лелю. В контрольной выборке наблюдалось такое же соотношение гомозигот и гетерозигот по аллелю *0301 (7,7%). Следовательно, можно практически исключить гипотезу о том, что гомозиготы по аллелю *0301 в большей степени подвержены диабету, чем гетерозиготы. Этот факт представляется интересным в свете имеющихся в настоящее время данных, что для стимулирования Т-клеточного ответа достаточно очень небольшого количества гетеродимеров подходящего типа [4].

Выводы

1. У больных диабетом наблюдается повышенная частота аллеля HLA DQA1 *0301 по сравнению со здоровыми людьми и не отмечается увеличения частот других Arg52 аллелей DQA1.

2. Среди пациентов с ИЗСД не наблюдается повышения встречаемости гомозигот по аллелю DQA1 *0301.

3. Присутствие не-Arg52 аллелей и особенно *0201 снижает риск возникновения заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Acha-Orbea H., McDevitt H. O. // Proc. nat. Acad. Sci. USA. — 1987. — Vol. 84. — P. 2435-2439.
2. Barbosa J., Chern M. M., Reinsmoen N. et al. // Tiss. Antigens. — 1979. — Vol. 14. — P. 426-436.
3. Cavan D. A., Jacobs K. H., Penny M. A. et al. // Diabetologia. — 1993. — Vol. 36. — P. 252-257.
4. Demots S., Grey H. M., Sette A. // Science. — 1990. — Vol. 249. — P. 1028-1030.
5. Deshamps I., Lestrade H., Bonaiti C. et al. // Diabetologia. — 1980. — Vol. 19. — P. 189-193.
6. Dorman J. S., LaPorte R. E., Stone R. A., Trucco M. // Proc. nat. Acad. Sci. USA. — 1990. — Vol. 87. — P. 7370-7374.
7. Erlich H. A., Bugawan T. L. // PCR Technology: Principles and Application for DNA Amplification. — New York, 1989. — P. 193-207.
8. Erlich H. A., Zeider A., Chang J. et al. // Nat. Genet. — 1993. — Vol. 3. — P. 358-364.
9. Khalil I., D'Auriol L., Gobet M. et al. // J. clin. Invest. — 1990. — Vol. 85. — P. 1315-1319.
10. Lindblom B., Holmud G. // Gene Anal. Techn. — 1988. — Vol. 5. — P. 97-101.
11. Morel C., Zwahlen F., Jeannot M. et al. // Hum. Immunol. — 1990. — Vol. 29. — P. 64-77.
12. Nepom B. S., Schwartz D., Palmer J. P., Nepom G. T. // Diabetes. — 1987. — Vol. 36. — P. 114-117.
13. Todd J. A., Bell J. I., McDevitt H. O. // Nature. — 1987. — Vol. 329. — P. 559-563.

Получено 01.11.94

I. V. Mersyanova, Yu. A. Knyazev, M. V. Burdenko, T. V. Sebko, O. V. Yevgrafov — ASSOCIATIONS BETWEEN INSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS AND HLA-DQA1 ALLELES

Summary. The incidence of HLA-DQA1 alleles was assessed in patients with insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM), their relatives, and healthy controls using HLA-DQA1 genotyping by digestion of PCR amplified DNA with allele-specific restriction enzymes. A significant increase in the incidence of HLA-DQA1*0301 allele was observed in diabetics although the ratio of DQA1*0301 homozygotes to heterozygotes was similar in the patients and controls. The presence of one DQA1*0301 allele in the genome appeared to be sufficient for susceptibility to IDDM. Comparison of the incidence of other DQA1 "Arg52" alleles in diabetics and healthy controls revealed no differences between the groups. The incidence of DQA1 "non-Arg52" alleles (specifically, DQA1*0201) was reduced in diabetics as compared to normal controls. The presence of these alleles may be considered as the "protective" factor.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995

УДК 616.379-008.64-053.3-078.33

И. В. Осокина, Л. Н. Щербачева, Н. Б. Лебедев, В. В. Яздовский, И. И. Дедов

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИНСУЛИНЗАВИСИМОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА В МЛАДШЕМ ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ

Эндокринологический научный центр (дир. — акад. РАМН И. И. Дедов) РАМН, Институт иммунологии (дир. — член-корр. РАМН Р. М. Хаитов) Минздравмедпрома РФ, Москва, Институт медицинских проблем

Инсулинзависимый сахарный диабет (ИЗСД) является полиэтиологическим аутоиммунным заболеванием, существенная роль в развитии которого принадлежит генетической предрасположенности. В последние десятилетия наибольшие успехи в исследовании иммуногенетических механизмов развития ИЗСД получены при изучении связи заболевания с антигенами системы HLA (Human Leucocyte Antigen) [1, 2, 8, 15].

Первые маркеры ИЗСД относились к антигенам класса I. Ими являлись HLA B15 и B8 [9]. Впоследствии была установлена более выраженная по сравнению с классом I ассоциация с антигенами DR-локуса: HLA DR3 и DR4. Генетический анализ показал, что первично с предрасположенностью к ИЗСД связаны аллели класса II, в то время как аллели класса I ассоциированы с ним вторично за счет неравновесного сцепления аллелей HLA B8 с DR3 и HLA B15 с DR4. Было установлено также, что наибольший риск

развития ИЗСД имеется у гетерозигот HLA DR3/DR4 по сравнению с гомозиготами [12].

Большой прогресс в изучении генетической предрасположенности к ИЗСД в последние годы связан с использованием методов молекулярной биологии для анализа полиморфизма аллелей II класса HLA. Методами ДНК-типирования показано, что предрасположенность к ИЗСД связана с локусом HLA DQ. Положительно ассоциированные с ИЗСД гаплотипы имеют в позиции 57 HLA DQ β-цепи аланин, валин или серин, в то время как аспарагиновая кислота присутствует в гаплотипах, связанных с невосприимчивостью к болезни [3, 5, 6]. Однако имеются данные, противоречащие гипотезе о том, что аминокислотный состав в позиции 57 HLA DQ β-цепи является безусловным маркером предрасположенности или устойчивости к ИЗСД [10].

У больных ИЗСД обнаружено снижение частоты встречаемости антигена HLA DR2. Этот анти-

ген, а точнее его субвариант DPw15 (сцепленный DQw6), является основным HLA-маркером резистентности к болезни. Другими маркерами резистентности являются DR5 и DRw6, сцепленные с определенными DQ-антигенами. В случае отрицательной ассоциации первично-ассоциированными с ИЗСД также являются антигены HLA DQ-локуса [13].

Необходимо отметить, что значительные достижения в изучении иммуногенетики ИЗСД получены преимущественно при исследованиях у взрослых больных. Менее детально изучены иммуногенетические аспекты ИЗСД у детей, особенно первых лет жизни. В немногочисленных работах, посвященных исследованию данной проблемы, отмечается высокая частота встречаемости антигенов DR3, DR4, особенно DR3/DR4 у больных первых лет жизни [4, 7, 11, 14], положительная ассоциация между не-ASP DQ-гаплотипом и наличием диабета [11]. Протективный эффект характерен, как и у взрослых, для HLA DR2, DR5 [7]. В литературе нам не встретилось работ, посвященных изучению взаимосвязи антигенов системы HLA и развития ИЗСД в младшем детском возрасте в русской популяции.

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей распределения HLA-антигенов у детей младшего возраста, больных ИЗСД, выявление маркеров развития диабета в первые годы жизни больных и возможной иммуногенетической гетерогенности.

Материалы и методы

Определение HLA-антигенов проводилось у 100 больных ИЗСД (50 девочек и 50 мальчиков). На 1-м году жизни ИЗСД развился у 10 детей, в возрасте от 1-3 лет — у 54, 3-6,5 лет — у 36. Средний возраст обследованных составил $5,9 \pm 2,3$ года, возраст к началу заболевания — $2,7 \pm 1,1$ года. Для определения HLA-антигенов использовались сыворотки из коллекции Санкт-Петербургского НИИ гематологии и переливания крови Минздравмедпрома РФ с включением коммерческих сывороток фирм "Boehringer" и "Pel-Freez", а также сывороток из коллекции XI Международного воркшоп по гистосовместимости. В анализе учитывали 59 HLA-антигенов I и II классов: A-, B-, DR-, DQ-локусов. Для типирования по антигенам A- и B-локусов использовали полную суспензию лимфоцитов, по антигенам DR- и DQ-локусов — обогащенную суспензию В-лимфоцитов, полученную методом, основанным на элиминации Е-розеткообразующих клеток с использованием эритроцитов барана, обработанных нейраминидазой. HLA-фенотип устанавливался в стандартном микролимфоцитотоксическом тесте (антигены II класса — в удлиннном тесте). Контролем нормального распределения HLA-антигенов служили результаты типирования 150 здоровых доноров крови, не состоящих в кровном родстве.

Результаты и их обсуждение

При сравнении частот HLA-антигенов у больных раннего возраста и в здоровой популяции выявлено достоверное повышение частот следующих антигенов: A25 (16% против 17,3% в контроле; $p = 0,04$), B8 (36% против 13,3%; $p = 4,4 \cdot 10^{-5}$), B16 (19% против 8,7%; $p = 0,02$), B39 (11% против 2,9%; $p = 0,04$), DR3 (58% против 22%; $p = 1,1 \cdot 10^{-8}$), DR4 (64% против 18%; $p = 1,3 \cdot 10^{-13}$), DRw52 (81% против 58,7%; $p = 0,0002$), DRw53 (65% против 46,7%; $p = 0,05$), DQw2 (51% против 32,7%; $p = 0,006$), DQw3 (82% против 41,3%; $p = 5,8 \cdot 10^{-7}$).

Рис. 1. HLA-маркеры ИЗСД в младшем детском возрасте. а — больные, б — популяция. Одна звездочка — $p < 0,05$, две — $p < 0,0001$, три — $p < 0,00001$.

С меньшей частотой в группе больных ИЗСД встречались HLA B7 (11% против 21,3%; $p = 0,05$), DR2 (14% против 24,7%; $p = 0,05$), DR5 (7% против 22%; $p = 0,01$) и DQw7 (1% против 32%; $p = 1,8 \cdot 10^{-11}$).

Высокая степень достоверности различий в частоте встречаемости HLA-антигенов у больных детей и в популяции, выдержавшая поправку на число исследованных антигенов (p_{cor}), установлена для антигенов B8 ($p_{\text{cor}} = 2,6 \cdot 10^{-3}$), DR3 ($p_{\text{cor}} = 6,3 \cdot 10^{-7}$), DR4 ($p_{\text{cor}} = 7,8 \cdot 10^{-12}$), DR3/DR4 ($p_{\text{cor}} = 1,6 \cdot 10^{-9}$), DQw3 ($p_{\text{cor}} = 3,4 \cdot 10^{-5}$). Эти антигены являются маркерами высокого риска развития ИЗСД в раннем детском возрасте, а DQw7 ($p_{\text{cor}} = 1,1 \cdot 10^{-8}$) — маркером резистентности (рис. 1).

Следует отметить, что полученные маркеры характерны и для детей с более поздним началом диабета, но степень ассоциации с ИЗСД у больных первых лет жизни значительно выше. Это указывает на то, что в более раннем возрасте генетические факторы предрасположенности выступают более рельефно.

Выраженность ассоциации HLA-антигенов с заболеванием определялась по значению относительного риска (RR — Relative Risk), величина которого показывает, во сколько раз больше риск развития болезни при наличии конкретного антигена, чем при его отсутствии. Наиболее выраженная положительная ассоциация обнаружена для гетерозигот DR3/DR4 (RR = 18,0; $p = 2,7 \cdot 10^{-11}$). Наибольшая отрицательная ассоциация с ИЗСД выявлена для антигена DQw7 (RR = 0,02; $p = 1,8 \cdot 10^{-11}$).

Для определения первичности ассоциации HLA-антигенов с заболеванием использовали показатели этиологической (EF) и превентивной (PF) фракций. В результате анализа выявлено, что первично с ИЗСД связан DQw3 (EF = 0,63), а не DR3/DR4 (EF = 0,31). Наибольшие значения превентивной фракции (PF = 0,31) получены для антигена DQw7. Полученные значения этиологической фракции для маркеров предрасположенности и превентивной фракции для маркеров резистентности указывают на первичность связи аллелей DQ-локуса с ИЗСД по сравнению с DR-

Рис. 2. HLA-ассоциации в зависимости от возраста начала ИЗСД у детей.

а - В12; б - DR3; в - DR4; г - DR3/DR4.

локусом, что согласуется с данными молекулярно-биологических исследований [13].

Обследованные больные представляли собой гетерогенную группу в зависимости от пола, возраста начала диабета, характера манифестации заболевания, наследственной отягощенности, тяжести течения, наличия диабетических осложнений. Нами был проведен дополнительный генетический анализ с учетом различий по данным признакам.

Известна роль наследственной предрасположенности в развитии ИЗСД. Проведено сравнение частот HLA-антигенов в 2 группах больных: с наличием у родственников I и II степени родства сахарного диабета и без наследственной отягощенности. В первой группе чаще встречались следующие HLA-антигены: B8, DR3, DR3/DR4, DRw52. Однако различия были статистически недостоверны.

В этиологии ИЗСД большое значение придается вирусной инфекции. При сравнении распределения HLA-антигенов в группе детей, у которых развитию ИЗСД предшествовали вирусные заболевания, с больными, у которых не прослеживалась связь диабета с вирусной инфекцией, достоверные различия частот были найдены для HLA B7 (3,8% против 19,1%; $p < 0,05$) и DRw52 (88,7% против 72,3%; $p < 0,05$). У обследованных детей манифестации диабета чаще всего предшествовали краснуха и ветряная оспа. У перенесших краснуху отмечалась сильная положительная ассоциация с HLA B13 (33,3% против 4,5%; $RR = 10,5$; $EF = 0,3$; $p < 0,01$) и отрицательная - с DQw3 (58,3% против 85,2; $RR = 0,24$; $PF = 0,65$; $p < 0,05$). У детей, перенесших ветряную оспу, достоверно чаще, чем в контроле, встречались антигены DQ1 (70% против 43,8% $RR = 3,0$; $EF = 0,33$; $p < 0,05$), DR1 (45% против 21,3%; $RR = 3,0$; $EF = 0,3$; $p < 0,05$), и B35 (45% против 17,5%; $RR = 3,86$; $EF = 0,33$; $p < 0,05$).

Проведен анализ возможных различий в частоте HLA-антигенов у больных ИЗСД младшего возраста в зависимости от половой принадлежности. У девочек с большей частотой встречался антиген HLA DR4 (74% против 54%; $p < 0,05$).

Известны особенности клинического течения ИЗСД у детей в зависимости от возраста в момент начала заболевания. Чем моложе ребенок, тем острее манифестация, тем чаще отмечаются кетоацидоз и кома при диагнозе, тяжелее течение диабета, меньше частота и продолжительность фазы ремиссии. Нами проведено сравнение частот HLA-антигенов в различных возрастных группах: с началом заболевания на 1-м году жизни, от 1 года до 3 лет и от 3 до 6 лет. Результаты показали, что в первой группе достоверно чаще встречался антиген В12 (40% против 4,4%; $p = 0,003$). У больных с началом ИЗСД от 1 года до 3 лет наиболее выраженная ассоциация установлена с HLA DR3 (68,5%; $RR = 7,7$; $p = 2,9 \cdot 10^{-9}$) и DR3/DR4 (40,7%; $RR = 25,1$; $p = 3,1 \cdot 10^{-11}$) (рис. 2). В целом у детей с дебютом диабета до 3 лет также чаще встречались DR3 (67,2% против 47%; $p < 0,05$) и DR3/DR4 (31,9% против 22,2%; $p = 0,02$).

Анализ распределения HLA-антигенов у детей с быстрым и медленным развитием диабета не выявил достоверных различий.

Среди обследованных больных ИЗСД младшего возраста отмечалась высокая частота (21%) аллергических заболеваний: пищевой и лекарственной аллергии, нейродермита, бронхиальной астмы. Сравнение частот HLA-антигенов у детей с наличием и отсутствием аллергических заболеваний показало, что в первой группе достоверно чаще встречались гетерозиготы DR3/DR4.

Проведенное исследование позволило выявить HLA-маркеры предрасположенности к ИЗСД, которые могут быть перспективны для изучения генетически контролируемых механизмов развития ИЗСД, служить критерием прогноза развития заболевания, указывать на возможные варианты течения диабета в младшем детском возрасте. Доказана иммуногенетическая гетерогенность ИЗСД у детей первых лет жизни.

Выводы

1. HLA-маркерами предрасположенности к развитию ИЗСД в младшем детском возрасте в русской популяции являются антигены DQw3, DR3/DR4, DR4, DR3, B8, а маркером резистентности - DQw7.

2. Выявлена иммуногенетическая гетерогенность ИЗСД, связанная с возрастом манифестации диабета, предшествующей вирусной инфекцией, тяжестью течения заболевания, наличием сопутствующих аллергических заболеваний.

3. Дополнительным маркером ИЗСД у детей 1-го года жизни является антиген В12; при манифестации диабета в возрасте от 1 года до 3 лет наиболее часто встречаются HLA DR3 и DR3/DR4.

4. HLA DR3/DR4 является предвестником тяжелого течения диабета и предрасположенности к аллергическим заболеваниям, В13 указывает на этиологическую связь диабета с краснухой, а DQ1, DR1 и B35 - на связь с вирусом ветряной оспы.

1. Алексеев Л. П., Хаимова И. М., Яздовский В. В. // Вестн. АМН СССР. — 1988. — № 5. — С. 30-38.
2. Яздовский В. В. Система HLA // Гематол. и трансфузиол. — 1991. — № 7. — С. 30-35.
3. Barbosa J., Rich S. S. // Immunogenetics of Endocrine Disorders / Eds N. R. Farid, A. R. Liss. — New York, 1988. — P. 163-202.
4. Fichna P., Rewers M., Sikora J. et al. // Diabetes in the Young: Abstracts Issue 18-th Annual Meeting ISGF. 1992. — P. 36.
5. Karjalainen I., Salmela P., Ilonen I. et al. // New Engl. J. Med. — 1989. — Vol. 320. — P. 881-886.
6. Khalil I., d'Auriol L., Gobet M. et al. // J. clin. Invest. — 1990. — Vol. 85. — P. 1315-1319.
7. Matsunaga M., Seki K., Mineta T., Todd J. A. // J. exp. Med. — 1990. — Vol. 171. — P. 577.
8. Morel P. A., Dorman J. S., Todd J. A. et al. // Proc. nat. Acad. Sci. USA. — 1988. — Vol. 85. — P. 8111-8115.
9. Nerup J., Platz P., Andersen O. O. et al. // Lancet. — 1974. — Vol. 2. — P. 864-866.
10. Soffiati I., Tosu G., Lavarise G. et al. // Diabetes in the Young: Abstract Issue of the 17-th Annual Meeting of ISGD. — 1992. — P. 38.
11. Tiwari J. L., Terasaki P. I. HLA and Disease Associations. — New York; Berlin, 1985.
12. Todd J. A., Mijovic C., Fletcher J. et al. // Nature. — 1990. — Vol. 338. — P. 587.
13. Todd J. A. // Immunol. Today. — 1990. — Vol. 11, N 4. — P. 122-129.
14. Type I diabetes in Italian children under three years old. Italian collaborative multicenter study // Diabetes in the Young: Abstract Issue of the 18-th Annual Meeting of ISGD. 1992. — P. 11.
15. Wagenknecht L. E., Roseman I. M., Herman W. H. // Amer. J. Epidemiol. — 1991. — Vol. 133. — P. 1024-1031.

Поступила 20.12.94

I. V. Osokina, L. N. Scherbacheva, N. B. Lebedev, V. V. Yazdovsky, I. I. Dedov - IMMUNOGENETIC CHARACTERISTICS OF INSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS IN YOUNG CHILDREN

Summary. HLA phenotype was determined in 100 children (50 girls and 50 boys) with insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) aged 5.9 ± 2.3 years, on an average, the mean age by the disease manifestation 2.7 ± 1.1 . Fifty-nine antigens belonging to classes I and II were analyzed. HLA markers of predisposition to IDDM in early childhood were revealed: DQw3 ($P_{\text{cor}} = 3.4 \cdot 10^{-5}$), DR3/DR4 ($P_{\text{cor}} = 1.6 \cdot 10^{-9}$), DR4 ($P_{\text{cor}} = 7.8 \cdot 10^{-12}$), DR3 ($P_{\text{cor}} = 6.3 \cdot 10^{-7}$), B8 ($P_{\text{cor}} = 2.6 \cdot 10^{-7}$), and the resistance marker DQw7 ($P_{\text{cor}} = 1.1 \cdot 10^{-9}$). HLA markers of predisposition to IDDM may hold promise for the study of genetically regulated mechanisms of IDDM development, serve the criteria for the prediction of disease course, and indicate the possible variants of diabetes in early childhood. Immunogenetic heterogeneity of IDDM in young children has been proved. In girls the DR4 antigen is more incident. B12 antigen is the key marker of IDDM in infants aged under 1. If diabetes manifests before the age of 3, the most frequent antigens are DR3 and DR3/4. DR3/4 is the precursor of grave course of diabetes and predisposition to allergic diseases. B13 indicates an etiologic relationship of diabetes with rubella. DQ1, DR1, and B35 point to relationships with varicella.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995

УДК 616.379-008.64-036.2-07:313.13

С. В. Кудрякова, Ю. И. Сунцов, С. Г. Рыжкова

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ОСЛОЖНЕНИЙ САХАРНОГО ДИАБЕТА ПО ДАННЫМ РЕГИСТРА

Лаборатория эпидемиологии сахарного диабета (руководитель — канд. мед. наук Ю. И. Сунцов)
Эндокринологического научного центра (дир. — акад. РАМН И. И. Дедов) РАМН, Москва

Многочисленные клинические и эпидемиологические исследования показали, что смертность среди больных сахарным диабетом (СД) в 2-7 раз выше таковой среди лиц без нарушений углеводного обмена [1, 8, 19]. Высокие показатели смертности среди больных СД объясняются развитием осложнений диабета. Так, 50-75% случаев смерти больных инсулиннезависимым сахарным диабетом (ИНСД) связано с наличием макроангиопатий и в первую очередь с ишемической болезнью сердца (ИБС) [1, 19]. В то же время ведущей причиной смерти больных инсулинзависимым сахарным диабетом (ИЗСД) является хроническая почечная недостаточность как следствие диабетической нефропатии [1, 8].

Известно также, что наличие осложнений СД приводит к быстрой и стойкой утрате трудоспособности больных. У 30% больных ИЗСД и 10-15% больных ИНСД полная потеря зрения связана с диабетической ретинопатией [1]. Примерно у 5% больных СД имеется хроническое поражение стоп ног. Более половины ампутаций нижних конечностей (не связанных с травмой) производится у больных СД [1, 6].

С учетом вышесказанного разработка и активное внедрение современных методов профилак-

тики осложнений СД приобретают первостепенное значение. Однако успешное решение этих задач возможно только при четком представлении о реальной эпидемиологической ситуации в отношении СД и его осложнений.

Цель настоящего исследования — изучить по данным регистра распространенность осложнений среди больных СД в зависимости от типа диабета, его длительности, пола и возраста больных.

Материалы и методы

Регистр СД был сформирован в Ленинском районе Москвы. За основу были взяты все зафиксированные на момент создания регистра случаи СД среди взрослого населения района. На каждого больного была заведена регистрационная карта, в которую вносили фамилию, имя, отчество, адрес, дату рождения, пол больного, год установления диагноза, тип диабета, наличие СД у кровных родственников, антропометрические данные, АД, средние показатели гликемии и глюкозурии за 1 мес, вид терапии СД, наличие осложнений СД, карта заполнялась эндокринологами районных поликлиник. Наличие осложнений СД подтверждалось результатами обследования больных в поликлинике и/или стационаре по месту жительства. Полученные данные вводились в компьютер.

На первом этапе формирования регистра были зарегистрированы все случаи СД в избранном районе за период до 1