

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

МЕДИЦИНА
MEDICINE

УДК [616.441+616.379-008.64]-053.2-097.1:575.174.015.3
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2024-68-5-395-403>

Поступило в редакцию 05.09.2024
Received 05.09.2024

Н. В. Волкова^{1,2}, Е. А. Аксёнова, А. А. Яцкив³, А. В. Солнцева^{1,4}, Р. И. Гончарова³

¹Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

²2-я городская детская клиническая больница, Минск, Республика Беларусь

³Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

⁴Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии,
Боровляны, Республика Беларусь

**АССОЦИАЦИЯ ГЕНОВ HLA II КЛАССА С АУТОИММУННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ
ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ДЕТЕЙ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА**

(Представлено академиком А. В. Кильчевским)

Аннотация. Гены человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) II класса являются одним из важнейших факторов, влияющих на вероятность возникновения наиболее распространенных аутоиммунных заболеваний, включая сахарный диабет (СД) 1 типа и аутоиммунные тиреоидные заболевания (АИТЗ). Учитывая высокую вариабельность генов HLA и специфичность их аллельных спектров для разных популяций, представляло интерес провести HLA-типирование детей с изолированным СД 1 типа и в сочетании с АИТЗ (аутоиммунным полигландулярным синдромом 3а типа – АПС 3а типа) для установления аллелей, ассоциированных с предрасположенностью к развитию АИТЗ у детей с СД 1 типа в Беларуси. Определен спектр аллелей по 3 генам HLA-комплекса II класса (*DRB1*, *DQB1*, *DQA1*) у 49 детей с АПС 3а типа, 95 детей с СД 1 типа методом SBT (Sequence-Based Typing) и у 24 детей контрольной группы с помощью высокопроизводительного секвенирования нового поколения (Illumina). Выявлен ряд аллелей и гаплотипов *DRB1*, *DQB1*, *DQA1*, ассоциированных с предрасположенностью или резистентностью к обеим рассматриваемым формам аутоиммунной патологии (СД 1 типа и АПС 3а типа) у здорового детского контингента. Полученные данные свидетельствуют о наличии в белорусской популяции общего спектра полиморфных вариантов генов HLA II класса, вовлеченных в этиопатогенез СД 1 типа и АПС 3а типа. Вместе с тем у детей с АПС 3а типа обнаружена более высокая суммарная частота определенных подтипов аллеля *HLA-DRB1*04* и одной из разновидностей гаплотипа *DRB4-DQ4.3* по сравнению со сверстниками с изолированным СД 1 типа. Эти выявленные генетические маркеры могут быть использованы для выделения групп высокого риска развития АИТЗ у детей с СД 1 типа в белорусской популяции.

Ключевые слова: аутоиммунные заболевания щитовидной железы, сахарный диабет 1 типа, аутоиммунный полигландулярный синдром 3а типа, гены человеческого лейкоцитарного антигена, генетический полиморфизм

Для цитирования. Ассоциация генов HLA II класса с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы у детей с сахарным диабетом 1 типа / Н. В. Волкова [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2024. – Т. 68, № 5. – С. 395–403. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2024-68-5-395-403>

Natalya V. Volkova^{1,2}, Elena A. Aksenova, Hanna A. Yatskiu³, Angelika V. Solntseva^{1,4}, Roza I. Goncharova³

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

²2nd City Children's Clinical Hospital, Minsk, Republic of Belarus

³Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

⁴Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology,
Borovlyany, Republic of Belarus

**ASSOCIATION OF HLA CLASS II GENES WITH AUTOIMMUNE THYROID DISEASES IN CHILDREN
WITH TYPE 1 DIABETES**

(Communicated by Academician Aleksandr V. Kilchevsky)

Abstract. Human leukocyte antigen (HLA) class II genes are one of the main genetic susceptibility factors of the most common autoimmune diseases, including type 1 diabetes mellitus (T1D) and autoimmune thyroid diseases (AITD). Distinct HLA alleles are associated with autoimmune endocrinopathies in different populations. This work was aimed to reveal the

alleles associated with a predisposition to AITD in children with T1D in Belarus. 49 patients with a combination of T1D and AITD (autoimmune polyglandular syndrome type 3a – APS type 3a), 95 patients with T1D and 24 healthy controls were included into the study. HLA typing for 3 genes (*DRBI*, *DQBI*, *DQAI*) was performed by SBT (sequence-based typing) in the children with T1D and APS type 3a and by high-performance sequencing of a new generation (Illumina) in the children of the control group. We identified a number of alleles and haplotypes *DRBI*, *DQBI*, *DQAI* associated with a predisposition or resistance to both forms of autoimmune pathology (T1D and APS type 3a) in healthy children. These data indicate a common spectrum of polymorphic variants of HLA class II genes involved in the etiopathogenesis of T1D and APS type 3 in the Belarusian population. At the same time, the children with type 3a APS had a higher total frequency of certain *HLA-DRBI*04* allele subtypes and one of the variants of the *DRB4-DQ4.3* haplotype, compared with the patients with isolated T1D. These revealed genetic markers can be used to identify high-risk groups of AITD in children with T1D in the Belarusian population.

Keywords: autoimmune thyroid diseases, type 1 diabetes, autoimmune polyglandular syndrome type 3a, human leukocyte antigen genes, genetic polymorphism

For citation. Volkova N. V., Aksenova E. A., Yatskiu H. A., Solntseva A. V., Goncharova R. I. Association of HLA class II genes with autoimmune thyroid diseases in children with type 1 diabetes. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2024, vol. 68, no. 5, pp. 395–403 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2024-68-5-395-403>

Введение. Гены человеческого лейкоцитарного антигена (HLA – Human Leukocyte Antigen), также известные как гены главного комплекса гистосовместимости (МНС – Major Histocompatibility Complex), являются одним из важнейших факторов, влияющих на вероятность возникновения наиболее распространенных аутоиммунных заболеваний, включая сахарный диабет (СД) 1 типа, аутоиммунные тиреоидные заболевания (АИТЗ) и их сочетание (аутоиммунный полигланулярный синдром 3а типа – АПС 3а типа). На долю HLA приходится почти 50 % генетического риска данных эндокринопатий [1], из них самыми значимыми детерминантами являются гены HLA II класса *DRBI*, *DQAI* и *DQBI* [2].

Характерной особенностью генов HLA является полиморфность. Белки HLA II класса представляют собой гетеродимеры, состоящие из двух цепей (α и β), каждая из которых кодируется соответствующими генами A и B. В белках HLA-DR изменчивостью обладает только β -цепь, в то время как в HLA-DQ обе цепи вариабельны [2]. Наиболее полиморфные участки белков DR и DQ расположены в областях, образующих пептидсвязывающую борозду. Вариации аминокислотных последовательностей карманов этой борозды изменяют способность молекул HLA связывать и представлять антигены, запускать дальнейший иммунный ответ и, как следствие, являются определяющим фактором многих аутоиммунных заболеваний [2].

Предложены два механизма, с помощью которых определенные аллели генов HLA II класса могут быть вовлечены в общую этиологию СД 1 типа и АИТЗ. Согласно первому, две различные молекулы HLA II класса (например, DQ для СД 1 типа и DR для АИТЗ), находясь в тесном неравновесном сцеплении, совместно наследуются и экспрессируются на антигенпрезентирующих клетках. Таким образом, одна из них связывает пептиды островковых клеток поджелудочной железы, а другая – тиреоцитов [3]. Действительно, показано, что определяющую роль в предрасположенности к СД 1 типа играют гены *HLA-DQ* [4; 5], а АИТЗ в большей степени ассоциированы с *HLA-DR* [2; 4]. Согласно второму механизму, молекулярные последовательности карманов пептидсвязывающей борозды некоторых аллелей HLA, определяемые специфическими аминокислотами, обуславливают возможность презентации как тиреоидных, так и островковых антигенов. Кроме того, структура карманов HLA может влиять не только на связывание с пептидом, но и на закрепление Т-клеточного рецептора. Таким образом, определенные аутоантигенные пептиды с большей вероятностью будут представлены Т-клеткам, ускользнув от механизмов толерантности, тем самым индуцируя аутоиммунный процесс [3]. Выявление таких ключевых аминокислотных остатков карманов пептидсвязывающей борозды и определяющих их аллелей HLA имеет высокую практическую значимость для последующей разработки лекарственных средств. Так, в последние годы на мышиных моделях АИТЗ и АПС 3а типа активно изучаются препараты, способные блокировать связывание пептидов тиреоцитов и островковых клеток с HLA-DR3-карманом [5].

Показано, что аллели и гаплотипы HLA II класса, ассоциированные с СД 1 типа и АИТЗ, отличаются в разных популяциях. Например, некоторые гаплотипы, наиболее тесно связанные с предрасположенностью к СД 1 типа и АПС 3а типа в европоцентричных популяциях (*DR4-DQ8*,

DR3-DQ2), могут быть не применимы к другим этническим группам. В ряде стран восприимчивыми гаплотипами являются *DR4-DQ4* (Япония, Китай, Тайвань), *DR9-DQ9* (Япония) [2; 4]. Для Беларуси таких данных в настоящее время нет.

Цель исследования – выявление полиморфных вариантов генов HLA II класса, ассоциированных с риском развития аутоиммунной патологии щитовидной железы у детей с СД 1 типа в белорусской популяции.

Материалы и методы исследования. Для проведения исследования «случай-контроль» на базе 2-й городской детской клинической больницы г. Минска были сформированы две группы пациентов: 49 детей с АПС 3а типа (сочетанием СД 1 типа и аутоиммунного тиреоидита ($n = 47$) или болезни Грейвса ($n = 2$)) – основная группа; и 95 детей с СД 1 типа – группа сравнения ($n = 95$). В основную группу включены 32 девочки и 17 мальчиков, возраст 12,3 (10,4–15,6) лет; в группу сравнения – 41 девочка и 54 мальчика, возраст 11,6 (9,3–14,3) лет. Контрольную группу составили условно здоровые дети ($n = 24$, возраст 16,0 (15,8–17,0) лет, 13 девочек и 11 мальчиков), не имеющие аутоиммунных и хронических воспалительных заболеваний.

Сбор биологического материала осуществляли после получения письменного информированного согласия и одобрения проведения исследований этическим комитетом. Материалом исследования являлась геномная ДНК, выделенная из сухих пятен нативной венозной крови, нанесенных на фильтровальную бумагу, или из цельной венозной крови (для контрольной группы) методом фенол-хлороформной экстракции. В основной группе и группе сравнения HLA-типирование по генам *HLA-DRB1*, *-DQB1* и *-DQA1* проведено методом секвенирования SBT (Sequence-Based Typing) с использованием наборов SBTextcellerator и AlleleSEQR по протоколу производителя (GenDx). В контрольной группе таргетное HLA-типирование высокого разрешения выполнено на приборе MiSeq (Illumina) в режиме парных прочтений в формате кластерного секвенирования путем синтеза как указано в [6].

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ Statistica 10.0, Medcalc. При сравнении частоты распространенности аллелей в исследуемых группах применяли двусторонний точный критерий Фишера и рассчитывали показатели отношения шансов (ОШ) с 95 %-ным доверительным интервалом (95 % ДИ).

Результаты и их обсуждение. В результате сравнительного анализа результатов HLA-типирования в группах установлены различия в распространенности ряда аллельных вариантов исследуемых генов (табл. 1).

Отмечено, что самыми распространенными аллелями у детей с АПС 3а типа и СД 1 типа были *DRB1*04* (52,0 и 44,2 % соответственно, $p > 0,05$). По данным литературы, ассоциация *HLA-DR4* с повышенным риском СД 1 типа у лиц европеоидной расы является известным фактом. Однако разные подтипы молекул DR4 могут быть как рисковыми, так нейтральными и защитными в отношении СД 1 типа [7]. Так, у шведских детей с СД 1 типа установлено четыре предрасполагающих подтипа (*DRB1*04:01*, **04:02*, **04:04*, **04:05*) и два протективных (*DRB1*04:03* и **04:07*). Исследование молекулярной последовательности белка HLA-DR привело к выделению трех позиций β -цепи белка ($\beta 71$, $\beta 74$, $\beta 86$), определенные мотивы которых являются предикторами островкового аутоиммунитета [7]. Наиболее изученной является позиция $\beta 74$, исключительная важность которой связана с расположением в кармане P4, где пептидсвязывающий мотив HLA перекрывается с участком стыковки с Т-клеточным рецептором. В молекулах HLA-DR4 остаток $\beta 74$ может быть занят незаряженным аланином (A) или отрицательно заряженной глутаминовой кислотой (E). Отрицательный заряд в данной области снижает сродство HLA-DR к антигенам. Действительно, во всех вариантах мотивов $\beta 71$ - $\beta 74$ - $\beta 86$, ассоциированных с повышенным риском СД 1 типа (KAG, EAV, RAG и RAV), в позиции $\beta 74$ находился остаток аланина, а в защитных (REG и REV) – глутаминовой кислоты (табл. 2) [7].

Мы сравнили суммарную частоту аллелей *DRB1*04*, содержащих мотивы «KAG», «EAV», «RAG» и «RAV» $\beta 71$ - $\beta 74$ - $\beta 86$ в исследуемых группах (*DRB1*04:01*, **04:02*, **04:04*, **04:05* и **04:10*), и обнаружили значительно большую их распространенность у детей с АПС 3а типа (45,9 %) и СД 1 типа (33,2 %), чем в группе контроля (4,3 %, $p < 0,001$) (табл. 1). Эти данные

Т а б л и ц а 1. Перечень статистически значимых различий частот распространенности HLA-аллелей между группами пациентов с АПС 3 типа, СД 1 типа и группой контроля

Table 1. The list of statistically significant differences in the prevalence of HLA alleles between the groups of patients with APS type 3a, T1D and the control group

Ген HLA HLA gene	Аллель Allele	АПС 3а типа, % APS type 3a, %	СД 1 типа, % T1D, %	Контроль, % Control, %	ОШ [95 % ДИ] OR [95 % CI]	<i>p</i>
DRB1	*04:Х*	45,9	33,2	4,3	¹ 1,71 [1,04–2,82]	0,0400
					² 18,68 [4,29–81,38]	<0,0001
					³ 10,91 [2,56–46,47]	<0,0001
	*07:01	4,1	8,9	17,4	¹ 0,43 [0,14–1,32]	0,1566
					² 0,20 [0,06–0,71]	0,0188
					³ 0,47 [0,19–1,16]	0,1100
	*11	0,0	1,6	13,0	¹ –	0,5534
					² –	0,0008
					³ 0,12 [0,03–0,51]	0,0022
	*15	4,1	1,6	15,2	¹ 2,65 [0,58–12,10]	0,2338
					² 0,24 [0,07–0,86]	0,0375
					³ 0,09 [0,02–0,36]	0,0005
DQA1	*01:02	5,1	2,1	20,9	¹ 2,47 [0,65–9,43]	0,2823
					² 0,20 [0,06–0,65]	0,0109
					³ 0,08 [0,02–0,28]	<0,0001
	*02:01	4,1	5,9	18,6	¹ 0,68 [0,21–2,21]	0,5906
					² 0,19 [0,05–0,66]	0,0078
					³ 0,27 [0,10–0,72]	0,0336
	*03	44,9	44,1	7,0	¹ 1,03 [0,63–1,68]	1,0
					² 10,86 [3,15–37,50]	<0,0001
					³ 10,34 [3,09–34,61]	<0,0001
	*06:01	12,2	6,9	0,0	¹ 1,88 [0,82–4,29]	0,1842
					² –	0,0180
					³ –	0,1344
DQB1	*04:02	30,2	29,3	5,3	¹ 1,05 [0,61–1,79]	0,8912
					² 8,01 [1,81–35,46]	0,0013
					³ 7,65 [1,78–32,85]	0,0009
	*06:02	1,0	0,5	10,3	¹ 1,97 [0,12–31,82]	1,0
					² 0,09 [0,01–0,85]	0,0244
					³ 0,05 [0,01–0,43]	0,0033

Примечания: ¹ – АПС 3а типа vs. СД 1 типа; ² – АПС 3а vs. контроль; ³ – СД 1 типа vs. контроль; *DRB1*04:Х – аллели DRB1*04:01, 04:02, 04:04, 04:05, 04:10.

Notes: ¹ – APS type 3a vs. T1D; ² – APS type 3a vs. controls; ³ – T1D vs. controls; *DRB1*04:Х – alleles DRB1*04:01, 04:02, 04:04, 04:05, 04:10.

Т а б л и ц а 2. Мотивы β71-β74-β86 разных подтипов HLA-DR4 и их эффекты в отношении риска СД 1 типа [7]

Table 2. β71-β74-β86 motifs of different subtypes of the HLA-DR4 and their effects on the risk of T1D [7]

Аллель Allele	Мотив β71-β74-β86 Motive β71-β74-β86			Эффект в отношении риска СД 1 типа Effect on the risk of T1D
	β71	β74	β86	
DRB1*04:01	К	А	Г	Рисковый
DRB1*04:02	Е	А	V	Рисковый
DRB1*04:03	Р	Е	V	Защитный
DRB1*04:04	Р	А	V	Рисковый
DRB1*04:05	Р	А	Г	Рисковый
DRB1*04:06	Р	Е	V	Редкий аллель
DRB1*04:07	Р	Е	Г	Защитный
DRB1*04:10	Р	А	V	Редкий аллель

Примечания: Е – глутаминовая кислота, К – лизин, Р – аргинин, А – аланин, Г – глицин, V – валин.

Notes: E – glutamic acid, K – lysine, R – arginine, A – alanine, G – glycine, V – valine.

соответствуют результатам шведского исследования [7]. При этом у детей с сочетанной аутоиммунной патологией установлена большая частота указанных аллелей, чем у сверстников с СД 1 типа (ОШ 1,71 [1,04–2,82], $p = 0,0400$). Отмечена также большая доля носителей вышеперечисленных аллелей среди пациентов с АПС 3а типа (65,3 %) по сравнению с СД 1 типа (46,3 %), ОШ = 2,18 [1,07–4,45], $p = 0,031$. Полученные данные позволяют сделать вывод, что носительство определенных подтипов *HLA-DR4* является не только маркером риска СД 1 типа и АПС 3а типа для здоровой детской популяции, но и повышает вероятность развития АИТЗ у детей с СД 1 типа. Наши результаты согласуются с данными греческого исследования, где выявлены значительно более высокие частоты ряда подтипов *HLA-DR4* (*DRB1*04:01*, **04:02*, **04:04* и **04:05*) у пациентов с АИТ по сравнению с группой контроля, в то время как *DRB1*04:07* и **04:03* чаще встречались у здоровых лиц. Авторы так же предположили, что полученные данные связаны с разницей строения кармана Р4 между подтипами DR4 [8].

Среди полиморфных вариантов гена *HLA-DQA1* аллель *DQA1*06:01* выявлен у пациентов с АПС 3а типа (12,2 %) и СД 1 типа (6,9 %) и не обнаружен у детей контрольной группы, причем статистически значимая разница установлена только между пациентами с полигландулярной патологией и здоровыми детьми ($p = 0,0180$) (табл. 1). В последние годы накапливаются данные, что связь определенных аллелей HLA с восприимчивостью к аутоиммунным заболеваниям обусловлена не только аллель-специфичной презентацией аутоантигенов, но и внутренней нестабильностью белка МНС [9]. Простейшим механизмом, посредством которого нестабильный протеин МНС может повышать риск аутоиммунных заболеваний, является неполная негативная селекция в тимусе. Неспособность образовать стабильные связи с аутоэпитопами и обеспечить полноценную презентацию антигенов приводит к высвобождению из тимуса аутореактивных Т-клеток [9]. Одним из методов анализа стабильности белка является измерение экспрессии белка МНС на клеточной поверхности (Δ МНС). В совместном исследовании японских и шведских ученых установлена обратная корреляция между Δ МНС и риском СД 1 типа и предположено наличие связи между внутренней нестабильностью HLA-DQ и заболеванием. В результате изучения аллель-специфичных последовательностей аминокислот белка HLA-DQA1 самая сильная связь с Δ МНС обнаружена у позиции 47 α . В отличие от типичных полиморфизмов МНС, позиция 47 α расположена вне пептидсвязывающей борозды и поверхности распознавания Т-клеточного рецептора. Ее могут занимать аргинин, лизин, глутамин и цистеин. Наиболее выраженная ассоциация СД 1 типа выявлена с вариантами HLA-DQA1, содержащими в положении 47 α цистеин и глутамин, причем они одновременно были связаны с самыми низкими показателями Δ МНС. Из всех аллельных вариантов DQA1 наименьшей Δ МНС обладал *DQA1*06:01* с цистеином с позиции 47 α [9]. Следовательно, у носителей аллеля *DQA1*06:01* можно ожидать повышенную вероятность аутоиммунной патологии, что подтверждается нашими результатами, в частности, наличием ассоциации с риском развития АПС 3а типа у здоровых детей. Однако отсутствие значимых отличий между пациентами с АПС 3а типа и изолированным СД 1 типа не позволяет считать данный аллель маркером предрасположенности к аутоиммунным тиреопатиям у детей с СД 1 типа.

Нами установлены более высокие частоты аллелей *DQA1*03* и *DQB1*04:02* у детей с АПС 3а типа и СД 1 типа по сравнению с группой контроля без значимых различий между собой (табл. 1). Согласно литературным данным, *DQA1*03* в комплексе с *DQB1*04:01/*04:02* (*DQ4.3*) и *DQB1*03:02* (*DQ8*) ассоциированы с повышенным риском развития СД 1 типа, и для указанных гаплотипов описан низкий уровень Δ МНС [9]. Ранее была показана связь аллеля *DQB1*04:02* с риском возникновения олигоартикулярного подтипа ювенильного ревматоидного артрита у белорусских детей [6].

Отмечена более высокая распространенность гаплотипа *DRB1*04:X~DQA1*03~DQB1*04:02* (*DR4-DQ4.3*) в обеих группах пациентов по сравнению с контролем (табл. 3). Вместе с тем один из вариантов данного гаплотипа, а именно *DRB1*04:02~DQA1*03~DQB1*04:02*, выявлен с более высокой частотой у детей с АПС 3а типа по сравнению с СД 1 типа (ОШ 4,79 [1,21–18,97], $p = 0,0346$) и не обнаружен в группе контроля. Это позволяет предположить, что указанный гаплотип может являться фактором риска развития АИТЗ у детей с СД 1 типа. Действительно, в литературе есть сведения о связи *DRB1*04:02* с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы, в частности, в Иране установлена его ассоциация с тиреоидитом Хашимото [10].

Т а б л и ц а 3. Перечень статистически значимых различий частот распространенности HLA-гаплотипов в группах пациентов с АПС 3а типа и СД 1 типа и в группе контроля

Т а б л е 3. The list of statistically significant differences in the prevalence of HLA haplotypes in the groups of patients with APS type 3a and T1D and in the control group

Гаплотип Haplotype	АПС 3а типа, % APS type 3a, %	СД 1 типа, % T1D, %	Контроль, % Control, %	ОШ [95 % ДИ] OR [95 % CI]	<i>p</i>
<i>DRB1*04:X~ DQA1*03~DQB1*04:02 (DR4-DQ4.3)</i>	17,3	14,4	2,2	¹ 1,25 [0,64–2,43]	0,4959
				² 9,44 [1,22–73,33]	0,0127
				³ 7,55 [1,00–57,07]	0,0211
<i>DRB1*04:02~ DQA1*03~DQB1*04:02</i>	7,1	1,6	0,0	¹ 4,79 [1,21–18,97]	0,0346
				² –	0,0971
				³ –	1,0
<i>DRB1*11~ DQA1*05~DQB1*03:01 (DR11-DQ7.5)</i>	0	0,5	9,1	¹ –	1,0
				² –	0,0084
				³ 0,05 [0,01–0,49]	0,0048
<i>DRB1*15~ DQA1*01:02~DQB1*06:02 (DR15-DQ6)</i>	0	0	9,1	¹ –	1,0
				² –	0,0084
				³ –	0,0011
<i>DRB1*07:01~ DQA1*02:01~DQB1*02:02/*03:03 (DR7-DQ2.2/9.2)</i>	2,0	2,6	13,6	¹ 0,77 [0,15–4,05]	1,0
				² 0,13 [0,03–0,68]	0,0112
				³ 0,17 [0,05–0,59]	0,0071

П р и м е ч а н и я: ¹ – АПС 3а типа vs. СД 1 типа; ² – АПС 3а vs. контроль; ³ – СД 1 типа vs. контроль.
N o t e s: ¹ – APS type 3a vs. T1D; ² – APS type 3a vs. controls; ³ – T1D vs. controls.

Нами также выявлен ряд аллелей и гаплотипов, снижающих вероятность развития изучаемых аутоиммунных эндокринопатий у здоровых детей в белорусской популяции.

Установлен протективный эффект аллеля *DRB1*07:01* по отношению к АПС 3а типа (ОШ 0,20 [0,06–0,71], *p* = 0,0188), но не к изолированному СД 1 типа по сравнению с контрольной группой (табл. 1). Полученные результаты сопоставимы с данными хорватского исследования, где было отмечено значительное отличие частоты *DRB1*07* между контрольной группой и пациентами с АПС 3а типа, но не с СД 1 типа [11].

По данным литературы, *DRB1*07:01* находится в неравновесном сцеплении с *DQB1*02:02/*03:03* и *DQA1*02:01* [12]. Ранее сообщалось о протективном влиянии гаплотипов *DRB1*07:01~DQA1*02:01~DQB1*02:02* (*DR7-DQ2.2*) и *DRB1*07:01~DQA1*02:01~DQB1*03:03* (*DR7-DQ9.2*) в отношении СД 1 типа и АИТЗ у европеоидов [12; 13]. Известно, что гены *HLA-DQ* вносят значительный вклад в восприимчивость к островковому аутоиммунитету независимо или совместно с *HLA-DRB1*. Шведские ученые L. P. Zhao и др. показали, что аминокислотный мотив, образуемый *DQA1*02:01~B1*02:02*, ассоциирован с устойчивостью к СД 1 типа [14]. Еще одним фактором, объясняющим защитные свойства *DQ2.2* и *DQ9.2*, являются высокие показатели ΔMHC и стабильности данных гетеродимеров [9]. Нами обнаружены статистически значимые отличия в частоте гаплотипов *DRB1*07:01~DQA1*02:01~DQB1*02:02/*03:03* между детьми контрольной группы и АПС 3а типа (ОШ 0,13 [0,03–0,68], *p* = 0,0112) и СД 1 типа (ОШ 0,17 [0,05–0,59], *p* = 0,0071) без значимой разницы между группами пациентов (табл. 3). Это указывает на защитный эффект данных гаплотипов по отношению к риску развития изолированного СД 1 типа и в сочетании с АИТЗ для здорового детского контингента, но не аутоиммунных тиреопатий у детей с СД 1 типа.

Как показано в табл. 1, отмечена значительно большая распространенность аллелей *DRB1*11* и *DRB1*15* в контрольной группе по сравнению с обеими группами пациентов. Известно, что для них характерно неравновесное сцепление с определенными аллелями генов *DQ*, с которыми они образуют протективные по отношению СД 1 типа гаплотипы.

По литературным данным, в большинстве европейских популяций *DRB1*11* находится в сцеплении с комплексом *DQA1*05:01~DQB1*03:01*, и носительство данного гаплотипа снижает вероятность развития СД 1 типа в молодом возрасте [15]. В свою очередь *DQA1*05~DQB1*03:01*

образует стабильный белок DQ7.5, ассоциированный со сниженным риском СД 1 типа в европейских и японской популяциях [9]. Полученные нами результаты для белорусской популяции соответствуют литературным источникам: частота гаплотипа *DQA1*05~DQB1*03:01* составила 14,3 % в контрольной группе; 2,0 % у детей с АПС 3а типа (ОШ 0,13 [0,02–0,65], $p = 0,0093$) и 2,1 % – с СД 1 типа (ОШ 0,13 [0,03–0,48], $p = 0,0030$). Гаплотип *DRB1*11~DQA1*05:01~DQB1*03:01* значительно чаще встречался в группе контроля по сравнению с СД 1 типа (ОШ 0,05 [0,01–0,49], $p = 0,0048$) и не обнаружен среди пациентов с АПС 3а типа ($p = 0,0084$) (табл. 3).

Известно, что для *DRB1*15* характерно сильное неравновесное сцепление с *DQA1*01:02~DQB1*06:02* (*DQ6*) [16]. Гаплотип *DR15~DQA1*01:02~DQB1*06:02* распространен в европейской популяции (около 14 %), в то время как среди людей с СД 1 его частота составляет менее 1 % [16]. Защитное действие данного гаплотипа связывают с вмешательством в презентацию островковых аутоантигенов посредством механизма, получившего название «кража эпитопа». Гетеродимер *DQA1*01:02~DQB1*06:02* демонстрирует высокие пептидсвязывающие характеристики и стабильность, позволяющие этой молекуле конкурировать в связывании диабетогенных эпитопов с предрасполагающими молекулами HLA таким образом, что последние не могут презентировать аутоантигены и индуцировать эффекторные реакции Т-клеток [16]. В нашей выборке гаплотип *DR15~DQA1*01:02~DQB1*06:02* выявлен с частотой 9,1 % среди детей контрольной группы и не обнаружен у пациентов с АПС 3а типа и СД 1 типа ($p = 0,0084$ и $0,0011$ соответственно) (табл. 3).

Закключение. Выявлена большая суммарная распространенность подтипов *HLA-DR4* (*DRB1*04:01*, **04:02*, **04:04*, **04:05* и **04:10*) у пациентов с АПС 3а типа и СД 1 типа по сравнению с группой контроля. При этом у детей с сочетанной аутоиммунной патологией установлена большая частота указанных аллелей, чем у сверстников с изолированным СД 1 типа. Полученные данные позволяют выделить данные аллели как маркеры риска развития СД 1 типа и АПС 3а типа в здоровой детской популяции, а также АИТЗ – у детей с СД 1 типа.

Отмечена более высокая частота гаплотипа *DRB4-DQ4.3* в обеих группах пациентов по сравнению с группой контроля. Следовательно, носительство указанного гаплотипа повышает вероятность развития СД 1 типа и АПС 3а типа у здоровых детей в белорусской популяции. В то же время одна из разновидностей данного гаплотипа (*DRB1*04:02~DQA1*03~DQB1*04:02*) ассоциирована с повышенным риском АИТЗ у детей с СД 1 типа.

Выявлен ряд протективных аллелей: *DRB1*07:01* – в отношении риска АПС 3а типа у здоровых детей, а также гаплотипов *DQ* и *DR-DQ* (*DQ7.5*, *DQ6*, *DQ2.2*; *DR15-DQ7.5*, *DR11-DQ6*, *DR7-DQ2.2/9.2*) – в отношении риска АПС 3а типа и СД 1 типа в здоровой популяции.

Найденные закономерности свидетельствуют о наличии в белорусской популяции общего спектра аллелей и гаплотипов HLA II класса, ассоциированных с предрасположенностью (*DRB1*04:01*, **04:02*, **04:04*, **04:05* и **04:10*; *DRB4-DQ4.3*) и резистентностью (*DQ7.5*, *DQ6*, *DQ2.2*; *DR15-DQ7.5*, *DR11-DQ6*, *DR7-DQ2.2/9.2*) к СД 1 типа и АПС 3а типа у здоровых детей. Полученные результаты согласуются с данными других работ [2; 4; 5; 14], в которых показано, что определяющее значение в этиопатогенезе СД 1 типа имели гены *HLA-DQ* в сочетании с *HLA-DRB1*, а отсутствующих АИТЗ при СД 1 типа – преимущественно гены *HLA-DRB1*.

Благодарности. Авторы выражают благодарность сотрудникам лабораторий нехромосомной наследственности и молекулярных основ стабильности генома Института генетики и цитологии НАН Беларуси, принявшим участие в исследовании. Работа выполнена по договору № 2018-28-006 от 23.03.2018 на выполнение НИОК(Т)Р вне рамок государственных программ, государственных (отраслевых) научно-технических программ за счет средств республиканского централизованного инновационного фонда.

Acknowledgements. The authors express their gratitude to the staff of the Laboratory of Non-chromosomal heredity and the Laboratory of Molecular Basis of Genome Stability of the Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, who participated in the study. The work was performed under contract No. 2018-28-006 dated 03.23.2018 for the performance of researches outside the state programs, state (sectoral) scientific and technical programs at the expense of the republican centralized innovation fund.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Type 1 diabetes in diverse ancestries and the use of genetic risk scores / M. J. Redondo [et al.] // *Lancet Diabetes Endocrinol.* – 2022. – Vol. 10, N 8. – P. 597–608. [https://doi.org/10.1016/s2213-8587\(22\)00159-0](https://doi.org/10.1016/s2213-8587(22)00159-0)
2. Important denominator between autoimmune comorbidities: a review of class II HLA, autoimmune disease, and the gut / M. A. Berryman [et al.] // *Front. Immunol.* – 2023. – Vol. 14. – Art. 1270488. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1270488>
3. Biondi, B. Thyroid dysfunction and diabetes mellitus: two closely associated disorders / B. Biondi, G. J. Kahaly, R. P. Robertson // *Endocr. Rev.* – 2019. – Vol. 40, N 3. – P. 789–824. <https://doi.org/10.1210/er.2018-00163>
4. Frommer, L. Type 1 diabetes and autoimmune thyroid disease—the genetic link / L. Frommer, G. J. Kahaly // *Front. Endocrinol.* – 2021. – Vol. 12. – Art. 618213. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.618213>
5. Cepharanthine blocks presentation of thyroid and islet peptides in a novel humanized autoimmune diabetes and thyroiditis mouse model / C. W. Li [et al.] // *Front. Immunol.* – 2021. – Vol. 12. – Art. 796552. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.796552>
6. Характерные особенности спектров HLA-аллелей классов I и II у пациентов с различными клиническими формами ювенильного идиопатического артрита в Республике Беларусь / А. А. Яцкив [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2020. – Т. 64, № 2. – С. 209–216. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-2-209-216>
7. The KAG motif of HLA-DRB1 (β 71, β 74, β 86) predicts seroconversion and development of type 1 diabetes / L. P. Zhao [et al.] // *eBioMedicine.* – 2021. – Vol. 69. – Art. 103431. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103431>
8. Major histocompatibility complex class II (DRB1*, DQA1*, and DQB1*) and DRB1*04 subtypes' associations of Hashimoto's thyroiditis in a Greek population / G. Kokaraki [et al.] // *Tissue Antigens.* – 2009. – Vol. 73, N 3. – P. 199–205. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2008.01182.x>
9. Cell-surface MHC density profiling reveals instability of autoimmunity-associated HLA / H. Miyadera [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2015. – Vol. 125, N 1. – P. 275–291. <https://doi.org/10.1172/jci74961>
10. Shirizadeh A., Borzouei S., Razavi Z., Taherkhani A., Faradmal J., Solgi G. Determination of HLA class II risk alleles and prediction of self/non-self-epitopes contributing Hashimoto's thyroiditis in a group of Iranian patients / A. Shirizadeh [et al.] // *Immunogenetics.* – 2024. – Vol. 76. – P. 175–187. <https://doi.org/10.1007/s00251-024-01339-7>
11. Human Leukocyte Antigen class II polymorphisms among Croatian patients with type 1 diabetes and autoimmune polyglandular syndrome type 3 variant / Z. Grubic [et al.] // *Gene.* – 2018. – Vol. 674. – P. 93–97. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.06.083>
12. Redondo, M. J. Genetics of type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes* / M. J. Redondo, A. K. Steck, A. Pugliese // *Pediatric Diabetes.* – 2018. – Vol. 19. – P. 346–353. <https://doi.org/10.1111/pedi.12597>
13. Actual associations between HLA haplotype and graves' disease development / K. Zawadzka-Starczewska [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2022. – Vol. 11, N 9. – Art. 2492. <https://doi.org/10.3390/jcm11092492>
14. Nine residues in HLA-DQ molecules determine with susceptibility and resistance to type 1 diabetes among young children in Sweden / L. P. Zhao [et al.] // *Sci. Rep.* – 2021. – Vol. 11. – Art. 8821. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86229-8>
15. The clinical course of patients with preschool manifestation of type 1 diabetes is independent of the HLA DR-DQ genotype / C. Reinauer [et al.] // *Genes.* – 2017. – Vol. 8, N 5. – Art. 146. <https://doi.org/10.3390/genes8050146>
16. Failed genetic protection: type 1 diabetes in the presence of HLA-DQB1*06:02 / K. M. Simmons [et al.] // *Diabetes.* – 2020. – Vol. 69, N 8. – P. 1763–1769. <https://doi.org/10.2337/db20-0038>

References

1. Redondo M. J., Gignoux C. R., Dabelea D., Hagopian W. A., Onengut-Gumuscu S., Oram R. A., Rich S. S. Type 1 diabetes in diverse ancestries and the use of genetic risk scores. *Lancet Diabetes and Endocrinology*, 2022, vol. 10, no. 8, pp. 597–608. [https://doi.org/10.1016/s2213-8587\(22\)00159-0](https://doi.org/10.1016/s2213-8587(22)00159-0)
2. Berryman M. A., Ilonen J., Triplett E. W., Ludvigsson J. Important denominator between autoimmune comorbidities: a review of class II HLA, autoimmune disease, and the gut. *Frontiers in Immunology*, 2023, vol. 14, art. 1270488. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1270488>
3. Biondi B., Kahaly G. J., Robertson R. P. Thyroid dysfunction and diabetes mellitus: two closely associated disorders. *Endocrine Reviews*, 2019, vol. 40, no 3, pp. 789–824. <https://doi.org/10.1210/er.2018-00163>
4. Frommer L., Kahaly G. J. Type 1 diabetes and autoimmune thyroid disease – the genetic link. *Frontiers in Endocrinology*, 2021, vol. 12, art. 618213. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.618213>
5. Li C. W., Osman R., Menconi F., Faustino L. C., Kim K., Clarke O. B., Hou H., Tomer Y. Cepharanthine blocks presentation of thyroid and islet peptides in a novel humanized autoimmune diabetes and thyroiditis mouse model. *Frontiers in Immunology*, 2021, vol. 12, art. 796552. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.796552>
6. Yatskiu H. A., Zlotnikova M. V., Sukalo A. V., Goncharova R. I. Characteristic spectra of class I and II HLA-alleles in patients with different clinical forms of juvenile idiopathic arthritis in the Republic of Belarus. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2020, vol. 64, no. 2, pp. 209–216 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-2-209-216>
7. Zhao L. P., Papadopoulou G. K., Lybrand T. P., Moustakas A. K., Bondinas G. P., Carlsson A., Larsson H. E., Ludvigsson J., Marcus C., Persson M., Samuelsson U., Wang R., Pyo C. W., Nelson W. C., Geraghty D. E., Rich S. S., Lernmark A. The KAG motif of HLA-DRB1 (β 71, β 74, β 86) predicts seroconversion and development of type 1 diabetes. *eBioMedicine*, 2021, vol. 69, art. 103431. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103431>

8. Kokaraki G., Daniilidis M., Yiangou M., Arsenakis M., Karyotis N., Tsilipakou M., Fleva A., Gerofotis A., Karadani N., Yovos J. G. Major histocompatibility complex class II (DRB1*, DQA1*, and DQB1*) and DRB1*04 subtypes' associations of Hashimoto's thyroiditis in a Greek population. *Tissue Antigens*, 2009, vol. 73, no. 3, pp. 199–205. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2008.01182.x>
9. Miyadera H., Ohashi J., Lernmark A., Kitamura T., Tokunaga K. Cell-surface MHC density profiling reveals instability of autoimmunity-associated HLA. *Journal of Clinical Investigation*, 2015, vol. 125, no. 1, pp. 275–291. <https://doi.org/10.1172/jci74961>
10. Shirizadeh A., Borzouei S., Razavi Z., Taherkhani A., Faradmal J., Solgi G. Determination of HLA class II risk alleles and prediction of self/non-self-epitopes contributing Hashimoto's thyroiditis in a group of Iranian patients. *Immunogenetics*, 2024, vol. 76, pp. 175–187. <https://doi.org/10.1007/s00251-024-01339-7>
11. Grubic Z., Putarek N. R., Maskalan M., Zunec R., Jankovic K. S., Kamenaric M. B., Knezevic-Cuca J., Uroic A. S., Domic M. Human Leukocyte Antigen class II polymorphisms among Croatian patients with type 1 diabetes and autoimmune polyglandular syndrome type 3 variant. *Gene*, 2018, vol. 674, pp. 93–97. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.06.083>
12. Redondo M. J., Steck A. K., Pugliese A. Genetics of type 1 diabetes. *Pediatric Diabetes*, 2018, vol. 19, pp. 346–353. <https://doi.org/10.1111/ pedi.12597>
13. Zawadzka-Starczewska K., Tymoniuk B., Stasiak B., Lewiński A., Stasiak M. Actual associations between HLA haplotype and graves' disease development. *Journal of Clinical Medicine*, 2022, vol. 11, no. 9, art. 2492. <https://doi.org/10.3390/jcm11092492>
14. Zhao L. P., Papadopoulos G. K., Moustakas A. K., Bondinas G. P., Carlsson A., Larsson H. E., Ludvigsson J., Marcus C., Persson M., Samuelsson U., Wang R., Pyo C. W., Geraghty D. E., Lernmark A. Nine residues in HLA-DQ molecules determine with susceptibility and resistance to type 1 diabetes among young children in Sweden. *Scientific Reports*, 2021, vol. 11, art. 8821. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86229-8>
15. Reinauer C., Rosenbauer J., Bächle C., Herder C., Roden M., Ellard S., De Franco E., Karges B., Holl R., Enczmann J., Meissner T. The clinical course of patients with preschool manifestation of type 1 diabetes is independent of the HLA DR-DQ genotype. *Genes*, 2017, vol. 8, no. 5, art. 146. <https://doi.org/10.3390/genes8050146>
16. Simmons K. M., Mitchell A. M., Alkanani A. A., McDaniel K. A., Baschal E. E., Armstrong T., Pyle L., Yu L., Michels A. W. Failed genetic protection: type 1 diabetes in the presence of HLA-DQB1*06:02. *Diabetes*, 2020, vol. 69, no. 8, pp. 1763–1769. <https://doi.org/10.2337/db20-0038>

Информация об авторах

Волкова Наталия Васильевна – врач-детский эндокринолог. 2-я городская детская клиническая больница г. Минска (ул. Нарочанская, 17, 220020, Минск, Республика Беларусь); аспирант. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220083, Минск, Республика Беларусь). E-mail: volkova_nv@tut.by.

Аксенова Елена Анатольевна – канд. биол. наук.

Яцкив Анна Андреевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: a.yatskiv@igc.by.

Солнцева Анжелика Викторовна – д-р мед. наук, профессор, директор. РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь); заведующая кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220083, Минск, Республика Беларусь). E-mail: ang_solntseva@mail.ru.

Гончарова Роза Иосифовна – д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: R.Goncharova@igc.by. ORCID: 0000-0002-9326-7796.

Information about the authors

Volkova Natalya V. – Pediatric Endocrinologist. 2nd City Children's Clinical Hospital (17, Narochanskaya Str., 220020, Minsk, Republic of Belarus); Postgraduate Student. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: volkova_nv@tut.by.

Aksenova Elena A. – Ph. D. (Biology).

Yatskiu Hanna A. – Ph. D. (Biology), Senior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a.yatskiv@igc.by.

Solntseva Angelika V. – D. Sc. (Medicine), Professor, Director. Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, Borovlyany vil., Minsk Region and District, Republic of Belarus); Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ang_solntseva@mail.ru.

Goncharova Roza I. – D. Sc. (Biology), Professor, Chief Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: R.Goncharova@igc.by. ORCID: 0000-0002-9326-7796.