Полиморфизм генов *HLA* класса II и *CTLA4* здоровых бурят и больных сахарным диабетом 1 типа в Бурятской Республике

И.И. Дедов, Л.И. Колесникова*, О.Н. Иванова, Т.П. Бардымова*,
Н.Г. Карлова*, Т.М. Атаманова, С.А. Прокофьев

*ГУ Эндокринологический научный центр
(дир.- акад. РАН и РАМН И.И. Дедов) РАМН, Москва,
*ГУ НЦ медицинской экологии ВСНЦ
(дир.- член-корр. РАМН Л.И. Колесникова) СО РАМН, Иркутск*

Сахарный диабет 1 типа (СД1) – многофакторное аутоиммунное заболевание с полигенным типом наследования. Наследственная предрасположенность к СД1 определяется комбинацией аллелей ряда предрасполагающих генов, что в сочетании с внешними факторами может приводить к развитию заболевания.

Полный геномный поиск [1] позволил выявить 12 локусов предрасположенности к СД1 (*IDDM 1-12*), находящихся на разных хромосомах. В настоящее время количество генов, ассоциированных с СД1 типа, возросло до 20. Следует отметить, что эти локусы (кроме *IDDM2*/11p15/-ген инсулина и *IDDM17*/10q25) ассоциированы с развитием не только СД1, но и других аутоиммунных заболеваний [2]. Среди всех генетических локусов предрасположенности к СД1 ведущая роль отводится генам локуса *HLA* (human leukocyte antigen) класса II (около 40% наследуемого риска) [2, 3].

Ассоциация *HLA* аллелей с заболеванием СД1 была установлена около 30 лет назад [4]. Сравнительный анализ гомозиготных близнецов и *HLA* – гаплоидентичных сибсов выявил 40–50% конкордантность по *HLA* маркерам СД1. Известны гаплотипы *HLA* класса II, ассоциированные с высоким риском заболевания СД1 [5]: *DRB1*0401(*0402, *0405) – DQA1*0301 – DQB1*0302* и *DRB1*0301 – DQA1*0501 – DQB1*0201.*

В США 90% больных СД1 имеют хотя бы один из предрасполагающих гаплотипов (в популяции в целом – 20%). Примерно 35% больных СД1 в США являются *DRB1*0401(*0402, *0405) – DQA1*0301 – DQB1*0302* и *DRB1*0301 – DQA1*0501 – DQB1*0201* гетерозиготами (против 2,4% в популяции в целом) [6].

С другой стороны, гаплотип *DRB1*15 – DQA1*0102 – DQB1*0602* во многих популяциях является протективным по отношению к СД1.

Различные этнические группы имеют отличия по частоте встречаемости аллелей и гаплотипов *HLA* класса II. Генетическая гетерогенность этнических популяций в комплексе с факторами окружающей среды определяет особенности распространенности и клинического течения СД1. Среди тувинцев (монголоиды) больные СД1 встречаются с частотой 0,01%, т.е. в 5 раз реже, чем среди русских, проживающих в той же географической зоне [7]. Показано, что у представителей монголоидной расы заболеваемость СД1 на порядок ниже [8].

Бурятская популяция, как и многие монголоидные популяции (китайская, японская), отличается низкой распространенностью СД1 – 0,024%. Это в 10–30 раз меньше, чем в других этнических группах.

Данные о распределении предрасполагающих и протективных аллелей генов *HLA* класса II по отношению к СД1 среди бурят опубликованы в работах [9,10].

В развитии заболеваний аутоиммунной природы важную роль играет нарушение механизма не только инициации, но и терминации иммунного отве-

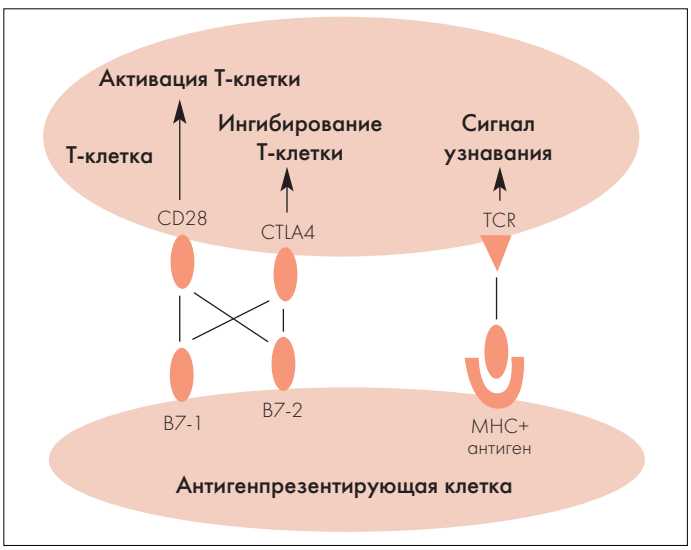


Рис. 1. Маркерные молекулы, участвующие в активации и торможении Т-клеток.

та и возможность потери толерантности к аутоантигенам. Один из способов обеспечения периферической толерантности (физиологического торможения иммунного ответа) связан с негативной регуляцией активированных Т-клеток продуктом гена *CTLA4 (IDDM12)*.

На рис. 1 представлена схема взаимодействия Т-клетки с антигенпрезентирующей клеткой. Антигенпрезентирующие клетки (АПК) с помощью молекул *HLA* класса II главного комплекса гистосовместимости представляют пептиды (собственные или чужеродные) Т-клеткам.

Взаимодействие комплекса белков HLA класса II АПК и Т-клеточного рецептора (ТКР) необходимо, но недостаточно для активации Т-клеток. Требуется дополнительный сигнал — взаимодействие костимуляторных рецепторов со своими лигандами. CD28 – основной костимулирующий рецептор [11], *конститутивно* экспрессирующийся на Т-клетках, связываясь с CD80/CD86 (B7-1/B7-2) АПК, активирует Т-клетки, тогда как рецептор CD152, кодируемый геном *CTLA4*, экспрессирующийся на поверхности *активированных* Т-клеток, связываясь с теми же лигандами (CD80/CD86), ограничивает пролиферацию активированных Т-клеток, обеспечивает их негативную регуляцию, вызывая анергию или апоптоз [12]. Нарушение баланса взаимодействия между CD80/CD86 с CD28 и CD152 может привести к потере аутотолерантности и развитию аутоиммунных заболеваний [13]. Нарушение этого баланса [14] может быть связано с полиморфизмами гена *CTLA4*, но не CD28. Действительно, продукт гена *CTLA4* играет важную роль в инициации, поддержании либо терминации аутоиммунного ответа в экспериментальных моделях на животных [15–17]. Независимыми исследованиями многократно показана ассоциация ряда полиморфных маркеров гена *CTLA4* с возникновением СД1 типа [18–20], болезни Грейвса [19, 21–23], аутоиммунного тиреоидита [21], множественного склероза и ряда других аутоиммунных процессов [24]. Причем носительство аллеля *G49*, ассоциированного с уменьшением торможения пролиферации Т-клеток [11], увеличивает риск возникновения аутоиммунных заболеваний.

Обнаружена этническая гетерогенность ассоциациии *CTLA4 (IDDM12)* с риском возникновения СД 1 типа. Статистически достоверная ассоциация выявлена в 4 европейских популяциях (итальянцы, испанцы, французы, русские), мексикано-американской популяции и корейской; слабая ассоциация в европеоидной /North American/ и не обнаружена ассоциация в британской, сардинской и японской популяциях [25, 39]; данные исследований по китайской популяции не однозначны [20, 26].

В связи с существенным отличием монголоидной группы по частоте распространенности СД1 типа и клиническими особенностями течения заболевания изучение ассоциации высоко полиморфных генов *HLA* класса II (*DRB1, DQA1* и *DQB1*) и полиморфных маркеров гена CTLA4 при СД1 типа у бурят представляет значительный интерес.

Проведенный анализ включал:

• идентификацию аллелей 3 генов локуса *HLA* класса II (*DRB1, DQA1, DQB1*) в двух группах бурят (больных СД1 и здоровых) с последующим определением диабетогенных гаплотипов;

• исследование диморфизмов гена *CTLA4* – *C(-318)T, A49G, C159G, C1IT)*, определение частот аллелей и генотипов указанных однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs – single nucleotide polymorphisms) в двух группах бурят (больных СД1 и здоровых) и поиск возможных ассоциаций этих SNP с развитием СД 1 в данной популяции.

Объект и методы исследования

Все больные СД1 и лица контрольной группы относятся к бурятской популяции (монголоидная раса). В Республике Бурятия проживает около 300 тыс. бурят. Среди них к началу 2005 г. зарегистрировано 66 неродственных больных СД1. В представленной работе обследовано 64 из них и 10 больных СД1 бурятской национальности, проживающих в Усть-Ордынском Бурятском автономном округе. Все больные постоянно получают инсулин. Диагноз поставлен или подтвержден в клиниках Улан-Удэ и Иркутска. Возраст больных колеблется от 1 года до 40 лет. Возраст манифестации диабета от 3 мес. до 32 лет. Контрольная группа состояла из практически здоровых лиц (61 человек) без аутоиммунных заболеваний и отягощенной наследственности по ним.

Выделение ДНК из лейкоцитов периферической крови проводили по модифицированной методике Gemmell и Akiyama [27,28].

Аллели локуса *HLA* идентифицировали методом мультипраймерной полимеразной цепной реак-

Таблица 1

Использованные праймеры и рестриктазы

SNP	Последовательность праймеров 5′-3′	Рестриктаза
C(-318)T	F GCCCAAGGGCTCAGAAAGTTAGCAG R GGAAGCCGTGGGTTTAGCTGTTACG	Tru9I
A49G	F GCTCTACTTCCTGAAGACCT R AGTCTCACTCACCTTTGCAG	Fsp4HI
C1IT	F TGGATCATGGGGGACTCATTGAATG R CTGACACCACCGCTGCCTCTCG	Bstc81
C159G	F CCTGCCACAACCATCTTGAAGAATC RGTAGTATGGCGGTGGGTACACATGAGC	Bsc4I

ции, используя наборы ЗАО «НПФ ДНК-Технология». Типирование проводилось согласно регламенту производителя.

Идентификацию аллелей 4 полиморфных маркеров гена *CTLA4* проводили с помощью метода PCR-RFLP (restriction fragment lengh polymorphism). Праймеры для анализа *C1IT* и *C159G* разработаны с помощью программы Primer Primer 5.0. Типирование полиморфизмов *C(-318)T* и *A49G* проводили по [19, 29]. В табл. 1 представлены структура использованных праймеров и рестриктазы. Амплификацию проводили на многоканальном термоциклере «МС2» в составе смеси: 1хПЦР-буфер, 0,2γ геномной ДНК, 1U Taq-полимеразы, 20 пмоль каждого праймера, 8 ммоль dNTPs.

Идентификацию продуктов амплификации проводили после электрофореза в 2% агарозном геле и окрашивания продуктов амплификации бромистым этидием. Полученные ампликоны инкубировали с 5U соответствующей рестриктазы в течение 4–8 ч, продукты рестрикции разделяли электрофорезом в 2–3% агарозном геле.

Проведено сравнение частот аллелей и генотипов между двумя группами. Частоту аллелей определяли методом простого счета (n/2N, где n – число раз встречаемости аллеля (у гомозигот он учитывался дважды) в выборке N генотипов). Расчет трехлокусных гаплотипов выполняли при помощи компьютерной программы «Arlequin ver 2.000» (S.Schneider, D.Roessli, L.Excoffier). Предварительная проверка соблюдения закона Харди-Вайнберга проводилась для каждой группы (СД1, К) методом χ^2.

Степень предрасположенности тех или иных аллелей к заболеванию определяли по величине показателя соотношения шансов (odds ratio – *OR*) по формуле [30]:

$$OR = \frac{(a+0.5)(d+0.5)}{(b+0.5)(c+0.5)},$$

где *a* – число лиц с наличием и *b* – с отсутствием данного аллеля среди больных пациентов, *c* и *d* – число лиц, соответственно, с наличием и отсутствием данного аллеля среди здоровых лиц; поправка «0,5» в этой формуле использовалась в случае малых выборок. *OR*>1 рассматривали как положительную ассоциацию, *OR*<1 – как отрицательную ассоциацию аллеля с заболеванием.

Статистическую достоверность отличия *OR* от 1 (p) определяли по методу χ^2, в случае малых объемов групп – по точному двустороннему критерию Фишера для четырехпольных таблиц [31], вводили поправку Бонферрони при множественных сравнениях [31]. Расчеты выполняли при помощи компьютерных программ «Биостатистика», Microsoft Excel-97.

Таблица 2

Частота аллельных вариантов гена *DRB1* среди больных и в контрольной группе и риск развития СД1

*DRB1** аллели	Больные СД1 n=74	Контроль n=61	*OR*
01	0,060811	0,016393	3,88
03(17)	0,108108	0,073777	1,52
03(18)	0	0	
04	0,27027	0,172131	1,78
07	0,121622	0,098361	1,19
08	0,114865	0,04918	2,51
09	0,054054	0,040983	1,34
10	0,013514	0,02459	0,54
11	0,074324	0,131115	0,33*
12	0,040541	0,040983	0,82
13	0,114865	0,139344	0,86
14	0,0135135	0,065573	0,2
15	0,040541	0,139344	0,26**
16	0	0,008197	

*p=0,025; **p=0,007

Таблица 3

Частота аллельных вариантов гена *DQA1* и риск развития СД1

*DQA1** аллели	Больные СД1 n=74	Контроль n=61	*OR*
0101	0,081081	0,090164	0,89
0102	0,074324	0,196721	0,36*
0103	0,047297	0,065574	0,71
0201	0,121621	0,098361	1,19
0301	0,385135	0,221311	2,2**
0401	0,040541	0,040984	0,99
0501	0,243243	0,286885	0,8
0601	0,006756	0	0,4

*p=0,009; **p=0,006

Таблица 4

Частота аллельных вариантов гена *DQB1* и риск развития СД1

*DQB1** аллели	Больные СД1 n=74	Контроль n=61	*OR*
0201	0,243243	0,147541	1,86
0301	0,222973	0,311475	0,69
0302	0,148648	0,032787	5,15*
0303	0,081081	0,065574	0,99
0401/0402	0,101351	0,090164	1,14
501	0,074324	0,04918	1,55
0502/4	0	0,040984	0,16
503	0,006757	0,016393	0,4
0601	0,02027	0,032787	0,61
0602-8	0,101351	0,213115	0,42**

*p=0,003; **p=0,017

Примечание.
Ввыделены аллеи, наличие которых в генотипе статистически достоверно предрасполагает к развитиюю СД1 *(протективные аллеи - курсивом)*; n - количество обследованных;
p - статистическая значимость отдичия OR от 1.

Таблица 5

Частота распределения гаплотипов локуса HLA в 2 группах бурят

Гаплотип			Больные СД1	Контроль		
*DRB1**	*DQA1**	*DQB1**	n=148	n=122	*OR*	p
01	0101	0501	0,061	0,016		
04	0301	0201	0,034	0,008		
04	0301	0301	0,081	0,098		
04	**0301**	**0302**	0,089	0,016	5,78	0,02
04	0301	04010/402	0,068	0,049		
07	0201	0201	0,095	0,074		
07	0201	0303	0,027	0,024		
08	**0301**	**0302**	0,061	0,008	7,83	0,05
08	0401	0401/0402	0,034	0,041		
09	0301	0303	0,054	0,041		
10	0101	0501	0,014	0,025		
11	***0501***	***0301***	0,047	0,123	0,35	0,04
12	0501	0301	0,041	0,041		
13	0102	0602-8	0,047	0,082		
13	0103	0602-8	0,027	0,032		
13	0501	0301	0,034	0,025		
14	0101	0503	0,007	0,016		
14	0101	0502/4	0	0,025		
14	0501	0301	0,007	0,016		
15	***0102***	***0602-8***	0,027	0,098	0,25	0,01
15	0103	0601	0,014	0,033		
17	0501	0201	0,108	0,074	1,52	0,1
	другие		0,028	0,032		

Прмечание.
Приведены лишь те гаплотипы, частота которых >1% хотя бы в одной из групп. Выделены гаплотипы, предрасполагающие (протективные- курсивом) к развитию СД1 у бурят; n – количество гаплотипов; p – статистическая значимость.

Прогностическая значимость результатов выражается показателем PcPPV (Prevalence-corrected Positive Predictive Value), при вычислении которого учитывается распространенность СД1 в популяции (у бурят составляет 0,024%). Он означает вероятность для случайного представителя популяции, имеющего конкретный гаплотип, заболеть СД1 [32].

Результаты и их обсуждение

Распределение аллелей генов *HLA (DRB1, DQA 1, DQB1)* в группах бурят, больных СД1, и здоровых индивидов представлено в табл. 2–4. Анализ распределения аллелей показал статистически значимые отличия в частотах аллелей *DRB1*15, DRB1*11, DQA1*0102, DQA1*0301,DQB1*0302, DQB1*0602-8.*

Частоты других аллелей генов *HLA* незначительно отличались у больных и здоровых индивидуумов или эти отличия не были достоверными.

В группе больных СД1 обнаружена повышенная частота аллеля *DQA1*0301* и пониженная частота аллеля *DQA 1*0102* по сравнению с контрольной группой (*OR*=2,2 и *OR*=0,36 соответственно, p<0,01).

В гене *DQB1* выявлено достоверное (p<0,01) увеличение частоты аллеля *DQB1*0302* и уменьшение частоты аллеля *DQB1*0602-8* в группе больных СД1 (*OR*=5,2 и *OR*=0,42 соответственно).

В гене *DRB1* выявлено достоверное (p<0,01) уменьшение частоты аллелей *DRB1*15* и *DRB1*11* в группе больных СД1 (*OR*=0,26 и (*OR*=0,33 соответственно).

Среди вычисленных показателей *OR* максимальное значение отмечено для аллеля *DQB1*0302* (*OR*=5,2; p_c=0,03). Такое значение *OR* однозначно свидетельствует о положительной ассоциации этого аллеля с СД1. При этом указанный аллель может рассматриваться как маркер предрасположенности к СД1. Минимальные значения *OR* показаны для аллелей *DRB1*15* и *DRB1*11* (*OR*=0,26 и 0,33 соответственно). Данные аллели являются протективными во многих популяциях.

В табл. 5 приведены частоты гаплотипов локуса *HLA*, составленных с помощью программы «Arlequin ver 2.000» и проверенных с помощью семейного анализа на 25 бурятских семьях (данные не приводятся). Сравнение частот гаплотипов локуса *HLA* в 2 группах бурят выявило статистически значимые различия в их распределении: гаплотипы

Таблица 6

PcPPV для четырех гаплотипов лоуса *HLA* класса II в бурятской популяции

Гаплотип			Больные СД1	Контроль	
*DRB1**	*DQA1**	*DQB1**	n=148	n=122	PcPPV
предрасполагающие					
04	**0301**	**0302**	0,089	0,016	0,0013
08	0301	0302	0,061	0,008	0,0018
x	0301	0302	0,149	0,024	0,0015
протективные					
11	0501	0301	0,047	0,123	0,00009
15	0102	0602-8	0,027	0,098	0,00006
x	0102	0602-8	0,081	0,18	0,0001
15	0102	x	0,027	0,107	0,00006

*DRB1*04 – DQA1*0301 – DQB1*0302* и *DRB1*08 – DQA1*0301 – DQB1*0302* позитивно ассоциированы с СД1; гаплотип *DRB1*17 – DQA1*0501 – DQB1*0201* имеет слабовыраженную ассоциацию (в данной выборке недостоверную – *OR*=1,52 и p=0,1); гаплотипы *DRB1*11 – DQA1*0501 – DQB1*0301* и *DRB1*15 – DQA1*0102 – DQB1*0602-8* негативно ассоциированы с СД1 (как и во многих других популяциях). Обращает на себя внимание существенно более высокая предрасположенность к развитию СД1 у носителей гаплотипа *DRB1*08 – DQA1*0301 – DQBI*0302*, чем *DRB1*04 – DQA1*0301 – DQB1*0302* (*OR*=7,83 и *OR*=5,78 соответственно). Гаплотип *DRB1*04 – DQA1*0301 – DQB1*0302* в разной степени, но во многих популяциях позитивно ассоциирован с СД1. В бурятской популяции риск, сообщаемый этим гаплотипом, более 5. Однако частота его значительно ниже, чем в европеоидных популяциях (1,6% против ~10%), что представляет интерес в свете более низкой распространенности СД1 среди бурят. Кроме того, с *DQA1*0301 – DQB1*0302* могут быть сцеплены разные специфичности *DRB1*04,* сообщающие различную степень риска. В частности, аллель *DRB1*0403* вкупе с *DQA1*0301 – DQB1*0302* является слабо протективным, а аллели *DRB1*0401, DRB1*0402* и *DRB1*0405* – предрасполагающими. Показано, что в японской популяции, где распространенность СД1 тоже очень низкая (0,6/100 000/год) [38], аллель *DRB1*0405* почти отсутствует. Субтипирование локуса *DRB1*04* с помощью методов высокого разрешения даст более точную картину распределения «классических» предрасполагающих гаплотипов в бурятской популяции.

Обнаруженная позитивная ассоциация гаплотипа *DRB1*08 – DQA1*0301 – DQB1*0302* с возникновением СД1 у бурят согласуется с данными о монголоидных популяциях, опубликованными сравнительно недавно [36,37]. Известно, что аллель *DRB1*0802* является предрасполагающим в японской популяции [36]. В статье [37] описаны исследования японской популяции, указывающие на гаплотип *DRB1*08 – DQB1*0302* как предрасполагающий к возникновению СД1 в детском возрасте (*OR*=4,88, p=0,0017).

Выявленные протективные гаплотипы *DRB1*11 – DQA1*0501 – DQB1*0301 и DRB1*15 – DQA1*0102 – DQB1*0602-8* являются таковыми во многих популяциях.

В табл. 6 представлено значение PcPPV (Prevalence-corrected Positive Predictive Value) – вероятность для случайного представителя определенной популяции (с известной распространенностью СД1), имеющего конкретный гапло-

Таблица 7

Распределение аллелей *A49G* гена *CTLA4* в бурятской и других популяциях [по 19,23,33-35]

Аллель	Европеоиды [34] n=363	[19] n=325	Русские [33] n=153	Японцы [23] n=200	Китайцы [35] n=158	Буряты n=61
Частоты генотипов						
GG	7,8	12,6	32,3	39	48,1	42,62
AG	47,1	45,8		44	37,3	42,62
AA	45,1	41,5	26,9	17	14,6	14,75
Частоты аллелей						
G	31,4	35,5	52,7	61	66,8	63,93
A	68,6	64,5	47,3	39	33,2	36,06

тип, заболеть СД1. PcPPV рассчитали лишь для тех гаплотипов, различия распространенности которых в 2 группах бурят статистически значимы. Видно, что для случайного представителя бурятской популяции вероятность заболеть наименьшая в том случае, если он имеет гаплотип *DRB1*15 – DQA1*0102 – DQB1*0602-8* (в 6 случаях из 100 000), наибольшая – если он имеет гаплотип *DRB1*08 – DQA1*0301 – DQB1*0302* (~2 из 1000). При этом у первого риск заболеть в 30 раз ниже, чем у второго.

Статистический анализ распределения генотипов *HLA* класса II в 2 группах бурят не выявил значимых различий. Можно лишь сказать, что «классический» высоко предрасполагающий генотип *DRB1*04 – DQA1*0301 – DQB1*0302 / DRB1*17 – DQA1*0501 – DQB1*0201* в группе здоровых не наблюдается, а в группе больных частота его составляет 0,068 (~7%), тогда как в европеоидной группе больных СД1 частота его достигает 35%.

В табл. 7 представлено сравнение распределения аллелей полиморфного маркера *A49G* гена *CTLA4* в бурятской и других популяциях (контрольные группы). Аллели SNP *A49G* гена *CTLA4* в бурятской этнической группе распределены примерно так же, как и в японской и в китайской. В отличие от европейских популяций доминирующим аллелем в азиатских популяциях является аллель *49G*.

В табл. 8 представлено количество (и частоты в скобках) аллелей и генотипов SNP *A49G* в 2 группах бурят (здоровых – К и больных СД1). В группе пациентов обнаружено характерное для аутоиммунных заболеваний увеличение частоты аллеля *G* и генотипа *GG*. В группе больных СД1 частота генотипа *GG* (51,4%) выше, чем в контрольной группе (42,6%), однако данные статистически не достоверны (p>0,05).

Стратификация исследованных групп по *HLA* гаплотипам не выявила значимых различий в распределении частот аллелей и генотипов *CTLA4* в бурятской популяции (данные не приводятся).

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов SNP *C1IT* и SNP *A49G* показал, что они находятся в полном неравновесии по сцеплению.

У всех 135 исследованных бурят генотипу *49 AA* соответствовал генотип *1ICC, 49 AG – 1I CT, 49 GG – 11 TT*.

Полиморфизм *159 C/G* в изученных группах не обнаружен. Либо этот нуклеотид мономорфен у бурят (в то время как в китайской популяции гетерозиготность его составляет 7,4 в контрольной группе и 10,3 в группе больных СД1 [26]), либо гетерозиготность его ⩽0,7. В этом случае сайт мало информативен для изучения ассоциаций. В распределении частот аллелей и генотипов SNP *C(-318)T* значимых различий не выявлено (p>0,05, табл. 9).

Таблица 8

Количество (и частоты, %) аллелей и генотипов полиморфного маркера *A49G* в двух группах бурят

Показатель	СД1 (n=74)	К (n=61)	p
	Частота аллеля		
A	41(27,7)	44(36,06)	0,18
G	107(72,3)	78(63,93)	0,18
	Частота генотипа		
AA	5(6,76)	9(14,75)	0,272
AG	31(41,9)	26(42,62)	0,272
GG	38(51,4)	26(42,62)	0,272
	Частота фенотипа		
AA+AG	36(48,65)	35(57,37)	0,402
GG+AG	69(93,24)	52(85,24)	0,217

Таблица 9

Количество (и частоты в скобках) аллелей полиморфного маркера *C(-318)T* в двух группах бурят

Аллель	СД1 (n=74)	К (n=61)	p
C	138(0,93)	116(0,94)	0,93
T	10(0,067)	6(0,057)	

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в бурятской популяции не наблюдается ассоциация сахарного диабета 1 типа с исследованными полиморфными маркерами гена *CTLA 4*.

Выводы

1. Гаплотип *DRB1*08 – DQA1*0301 – DQB1*0302* является гаплотипом, наиболее предрасполагающим к развитию СД1 типа в бурятской популяции (*OR*=7,83); гаплотип *DRB1*04 – DQA1*0301-DQB1*0302* является гаплотипом, менее предрасполагающим к развитию СД1 типа в бурятской популяции (*OR*=5,78), тогда как в европеоидных популяциях данный гаплотип сообщает наибольший риск развития заболевания.

2. «Классический» высоко предрасполагающий генотип в европеоидных популяциях *DRB1*04 – DQA1*0301 – DQB1*0302 / DRB1*17 – DQA1*0501 – DQB1*0201* в группе здоровых бурят не наблюдается, а в группе больных частота его составляет 0,068 (~7%), тогда как в европеоидной группе больных СД1 частота его достигает 35%.

3. Аллели полиморфного маркера *A49G* гена *CTLA 4* в бурятской этнической группе распределены примерно так же, как и в японской и китайской популяциях. В отличие от европейских популяций доминирующим аллелем в азиатских популяциях является аллель *49G* (>60% против 30–50%).

4. Ассоциаций какого-либо из изученных полиморфных маркеров гена *CTLA 4* с предрасположенностью к СД1 в бурятской популяции не выявлено.

Литература

1. Todd J.A. Genetic analysis of type 1 diabetes using whole genome approaches.//Proc Nat Acad Sci USA.- 1995-Vo1.92.-№19.-P.8560-8565.
2. Redondo M., Eisenbarth G. Genetic control of autoimmuniti in Typel diabetes and assotiated disorders.//Diabetologia.- 2002- Vol. 45.-P.605-622.
3. S.Anjos, C.Polychronakos. Mechanisms of genetic susceptibility to type I diabetes: beyond HLA. //Molecular Genetics and Metabolism.-2004.-Vol.81.-P. 187-195.
4. Nerup J., Plats P., Anderson 0.0 . et al. HL-A antigens and diabetes mellitus.// Lancet.-1974.-Vol.I2.-P.864-866.
5. Park Y.S., Wang C.Y., Ko K.W. et al. Combinations of HLA DR and DQ molecules determine the susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus in Koreans. //Hum. Immunol- 1998.- Vol.59.-P.794-801.
6. Redondo M.J., Fain P.R., Eisenbarth G.S. Genetics of Type 1A Diabetes // Recent Prog Horm Res.-2001.-Vol.56.-P.69-89.
7. Осокина И.В., Болдырева М.Н., Ширшина Р.К., Гуськова И.А., Богатова О.В., Грудакова Е.Г., Кабдулова Д. О., Алексеев Л.П.. // Сахарный диабет.-2001-№ 4.-С.8-9.
8. Karvonen M, Tuomilentho J, Libman I, et al. . A review of the recent epidemio logical data on incidence of type 1 diabetes mellitus world wide. //Diabetologia - 1993- Vol.36.-P. 883-892.
9. Boldyreva M., Trofimov D., Guskova I., Demidova I., Zilov A., Dedov I., Alexeev L. HLA genetic markers of IDDM in buriat population. //Human Immunology. - 1996.-Vo1.47.-№1-2.-P.156.
10. Алексеев Л.П., Дедов И.И., Зилов А.В., Болдырева М.Н., Демидов И.Ю., Трофимов Д.Ю., Хаитов Р.М. //Сахарный диабет.-1999-№1.-С -19-21.
11. Biancone L., Deambrosis I., Camussi G. Lymphocyte costimulatory receptors in renal disease and transplantation. //J. Nephrol.- 2002-Vol.I5.-P.7-16.
12. J.G.Gribben, G.J.Freeman, V.A.Boussiotis et al. CTLA4 mediates antigen-specific apoptosis of human T cells.//Proc.Natl.Acad.Sci. USA. -1995-Vol.92.-P. 811-815.
13. Amundsen S., Naluai A, Ascher H. et al. Genetic analysis of the CD28/CTLA4/ICOS (CELIAC3) region in coeliac disease.//Tissue Antigens.- 2004-Vol.64.-P.593-599.
14. Ahmed S., Ihara K., Nakashima H.et al. Association of CTLA-4 but not CD28 gene polymorphisms with systemic lupus erythematosus in the Japanese population. //Rheumatology. - 2001-Vol. 40.-P. 662-7.
15. Luhder F., Chambers C., Allison J.P. et al. Pinpointing when T cell costimulatory receptor CTLA-4 must be engaged to dampen diabetogenic T cells .// PNAS USA- 2000-P. 12204-12209.
16. Luhder F., Hoglund P., Allison J.P. et al. Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) regulates the unfolding ofautoimmune diabetes .// J.Exp.Med. -1998-Vol.187.-P. 427-432.
17. Karandikar N.J., Eagar T.N., Vanderlugt C.L. et al. CTLA-4 downregulates epitope spreading and mediates remission in relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis//J. Neuroimmunol .-2000- Vol.I09.-P.173-180 .
18. Nistico L., Buzzetti R., Pritchard L. et al. The CTLA4 gene region of chromosome 2q33 is linked to, and associated with, typel diabetes.//Hum. Mol. Genet.- 1996-Vol. 5.-P. 1975-80.
19. Donner H., Rau H., Walfish P. et al. CTLA4 alanin-17 confers genetic susceptibility to Graves' disease and to typel diabetes mellitus. // J. Clin. Endocrinol. Metab.- 1997-Vol. 82.-P. 143-146.
20. Marron M., Raffel L., Garchon H. et al. Insulin-depended diabetes mellitus (IDDM) is associated with CTLA4 polymorphisms in multiple ethnic groups.// Hum. Mol. Genet-1997-Vol. 6.-P. 1275-1282.
21. Kotsa K., Watson P. A CTLA4 gene polymorphism is associated with both Graves' disease and autoimmune hypothyroidism.// Clin. Endocrinol.-1997-Vol. 46.-P.551-554.
22. Kouki T., Sawai Y., Gardine C. et al. CTLA-4 gene polymorphism at position 49 in exon 1 reduces the ingibitory function of CTLA-4 and contributes to the pathogenesis of Graves' disease.//J. ImmunoL- 2000-Vol. 165. -P.6606-611.
23. Yanagawa T., Taniyama M., Enomoto S. et al. CTLA4 gene polymorphism confers susceptibility to Graves' disease in Japanese. // Thyroid .-1997-Vol. 7.-P. 843-846.
24. Harbo H., Celius E., Vartdal F. et al. CTLA4 promoter and exon 1 dimorphisms in multiple sclerosis. //Tissue Antigens.- 1999-Vol.1.-P. 106-110.
25. Yanagawa T., Kristianses 0., Mato E. et al. Lack of association between CTLA4gene polymorphism and IDDM in Japanese subjects. // Autoimmunity.- 1999.-Vol.29.-P.53-57.
26. Osei-Hhyaman D., HouL., Zhiyin R .et al. Association of a novel point mutation (C159G) of the CTLA4 gene with Type 1 Diabetes in West Africans but not in Chinese.// Diabetes.- 2001.-Vol.50.-P. 2169-2171.
27. Анализ генома. Методы.// Пер. с англ./Под редакцией К.Дейвиса. - М.: Мир, 1990. -246с.
28. Ezquieta B., Jariego C., Varela J.M. et al. Microsatellite markers in the indirect analysis of the steroid 21-hydroxylase gene. // Prenat. Diagn. - 1997. - Vol. 17(5). -P.429-434.
29. Liu M.-F., Wang C.-R., Chen P.-C. et al. Increased expression of soluble cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4 molecule in patients with systemic lupus erythematosus. // Scandinavian J of Immunol.- 2003.-Vol. 57(6).-P. 568-72.
30. Woolf B.On estimating the relation between blood group and disease//Am. Hum. Genet.-1955.-Vol9.-P.251.
31. Стентон Гланц. Медико-биологическая статистика.//Практика. Москва1999.
32. M.Zamani, J-J.Cassiman. Reevaluation of the Importance of Polymorphic HLA Class II Alleles and Amino Acids in the Susceptibility of Individuals of Different Populations to Type I Diabetes.// Am. J. of Medical Genetics,-1998.- Vol76.-P.183-194.
33. Савостьянов К.В., Чистяков Д.А., Петунина И.А. и др. Генетическая предрасположенность к развитию диффузного токсического зоба в популяции Москвы.// Проблемы эндокринологии.-2004.-Т.50 №6, стр. 10-13.
34. Heward J., Allahabadia A., Armitage M., et al. The development of Draves' disease and the CTLA4 gene on chromosome 2q33.// J of Clin Endocrinol and metabol.- 1999.-Vol.84.-P.2398-2401.
35. E. Yung, P. S. Cheng, T. F. Fok at al. CTLA-4 gene A-G polymorphism and childhood. Graves' disease.// Clinical Endocrinology.-2002.-Vol.56.-P.649-653.
36. T.Awata, Y.Kanazawz. Genetic marker for insulin-dependet diabetes mellitus in Japanese.//Diabetes Res and Clin Pract.-1994.-Vol. 24.-P.83-87.
37. S.Murao, H.Makino, Y.Kaino et al. Differences in the Contribution of HLA-DR and -DQ Haplotypes to Susceptibility to Adult- and Childhood-Onset Type 1 Diabetes in Japanese Patients.//Diabetes.- 2004.-Vol.53.-P. 2684-2690.
38. DERI Group (Diabetes Epidemiology Research International Group). Geographical patterns of childhood insulin-dependent diabetes mellitus.// Diabetes.- 1988.-Vol.37.- P.1113-1119.
39. Chistiakov D.A., Savostanov K.V., Nosikov V.V. CTLA4 gene polymorphisms are associated with, and linked to, insulin-dependet diabetes mellitus in a Russian population.//BMC Genetics.-2001 .-Vol.2(1). -P. 6-10.