

**БОЛДЫРЕВА
МАРГАРИТА НИКОЛАЕВНА**

**HLA (КЛАСС II) И ЕСТЕСТВЕННЫЙ ОТБОР. «ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ» ГЕНОТИП,
ГИПОТЕЗА ПРЕИМУЩЕСТВА «ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ» ГЕТЕРОЗИГОТНОСТИ.**

14.00.36 – аллергология и иммунология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва, 2007 г.

Работа выполнена в ГНЦ «Институт иммунологии ФМБА России»

Научный консультант: доктор медицинских наук, профессор,
Алексеев Л.П.;

Официальные оппоненты: академик РАМН, доктор медицинских наук,
профессор
Сухих Г.Т.;

доктор медицинских наук, профессор
Ярилин А.А.;

доктор медицинских наук, профессор
Певницкий Л.А.

Ведущая организация: Российский Государственный Медицинский
Университет Росздрава

Защита состоится “ 26 ” декабря 2007 года в 14 часов на заседании диссертационного совета Д 208.017.01 в ГНЦ «Институт иммунологии ФМБА России» по адресу: 115478, Москва, Каширское шоссе, дом 24, корп. 2. Факс: (499) 617-10-27.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНЦ «Институт иммунологии ФМБА России».

Автореферат разослан “ ____ ” _____ 2007 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Л.С. Сеславина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Исследования полиморфизма главного комплекса тканевой совместимости человека (HLA) проводятся с середины 60-х годов, когда методами серологического типирования было выявлено, что в разных популяциях определяется разное частотное распределение вариантов HLA антигенов. Первое Международное Рабочее Собрание по изучению HLA (IHWS) состоялось в 1964 году в США. С этого момента в рамках Собрания десятки лабораторий из разных стран мира стали заниматься изучением полиморфизма системы HLA. Эти исследования сопровождались интенсивным международным обменом типизирующими сыворотками, что привело к быстрому накоплению сведений о широчайшем полиморфизме этой системы. В 1972 году пятое Рабочее Собрание уже полностью было посвящено этому направлению.

В 1967 году Amiel J.C. на третьем Рабочем Собрании впервые сообщил об обнаруженной им связи антигенов HLA с развитием болезни Ходжкина. Это сообщение послужило началом развития направления «HLA и болезни». Особенно актуальными эти исследования стали после открытия Цинкернагелем и Догерти [Zinkernagel R.M. and Doherty P.C., 1974] иммунного распознавания вирусных антигенов Т-лимфоцитами «в контексте» белков главного комплекса тканевой совместимости хозяина, в результате которого стало ясно, что гены, кодирующие HLA белки, являются, по сути, генами иммунного ответа, определяя направление процессов, происходящих в иммунной системе. В последующем целый ряд исследователей получили многочисленные доказательства роли HLA в развитии заболеваний, связанных с иммунной системой: инфекционных, аутоиммунных и онкологических [Thorsby E., 1997].

В 80-х годах исследователи обратили внимание на связь антигенов HLA и репродуктивные проблемы. Целый ряд работ был посвящен изучению совпадений по HLA антигенам среди пар с необъяснимым бесплодием [Алексеев Л.П. и соавт. 1980; Collins J.A. et al, 1983; Coulam C.B. et al., 1987; Wilcox A.J. et al., 1988; Creus M. et al., 1998]. В 90-х годах группа датских исследователей во главе с Christiansen O.B. нашла взаимосвязь антигенов HLA класса II и репродуктивными потерями [Christiansen O.B. et al, 1992] у женщин. С тех пор продолжается накопление фактов о роли HLA в процессах репродукции.

Прогрессу в области исследований популяционного полиморфизма системы способствовало открытие К. Mullis в 1983 г полимеразной цепной реакции (ПЦР) и разработка затем на ее основе новых методов и технологий HLA

генотипирования, которые стали широко использоваться зарубежными исследователями системы HLA.

Однако в России до начала 90-х годов практически все исследования полиморфизма системы HLA выполнялись только серологическими методами и касались, главным образом, изучения распределения антигенов I класса, что было связано с отсутствием в России доступных для исследователей качественных типизирующих сывороток к антигенам II класса. Именно поэтому подавляющее большинство отечественных публикаций было посвящено изучению распределения антигенов HLA класса I. Популяционные исследования антигенов HLA были проведены среди народов Сибири и Дальнего Востока [Рычков Ю.Г. и Удина И.Г., 1985; Fevelova V.V., 1990; Дегтярева Е.А. и Пузырев В.П., 1993; Коненков В.И. и соавт., 1993; Сартакова М.Л. и соавт., 1998; Яздовский В.В. и соавт., 1998]. Ряд публикаций касался изучения некоторых финно-угорских народов, проживающих на территории России [Удина И.Г. и Раутян Г.С., 1994; Гусева И.А. и соавт., 1998]. В то же время было очевидно, что популяционное разнообразие населения России, занимающей огромную евразийскую территорию и генетически очень разнообразную, было изучено недостаточно. Кроме того, к моменту начала исследований уже было установлено, что II класс HLA определяет значительную часть генетической предрасположенности к развитию ряда заболеваний, связанных с иммунной системой [Skarvsag S. et al., 1992; Ploski R., et al., 1995; Dessoukey M.W., 1996; Minton E.J., 1997].

В начале 90-х годов сотрудники отдела иммуногенетики (рук. профессор Л.П.Алексеев) ГНЦ Института иммунологии ФМБА России в рамках 11 IHWS выполнили популяционное исследование HLA класса II генотипирующими реагентами, предоставленными организаторами Международного Совещания [Alexeev L.P. et al. 1992].

В 1996г. Трофимов Д.Ю. разработал метод мультипраймерной ПЦР и реагенты для типирования полиморфных генов HLA класса II. Разработка метода и создание генотипирующих реагентов позволили коллективу сотрудников отдела иммуногенетики Института реализовать проведение настоящего исследования.

Цель исследования. Изучить популяционное разнообразие и генетическое родство ряда этнических групп России и стран СНГ на основе типирования генов HLA класса II (DRB1, DQA1, DQB1). Оценить значение генов HLA (класс II) для развития аутоиммунных заболеваний. Предложить и обосновать гипотезу об участии генов HLA (класс II) в естественном отборе.

Задачи исследования.

1. Определить частоты вариантов гена DRB1 и гаплотипа DRB1-DQA-DQB1 в 20 популяционных группах России и стран, граничащих с Россией, определить степень их генетического родства между собой и по отношению к другим народам мира.

2. Определить частоты гена DRB1 в 11 популяционных группах больных сахарным диабетом 1 типа, определить HLA DRB1 маркеры чувствительности и устойчивости к развитию заболевания.

3. Оценить значение генов HLA DRB1 при идиопатическом невынашивании беременности.

4. На основании собственных данных и данных литературы предложить и обосновать гипотезу об участии генов HLA II в естественном отборе на индивидуальном и популяционном уровне.

Научная новизна. Впервые получены данные о частотном распределении вариантов гена DRB1 и гаплотипа DRB1-DQA1-DQB1 в 20 популяционных группах (русские из Архангельской, Костромской, Смоленской, Вологодской областей; белорусы из Витебской, Брестской, Гомельской областей; украинцы из Львовской и Хмельницкой областей, марийцы, удмурты, татары, гагаузы, армяне, ненцы, саамы, казахи, калмыки, тувинцы, буряты), на основании частот вариантов гена DRB1 и гаплотипа DRB1-DQA1-DQB1 определены генетические расстояния между исследованными популяциями, на основании частот вариантов гена DRB1 определены генетические расстояния между исследованными популяциями и популяциями из разных стран мира.

Впервые получены данные о частотном распределении гена DRB1 среди больных сахарным диабетом 1 типа в 11 популяционных группах (русские из Москвы, Архангельской, Вологодской областей и Удмуртии; татары, мари, удмурты, узбеки, тувинцы, калмыки и буряты), определены генетические маркеры предрасположенности и устойчивости к заболеванию по каждой популяции, а также общие маркерные генотипы, ассоциированные с чувствительностью и устойчивостью к развитию сахарного диабета 1 типа.

Впервые получены данные об отрицательном значении гомозиготности по генам DRB1 для репродуктивного успеха у мужчин.

На основании данных полученных в результате проведенных исследований и данных литературы предложена новая концепция «функционального» генотипа, в котором «функционально» гомозиготный генотип может состоять из разных

вариантов гена DRB1, ассоциированных с функционально сходным проявлением и гипотеза преимущества «функциональной» гетерозиготности.

Научно-практическая значимость. Данные о частотном распределении вариантов гена DRB1 и гаплотипа DRB1-DQA1-DQB1 в 20 популяционных группах России и стран, граничащих с Россией, имеют самостоятельное популяционно-генетическое значение. Они могут быть использованы также как база данных для региональных, федеральных и международных популяционных генетических исследований, а также в качестве контрольных для исследований по проблеме «HLA и болезни» в соответствующих регионах.

Полученные данные о частотном распределении вариантов гена DRB1 среди жителей г.Москвы и Удмуртии, принадлежащих к русскому этносу, могут быть использованы в качестве контрольных для исследований по проблеме «HLA и болезни» в соответствующих регионах.

Данные о степени генетического родства между популяциями, можно использовать для оптимизации банка неродственных доноров-добровольцев гемопоэтических стволовых клеток по количественному и популяционному составу, а также для оптимизации подбора пар донор-реципиент при органных трансплантациях.

Новый подход к оценке генетической предрасположенности к аутоиммунным заболеваниям на основании оценки DRB1 генотипа можно использовать для дифференциальной диагностики заболеваний, ассоциированных с иммунной системой и генетического прогнозирования в семьях больных аутоиммунными заболеваниями.

Сформулированная концепция «функционального» генотипа и гипотеза «функциональной» гетерозиготности могут служить вкладом в теорию иммуногенетики и иммунологии.

Публикации по теме диссертации. По результатам диссертационного исследования опубликовано 73 печатных работы, в том числе 22 статьи в центральных российских журналах, 40 публикаций в иностранных журналах. Результаты исследования были представлены на 7 Европейских конференциях по гистосовместимости (Будапешт 1997; Страсбург 1998; Крит 1999; Монпелье 2000, Гранада 2001, Страсбург 2002, Баден-Баден 2003) и 3 конгрессах РААКИ в 2001, 2002, 2007 гг.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 225 страницах машинописного текста и состоит из введения, описания материалов и методов и 6

глав результатов собственных исследований с анализом литературных данных и выводов. Работа содержит 29 таблиц и 11 рисунков. Библиография состоит из 40 отечественных и 485 зарубежных источников.

Материалы и методы исследования

В ходе работы были обследованы 2525 здоровых (не имеющих тяжелых хронических заболеваний и жалоб на момент обследования) взрослых, не связанных кровным родством представители двадцати этнических групп, проживающих в различных регионах России, Украины, Белоруссии и Казахстана. Исследования проводились сотрудниками отдела иммуногенетики в период 1994 - 2004 год.

Образцы крови, которые использовались для выполнения исследования, были получены из разных источников: биоматериал от русских из Смоленской области (n=156), белорусов из Витебской (n=70), Брестской (n=105), Гомельской (n=100) областей, украинцев из Хмельницкой (n=138) и Львовской (102) областей, марийцев (202) из республики Марий Эл, гагаузов (n=225) из республики Молдова, полученный в результате этнографических и медико-генетических экспедиций, предоставила д.б.н. Балановская Е.В. (Медико-генетический научный центр РАМН); биоматериал, от большеземельских ненцев (n=92 - Ненецкий Автономный Округ), кольских саамов (n=107, п.Ловозеро, Мурманская область), русских из Архангельской области (n=81), полученный в ходе медико-генетических экспедиций, предоставлен д.м.н. Евсеевой И.В. (Северный госмедуниверситет, г.Архангельск), биоматериал от удмуртов (n=202), собранный в различных районах республики Удмуртия предоставили к.м.н. Поздеева О.С. и Ганичева Л.Л. (Ижевская государственная медакадемия); биоматериал от русских из Костромской области (n=126) предоставлен Целинской И.Н. (Костромская областная больница); биоматериал от русских из Вологодской области (n=121) предоставлен Кашиным М.Н. (Вологодская областная б-ца); биоматериал от татар (потомков переселенных в годы отечественной войны из Казани, n=87) был собран в Кировской области и предоставлен проф.Зайцевой Г.А. (Кировский НИИ гематологии и переливания крови); биоматериал от тувинцев (n=164) из разных районов республика Тыва был предоставлен д.м.н. Осокиной И.В. (Институт медицинских проблем Севера СО РАМН).

Сотрудниками Института иммунологии ФМБА России был собран биоматериал от казахов (Актюбинская область республики Казахстан, n=141),

бурят (Гусино-Озерского района Бурятии, n=87), калмыков (из разных районов республики Калмыкия, n=136) и армян (республика Армения, n=83).

В рамках исследований по направлению «HLA и репродукция» были обследованы 240 супружеских пар с повторными прерываниями беременности и неудачными ЭКО (экстракорпоральное оплодотворение), проходившими обследование в Центре иммунологии репродукции (98 пар) и лаборатории клинической цитогенетики Медико-генетического научного центра РАМН (142 пары). Контролем служили 74 пары, имеющие детей, обратившиеся в Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН по поводу установления отцовства, которое было подтверждено, и 300 здоровых доноров крови (97 женщин и 203 мужчин) из г. Москвы.

Совместно с сотрудниками Эндокринологического научного центра РАМН были обследованы 6 популяционных групп больных сахарным диабетом 1 типа и соответствующие им контрольные группы, представлявшие собой случайным образом отобранных, здоровых на момент исследования, лиц различной этнической принадлежности: русские из г.Москвы (79 больных СД1/ 300 контроль), татары (96/87), мари (28/202), калмыки (13/136), буряты (25/87), узбеки (69/109). Биоматериал от больных сахарным диабетом 1 типа русских из Архангельской области (48/81) предоставлен д.м.н. Евсеевой И.В. (Северный госмедуниверситет, г.Архангельск); русских из Вологодской области (69/121) предоставлен Кашиным М.Н. (Вологодская областная б-ца); русских из Удмуртии (54/159) и удмуртов (52/101) - Ижевской государственной медакадемии (Ганичева Л.Л.), тувинцев (15/164) - Институтом медицинских проблем Севера СО РАМН (Осокина И.В.).

Геномную ДНК выделяли из периферической крови методом высаливания по стандартной процедуре [Miller S.A. et al., 1988]. HLA генотипирование образцов ДНК проводили методом мультипраймерной ПЦР [Трофимов Д.Ю., 1996]. Для типирования генов HLA класса II (DRB1, DQA1, DQB1) использовали наборы HLA-ДНК-Тех (фирма «НПФ ДНК-Технология», Россия). Амплификацию проводили на многоканальном термоциклере "MC2" («НПФ ДНК-Технология», Москва).

Статистическая обработка данных включала: определение частот гена DRB1 и гаплотипов DRB1-DQA1-DQB1 методом максимального правдоподобия (maximum-likelihood). Для расчетов использовали компьютерную программу «Арлекин»[Schneider S. et al., 1966], версия 2.1 (URL:<http://anthro.unige.ch/arlequin>). Расчет генетических расстояний [Nei M., 1972] на основании генных частот

проводили при помощи компьютерной программы «DJgenetic», версия 0.03 (Серегин Ю.А., Балановская Е.В.). Графически результаты кластерного анализа представлены в виде дендрограмм и графиков многомерного шкалирования по двум осям [Дерябин В.Е., 1971], построение которых проводили с помощью компьютерной программы «Статистика» (версия 6.0). Тестирование на нейтральность отбора по Ewens-Watterson для локуса DRB1 было проведено при помощи компьютерной программы «Арлекин».

Относительный риск (OR) развития/устойчивости к сахарному диабету 1 типа вычисляли по формуле В. Woolf [Певницкий Л.А., 1998]. Этот показатель означает, во сколько раз чаще встречается заболевание при наличии в генотипе индивидуумов какого-либо варианта HLA генов по сравнению с частотой заболевания у индивидуумов без этого HLA варианта. Значения OR большие, чем 1, свидетельствуют о том, что конкретный вариант DRB1 гена ассоциирован с развитием заболевания, причем, чем больше величина относительного риска, тем ассоциация более выражена. Значения OR, меньшие, чем 1, свидетельствуют об ассоциации вариантов HLA генов с устойчивостью к развитию заболевания, причем, чем меньше величина относительного риска, тем ассоциация того или иного варианта гена DRB1 с устойчивостью к развитию заболевания более выражена. Значения OR, близкие к 1, свидетельствует об отсутствии ассоциаций.

Статистическую достоверность значений OR определяли по точному двустороннему критерию Фишера без корректировки на количество аллелей [Певницкий Л.А., 1998].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Полиморфизм HLA II и популяционные исследования

Исследование генетического родства 20 популяций России и стран СНГ на основании полиморфизма гена HLA II DRB1 и гаплотипов DRB1-DQA1-DQB1. Вычисленные частоты вариантов гена DRB1 и трехлокусных гаплотипов DRB1-DQA1-DQB1 были использованы для расчета генетических расстояний между популяциями [Болдырева М.Н. и соавт., 2005, 2006(1), 2006(2)]. Результаты кластерного анализа представлены на рисунках 1, 2, 3, в виде дендрограмм и двухмерного графика многомерного шкалирования: на рис.1 – дендрограмма, построенная на основе частот вариантов только гена DRB1, на рис.2 - на основании частот вариантов гаплотипов трех генов - DRB1, DQA1 и DQB1.

На обеих дендрограммах (рис.1,2) все исследованные популяционные группы образовали три крупных кластера. Один кластер образовали 8 популяций, проживающие на территориях, относящихся к центральной и южной частям Восточной Европы: три группы белорусов (из Гомельской, Брестской и Витебской областей), две группы украинцев (из Львовской и Хмельницкой областей), русские из Смоленской области, гагаузы и армяне.

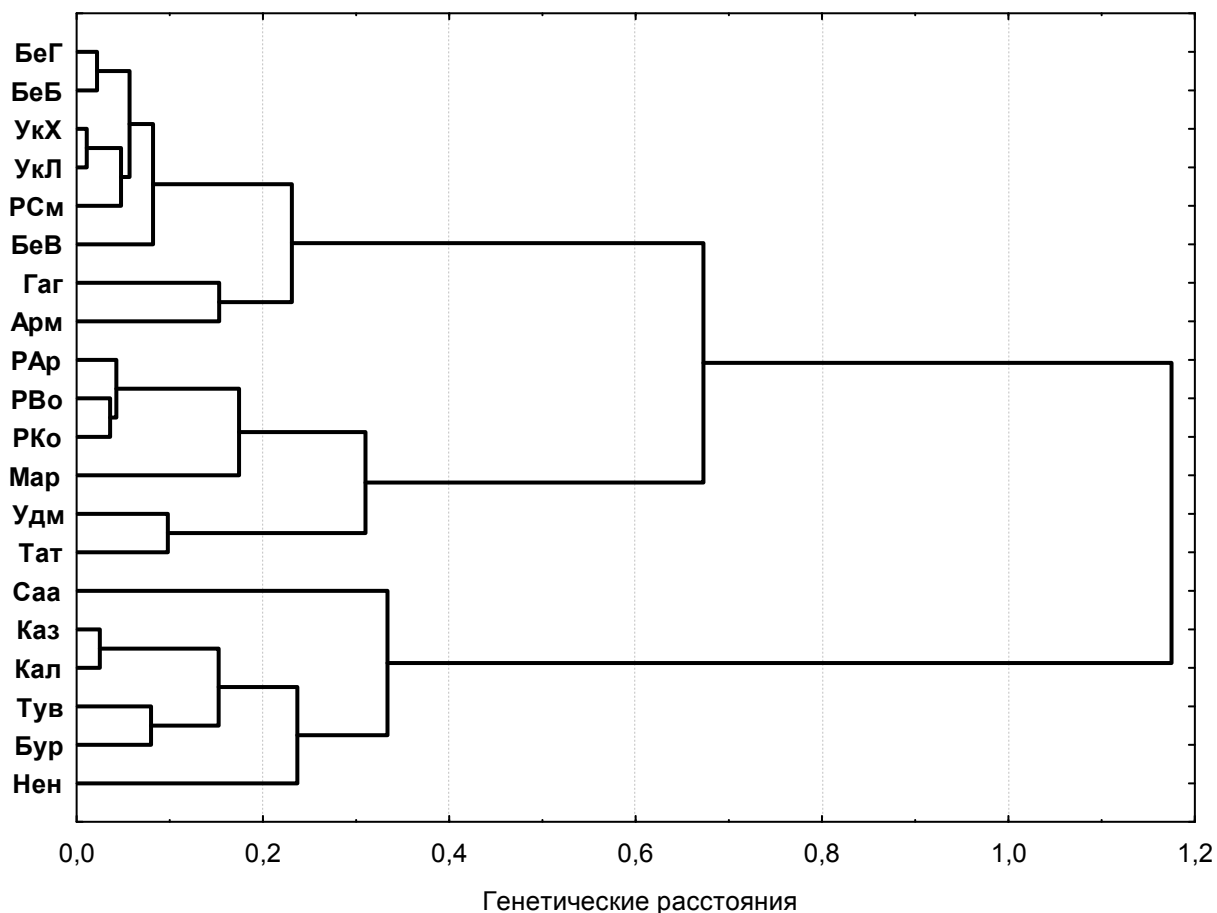


Рис.1. Дендрограмма генетических расстояний, построенная на основании частот гена DRB1- для 20 популяций России и стран СНГ. РАр – русские из Архангельской обл., РКо – русские из Костромской обл., РСм – русские из Смоленской обл., РВо – русские из Вологодской обл., БеВ – белорусы из Витебской обл., БеБ – белорусы из Брестской обл., БеГ – белорусы из Гомельской обл., УкЛ – украинцы из Львовской обл., УкХ – украинцы из Хмельницкой обл., Мар – марийцы, Удм – удмурты, Тат – татары, Гаг – гагаузы, Арм – армяне, Нен – ненцы, Саа – саамы, Каз – казахи, Кал – калмыки, Тув – тувинцы, Бур – буряты.

На обеих дендрограммах графическое положение украинцев из Хмельницкой и Львовской областей и русских из Смоленской области было сходным. Белорусы из южных областей республики (Гомельская и Брестская) оказались генетически близкими друг другу. Генетически близкими между собой оказались также и украинцы из центральной (Хмельницкая область) и западной частей (Львовская область) страны. Положение русских из Смоленской области

на обеих дендрограммах также оказалось более близким к исследованным украинским популяционным группам, чем к белорусским.

В то же время положение белорусов с севера республики (Витебская область) на двух дендрограммах различается. На дендрограмме, построенной на основе частот гена DRB1 (Рис.1) эта группа белорусов не вошла в один кластер с белорусами из южных областей (Брестская и Гомельская) страны, в то время как на дендрограмме, построенной на основе частот гаплотипов DRB1-DQA1-DQB1 (рис.2), все три группы белорусов образовали единый «белорусский» кластер.

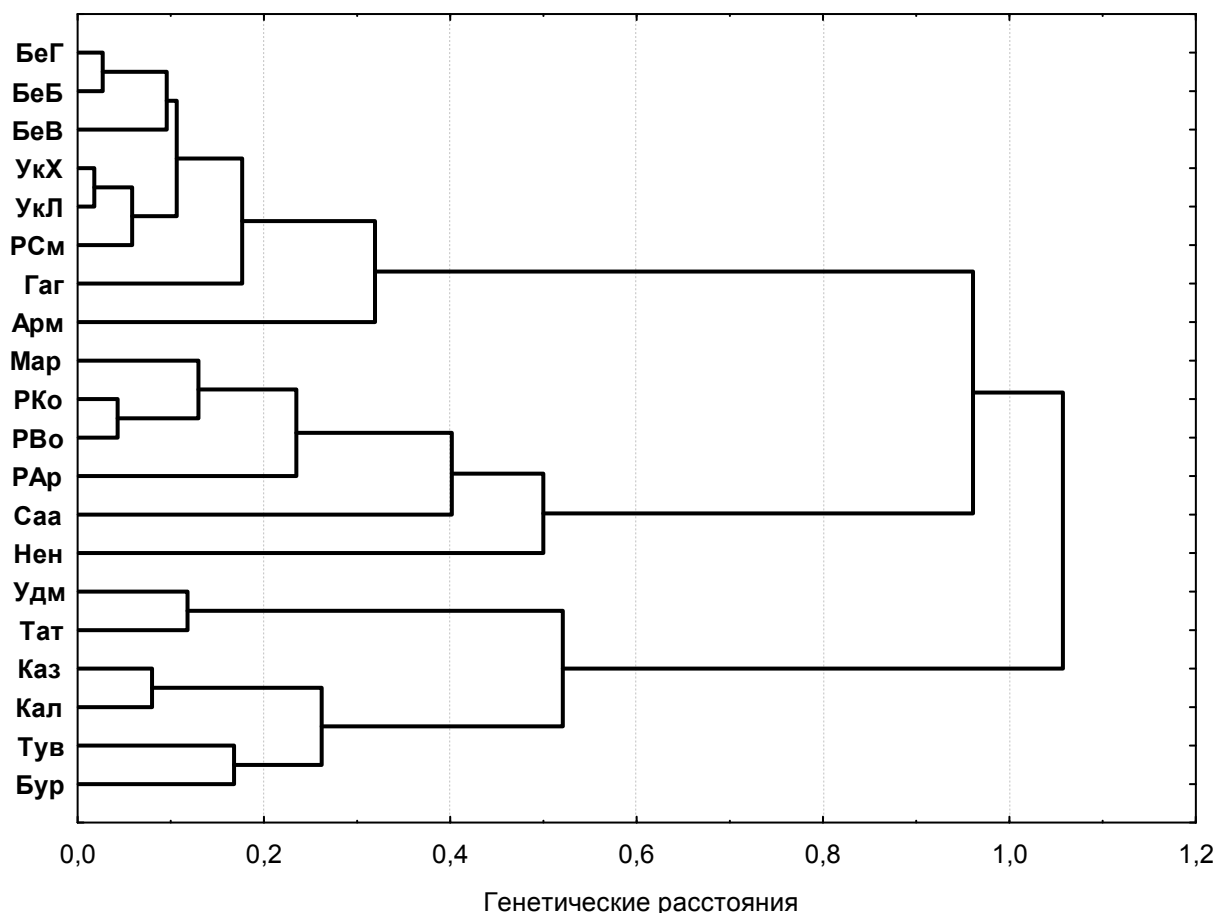


Рис.2 Дендрограмма генетических расстояний, построенная на основании частот DRB1-DQA1-DQB1 гаплотипов для 20 популяций России и стран СНГ. РАр – русские из Архангельской обл., РКo – русские из Костромской обл., РСм – русские из Смоленской обл., РВо – русские из Вологодской обл., БеВ – белорусы из Витебской обл., БеБ – белорусы из Брестской обл., БеГ – белорусы из Гомельской обл., УкЛ – украинцы из Львовской обл., УкХ – украинцы из Хмельницкой обл., Мар – марийцы, Удм – удмурты, Тат – татары, Гаг – гагаузы, Арм – армяне, Нен – ненцы, Саа – саамы, Каз – казахи, Кал – калмыки, Тув – тувинцы, Бур – буряты.

Разное положение занимают на двух дендрограммах гагаузы и армяне, генетически сильно отличающиеся как между собой, так и от славянских популяций. Если на дендрограмме, построенной на основе частот гена DRB1 (рис.1) эти две популяционные группы образуют отдельный кластер, то на дендрограмме, построенной на основе частот гаплотипов DRB1-DQA1-DQB1

(рис.2), гагаузы и армяне последовательно «примыкают» к кластеру «славянских» популяций.

Следующий кластер образовали популяции, проживающие в северном и северо-западном регионах европейской части России. Однако оказалось, что дендрограммы, построенные на основе частот вариантов гена DRB1 (рис.1) и DRB1-DQA1-DQB1 гаплотипов (рис.2) несколько различаются. Русские из Костромской и Вологодской областей по обеим дендрограммам являются наиболее близкими друг другу популяционными группами. Наиболее близкими этим двум группам русских по дендрограмме гена DRB1 (рис.1) являются русские из Архангельской области, а затем уже марийцы. По дендрограмме, построенной на основе частот гаплотипов DRB1-DQA1-DQB1 (рис.2), генетически более близкими русским из Костромской и Вологодской областей являются марийцы, а затем уже русские из Архангельской области.

Еще одно отличие двух дендрограмм касается удмуртов и татар, образовавших отдельный кластер. Если на дендрограмме гена DRB1 (рис 1.) этот кластер примыкает к популяциям, северо-западных областей России, то на дендрограмме, построенной на основе частот гаплотипа DRB1-DQA1-DQB1 (рис 2) этот кластер уже примыкает к популяциям с азиатским генофондом (казахи, калмыки, тувинцы и буряты). Однако в обоих случаях кластер удмуртов и татар довольно сильно отличается от большинства популяций, входящих с ними в более крупный кластер. Это позволяет предположить, что удмурты и татары занимают промежуточное положение между европейским и азиатским генофондом. Следует подчеркнуть, что удмурты и татары между собой также заметно различаются (рис.1,2).

Большеземельские ненцы и кольские саамы, на основе частот гаплотипа DRB1-DQA1-DQB1 (рис 2) вошли в один кластер с европеоидным популяциям севера и северо-запада восточной Европы, в то же время сильно от них отличаясь. На дендрограмме, построенной на основе частот гена DRB1 (рис 1), ненцы и саамы оказались уже в одном кластере с популяциями с выраженным азиатским генофондом (казахи, калмыки, тувинцы, буряты), также сильно от них отличаясь (особенно саамы). Полученный результат позволяет предположить наличие в генофонде ненцев и саамов генов как северо-европейского, так и азиатского происхождения.

Взаиморасположение популяций азиатского происхождения, составляющих основу третьего кластера на обеих дендрограммах (рис.1,2) практически не

различается. Казахи и калмыки, а также буряты и тувинцы оказались попарно генетически близкими друг другу популяциями. Но величина генетических различий между перечисленными группами на дендрограмме гаплотипов DRB1-DQA1-DQB1 (рис.2) была более выражена по сравнению с дендрограммой на основе частот гена DRB1 (рис.1).

Взаиморасположение исследованных 20 популяций, на двухмерных графиках многомерного шкалирования, построенных на основании частот гена DRB1 и DRB1-DQA1-DQB1 принципиально не отличалось от их положения на соответствующих дендрограммах.

Исследование генетического родства 20 исследованных популяций и популяций из разных стран мира на основании полиморфизма гена HLA II DRB1. Для сравнения с исследованными популяционными группами из доступных литературных источников были выбраны литературные данные по частотам гена DRB1 в популяциях, представляющих, насколько это возможно, коренное население различных стран Европы, Азии, Австралии, Новой Зеландии и Америки. Европейское население представлено жителями Норвегии [Капустин С.И.,1998], Оркнейских островов, Уэльса, Северной Ирландии, Англии, Дании, Финляндии, северной Германии, Швеции, Бельгии, Австрии, юго-восточной Франции, Швейцарии, Чехии, Венгрии, Хорватии, Болгарии, Италии, о.Сардиния, Греции [Terasaki P.I., Gjertson D.W., 1997]. Кроме того, были использованы данные по частотам вариантов гена DRB1 у евреев из Израиля, жителей Японии, Кореи, Южного Китая, Тайваня, Таиланда, а также аборигенов Австралии, маори, коренных жителей Новой Зеландии, индейцев из Аргентины, Бразилии, Мексики, эскимосов Гренландии [Terasaki P.I., Gjertson D.W., 1997]. Результаты этого анализа в виде графика многомерного шкалирования представлены на рисунке 3. [Болдырева М.Н. и соавт. 2006(2)]. Плотное «ядро», состоящее из большинства взятых в анализ европейских популяций, вытянуто с юга на север. К этому «европейскому ядру» с одной стороны примыкают удмурты, татары и мари – европеоиды с примесью уралоидного компонента, причем у марийцев в большей мере, чем у удмуртов и татар, проявляется и присутствие «угро-финского» компонента.

Как следует из данных, представленных на рис.3, из исследованных азиатских популяций России и стран СНГ ближе всего к европейцам оказались казахи и калмыки. Основу генофонда тувинцев и, особенно, бурят составляют гены центрально-азиатского происхождения.

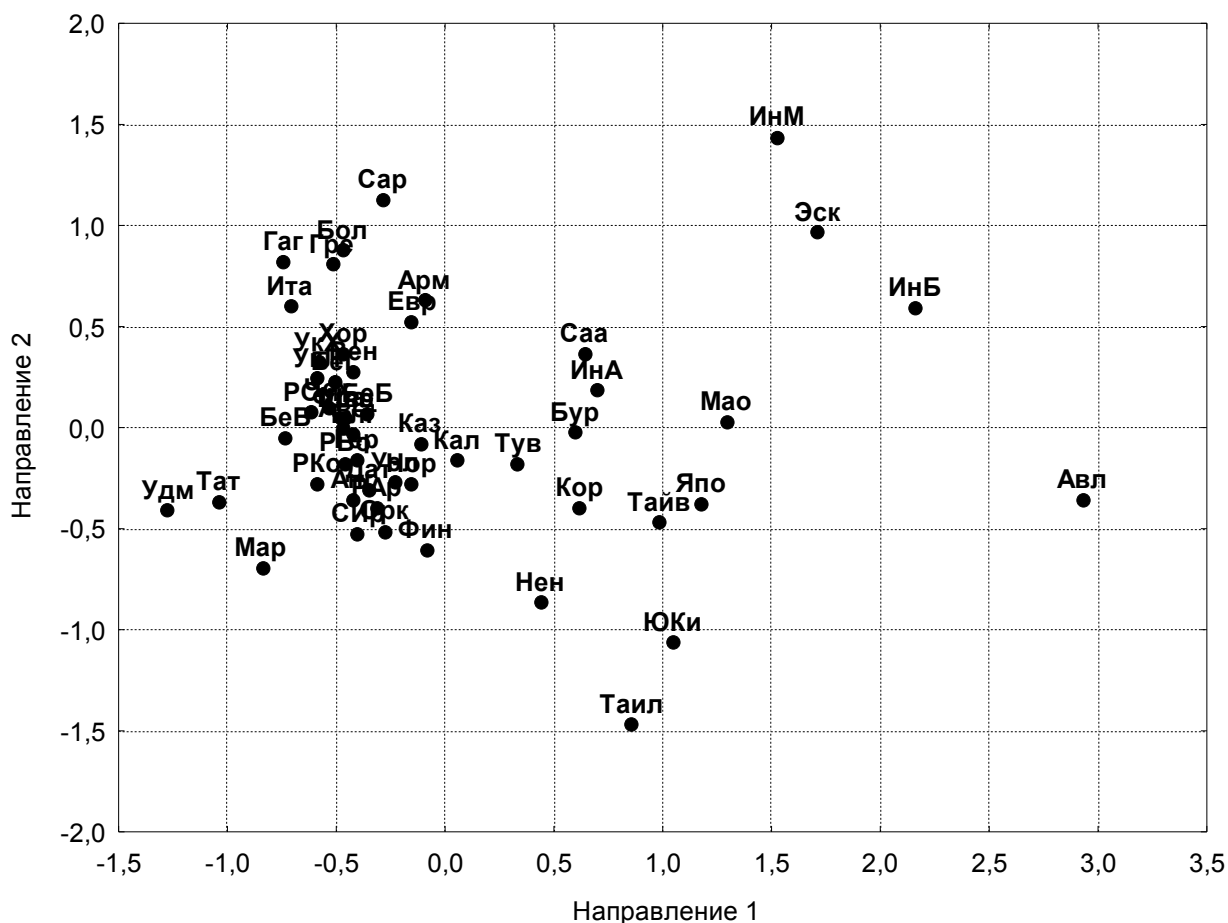


Рис 3. Расположение 20 исследованных популяций России, стран СНГ и ряда стран Евразии, Австралии, Новой Зеландии, Америки в рамках многомерного шкалирования на основе генетических расстояний по частотам гена DRB1. РАр – русские из Архангельской обл., РКо – русские из Костромской обл., РСм – русские из Смоленской обл., РВо – русские из Вологодской обл., БеВ – белорусы из Витебской обл., БеБ – белорусы из Брестской обл., БеГ – белорусы из Гомельской обл., УкЛ – украинцы из Львовской обл., УкХ – украинцы из Хмельницкой обл., Мар – марийцы, Удм – удмурты, Тат – татары, Гаг – гагаузы, Арм – армяне, Нен – ненцы, Саа – саамы, Каз – казахи, Кал – калмыки, Тув – тувинцы, Бур – буряты, Сар – жители о.Сардиния, Гр – греки, Бол – болгары, Ита – итальянцы, Гаг – гагаузы, Евр – евреи, Нор – норвежцы, Орк – оркнейцы, Уэл – уэльсцы, СИр – североирландцы, Анг – англичане, Фин – финны, Нем – немцы, Дат – датчане, Чех – чехи, Блг – бельгийцы, Авс – австрийцы, Фра – французы, Шве – шведы, Швц – швейцарцы, Вен – венгры, Хор – хорваты, Таил – тайландцы, Тайв – китайцы из Тайваня, ЮКит – китайцы из южного Китая, Кор – корейцы, Япо – японцы, ИНА – индейцы из Аргентины, ИнМ – индейцы из Мексики, ИнБ – индейцы из Бразилии, Эск – эскимосы Гренландии, Авл – аборигены Австралии, Мао – маори из Новой Зеландии.

Особенно удивительно, что саамы, живущие на Кольском полуострове, оказались наиболее близки к индейцам из Аргентины и бурятам. Положение ненцев на графике многомерного шкалирования с одной стороны может свидетельствовать о своеобразии указанной популяционной группы, сочетающей в себе «северо-европейский» генофонд и вариантов генов азиатского происхождения, а с другой - о недостаточности сведений об HLA генетическом профиле различных популяционных групп, в том числе и нашей страны. Эти

пробелы могут искажать взаиморасположение популяций и не позволяют более определенно судить об их происхождении и генетическом родстве.

Таким образом, взаимоположение 20 изученных популяций относительно друг друга и относительно разных популяций мира на графиках многомерного шкалирования и дендрограммах, построенных на основании расчета генетических расстояний по частотам вариантов гена DRB1 и гаплотипа DRB1-DQA1-DQB1, адекватно отражают их этногенез и географическое взаиморасположение. Это подтверждает возможность использования и отдельных генов HLA класса II, в частности наиболее полиморфного гена DRB1, и гаплотипов, включающих несколько генов, в частности DRB1-DQA1-DQB1, для изучения генетической истории формирования различных народов. Основные генетические различия между исследованными популяциями улавливаются уже при использовании только гена DRB1, хотя исследование DRB1-DQA1-DQB1 гаплотипов, позволяет выявить более тонкие особенности популяционных групп, что предпочтительнее для генетического анализа. Такой вывод совпадает с мнением Begovich A.V. et al. [2001], который считает, что гаплотипы генов HLA являются «подразделением» аллелей, увеличивающим полиморфизм HLA., что совпадает с современными представлениями о том, что беспрецедентный полиморфизм генов HLA, в частности генов II класса, предоставляет уникальные возможности для исследователей в области популяционной геномики [Erlich H.A. et al., 2006].

Есть ли селекция гена DRB1 в обследованных группах?

Данные теста на нейтральность отбора [Ewens W.J., 1972; Watterson G.A., 1978] свидетельствуют о том, что в подавляющем большинстве исследованных популяций наблюдаемая гомозиготность по специфичностям гена DRB1 была существенно ниже, чем ожидаемая, что свидетельствует о наличии балансирующей селекции по отношению к гену DRB1 и совпадает с выводами авторов исследований, выполненных на разных популяциях [Klitz W; et al., 1986; Salamon H, et al., 1999; Tiercy J.M. et al., 1992; Mack S.J. et al., 2000 Tsai Y. et al., 2006 Luo M. et al., 2006]. Исключение составляют только саамы и татары, у которых значения ожидаемой и наблюдаемой гомозиготности достоверно не различались, что говорит скорее о нейтральности отбора в отношении указанных групп. Подобные результаты также получены исследователями относительно разных популяций [Tsai Y. et al., 2006 Luo M. et al., 2006].

Заключение. На основании проведенного анализа данных типирования исследованных популяционных групп по вариантам генов HLA класса II можно

заклучить, что ген DRB1, и, особенно, трехлокусные гаплотипы DRB1-DQA1-DQB1 адекватно отражают этногеографическое разморасположение исследованных популяционных групп. Большая часть исследованных популяций находится под влиянием балансирующей селекции, которая приводит к снижению количества гомозигот, в частности по гену DRB1 и, соответственно по всем сцепленным с ним генам II класса HLA.

Селекция может осуществляться через функцию генов HLA, как генов иммунного ответа. Проверка этой гипотезы предстоит в последующих разделах.

2. Естественный отбор и HLA II

Выше были представлены данные, подтверждающие возможность использования полиморфных генов HLA класса II для исследования генетического родства популяций. С другой стороны известно, гены HLA класса II – это гены иммунного ответа, непосредственно участвующие в его развитии, прежде всего на инфекционные агенты [Хаитов Р.М., 2005]. Установлено также, что гены HLA класса II имеют выраженную ассоциацию с развитием аутоиммунных заболеваний [Thorsby E., 1997; Дедов И.И. и соавт., 2002] и имеют отношение к развитию ряда патологий, приводящих к нарушению репродукции [Алексеев Л.П. и соавт. 1986; Christiansen O.B., et al, 1992]. Эти факты говорят о том, что гены HLA II класса должны непосредственно подвергаться действию естественного отбора

Инфекции. Открытие Цинкернагелем и Догерти [Zinkernagel R.M. and Doherty P.C., 1974] иммунного распознавания вирусных антигенов Т-лимфоцитами «в контексте» белков главного комплекса тканевой совместимости хозяина, за которое им была присуждена Нобелевская премия, позволило редположить, что генетические различия индивидуумов в локусе, кодирующем MHC белки, могут влиять на интенсивность и эффективность ответа хозяина на инфекцию [Lipsitch M. et al, 2003], определяя тем самым, результат этого взаимодействия. Таким образом, гены HLA II класса, являясь генами иммунного ответа, продукты которых представляют чужеродные пептиды клеткам иммунной системы должны находиться под давлением естественного отбора.

Усилия многих лабораторий были направлены на изучение возможных точек приложения естественного отбора, касающегося действия инфекционного окружения. В ряде исследований содержатся результаты об ассоциациях разных вариантов генов HLA с исходом инфекций противоречащие друг другу [Lockett S.F., et al., 2001; Ng M.N. et al., 2004; Roe D.L. et al., 2000; Thursz M. et al., 1999].

Это свидетельствует как о сложности предмета исследований, так и недостаточности наших знаний о процессах, которые могут происходить в результате действия инфекционных агентов.

В таблице 1 приведены данные о вариантах гена DRB1, ассоциированных с развитием и устойчивостью (или самостоятельным очищением от патогена) к некоторым инфекциям.

Таблица 1. DR маркеры чувствительности и устойчивости к разным инфекционным заболеваниям.

Заболевание	Чувствительность	Самостоятельное очищение от патогена, резистентность	Ссылка
Гепатит В	DRB1*11(5)	-	Thio C.L. et al., 1999
	DR2, DR11(5)	-	Park M.H. et al., 2003
Гепатит С	-	DRB1*11(5)	Minton E.J. et al., 1997
	-	DRB1*04	Cramp M.E. et al., 1998
	DRB1*07	DRB1*11(5)	Thursz M. et al., 1999
	-	DRB1*01	Barrett S. et al., 1999, 2001
	DRB1*15(2) DRB1*07	-	Wawrzynowicz-Syczewska M. et al., 2000
	DRB1*07	DRB1*01	Fanning L.J. et al., 2000
	-	DRB1*01, *03	Mc Kiernan S.M. et al., 2004
HIV инфекция	-	DRB1*01	MacDonald K.S. et al., 2000
	DRB1*04	-	Roe D.L. et al., 2000
	-	DR5	Lockett S.F. et al., 2001
	DRB1*13	DRB1*01	Motta P. et al., 2002
Лепра	DR2	-	Van Eden W. et al., 1980
	DR2	-	Dessoukey M.W. et al., 1996
Туберкулез	DRB1*16(2)	DRB1*13(6)	Dubaniewicz A. et al., 2000
	DR6	-	Takahashi M. et al., 2000
	DRB1*07, *15(2)	-	Naik E. et al., 2003
	DRB1*07	-	Amirzargar A.A. et al., 2004
Хламидиоз	DRB1*15(2)	-	Cohen C.R. et al., 2003
Гистоплазмоз	DR15(2)	-	Dabil H. et al., 2003
HPV-инфекция	DRB1*16(2)	-	Cervantes J. et al., 2003
	DRB1*15(2)	-	Matsumoto K. et al., 2003
Вирус Коксаки	DR2	DR3, DR4	Sadeharju K. et al., 2003

Подобные данные имеются в литературе и в отношении ассоциаций вариантов гена DRB1 с эффективным или неэффективным ответом на вакцинацию [Hayney M.S. et al, 1996; Caillat-Zucman S. et al, 1998; Hopkins W.J. et al,

1999; Nardin E.H. et al, 2000; Vidan-Jeras B. et al, 2000; Poland G.A. et al, 2001; Qian Y. et al, 2002; Thio C.L. et al, 2003; Wang C. et al, 2004].

Репродукция. Сексуальное предпочтение. Значение генов главного комплекса тканевой совместимости (МНС) в выборе сексуального партнера у млекопитающих было обнаружено в 70-х годах [Yamazaki K., et al, 1975]. И в последующем, основная масса работ, посвященных поиску доказательств неслучайности выбора полового партнера, была выполнена на животных. Так, в работе Hedrick P.W. было установлено, что самки мышей, при наличии возможности выбора, предпочитают самцов, отличающихся от них по МНС, что фактически приводит к уменьшению пропорции гомозигот среди потомства, усиливая тем самым его генетический полиморфизм [Hedrick P.W., 1992]. Установлено, что у животных уникальность индивидуального запаха, с которой связывают индивидуальное распознавание, выбор партнера, «гнездовое» поведение и селективный блок беременности связана с генами МНС [Jacob S., et al, 2002]. Сексуальный выбор, связанный с генами МНС, приводит к рождению потомства, преимущественно гетерозиготного по генам МНС. Это может не только усиливать резистентность к инфекциям, но и препятствовать инбридингу в целом. Именно предотвращение инбридинга может быть наиболее важной функцией МНС-ассоциированного выбора полового партнера и основным селективным механизмом, сохраняющим разнообразие МНС генов у видов с подобными возможностями. [Potts W.K. et al, 1994].

У людей влияние социально-культурной среды на процесс выбора полового партнера имеет существенное значение, поэтому исследование биологической роли системы HLA в вопросах, связанных с сексуальным предпочтением, затруднено. Тем не менее, существует ряд исследований, посвященных этой теме. Так, в работе Jacob S. et al. (2002) было показано, что женщины могут различать запахи мужчин (нравится/не нравится), отличающихся друг от друга уже по одному аллелю HLA. Доказательства направленности в выборе сексуального партнера были получены и в серии работ, выполненных в религиозной секте хатеритов (европеиды). Направленность в выборе сексуального партнера проявлялась в том, что только количество гомозиготных по генам HLA индивидуумов было ниже математически ожидаемого (в соответствии с менделевским распределением). В отношении трех других полиморфных генов, расположенных на других хромосомах, подобного эффекта отмечено не было [Kostyu D.D., et al, 1993; Robertson A., et al, 1999]. Было установлено также, что

беременность у женщин из секты хатеритов, совпадавших с партнером по вариантам гена DRB1, что могло привести к увеличению гомозиготности потомства, наступала через более длительные интервалы времени по сравнению с парами, не совпадавшими по гену DRB1 [Ober C., et al, 1992]. Это могло служить причиной меньшего количества детей в таких семьях [Ober C., et al, 1988]. Подобные результаты, подтверждающие неслучайный выбор сексуального партнера были получены на племенах южноамериканских индейцев [Hedrick P.W., Black F.L., 1997].

Невынашивание беременности и бесплодие неясного генеза.

Исследования, свидетельствующие о том, что HLA антигены могут влиять на развитие плода и последующий исход беременности, были начаты в 60-х годах. В течение 60-70х годов были получены данные о том, что зародыши с отцовскими HLA антигенами, отличающимися от материнских HLA антигенов (гистонесовместимая беременность) могут иметь селективное преимущество в выживании по сравнению с зародышами, унаследовавшими отцовские HLA антигены, не отличающиеся от материнских антигенов (гистосовместимая беременность) [Billington W.D., 1964; Clarke B., Kirby D.R.S., 1966; Kirby D.R., 1970; Beer A.E. and Billingham R.E., 1976; Алексеев Л.П. и соавт., 1980; Алексеев Л.П. и соавт., 1986]. Предполагалось, что гистосовместимая беременность не распознается материнской иммунной системой или материнский иммунный ответ не соответствует физиологическому, что может приводить к потере плода. Таким образом, было сделано предположение, что гистонесовместимая беременность является необходимым условием для успешной имплантации и роста плода, а повторные аборт могут быть связаны с «избыточным» сходством партнеров по антигенам HLA [Christiansen O.V., 1996]. Однако, в большинстве более поздних работ, в которых были использованы методы ДНК типирования, увеличения совпадений по генам HLA класса II среди пар с повторными выкидышами уже обнаружено не было [Christiansen O.V. et al., 1989; Ito K. et al., 1992; Takakuwa K. et al., 1992; Laitinen T. et al. 1993; Wagenknecht D.R. et al., 1997]. Только Ober C. et al. (1993) сообщали о значительном увеличении совпадений по HLA-DQ локусу среди пар с повторными выкидышами по сравнению с контролем.

Другие исследования были посвящены HLA совпадению среди пар с необъяснимым бесплодием [Ober C. and van der Ven, 1997], которое, по мнению авторов исследований, может быть результатом пери-имплантационных потерь плода [Collins J.A. et al, 1983; Wilcox A.J. et al., 1988], в результате сходства по HLA

между партнерами [Coulam C.B. et al., 1987; Creus M. et al., 1998]. В то же время ряд исследователей не обнаружили значительных различий в HLA совпадениях партнеров между парами с необъяснимым бесплодием и фертильными парами [Nordlander C. et al., 1983; Persitz E. et al., 1985].

240 супружеских пар с повторными прерываниями беременности неясного генеза и неудачными ЭКО (экстракорпоральное оплодотворение) были проанализированы нами с точки зрения совпадения супругов по специфичностям гена HLA-DRB1 по сравнению с 74 контрольными семьями, имеющими детей. Полученные данные свидетельствуют о том, что среди пар с невынашиванием беременности неясного генеза не было отмечено достоверного увеличения количества совпадающих по специфичностям гена HLA-DRB1 пар по сравнению с контрольными парами, имеющими детей [Болдырева М.Н. с соавт. 2004]. Среди этих же супружеских пар было проанализировано значение HLA гомозиготности для репродуктивного результата. Полученные результаты позволили сделать вывод о разном значении гомозиготности по HLA генам класса II у мужчин и женщин для успешного развития беременности. У женщин с невынашиванием беременности неясного генеза ни общее количество гомозигот, ни количество гомозигот разной DRB1 специфичности не отличалось от таковых в обеих контрольных группах (женщины из пар, имеющих детей и здоровые доноры-женщины). У мужчин из пар, имеющих детей, общее количество гомозигот было в три раза меньше, чем у мужчин из пар с невынашиванием беременности неясного генеза и контрольной группы, что свидетельствует о том, что гомозиготность по гену HLA DRB1 является неблагоприятным фактором для репродуктивного успеха, хотя и не единственным. Так, например, из 74 пар, имеющих детей, 1 мужчина был гомозиготен по DRB1*02 и трое – по DRB1*07, то есть гомозиготность по генам HLA II у мужчин не является абсолютным препятствием для репродукции, и, скорее всего, контролируется не только генами MHC [Болдырева М.Н. с соавт. 2004]..

Репродукция, аутоиммунные заболевания и HLA. К настоящему моменту накопилось много фактов о роли аутоиммунных процессов, имеющих непосредственную связь с генами MHC, в нарушении репродуктивной функции.

Анализ работ, выполненных в 1965-96 гг позволил Geva E. et al. заключить, что аутоиммунные процессы могут лежать в основе многих болезней человека и могут быть ассоциированы с нарушениями репродукции. В то же время, нарушение репродуктивной функции может быть первым признаком

аутоиммунных расстройств.[Geva E., et al, 1997]. Существенный дефицит фертильности был обнаружен у больных системной красной волчанкой [Gleicher N.б 1999; Hardy C.T. et al, 1999], ревматоидным артритом [Nelson J.L., et al, 1993], склеродермии [Silman A.J., Black C., 1998]. Снижение фертильности было отмечено и при других аутоиммунных заболеваниях, таких как тиреоидные болезни, сахарный диабет 1 типа, эндометриоз [Gleicher N., et al, 1993, Poppe K., et al, 2002]. Косвенным доказательством того, что патологическая аутоиммунная функция влияет на репродуктивную способность являются сведения о том, что супрессия патологической аутоиммунной функции кортикостероидами может улучшать фертильность [Dmowski W.P., et al, 1995; El-Roeiy A., et al, 1998].

У женщин с нарушенной репродуктивной функцией значительно чаще, чем у фертильных, обнаруживали различные ауто-антитела, прежде всего направленные против мишеневых антигенов репродуктивной и эндокринной систем. Анти-овариальные антитела значительно чаще, чем остальные, встречались при ранней менопаузе и необъяснимом бесплодии [Fenichel P., et al, 1997; Luborsky J., et al, 1999]. Мишенями аутоантител могут быть стероидогенные ферменты, гонадотропины и их рецепторы, желтое тело, зона пеллюцида и ооцит.[Forges T, et al, 2004]. Аутоиммунный ответ на стероидные гормоны и клетки яичника могут служить причиной нарушения его функции [Kauffman R.P., et al, 2003].

Впервые связь между аутоантителами и прерыванием беременности была обнаружена в начале 80-х годов. [Cowchock S., et al, 1984]. У женщин с повышенной частотой повторных выкидышей было обнаружено увеличение уровня многих аутоантител. [Christiansen O.B., et al, 1997]. Установлено, что из 60% известных причин спонтанных аборт на долю аутоиммунного фактора приходится 20%. [Stephenson M.D., 1996]. Аутоиммунные болезни (артриты, тиреоидиты, сахарный диабет 1 типа) более часто встречались в семьях женщин с необъяснимыми спонтанными абортами. [Shelton A.J. et al., 1994]. За последние десятилетия клиницистами было установлено, что при аутоиммунных заболеваниях, таких как системная красная волчанка, наблюдается значительно более высокий уровень невынашивания, чем в общей популяции – около 50% у больных с активной болезнью. [Ramsey-Goldman R, et al, 1992].

В течение 80-х годов исследователи установили связь между потерей зародыша у женщин с антифосфолипидными антителами, был охарактеризован антифосфолипидный синдром. [Hill J.A., Choi B.C., 2000]. Потом появилась серия

сообщений о потере зародыша у женщин с повышенными уровнями кардиолипидных антител [Trabace S., et al, 1991; Mueller-Eckhardt G., et al, 1994].

В 90-х годах группа датских исследователей во главе с Christiansen O.B. исследовала взаимосвязь вариантов антигенов HLA класса II и репродуктивными потерями. Так, в 1992 году они сообщили о том, что DRw17,DQw2 ассоциирован с чувствительностью к повторным потерям плода [Christiansen O.B., et al, 1992], затем в 1993 году – что частота антигенов DR1, DR3 и DR10 была увеличена у пациентов с 4 и более выкидышами [Christiansen O.B., et al, 1993,1995]. Далее было обнаружено, что среди пациентов с анти-кардиолипидными антителами и повторными прерываниями беременности было значительно больше женщин с фенотипом DR3 и меньше – с фенотипом DR2 [Christiansen O.B., et al, 1998]. Sasaki T. C et al. (1997) также обнаружил значительное увеличение частоты антигена DR4 у женщин с тремя и более повторными выкидышами.

Значение роли различных вариантов гена DRB1 в развитии репродуктивных неудач было исследовано отдельно для мужчин и женщин из пар с необъяснимыми повторными прерываниями беременности и неудачными ЭКО по сравнению с контрольными парами, имеющими детей [Болдырева М.Н. с соавт. 2004]. Полученные данные свидетельствуют о том, что для мужчин и женщин из «проблемных» пар разные генотипы DRB1 имеют разное значение. Так, у женщин из «проблемных» пар было отмечено существенное увеличение числа генотипов, в которые входила специфичность DRB1*04, ассоциированная с развитием таких аутоиммунных заболеваний, как сахарный диабет 1 типа [Schipper R.F., et al. 2001], ревматоидный артрит [Zanelli E., et al. 2000] и аутоиммунный тиреоидит [Petroni A., et al. 2001] и устойчивостью к таким инфекционным заболеваниям, как гепатит С [Cramp M.E. et al, 1998]. В то же время у мужчин из «проблемных» пар отмечено выраженное снижение числа генотипов в которые входила специфичность DRB1*01, ассоциированная с устойчивостью к гепатиту С [Barrett S. et al., 1999, 2001; Fanning L.J. et al., 2000] и HIV [MacDonald K.S. et al., 2000; Motta P. et al., 2002], но и чувствительностью к развитию таких аутоиммунных заболеваний, как ревматоидный артрит [Rowley MJ, et al., 1997; Ebringer A, Wilson C. 2000], анкилозирующий спондилит [Brown MA, et al., 1998], болезнь Крона [Silverberg M.S. et al, 2003]. Подобный сексуальный диморфизм, когда естественный отбор среди представителей разных полов ведется по разным признакам, вероятно, имеет определенный смысл с точки зрения дополнительной устойчивости вида в целом.

HLA II и нарушение репродукции в результате инфекций. Хотя в различных популяциях факторы, приводящие к бесплодию, различаются, считается, что 20-30% случаев бесплодия может быть связано с воспалительными заболеваниями тазовых органов, в результате чего может нарушаться нормальный транспорт и оплодотворение ооцита [Templeton A., et al., 1991]. В большинстве случаев эти заболевания вызывают инфекции, передающиеся половым путем, так что воспалительные заболевания тазовых органов представляют связь между инфекциями, передающимися половым путем, и бесплодием. Незначительное число работ посвящено изучению ассоциаций генов HLA и бесплодием, вызванным инфекциями. Так, ряд авторов исследовали связь генетических факторов хозяина и трубный фактор бесплодия, связанный с *C.trachomatis*. Оказалось, что DQA1*0102 и DQB1*0602 вместе с IL-10 -1082AA генотипом были значительно более частыми у пациентов с трубным бесплодием по сравнению с контролем (0.18 и 0,02, $p < 0,005$) [Kinnunen A.H. et al., 2002]. DQB1*06 был ассоциирован с хламидийной инфекцией (49% против 34%) [Geisler W.M. et al., 2004].

Заключение. Настоящий раздел был посвящен рассмотрению вопросов роли генов HLA класса II в вопросах действия факторов естественного отбора на индивидуальном уровне. Процесс отбора действует на каждом жизненном этапе индивидуума. Каждый организм должен дожить до того момента, когда он сможет оставить потомство в условиях инфекционного и паразитарного окружения. Инфекционные воспалительные процессы репродуктивных органов также могут привести к невозможности оставить потомство. В разделе были представлены данные литературы о том, что определенные варианты генов HLA класса II ассоциированы с развитием и устойчивостью к развитию ряда тяжелых инфекций, то есть они должны, таким образом, участвовать в процессе естественного отбора. Гены HLA имеют значение для выбора сексуального партнера с целью снижения возможности инбридинга и рождения потомства с гомозиготностью по генам HLA, которая может снижать разнообразие иммунного ответа на постоянно изменяющееся сообщество микроорганизмов. На репродуктивной стадии естественного отбора обнаруживается сексуальный диморфизм, при котором гетерозиготные самцы имеют преимущество перед гомозиготными. Этот диморфизм наблюдается как у животных, так и у человека. Данные литературы, приведенные в разделе, свидетельствуют в пользу того, что аутоиммунные нарушения (в основном у женщин) могут быть серьезной причиной

репродуктивных неудач и сокращения репродуктивного периода, начиная с привычного невынашивания беременности, необъяснимого бесплодия и кончая ранним прекращением функционирования яичников. Представлены данные о значимости конкретных вариантов генов HLA класса II, ассоциированных с аутоиммунными заболеваниями, также и в репродуктивных неудачах. Прослеживаются сексуальные различия в значении тех или иных вариантов гена DRB1 для развития невынашивания беременности неясного генеза. Таким образом, гены HLA класса II на индивидуальном уровне могут находиться под действием естественного отбора.

3. Аутоиммунные заболевания как возможный механизм действия отбора на HLA II.

В предыдущем разделе были приведены сведения о значимости аутоиммунных заболеваний как причины репродуктивных неудач и вариантах генов HLA класса II, ассоциированных с репродуктивными проблемами у женщин. В настоящем разделе будут более подробно рассмотрено значение генов HLA класса II в развитии аутоиммунных заболеваний.

Аутоиммунные заболевания – заболевания с выраженной генетической основой, носят системный характер и поражают самые разные системы организма, причем, чем раньше возникает заболевание, тем более выражена его генетическая составляющая. Одними из главных генов, для которых установлена выраженная связь с развитием аутоиммунной патологии, являются гены иммунного ответа человека - HLA класса II.

Ассоциации генов HLA класса II и аутоиммунных заболеваний. В результате усилий ученых из разных стран мира получены данные о значении генов HLA для развития аутоиммунных заболеваний в разных популяционных группах. Установлены как положительно (см. табл.2), так и отрицательно ассоциированные с развитием заболеваний варианты генов HLA класса II (см. табл.3).

Факты, полученные в результате многочисленных исследований учеными из разных стран, представленные в таблицах 2 и 3, позволили сделать некоторые предположения: первое – ассоциации гена DRB1 с аутоиммунными заболеваниями не зависят от национальной и расовой принадлежности; второе – одни и те же аутоиммунные заболевания могут быть ассоциированы с разными вариантами гена DRB1 и, третье - одни и те же варианты гена DRB1 могут быть

ассоциированы с разными аутоиммунными нарушениями. Таким образом, определенный набор вариантов гена DRB1 может быть ассоциирован не с конкретными аутоиммунными заболеваниями, а с предрасположенностью к развитию аутоиммунной патологии в целом, независимо от популяционной принадлежности.

Таблица 2. DR маркеры аутоиммунных заболеваний в разных популяциях.

DR-специфичности	Заболевание	Популяции	Источник
DR1	Сахарный диабет 1 типа	татары, удмурты	Болдырева М.Н. и соавт., 2005
	Ревматоидный артрит	австралийцы	Rowley MJ, et al., 1997; Ebringer A, Wilson C. 2000
		чилийцы	Gonzalez A., et al.1997
		испанцы	Hajeer A.H., et al. 2000
		французы	Reviron D., et al. 2001
		голландцы	Snijders A, et al. 2001
Анкилозирующий спондилит	англичане	Brown MA, et al., 1998	
Б-нь Крона, язвенный колит	канадцы	Silverberg M.S., et al., 2003	
DR3	Сахарный диабет 1 типа	русские, татары, марийцы, удмурты, узбеки, тувинцы	Болдырева М.Н. и соавт., 2005
		англичане	Horton V., et al., 1999
		датчане	Schipper R.F., et al. 2001
		немцы	Schenker M, et al., 1999
		словаки	Shawkatova I., et al., 2000
		поляки	Kretowski A, Kinalska I., 1999
		испанцы	Escribano-de-Diego J, et al., 1999
		турки	Saruhan-Direskeneli G, et al., 2000
		евреи Ашкенази	Kwon OJ, et al. 2001
		евреи не Ашкенази	Kwon OJ, et al. 2001
		арабы	Kwon OJ, et al. 2001
		чилийцы	Santos J.L., et al., 2001
		венгры	Hermann R., et al., 2001
		китайцы	Chuang L, et al., 2000
	японцы	Hamaguchi K., et al., 2000	
	СКВ	норвежцы	Skarvsag S, et al., 1992
		китайцы	Zhang J., et al., 1997
	Ревматоидный артрит	голландцы	Zanelli E, et al. 2000
Аутоиммунный гепатит	бразильцы	Goldberg AC, et al.,2001	
Первичный билиарный цирроз	немцы	Kanzler S, et al. 2001	
DR4	Герпетиформный дерматит	англичане	Wilson AG, et al.1995
	Б-нь Грейвса	бразильцы	Maciel L.M., et al.2001
		греки	Philippou G., et al., 2001
		англичане	Hunt P.J., et al., 2001
	Аутоиммунный тиреоидит	греки	Philippou G., et al., 2001
		сардинцы	Meloni GF, et al. 2001
	Б-нь Адисона	норвежцы	Myhre AG, et al., 2002
	Целиакия	испанцы	Ruiz del Prado M.Y et al., 2001
Полиорганные поражения	итальянцы	Betterle C, Zanchetta R., 2003	

Окончание таблицы 2.

DR4	Сахарный диабет 1 типа	русские, татары, мари́йцы, удмурты, узбеки, тувинцы, буряты	Болдырева М.Н. и соавт., 2005	
		англичане	Horton V., et al., 1999	
		датчане	Schipper R.F., et al. 2001	
		немцы	Schenker M, et al., 1999	
		словаки	Shawkatova I., et al., 2000	
		поляки	Kretowski A, Kinalska I., 1999	
		испанцы	Escribano-de-Diego J, et al., 1999	
		турки	Saruhan-Direskeneli G, et al., 2000	
		евреи Ашкенази	Kwon OJ, et al. 2001	
		евреи не Ашкенази	Kwon OJ, et al. 2001	
		арабы	Kwon OJ, et al. 2001	
		чилийцы	Santos J.L., et al., 2001	
		венгры	Hermann R., et al., 2001	
		китайцы	Chuang L, et al., 2000	
	японцы	Hamaguchi K., et al., 2000		
	Ревматоидный артрит	голландцы	Zanelli E, et al. 2000, Snijders A, et al. 2001	
		австралийцы	Rowley MJ, et al., 1997, Ebringer A, Wilson C. 2000	
		французы	Reviron D., et al. 2001	
		испанцы	Hajeer A.H., et al. 2000	
		китайцы	Yuan G, Shi G, Li Z. 1998	
		корейцы	Kim TG, et al.1999	
		чилийцы	Kaliski S, et al. 2001ë	
		Аутоиммунный гепатит	бразильцы	Goldberg AC, et al., 2001
		Первичный билиарный цирроз	немцы	Kanzler S, et al. 2001
		Ремфигус vulgaris	евреи Ашкенази	Mobini N., et al.,1997
		немцы	Veldman C., et al. 2003	
	Хроническая идиопатическая крапивница	англичане	O'Donnell BF, et al., 1999	
Алопеция	турки	Akar A., et al. 2002		
Аутоиммунный тиреоидит	итальянцы	Petrone A, et al. 2001		
Б-нь Адисона	норвежцы	Myhre AG, et al., 2002		
Полиорганные поражения	итальянцы	Betterle C, Zanchetta R., 2003		
	японцы	Yamato E., et al. 1997		
DR8	Сахарный диабет 1 типа	датчане	Schipper R.F., et al. 2001	
	Анкилозирующий спондилит	англичане	Brown MA, et al., 1998	
		норвежцы	Ploski R, et al.,1995	
	Первичный билиарный цирроз	англичане	Agarwal K, et al.,1999; Donaldson P, et al., 2001	
американцы-европеиды		Mullarkey M.E., et al., 2005		
DR9	Сахарный диабет 1 типа	калмыки	Болдырева М.Н. и соавт., 2005	
		датчане	Schipper R.F., et al. 2001	
		китайцы	Chuang L, et al., 2000	
Ревматоидный артрит	корейцы	Kim TG, et al.1999		
DR10	Ревматоидный артрит	датчане	Snijders A, et al. 2001	

Таблица 3. DR маркеры ассоциированные с устойчивостью к разным аутоиммунным заболеваниям в разных популяция

DR-специфичности	Заболевание	Популяции	Источник
DR2 (15,16)	Сахарный диабет 1 типа	русские, татары, марийцы, удмурты, узбеки	Болдырева М.Н. и соавт., 2005
		испанцы	Escribano-de-Diego J, et al., 1999
		турки	Saruhan-Direskeneli G, et al., 2000
		датчане	Schipper R.F., et al. 2001
		евреи Ашкенази	Kwon OJ, et al. 2001
		евреи не Ашкенази	Kwon OJ, et al. 2001
		арабы	Kwon OJ, et al. 2001
		австралийцы	Price P., et al.2001
	итальянцы	Tiberti C., et al. 2000	
	Системная красная волчанка	норвежцы	Skarvsag S, et al., 1992
Аутоиммунный гепатит, первичный билиарный цирроз	американцы-европеиды	Mullarkey M.E., et al., 2005	
Целиакия	бразильцы	Silva E.M., et al., 2000	
Хроническая идиопатическая крапивница	англичане	O'Donnell BF, et al., 1999	
DR5 (11,12)	Сахарный диабет 1 типа	русские, удмурты, узбеки	Болдырева М.Н. и соавт., 2005
		турки	Saruhan-Direskeneli G, et al., 2000
		итальянцы	Tiberti C., et al. 2000
	Системная красная волчанка	китайцы	Zhang J., et al., 1997
Анкилозирующий спондилит	англичане	Brown MA, et al., 1998	
DR6 (13,14)	Сахарный диабет 1 типа	русские, татары, марийцы, узбеки	Болдырева М.Н. и соавт., 2005
		турки	Saruhan-Direskeneli G, et al., 2000
		испанцы	Escribano-de-Diego J, et al., 1999
		евреи Ашкенази	Kwon OJ, et al. 2001
		евреи не Ашкенази	Kwon OJ, et al. 2001
	арабы	Kwon OJ, et al. 2001	
Целиакия	бразильцы	Silva E.M., et al., 2000	
DR7	Сахарный диабет 1 типа	русские, татары, удмурты	Болдырева М.Н. и соавт., 2005
		датчане	Schipper R.F., et al. 2001
Ни DR3/ни DR4	Сахарный диабет 1 типа	поляки	Kretowski A, Kinalska I., 1999

Можно отметить, что универсальными «маркерами» аутоиммунного процесса являются DRB1*03 и DRB1*04 специфичности как по разнообразию популяций, для которых указанные варианты ассоциированы с аутоиммунными заболеваниями, так и по разнообразию аутоиммунных нозологий, с развитием которых они ассоциированы (табл.2). Кроме того, варианты *01, *08, *09 и *10

также упоминаются в литературе как ассоциированные с предрасположенностью к развитию ряда аутоиммунных заболеваний.

Из так называемых «протекторов» аутоиммунных заболеваний чаще всего в литературе упоминается DRB1*15, но также встречаются данные о DRB1*07, *11, *13 и очень редко – о DRB1*12 и *16 (табл.3).

Ассоциация генов HLA с сахарным диабетом 1 типа, «классическим» аутоиммунным заболеванием. Сахарный диабет 1 типа (СД1) - одно из наиболее широко распространенных и наиболее изученных аутоиммунных мультифакторных заболеваний человека, имеющего выраженную генетическую основу. На сегодняшний день известно около 20 генов-кандидатов предрасположенности к СД1 [Davies J.L., et al. 1994; Cox N.J., et al.,2001]. Однако, наибольшее значение из известных генетических маркеров СД1 имеют гены, расположенные в области главного комплекса гистосовместимости человека (HLA) на хромосоме 6p21.3 (IDDM1) [Davies J.L., et al. 1994; Cox N.J., et al.,2001]. За последние 10-15 лет в ряде исследований, в том числе выполненных по международным программам было установлено, что на 70% генетическую основу СД1 определяют именно гены HLA. Ни одна другая, отдельно взятая генетическая область не определяет риск развития заболевания, сравнимый с HLA [Cox N.J., et al.,2001].

Исследование ассоциаций вариантов гена DRB1 с сахарным диабетом 1 типа (СД1) в 11 популяционных группах России и стран СНГ. Основными HLA «маркерами» предрасположенности к СД1 в большинстве обследованных популяционных групп, как и ожидалось, оказались специфичности DRB1*03 и *04 [Болдырева М.Н. и соавт., 2005]. Так, в 8 из 11 обследованных групп эти два варианта гена DRB1 были ассоциированы с предрасположенностью к СД1. При этом из всех обследованных групп у русских и мари только эти DRB1 специфичности были ассоциированы с СД1. Значения относительного риска развития заболевания при наличии в генотипе указанных «маркеров» колебались от 2 до 9, причем у русских из Москвы и Архангельской области, а также у удмуртов наибольшим значение относительного риска было для DRB1*04. У русских из Удмуртии и Вологодской области, а также у татар значения относительного риска для DRB1*03 и *04 были приблизительно равны. Среди мари и узбеков наибольшее значение относительного риска было отмечено для DRB1*03. У представителей монголоидных популяций - тувинцев, калмыков и бурят, было выявлено только по одной ассоциации: у тувинцев это был DRB1*03,

у калмыков – DRB1*09, у бурят – DRB1*04. Что касается DRB1*01, то для татар и удмуртов относительный риск СД1, ассоциированный с этим вариантом гена DRB1 составил, соответственно 1,75 и 1,97 ($p < 0,05$), а для узбеков имел противоположное, протективное значение ($OR = 0,14$; $p < 0,005$). Практически все обнаруженные «маркеры» СД1 (за исключением DRB1*01 для узбеков) были ассоциированы с другими аутоиммунными заболеваниями по данным других исследователей, опубликованными за последние годы (см. табл. 2).

Помимо DRB1 специфичностей, ассоциированных с развитием СД1, среди обследованных популяционных групп были выявлены также DRB1 специфичности, ассоциированные с устойчивостью к развитию СД1 [Болдырева М.Н. и соавт., 2005]. В качестве «протективных» маркеров развития СД1 были установлены пять вариантов гена DRB1: *07, *11, *13, *15 и *16. DRB1*07 был «протективным» для русских из Москвы, Архангельской и Вологодской областей, а также для татар и удмуртов; DRB1*11 - для русских из Москвы, Вологодской области и Удмуртии, а также для удмуртов и узбеков; DRB1*13 - для всех исследованных групп русских, а также для татар, мари и узбеков; DRB1*15 - для всех исследованных популяционных групп, кроме калмыков, тувинцев и бурят, для которых не было обнаружено ни одного «протектора», вероятно, в связи с малочисленностью группы больных, связанной с низкой заболеваемостью СД1 в указанных регионах. В качестве «протектора» специфичность DRB1*16 была обнаружена только у русских из Москвы. Все обнаруженные варианты гена DRB1, ассоциированные с устойчивостью к СД1, оказались из группы «маркеров» ассоциированных с устойчивостью и к другим аутоиммунным заболеваниям (см. табл. 3).

В ряде исследований, посвященных иммуногенетике СД1, опубликованных за последние годы, получены данные не только о «маркерных» вариантах гена HLA, но также и о «маркерных» DRB1 генотипах, ассоциированных с развитием СД1 [Schenker M., et al., 1999; Schipper R.F., et al. 2001; Chuang L, et al., 2000] или, наоборот, с устойчивостью к его развитию [Tiberti C., et al. 2000; Kretowski A., Kinalska I., 1999]. Следует отметить, что по данным разных авторов, сочетания DRB1 «маркеров» в генотипе могут быть разными, даже в пределах одной популяционной группы [Chuang L, et al. 2000, Schipper R.F., 2001].

Сравнение результатов исследований по поиску вариантов гена DRB1, ассоциированных с чувствительностью и устойчивостью к развитию СД1 в разных популяционных группах, в том числе и разной расовой принадлежности

[Болдырева М.Н. и соавт., 2005] с данными литературы об HLA «маркерах» СД1 и других аутоиммунных заболеваний (см табл.2 и 3) позволило предположить, что одни и те же варианты гена DRB1, а именно DRB1*01,*03,*04,*08,*09,*10 ассоциированы с развитием любого аутоиммунного заболевания, в том числе и СД1. Группа перечисленных вариантов гена DRB1 была обозначена как «маркер» аутоиммунного процесса. Все остальные варианты гена DRB1, а именно *07,*11,*12,*13,*14,*15,*16, которые по данным разных авторов (табл.3) и в соответствии с нашими собственными результатами [Болдырева М.Н. и соавт., 2005], ассоциированы с устойчивостью к СД1, были объединены в одну группу и обозначены, как «не маркер».

Все генотипы больных СД1 и соответствующего популяционного контроля в зависимости от сочетания в них вариантов гена DRB1, были разделены на три группы: маркер/маркер, если в генотипе присутствовали любые два варианта гена DRB1 из группы DRB1*01,*03,*04,*08,*09,*10; немаркер/немаркер, если в генотипе присутствовали любые два варианта гена DRB1 из группы *07,*11,*12,*13,*14,*15,*16; маркер/немаркер, если в генотипе один вариант был из группы DRB1*01,*03,*04,*08,*09,*10, а другой – из группы *07,*11,*12,*13,*14,*15,*16. Для этих трех групп генотипов вновь были вычислены значения относительного риска как отдельно для каждой из 11 популяционных групп, так и для всех исследованных групп вместе. Результаты такого анализа свидетельствуют о том, что в большинстве исследованных популяционных групп, различной этнической и расовой принадлежности (русские, татары, мари, удмурты, узбеки, буряты) предрасположенность к развитию СД1 определяется наличием в генотипе не менее двух HLA DRB1 вариантов из группы «маркер». Отсутствие в генотипе хотя бы одного DRB1 «маркера», и, особенно, полное их отсутствие, делает развитие СД1 чрезвычайно маловероятным событием. Исключение составляют калмыки и тувинцы, у которых значения относительного риска хотя и совпадали по вектору с остальными популяционными группами, но оказались недостоверными что, скорее всего, определяется малочисленностью групп больных СД1 тувинцев (n=25) и калмыков (n=15), связанной с чрезвычайно низкой заболеваемостью СД1 представителей этих популяций [Болдырева М.Н. и соавт., 2005].

Заключение. В настоящем разделе были проанализированы данные литературы об ассоциации различных вариантов гена DRB1 с чувствительностью и устойчивостью к развитию различных аутоиммунных заболеваний. Этот анализ позволяет сделать некоторые обобщения: первое - HLA класс II маркеры

генетической предрасположенности к различным аутоиммунным заболеваниям являются универсальными для всех популяций, а популяционные различия «маркеров», скорее объясняются различиями частот разных вариантов HLA-генов в разных популяциях; второе – одни и те же варианты гена DRB1 ассоциированы с разными аутоиммунными заболеваниями, то есть являются «маркерами» аутоиммунных заболеваний в целом. Полученные результаты позволяют сделать заключение о том, что предрасположенность к развитию СД1 определяется наличием в генотипе двух HLA DRB1 аутоиммунных «маркеров» из числа DRB1*01,*03,*04,*08,*09,*10. Отсутствие в генотипе хотя бы одного DRB1 «маркера», и, особенно, полное их отсутствие, делает развитие СД1 чрезвычайно маловероятным событием. Учитывая тот факт, что часть репродуктивных проблем ассоциирована с вариантами гена DRB1, о которых известно также, что они ассоциированы с развитием многих аутоиммунных заболеваний, можно предположить как общий механизм действия естественного отбора на гены HLA.

5. HLA, инфекции и аутоиммунитет

Сравнение DRB1 маркеров чувствительности и устойчивости к аутоиммунным и инфекционным заболеваниям.

Усилия ученых из разных стран мира в течение ряда лет были направлены на поиск вариантов классических генов главного комплекса тканевой совместимости человека, определяющих генетическую предрасположенность к развитию или устойчивости к аутоиммунным и инфекционным заболеваниям, в возникновении, течении и исходе которых иммунная система принимает непосредственное участие. Однако работ, посвященных поиску ассоциаций генов HLA класса II и аутоиммунными заболеваниями было выполнено значительно больше, чем поиску ассоциаций генов HLA и инфекционных заболеваний. В ходе исследований было обнаружено, что и в случае с аутоиммунными заболеваниями (см табл. 2 и 3), и в случае с инфекционными (см. табл. 1), одни варианты гена DRB1 HLA класса были II ассоциированы с предрасположенностью к развитию заболеваний, а другие варианты – с устойчивостью к ним, а в случае с инфекционными заболеваниями – также и с самостоятельным очищением от патогена. На основании приведенных ранее таблиц 1, 2 и 3 были сделаны таблицы 4 и 5, в которых одновременно представлены данные о вариантах гена DRB1, ассоциированных с чувствительностью и устойчивостью к аутоиммунным (табл. 4) и инфекционным заболеваниям (табл.5).

Таблица 4. DR маркеры чувствительности и устойчивости к разным аутоиммунным заболеваниям (по данным литературы)

DR-специфичности	Чувствительность	Устойчивость
DR1	Ревматоидный артрит Анкилозирующий спондилит	-
DR2 (15,16)	-	Сахарный диабет 1 типа Системная красная волчанка Аутоиммунный гепатит, первичный билиарный цирроз Целиакия Хроническая идиопатическая крапивница
DR3	Сахарный диабет 1 типа СКВ Ревматоидный артрит Аутоиммунный гепатит Первичный билиарный цирроз Герпетиформный дерматит Б-нь Грейвса Аутоиммунный тиреоидит Б-нь Адисона Полиорганные поражения	-
DR4	Сахарный диабет 1 типа Ревматоидный артрит Аутоиммунный гепатит Pemphigus vulgaris Идиопатическая крапивница Алопеция Аутоиммунный тиреоидит Б-нь Адисона Полиорганные поражения	-
DR5 (11,12)	-	Сахарный диабет 1 типа Системная красная волчанка Анкилозирующий спондилит
DR6 (13,14)	-	Сахарный диабет 1 типа Целиакия
DR7	-	Сахарный диабет 1 типа
DR8	Сахарный диабет 1 типа Анкилозирующий спондилит Первичный билиарный цирроз	-
DR9	Сахарный диабет 1 типа Ревматоидный артрит	-
DR10	Ревматоидный артрит	-

Таблица 5. DR маркеры чувствительности и устойчивости к инфекционным заболеваниям по данным литературы

DR-специфичности	Чувствительность	Устойчивость
DR1	-	Гепатит С
		HIV
		Эффективный ответ на вакцинацию против гепатита В
DR2 (15,16)	-	Гепатит В
		Гепатит С
		Туберкулез
		Хламидиоз
		Гистоплазмоз
		Вирус Коксаки
		Неэффективный ответ на вакцину против гепатита В
DR3	-	Гепатит С
		Вирус Коксаки
DR4	-	Гепатит С
		Вирус Коксаки
		Малярия
DR5 (11,12)	Гепатит В	-
DR6 (13,14)	-	HIV
		Туберкулез
DR7	-	Гепатит С
		Неэффективный ответ на противокоревую вакцину
		Неэффективный ответ на вакцину против гепатита В
DR8	-	-
DR9	-	-
DR10	-	-

Сравнение двух таблиц (4 и 5), позволяет заметить, что варианты гена DRB1, ассоциированные с развитием аутоиммунных заболеваний (*01, *03, *04) являются также и маркерами устойчивости или результативной борьбы организма с серьезными инфекционными заболеваниями. В доступной литературе нам не удалось найти сведений о положительной роли в устойчивости или в преодолении инфекций вариантов гена DRB1 - *08,*09 и *10. Скорее всего, это связано с тем, что указанные варианты являются очень редкими для большинства популяций мира [Terasaki P.I., Gjertson D.W.1997], также и очень небольшим количеством работ, посвященных теме поиска ассоциаций генов HLA класса II и инфекционных заболеваний.

Данные, приведенные в таблицах 4 и 5, свидетельствуют о том, что варианты гена DRB1, ассоциированные с устойчивостью к развитию целого ряда аутоиммунных заболеваний (таблица 4) - DR2 (*15,*16), DR5 (*11,*12), DR6 (*13,*14), *07, в то же время являются маркерами чувствительности к ряду серьезных инфекций (таблица 5).

Роль инфекций в этиологии аутоиммунных заболеваний. Сложная природа аутоиммунных расстройств остается до конца не установленной, однако большое значение в этиологии аутоиммунных заболеваний и, в частности, сахарного диабета 1 типа отводят микроорганизмам, таким как вирус краснухи [Forrest J.M. et al, 1971, Rubinstein P. et al, 1982, Ou D., et al., 2000]; энтеровирусы [Helfand R.F. et al, 1995; Sadeharju K. et al, 2001; Hyoty H., 2002; Jaeckel E. et al, 2002], цитомегаловирус [Pak C.Y. et al, 1988; Nicoletti F. et al, 1990; Roep B.O. 2002], ротавирусы [Honeyman M.C. et al, 2000], вирус кори [Hyoty H. et al, 1988], гепатита А [Makeen A.M. , 1992], вирус Эпштейна-Барр [Jun H.S. and Yoon J.W., 2004]. Многообразии микроорганизмов (бактерий и вирусов), которые могут спровоцировать начало аутоиммунных заболеваний отмечено не только по отношению к сахарному диабету 1 типа, но также и к другим аутоиммунным заболеваниям, таким как рассеянный склероз (*вирусы: corona, measles, mumps, EBV, herpes*), миокардит (*coxsackie B3, streptococci*), первичный билиарный цирроз (*E.coli, S. cerevisial*), целиакия (*Adenoviruses, микробы кишечника*), анкилозирующий спондиллит (*S. flexneri, Yersinia enterocolitica, K. Pneumoniae*) [Oldstone M.B.A., 1998].

На сегодняшний день существует несколько гипотез относительно потенциальных механизмов возникновения аутоиммунных заболеваний или иммунопатологий, индуцированных микроорганизмами, включая «молекулярную мимикрию», «случайную активацию» и «персистенцию вирусной инфекции». Молекулярная мимикрия подразумевает наличие иммуногенного эпитопа, совпадающего у микроба и хозяина [Fujinami R.S. et al., 1983; Atkinson M.A. and MacLaren N.K., 1993; Oldstone M., 1998; Ebringer A. and Wilson C., 2000;]. «Случайная активация» (bystander activation) может возникнуть, когда вирусные инфекции вызывают значительную активацию антиген-распознающих клеток. Эти активированные антиген-распознающие клетки могут потенциально активировать примированные аутореактивные Т клетки, которые могут затем инициировать аутоиммунное заболевание [Duke R.C., 1989; Smyth M.J. and Sedgwick J.D., 1998].

Персистенция вирусной инфекции также может приводить к иммуноопосредованному повреждению, [Fujinami R.S. et al, 2006].

Заключение. В материалах предыдущих разделов было показано, что одни и те же варианты HLA генов ассоциированы с разными аутоиммунными заболеваниями, поэтому можно предположить, что варианты гена DRB1 - *01, *03, *04, *08, *09, *10 определяют предрасположенность к развитию типа иммунного ответа, который при определенных условиях (например при наличии в генотипе двух вариантов из их числа) может стать патологически аутоиммунным. Сравнение DRB1-маркеров чувствительности и устойчивости к аутоиммунным и инфекционным заболеваниям позволило высказать предположение, что одни и те же варианты гена DRB1 ассоциированы и с развитием разных аутоиммунных заболеваний, и с устойчивостью к разным серьезным инфекционным заболеваниям. И наоборот, одни и те же варианты гена DRB1 ассоциированы и с устойчивостью к развитию разных аутоиммунных заболеваний, и с чувствительностью также к разным серьезным инфекционным заболеваниям. Развитие конкретного заболевания определяется, вероятно, типом иммунного ответа хозяина и свойствами конкретного возбудителя, который может либо вызвать инфекционный процесс, либо стать триггером развития аутоиммунного заболевания и определять, наряду с другими факторами (другими генами хозяина), развитие конкретного аутоиммунного заболевания. Усложняет ситуацию возможность развития внешне похожих, но противоположных по сути, процессов, приводящих к патологическим изменениям в организме. На мысль об этом наводит приведенный выше механизм развития аутоиммунного патологического процесса в результате «персистенции вирусной инфекции» [Fujinami R.S. et al, 1988]. Обобщая сказанное, можно предположить, что микроорганизм, в зависимости от генетического фона хозяина способен с одной стороны спровоцировать аутоиммунный процесс, который повреждает ткани, нарушает функцию и приводит к аутоиммунному заболеванию, а с другой – вызвать инфекционный процесс, могущий привести организм к гибели или, длительно персистируя, повреждать ткани и также приводить к нарушению функции. Генетический фон хозяина, например, могут определять, наряду с другими, и гены иммунного ответа человека - HLA.

6. «Функциональный» генотип. Гипотеза преимущества «функциональной» гетерозиготности.

В результате обобщений данных литературы, приведенных ранее, и результатов исследований по поиску ассоциаций генов HLA класса II и сахарным диабетом 1 типа [Болдырева М.Н. и соавт., 2005] предлагается новое понятие – «функциональный» генотип. В соответствии с ним «функционально» гомозиготный генотип может состоять из разных вариантов генов (в частности гена DRB1), действие которых функционально однонаправлено. В качестве примера можно использовать упоминавшиеся ранее суммарные данные об относительном риске развития СД1 в 11 исследованных популяционных группах (табл. 6).

Таблица 6. Относительный риск развития или устойчивости к СД1 в зависимости от генотипа

11 популяционных групп, (548 СД1/1547 Контроль)	Маркер/Маркер		Маркер/Немаркер		Немаркер/Немаркер	
	ОР	p	ОР	p	ОР	p
	7,6	1,2x10⁻⁷⁹	0,59	1,1x10⁻⁷	0,12	1,2x10⁻⁵¹

Колонка «маркер/маркер» (или «функциональная» гомозигота) означает наличие в генотипе двух любых вариантов гена DRB1 из числа DRB1*01,*03,*04,*08,*09,*10; ассоциированных с развитием аутоиммунных заболеваний. Колонка «не маркер/не маркер» (или также «функциональная» гомозигота) означает наличие в генотипе двух любых вариантов гена DRB1 из числа DRB1*07,*13,*14,*15,*16, ассоциированных с устойчивостью к аутоиммунным заболеваниям. Колонка «маркер/немаркер» означает наличие в генотипе по одному варианту из двух вышеуказанных групп, то есть «функциональная» гетерозигота. С использованием нового понятия «функционального» генотипа, результаты, представленные в таблице 6, можно выразить таким образом, что HLA генетическая предрасположенность к развитию сахарного диабета 1 типа связана с генотипом, «функционально» гомозиготным по сильному типу. Генотип, «функционально» гомозиготный по слабому типу иммунного ответа ассоциирован с чрезвычайно низким риском развития СД1.

Учитывая данные литературы, можно распространить вывод о значимости генотипа, а не отдельных вариантов гена DRB1, сделанный при изучении HLA ассоциаций с СД1, на все аутоиммунные заболевания, предполагая, что гены HLA класса II являются одной из генетических составляющих аутоиммунного процесса

в целом. Имея в виду данные литературы, можно также предположить, что генотип, состоящий из двух вариантов HLA DRB1 генов, ассоциированных с развитием аутоиммунной патологии, одновременно будет ассоциирован и с выраженной устойчивостью к инфекционным и паразитарным агентам (см. табл. 4 и 5). А генотип, состоящий из двух вариантов HLA DRB1 генов, ассоциированных с устойчивостью к развитию аутоиммунной патологии в целом, одновременно будет ассоциирован с чувствительностью к инфекциям, в том числе хроническим (см. табл. 4 и 5). Вероятно, именно этим двойным эффектом одних и тех же вариантов гена DRB1 можно объяснить широкую распространенность среди различных популяций в мире DRB1*03 и *04, являющихся «классическими» маркерами аутоиммунных заболеваний (и являющихся также причиной репродуктивных проблем), что, казалось бы, должно было привести к их исчезновению из пула вариантов гена DRB1. Одним из самых частотных в мире (по материалам результатов типирования 71 популяции из разных стран Африки, Азии, Европы, Америки и Австралии) [Terasaki P.I., Gjertson D.W.1997] является также вариант DRB1*15, с которым ассоциирована чувствительность к целому ряду серьезных инфекций (см табл. 5) и который также ассоциирован и с устойчивостью к развитию аутоиммунных заболеваний.

Гипотеза преимущества «функциональной» гетерозиготности.

Чрезвычайный полиморфизм генов HLA на популяционном уровне, который характерен только для системы MHC - феномен, который, связан с его биологической функцией и поддерживается механизмами естественного отбора. «Классические» гены HLA класса II, в соответствии с современными представлениями, кодируют рецепторы специализированных клеток, «представляющих» пептиды преимущественно экзогенного происхождения CD4+ хелперным Т-клеткам, в результате чего инициируется адаптивный иммунный ответ. Экзогенные пептиды – это, главным образом, белки разнообразных микроорганизмов, с которым индивидуум постоянно сталкивается в течение жизни. Белки микроорганизмов, попадая в антиген-представляющие клетки путем фагоцитоза или эндоцитоза, определенным образом деградируются ферментами в специализированных структурах клетки, эндосомах. Образовавшиеся пептиды, длиной, как правило 8-15 аминокислот, затем встраиваются в просторную пептид-связывающую «щель» молекулы II класса HLA, в которой они фиксируются в определенных точках, и в таком виде появляются на поверхности антиген-представляющей клетки. При необычайном разнообразии генов MHC на

популяционном уровне (на сегодняшний день известно 464 аллеля гена DRB1), каждый конкретный индивидуум максимально имеет набор из двух аллелей каждого из «классических» полиморфных генов II класса, которые осуществляют антиген-представляющую функцию - DRB1, DQA1, DQB и DPB1, то есть 8 аллелей. Этот максимально возможный для конкретного организма набор аллелей обеспечивает представление всего спектра микробных антигенов, обеспечивая развитие иммунного ответа индивидуума на постоянно изменяющееся инфекционное окружение. Таким образом, каждый из аллелей «классических» генов HLA обеспечивает «представление» огромного количества разнообразных пептидов. Этому способствует с одной стороны пространственная структура пептид-связывающей «щели», более просторная по сравнению с I классом. С другой стороны, работы по перекрывающимся спектрам связывания пептидов разными вариантами генов II класса MHC, наводят на мысль о том, что большинство пептидов должно содержать ограниченное количество «типовых» сайтов для связывания молекулами II класса. Такие « типовые » сайты могут формироваться в эндосомах и, например, соответствовать « типовым » сайтам связывания собственных пептидов (если учесть общее происхождение классов I и II). Типовое связывание обеспечивает ответ на основную массу АГ. Различия в спектрах связывания пептидов разными аллелями если и могут быть, то не должны быть существенными. Роль молекул HLA – удерживать пептиды в определенном положении для того, чтобы АГ-распознающие рецепторы Т-клеток могли связаться с выступающими за пределы АГ связывающей щели участками пептидов. Менее специфичное связывание пептидов с молекулами II класса – более экономное, специфичность же распознавания и иммунного ответа определяется Т-клеточным распознаванием пептид/MHC комплекса [Kruger A и соавт.2005]. В таком случае наблюдаемый полиморфизм HLA генов – это, скорее, не направленный отбор «удачных» вариантов, который должен привести к снижению вариабельности, а «на всякий случай» сохранение всех новых измененных вариантов до тех пор пока они все еще связывают достаточный спектр пептидов (может быть, прежде всего своих). Главное – создать широкие возможности для отбора.

Основным среди генов II класса, генов иммунного ответа, если судить по исследованиям его значения в развитии заболеваний, ассоциированных с иммунной системой, является ген DRB1. Все многочисленные аллели этого гена разделены, в зависимости от их последовательностей, на 14 групп. В

соответствии с современными представлениями, селективным преимуществом должны обладать особи, несущие в генотипе разные варианты генов МНС. Если аллельные варианты, составляющие генотип, будут относиться к разным аллелям внутри одной группы – это будет менее выгодно для индивидуума, чем если бы они относились к разным группам аллелей, поскольку различия нуклеотидных последовательностей между аллелями внутри группы существенно меньше, чем между группами. Наличие в генотипе субъекта аллелей, наиболее отстоящих друг от друга, то есть относящихся к разным группам, позволит HLA генам II класса «представлять» более разнообразный спектр инфекционных антигенных пептидов.

В связи с тем, что выживание организма в условиях постоянной инфекционной и паразитарной агрессии зависит, главным образом, от иммунной системы, а гены HLA класса II непосредственно участвуют в развитии иммунного ответа на чужеродные антигены, то эти гены могут являться мишенью естественного отбора. Популяционное же разнообразие вариантов генов МНС класса II, и в частности гена DRB1 может быть следствием этого отбора. На индивидуальном уровне естественный отбор действует только на протяжении репродуктивного периода жизни, в результате чего потомство могут оставить только дожившие до репродуктивного возраста особи, способные оставить жизнеспособное потомство. Одним из вариантов балансирующей селекции является гетерозиготное предпочтение, при котором гетерозиготные индивидуумы имеют большую жизнеспособность, чем гомозиготные. Примером могут служить данные о сниженном числе гетерозигот среди мужчин из пар, имеющих детей по сравнению с мужчинами из пар с повторными необъяснимыми прерываниями беременности и контролем [Болдырева М.Н. с соавт. 2004]. Одним из способов накопления МНС гетерозигот является сексуальное предпочтение, отличающихся по генам МНС партнеров, которое наблюдается преимущественно в дикой природе.

Аутоиммунные процессы в последние годы привлекают исследователей в качестве возможной причины репродуктивных проблем, главным образом, у женщин. Установлена связь определенных вариантов генов МНС II класса, являющихся генами предрасположенности к развитию аутоиммунных заболеваний, с повторными выкидышами и преждевременным прекращением функции. Возникает вопрос, почему варианты HLA генов, ассоциированные с серьезными, без лечения приводящими к гибели, аутоиммунными заболеваниями, к тому же ограничивающими репродуктивную способность, не исчезли из генома

человека и более того, широко распространены в мире среди различных популяций? Работы по установлению ассоциаций HLA II генов с развитием инфекций дают основание предположить, что варианты, ассоциированные с развитием аутоиммунных заболеваний, одновременно ассоциированы с устойчивостью к развитию ряда тяжелых инфекций и наоборот, варианты, ассоциированные с устойчивостью к развитию аутоиммунных заболеваний одновременно ассоциированы с чувствительностью к развитию инфекций [Болдырева М.Н. и Алексеев Л.П. 2006]. Развитие конкретного заболевания, может, например, определяться триггерным возбудителем и другими генами организма хозяина, расположенными, в том числе, и вне системы HLA.

Таким образом, микроорганизмы могут быть причиной удаления «функциональных» гомозигот со слабым ответом на инфекцию и «функциональных» гомозигот со слишком сильным ответом, который может закончиться аутоиммунным заболеванием, приводящим либо к гибели, либо к ограничению репродуктивных возможностей. Можно предположить также, что «функциональная» гетерозигота, в которую входит 1 вариант, ассоциированный с чувствительностью к аутоиммунным заболеваниям (и устойчивостью к инфекциям) и 1 вариант HLA гена, ассоциированный с устойчивостью к аутоиммунным заболеваниям (и чувствительностью к инфекциям), может обеспечить средний уровень иммунного ответа на микроорганизмы, являясь наилучшим вариантом в средне-стабильных условиях окружающей среды. Слишком сильный иммунный ответ (генетически ассоциированный с развитием аутоиммунных заболеваний) приводит к самоповреждению, но может спасать, например, в период пиковых нагрузок во время эпидемий, слишком слабый (генетически ассоциированный с устойчивостью к развитию аутоиммунных заболеваний) достаточен при благоприятных условиях жизни, но недостаточен при атаке «серьезными» микроорганизмами и в момент «пиковых» нагрузок на иммунную систему (в отсутствие медицинской помощи) [Болдырева М.Н. и Алексеев Л.П. 2006]..

Может быть тот факт, что в мире с определенной периодичностью происходят пандемии, которые уносят жизни многих людей, связан как раз с тем, что в благоприятный период с низким уровнем инфекционной нагрузки, в популяции происходит накопление «функционально» гомозиготных субъектов со слабым уровнем иммунного ответа, так как из репродуктивного пула постоянно убираются субъекты с аутоиммунными нарушениями (избыточно сильным

ответом). В период пандемий может происходить массовая гибель людей с низким уровнем иммунного ответа, в то время как субъекты с высоким уровнем ответа, вероятно, могут выживать. При этом все разнообразие генов HLA сохраняется и начинается новый циклический этап накопления «слабых» генов в популяции. Такая балансирующая система отбора «функциональных» гетерозигот, вероятно, должна хорошо реагировать на изменение факторов внешней среды в дикой природе. Воздействие человека на направление отбора также вероятно. Например, борьба с инфекциями при помощи антибиотиков может приводить к накоплению генов определяющих «чувствительность» к развитию инфекции.

Выводы:

1. Установлено частотное распределение гена DRB1 и гаплотипов DRB1-DQA-DQB1 в 20 исследованных популяциях России и стран СНГ, на основании этих данных определено генетическое родство исследованных популяций между собой, а также по отношению к другим народам мира.
2. Установлено отрицательное значение гомозиготности (на уровне групп аллелей) по гену DRB1 для репродуктивного успеха у мужчин. У женщин из пар с привычным невынашиванием беременности увеличена частота гена DRB1*04, у мужчин – снижена частота гена DRB1*01.
3. Определены HLA DRB1 маркеры сахарного диабета 1 типа для 11 популяционных групп, различной этнической и расовой принадлежности.
4. Предложена концепция «функционального» генотипа: «функционально» гомозиготного по сильному типу ответа, состоящего из любых двух вариантов гена DRB1*01, *03, *04, *08, *09, *10; «функционально» гомозиготного по слабому типу иммунного ответа, состоящего из любых двух вариантов гена DRB1*07, *11, *12, *13, *14, *15; *16, и «функционально» гетерозиготного, состоящего из вариантов гена DRB1, входящих в две указанные группы.
5. Установлено, что HLA генетическая предрасположенность к развитию сахарного диабета 1 типа связана в основном с «функционально» гомозиготными по сильному типу генотипами. Носители «функционально» гомозиготных по слабому типу иммунного ответа имеют чрезвычайно низкий риск развития СД1.
6. В результате анализа собственных и литературных данных было сделано предположение о двойной физиологической функции вариантов,

ассоциированных с аутоиммунными заболеваниями – ассоциация с хорошим ответом на инфекции и наоборот, вариантов, ассоциированных с устойчивостью к развитию патологического аутоиммунного процесса – с чувствительностью к развитию тяжелых инфекций.

7. Сформулирована гипотеза преимущества «функциональной» гетерозиготности, в соответствии с которой в благоприятных условиях на популяционном уровне происходит накопление «средних» и «слабых» по уровню иммунного ответа генотипов при постоянном удалении «сильных» генотипов, предрасполагающих (при наличии и других необходимых факторов) к аутоиммунным заболеваниям, приводящим к гибели и ограничению репродукции. Носители «слабых» генотипов не выживают в период выраженных инфекционных нагрузок и при неблагоприятных условиях жизни. Средний, «функционально» гетерозиготный генотип, обеспечивающий достаточно высокий уровень защиты от инфекций при умеренном риске развития аутоиммунной патологии – наиболее выгоден для индивидуума, при этом в популяции сохраняются варианты генов HLA, ассоциированные как со «слабым», так и с «сильным» ответом.

Список работ по теме диссертации

1. Алексеев Л.П., Хаитова Н.М., Дмитриева Н.Г., Болдырева М.Н. и др. Иммуногенетическое обследование семей с близкородственными браками. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1988, №31, с.60-62.
2. Alexeev L.P., Boldyreva M.N., Trofimov D.Yu. et al. Computer-assisted HLA DNA typing with optimized sets of oligonucleotide probes. Materials of 11th International Immunology and Diabetes Workshop, November, 1991, p.110, Yokohama, Japan.
3. Алексеев Л.П., Ундрицов И.М., Болдырева М. Н. и др. Разработка метода мультиплексного генотипирования на модели HLA-локуса человека. II всесоюзная конференция «Генная и клеточная инженерия», Москва, 1992, с.25.
4. Alexeev L., Undritsov I., Boldyreva M. et al. DQA, DQB genotypes and IDDM susceptibility. Congress of Immunology, Budapest, 1992, p.300.
5. Alexeev L., Boldyreva M., Trofimov D. et al. HLA polymorphism in different population groups of former USSR. Proceedings of the international Symposium on HLA in health and diseases, New Delhi, 1993, p.25-30.
6. Alexeev L., Undritsov I., Trofimov D., Boldyreva M. New variant of SSP-DRB1 genotyping. International Conference "The major histocompatibility complex in medicine", Adelaide, Australia, 1994, abs.40.

7. Алексеев Л.П., Ундрицов И., Болдырева М. и др. Аллельный полиморфизм генов II класса HLA у 4 популяций различной расовой принадлежности. Иммунология, 1994, №5, с.18-21.
8. Алексеев Л., Болдырева М., Василев Р. Молекулярно-генетические подходы к изучению системы HLA: новые возможности в фундаментальных и прикладных исследованиях. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1994, N10, с.436-439.
9. Алексеев Л.П., Болдырева М.Н., Трофимов Д.Ю. и др. HLA-DQ генотипы и предрасположенность к инсулин-зависимому сахарному диабету. Иммунология, 1995, N2, с.18-23.
10. Alexeev L., Boldyreva M., Trofimov D. et al. HLA-DQ genotypes and IDDM susceptibility. Eur.J. of Immunogenetics, 1995, vol.22, N.1, abs.126.
11. Alexeev L., Boldyreva M., Trofimov D et al. New variant of SSP technique for clinical application. Eur.J.of Immunogenetics, 1995, v.22, N.1, p.87.
12. Алексеев Л.П., Хаитов Р.М., Израилов К., Болдырева М.Н. Распределение аллелей HLA I, II и III классов в узбекской популяции. Иммунология, 1996, N3, с.23-25.
13. Alexeev L., Trofimov D., Boldyreva M. et al. New Variant of SSP-DRB1 and DQA1 genotyping. Human Immunol, 1996, vol.47, N1-2, p.101-102.
14. Alexeev L, Akopyan A., Boldyreva M, et al. The Diversity of the class II HLA allele frequencies in two ethnics – Buriats and Armenians. Human Immunol, 1996, vol.47, N1-2, p.142-143.
15. Alexeev L., Vasilov R, Boldyreva M., et al. The diabetogenic HLA DQ alleles in 3 Orient populations. Human Immunol, 1996, vol.47, N1-2, p.154.
16. Alexeev L, Boldyreva M., Trofimov D. et al. HLA genetic markers of IDDM in Buriat population. Human Immunol, 1996, vol.47, N1-2, p.156.
17. Алексеев Л., Болдырева М., Трофимов Д. и др. Изучение иммуногенетического статуса популяций, населяющих Россию и страны СНГ. International Journal of Immunorehabilitation, 1996. – N2. – P.69.
18. Alexeev L.P., Boldyreva M.N., Trofimov D.Yu et al. Diverse frequencies of HLA-DRB1 gene determined in 2 Caucasian population groups at FSU territory. In: 1st Balkan and Southeastern European Congress on Histocompatibility and Immunogenetics, June 6-9, Thessaloniki, Hellas, 1997, Abs.44.
19. Alexeev L.P., Boldyreva M.N., Trofimov D.Yu., et al. HLA and IDDM in Russians: population and family studies. In: 1st Balkan and Southeastern European Congress on Histocompatibility and Immunogenetics, June 6-9, Thessaloniki, Hellas, 1997, Abs.26.
20. Alexeev L., Khaitov R., Boldyreva M. et al. HLA in some ethnic groups of the former Soviet Union (FSU). Genetic diversity of HLA. In : Proceedings of the Twelfth International Histocompatibility Workshop and Conference, edited by D.Charron, EDK, 1997, p.364-373.
21. Alexeev L.P., Boldyreva M.N., Trofimov D.Yu. et al. Comparative interpopulation approach in determining HLA-associated genetic susceptibility to IDDM. European J. of Immunogen., 1997, vol.24, suppl. 1, p.51.

22. Alexeev L., Khaitov R., Boldyreva M. et al. Russian Normal. In: HLA 1997 P.I. Terasaki, Ph.D. David W. Gjertson, Ph.D. Editors, Published by UCLA Tissue Typing Laboratory, 1998, p.241-242.
23. Alexeev L., Khaitov R., Boldyreva M. et al. Tuvin Normal. HLA 1997 P.I. Terasaki, Ph.D. David W. Gjertson, Ph.D. Editors, Published by UCLA Tissue Typing Laboratory, 1998, p.241-242.
24. Alexeev L., Khaitov R., Boldyreva M. et al. Buriat Normal. In: HLA 1997 P.I. Terasaki, Ph.D. David W. Gjertson, Ph.D. Editors, Published by UCLA Tissue Typing Laboratory, 1998, p.258-259.
25. Alexeev L., Dedov I., Boldyreva M. et al. Comparative analysis of the HLA markers of IDDM conducted in three ethnic from the territory of former USSR. European J of Immunogen, 1998, Vol.25, Suppl.1, p.52.
26. Boldyreva M., Evseeva I., Boukina A. et al. Distribution of HLA alleles in 14 ethnic groups from the European part of Russia. In: 13th European Histocompatibility Conference, 13-17 April Crete, Greece, 1999, p.32.
27. Болдырева МН, Евсеева ИВ, Букина АМ, и др. Распределение аллелей HLA в 4 этнических группах, проживающих на Европейской части России. Russian Journal of Immunology, 1999, Vol.4, p.96.
28. Boldyreva M., Zilov A, Rakhimova D. et al. Distribution of the HLA DRB1, DQA1, and DQB1 gene specificities in Uzbek population. In: 13th European Histocompatibility Conference, 13-17 April Crete, Greece, 1999, p.32.
29. Khaitov R, Dedov I., Boldyreva M. et al. HLA-markers of insulin-dependent diabetes mellitus in Uzbek population. In: 13th European Histocompatibility Conference, 13-17 April Crete, Greece, 1999, p.50.
30. Зилов А.В., Алексеев Л.П., Болдырева М.Н. и др. Возможности иммуногенетического подхода в прогнозировании развития ИЗСД. Материалы II Съезда эндокринологов, Москва, 1999.
31. Alexeev L., Boldyreva M., Trofimov D. et al. IDDM associated HLA markers among three population groups residing at the territory of former USSR. Human Immunology. In: 14th European histocompatibility Conference, 2000, Vol.61, Suppl.1, p.59.
32. Boldyreva M., Alexeev L., Groudakova E. et al. The diversity of HLA DRB1*04 alleles in seven ethnic groups of Russia. Human Immunology. 14th European histocompatibility Conference, 2000, Vol.61, Suppl.1, p.95-96.
33. Evseeva I., Boldyreva M., Grudakova E. et al. HLA DR, DQ haplotypes in two different Russian ethnic groups. Human Immunology, 2000, vol.61, suppl.1, p.123-124.
34. Никонова Т.В., Дедов И.И., Алексеев Л.П., Болдырева М.Н. и др. Прогнозирование СД1 типа в группах высокого риска. Сахарный диабет.– 2000, №2, с.2-6.
35. Болдырева М.Н., Грудакова Е.Г., Гуськова И.А. и др. Распределение аллелей гена DRB1*04 среди здоровых представителей 7 популяционных групп, проживающих в России. Иммунология, 2000, №6, с.12-15.
36. Alexeev L., Boldyreva M., Trofimov D. et al. Interethnic study of HLA haplotypes associated to autoimmune disease susceptibility (diabetes in particular). Eur. Journ. Allergy and Clin. Immun, 2000, Vol.55, Suppl.63, p.74-75.

37. Болдырева М.Н., Грудакова Е.Г., Кабдулова Д.О. и др. Создание ПЦР-наборов для молекулярно-генетического типирования генов главного комплекса гистосовместимости человека (HLA) разного уровня разрешения. Аллергология, астма и клиническая иммунология, 2001, №1 с.161-162.
38. Khaitov R., Dedov I., Boldyreva M. et al. Intraethnic polymorphism of the class II HLA genotypes associated to insulin-dependent diabetes mellitus susceptibility. Allergy, 2001, Suppl. 68, Vol.56, p.16-17.
39. Boldyreva M, Kabdoulova D, Groudakova E. et al. Comparative analysis of the class II HLA profile among three population groups sharing historical background. Europ J of Immunogen., 2001, vol.28, N.2 April, p.277.
40. Alexeev L.P., Dedov I.I., Balabolkin M.I., Boldyreva M.N. et al. Different associations between HLA and insulin-dependent diabetes mellitus in two Russian groups from different European areas of Russia. Europ J of Immunogen., 2001, vol.28, N.2 April, p.298.
41. Alexeev L., Dedov I., Boldyreva M. et al. DNA-HLA genotyping used for individual prognosis of insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). 11th International Congress of Immunology. Scandinavian J of Immunol, 2001, vol.54, Suppl.1, p.39.
42. Алексеев Л.П., Дедов И.И., Болдырева М.Н., и др. DNA-HLA-генотипирование при индивидуальном прогнозе сахарного диабета 1 типа (СД1). Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии М., ВИНТИ, 2001, том II, с.249.
43. Болдырева М.Н., Хаитов М.Р., Евсеева И.В. и др. Распределение HLA-аллелей в 8 этнических группах России. Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии. М., ВИНТИ, 2001, том II, с.251.
44. Гузов И.И., Алексеев Л.П., Болдырева М.Н. и др. Принципы диагностики и лечения аллоиммунных форм нарушений репродуктивной функции. Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии. М., ВИНТИ, 2001, том II, с.253.
45. Зиллов А.В., Болдырева М.Н., Алексеев Л.П. и др. Межэтнические различия генов HLA II класса при СД1 типа. Актуальные проблемы современной эндокринологии. IV Всероссийский конгресс эндокринологов С.-П., 1-5 июля, 2001, с.75.
46. Евсеева И.В., Болдырева М.Н., Грудакова Е.Г. и др. Иммуногенетическая характеристика коренных народностей севера Европейской территории России. Иммунология, 2001, №4, с.22-27.
47. Осокина И.В., Болдырева М.Н., Ширшина Р.К. и др. HLA-маркеры сахарного диабета 1 типа в Тувинской популяции. Сахарный диабет, 2001, 4(13), с.8-10.
48. Alexeev LP, Boldyreva MN, Zelov AV. et al. Diverse HLA class II associations to type I diabetes revealed on intraethnic level. Tissue antigens. XIII International Workshop and Conference, 2002, p.88.
49. Evseeva I., Spurkland A., Thorsby E., Smerdel A., Trenebjærg L., Boldyreva M. et al. HLA profile of three ethnic groups living in the North-Western region of Russia. Tissue Antigens, 2002, Vol. 59(1), p.38-43.

50. Яковлева К.П., Гуськова И.А., Богатова О.В., Болдырева М.Н. и др. Распределение генов HLA II класса у детей с atopическими заболеваниями. Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии. 2002г, М., ВИНТИ, том 2, с.200.
51. Алексеев Л.П., Дедов И.И., Болдырева М.Н. и др. Иммуногенетика сахарного диабета 1 типа. Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии. 2002 г, М., ВИНТИ, том 2, с.203.
52. Boldyreva M., Kabdulova D., Zelov A. et al. HLA haplotypes determined among Caucasians and Orients correlated to Type I diabetes. *Europ. J. Immunogen.*, 2002, vol.29, N2, p.146.
53. Khaitov R.M., Dedov I.I., Boldyreva M.N. et al. Different genetic markers for Type 1 diabetes among three population groups from European territory of Russia. In: 15th European Immunology Congress EFIS 2003. Rhodes, Greece. June 8-12, 2003, p.248.
54. Boldyreva MN, Gouzov II, Bartseva OB et al. HLA-DRB1 genes possibly involved in spontaneous abortions of uncertain genesis. *J of reproductive immunol*, 2003, vol.58, N2, p.182.
55. Boldyreva MN, Trofimov DYu, Yankevich TE et al. HLA-genes diversity among 5 Russian groups from different regions of Russian European In: 17th European Histocompatibility Conference. 11 Annual Meeting. German Society of Immunogenetics. Baden-Baden, Germany May 6-9- 2003, Vol.4, P.S29.
56. Evseeva I, Tonks S., Wells S., Balanovsky O., Spitsin V., Alexeev L., Boldyreva M., Bodmer W. The contribution of different genes to genetic differentiation between aboriginal populations of Northern Russian. In : 17th European Histocompatibility Conference. 11 Annual Meeting. German Society of Immunogenetics. Baden-Baden, Germany. May 6-9, 2003, Vol.4, P.S26.
57. Boldyreva M.N., Chromova N.A., Yankevich T.E. et al. HLA-DRB1 homozygosis in spontaneous abortions of uncertain genesis. In: 17th European Histocompatibility Conference. 11 Annual Meeting. German Society of Immunogenetics. Baden-Baden, Germany. May 6-9, 2003, Vol.4, P.S70.
58. Алексеев Л.П., Дедов И.И., Болдырева М.Н. и др. HLA-гены – маркеры инсулин-зависимого сахарного диабета, этнические аспекты. *Иммунология.*, 2003, №5, Том 24, с.308-311.
59. Khaitov M.R., Alexeev L.P. Trofimov D.Yu., Boldyreva M.N. et al. HLA-associated markers of susceptibility to virus-induced bronchial asthma. *Immunology letters.*, 2003, v.87, N1-3, p.56.
60. Алексеев Л.П., Болдырева М.Н. Пересмотр представлений о роли HLA антигенов в физиологии и патологии репродуктивного процесса. *Физиология и патология иммунной системы.*, 2004, №1, с.44-50.
61. Болдырева М.Н., Хаитов Р.М., Барцева О.Б. и др. Исследование роли HLA-DRB1-генов при невынашивании беременности неясного генеза. *Иммунология.*, 2004, №1, том 25, с.4-8 .
62. M.Boldyreva, D.Trofimov, O.Bogatova et al. Genetic Markers for Type I Diabetes among 8 Population Groups from ex-USSR. *Clinical and Investigative medicine.* In: 12th International Congress of Immunology and 4th Annual Conference of FOCIS, July 18-23, 2004, Montreal, Canada, 2004, Vol.27, No. 4, P.78A.

63. 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, с.324-329.
64. Boldyreva M.N., Alexeev L.P. Hypothesis of "functional" heterozygosity. Abstracts. Genetics and the Immune Response In: 35th ASI/14th IHIWS, 4-6 Dec., Melbourne, Australia. , 2005, p.61(1024).
65. Болдырева М.Н., Алексеев Л.П., Хаитов Р.М. и др. HLA-генетическое разнообразие населения России и СНГ. I. Русские. Иммунология, 2005, том 26 (5), с.260-263.
66. Сароянц Л.В., Болдырева М.Н., Гуськова И.А. и др. Иммуногенетические маркеры предрасположенности к лепре у русских жителей Астраханского региона. Иммунология, 2005, том 26 (50), с.263-267.
67. Хаитов Р.М., Алексеев Л.П., Болдырева М.Н. Новые представления о функции главного комплекса генов иммунного ответа человека (HLA и естественный отбор). Физиологический журнал им. Сеченова, 2006, том 92, №4, с.393-401.
68. Хаитов Р.М., Алексеев Л.П., Болдырева М.Н. Новые представления о физиологической роли HLA генов в репродуктивном процессе. Молекулярная медицина, 2006, №3, с. 9-17.
69. Болдырева М.Н., Гуськова И.А., Богатова О.В. и др. HLA-генетическое разнообразие населения России и СНГ. II. Народы европейской части. Иммунология, 2006(1), том.27, №4, с.198-202.
70. Болдырева М.Н., Гуськова И.А., Богатова О.В. и др. HLA-генетическое разнообразие населения России и СНГ. III. Народы Евразии. Иммунология, 2006(2), №6, с. 324-329.
71. Болдырева МН, Алексеев Л,П. HLA и естественный отбор. Гипотеза «преимущества функциональной гетерозиготности». Иммунология, 2006, Т.27, №3, с.172-176.
72. Сароянц Л.В., Болдырева М.Н., Гуськова И.А. и др. Иммуногенетический профиль больных туберкулезом и лепрой в казахской популяции. Иммунология, 2006, том 27, №5, с.285-288.
73. Хромова Н.А., Болдырева М.Н., Гуськова И.А. и др. Изучение особенностей распределения аллелей DRB1 локуса и трехлокусных гаплотипов среди представителей восточнославянских популяций. Медицинская генетика, 2006, том 5, №6, с. 21-25.