. // Генетика. - 1990. - Т.26, N 11.- С.2051- 2057.
3. Кураева Т.Л., Петеркова В.А., Носиков В.В., Сергеев А.С., Дедов И.И. Возможности прогнозирования инсулинзависимого сахарного диабета в семьях больных на основе исследования генетических маркеров. // Сахарный диабет. - 1998. - № 1: С.34 - 41.
4. Bertrams J., Baur M.P. Histocompatibility testing.- N.Y.,1984.- p.348-358.
5. Bingley P.J., Bonifacio E., Gale E.A.M. Can we really predict IDDM? // Diabetes.- 1993.- Vol. 42, N 2.- P. 213- 220.
6. Colmon P.G., Eisenbarth G.S. Immunology of type I diabetes. // In: Diabetes Annual. Eds.: Alberti K.G.M., Krall L.P.- Amsterdam, 1988. -4 th ed.- P. 17- 45.
7. Knip M. Prediction and prevention of type 1 diabetes. // Acta P_diatr. Supl. 1998. - V.425: P. 54 - 62.
8. Noorchasm N., Kwok W., Rabinovitch A., Harrison L.C., Immunology of IDDM.//Diabetologia. - 1997. - V. 40. B 50 - B 57.
9. Riley W., McLaren N.K. Islet-cell antibodies are seldom transient. // Lancet. - 1984. - V. I: P.1351 - 1352.
10. Srikanta S., Ganda O.P., Soeldner J.S., Eisenbarth G.S. First degree relatives of patients with Type I diabetes mellitus: islet cell antibodies and abnormal insulin secretion. // N. Engl. J. Med. - 1985. - V. 313: P.461 - 464.
11. Thorsby E., Ronningen K.S. Particular HLA-DQ molecules play a dominant role in determining susceptibility or resistance to Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. // Diabetologia. - 1993. - V. 36. - 5: P. 371 - 378.
12. Todd J., Bell J., McDevitt H. DQ beta gene contributes to susceptibility and resistance to IDDM. // Nature. - 1987.- V.329.- P.599-604.
13. Vardi P., Crisa L., Jackson R.A. and coautors. Predictive value of intravenous glucose tolerance test insulin secretion less than or greater than the first percentile in islet cell antibody positive relatives of Tipe 1 (insulin-dependent) diabetic patients.//Diabetologia. - 1991. - V. 34. - N.2: P. 93 - 103.
14. Ziegler A.G., Standl E. Typ-1-Diabetes mellitus: Immunpathogenese und Chancen einer primaren Immuntherapie // Med. Klinik.- 1987.- Vol. 82, N 22.- P.796-800.