

**Генетическая устойчивость
к заражению ВИЧ и
развитию СПИД
в популяциях России и
сосредельных государств**

И.А. Кофиади

ГНЦ «Институт Иммунологии ФМБА России»

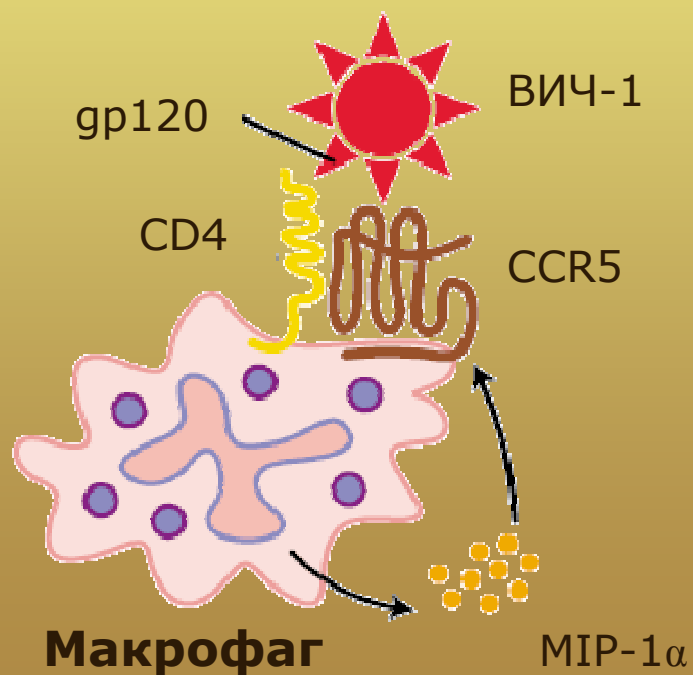
ЗАО «НПФ ДНК-Технология»

Актуальность и цель

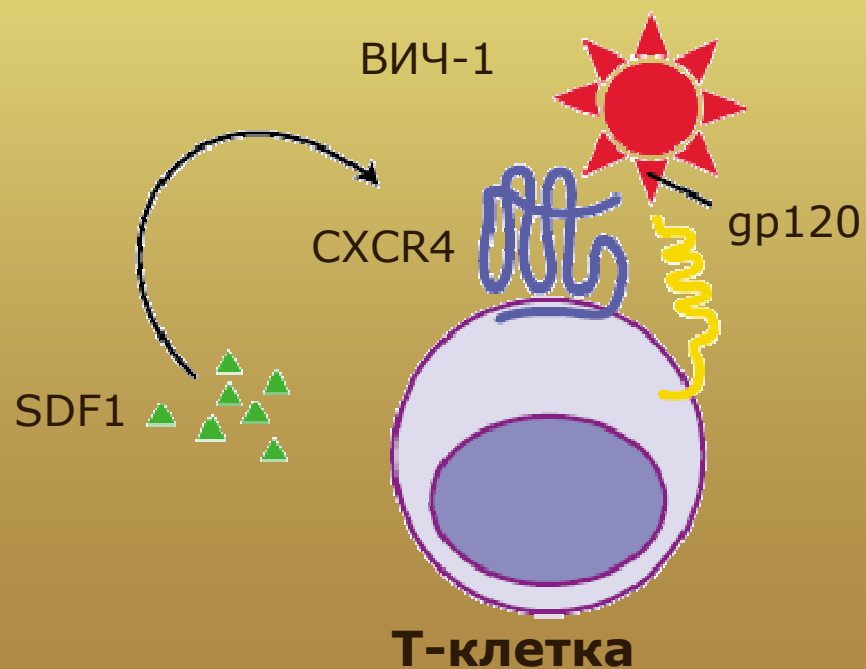
- Генетическая устойчивость к ВИЧ является существенным параметром при прогнозе развития эпидемии ВИЧ, разработке комплекса профилактических мероприятий, выборе адекватных методов терапии
- Внутри- и межпопуляционные различия в частотах полиморфных маркеров характеризуют генетическую структуру человеческих сообществ
- Знание генотипа человека по локусам, ассоциированным с устойчивостью к ВИЧ/СПИД позволяет оценить риск развития СПИД у ВИЧ-инфицированных и вероятность летального исхода в результате заболеваний, вызываемых СПИД
- **Цель исследования:**
 - охарактеризовать 10 популяций, проживающих на территории Российской Федерации и сопредельных государств с точки зрения генетической устойчивости к ВИЧ/СПИД

Генетическая устойчивость к ВИЧ связана с вариантами генов хемокинов и хемокиновых рецепторов

М-тропные штаммы



Т-тропные штаммы



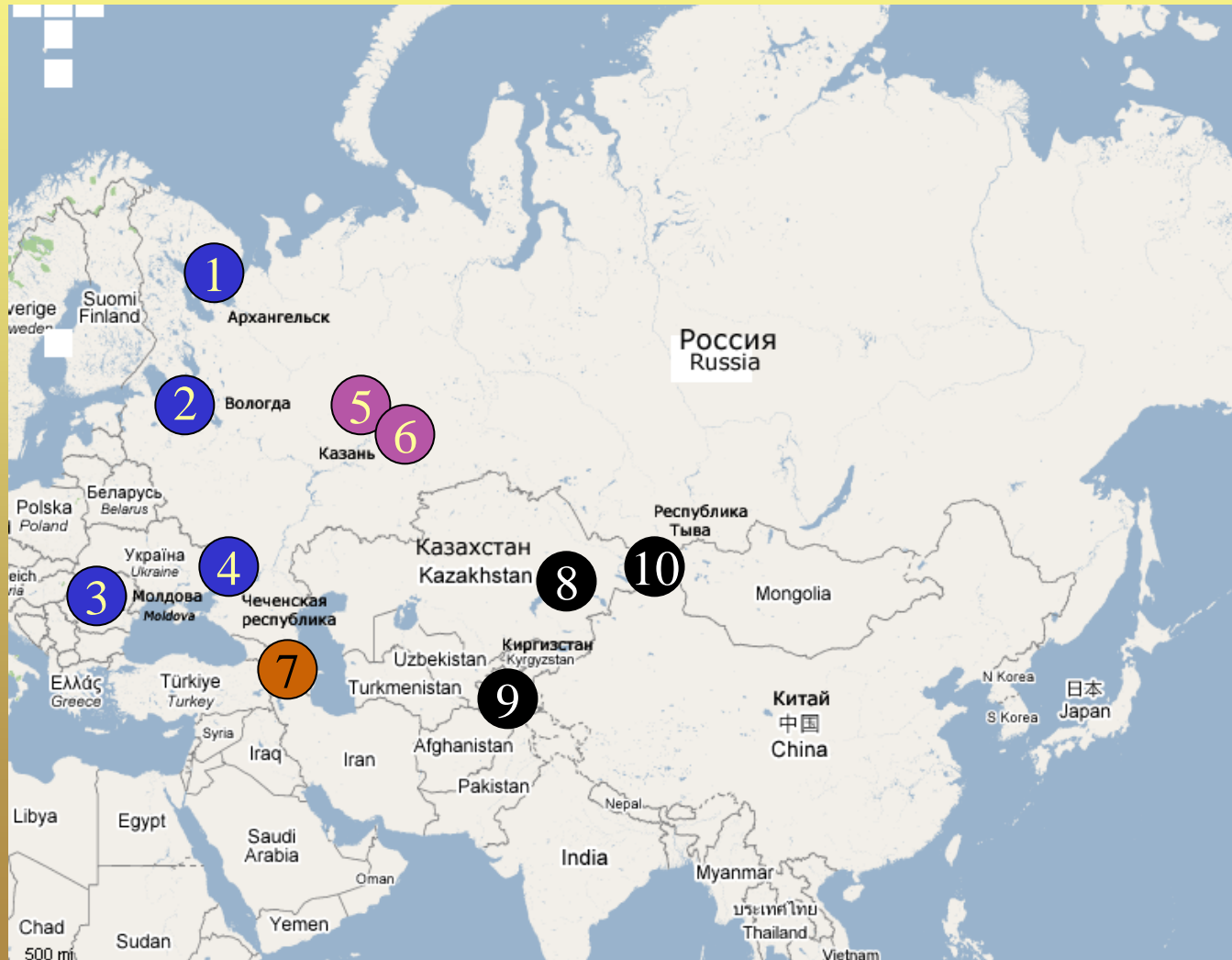
Варианты генов, ассоциированные с устойчивостью к ВИЧ/СПИД:

- Ген **CCR5**: делеция 32 нуклеотидных пар в гене *CCR5* (вариант *CCR5delta32*) снижает вероятность проникновения ВИЧ-1 в клетку у носителей гомозиготного генотипа. У гетерозигот защитный эффект выражается в замедленном развитии симптомов СПИД. Положительное влияние на продолжительность жизни после развития симптомов СПИД для данного варианта не показано.
- Ген **CCR2**: однонуклеотидный полиморфизм, приводящий к замене V64I (вариант *CCR2-64I*) связан с замедленным развитием СПИД, однако не влияет на продолжительность жизни после развития СПИД. Защитный эффект проявляется, как у гомозигот, так и у гетерозигот.
- Ген **SDF1**: однонуклеотидная замена G801A в 3' нетранслируемом регионе (вариант *SDF1-3'A*) ассоциирована с замедленным развитием СПИД и положительно влияет на продолжительность жизни ВИЧ-инфицированных после развития СПИД. Защитный эффект проявляется только у гомозигот.

Материалы и методы

- Исследовали 960 образцов ДНК, полученных от неинфицированных представителей 10 популяций (по 96 образцов для каждой популяции): поморы, украинцы, молдаване, русские, татары, удмурты, чеченцы, казахи, киргизы, тувинцы
- Для получения ДНК использовали образцы крови, собранные с учетом данных о месте рождения и национальной принадлежности предков двух поколений
- Для каждого образца определяли генотип по трем обозначенным выше генам
- Генотипирование проводили методом аллель - специфичной ПЦР «в реальном времени»

Географическое расположение популяций



1. Поморы
2. Русские
3. Молдаване
4. Украинцы
5. Татары
6. Удмурты
7. Чеченцы
8. Казахи
9. Киргизы
10. Тувинцы

Коэффициенты риска*

Генотипы			Число генотипов	Развитие (RHP)	Смерть (RHD)
CCR5	CCR2	SDF1			
AA	BB	C-	2	1	1
a-	b-	C-	16	0.65	0.6
a-	BB	C-			
AA	b-	C-			
AA	BB	cc	1	0.63	0.23
a-	b-	cc	8	0.55	0
a-	BB	cc			
AA	b-	cc			



Протективный генотип



Непротективный генотип

*По данным Winkler C. с соавторами.

Определение относительной опасности развития симптомов СПИД и смерти в результате СПИД

Расчет относительной опасности проводили по формуле:

$$RH = \sum w_i p_i$$

Где p_i – частота встречаемости данной комбинации аллелей, а w_i – общий для всех этнических групп коэффициент риска развития СПИД и смерти в результате СПИД

Аллель-специфичная ПЦР в «реальном времени»

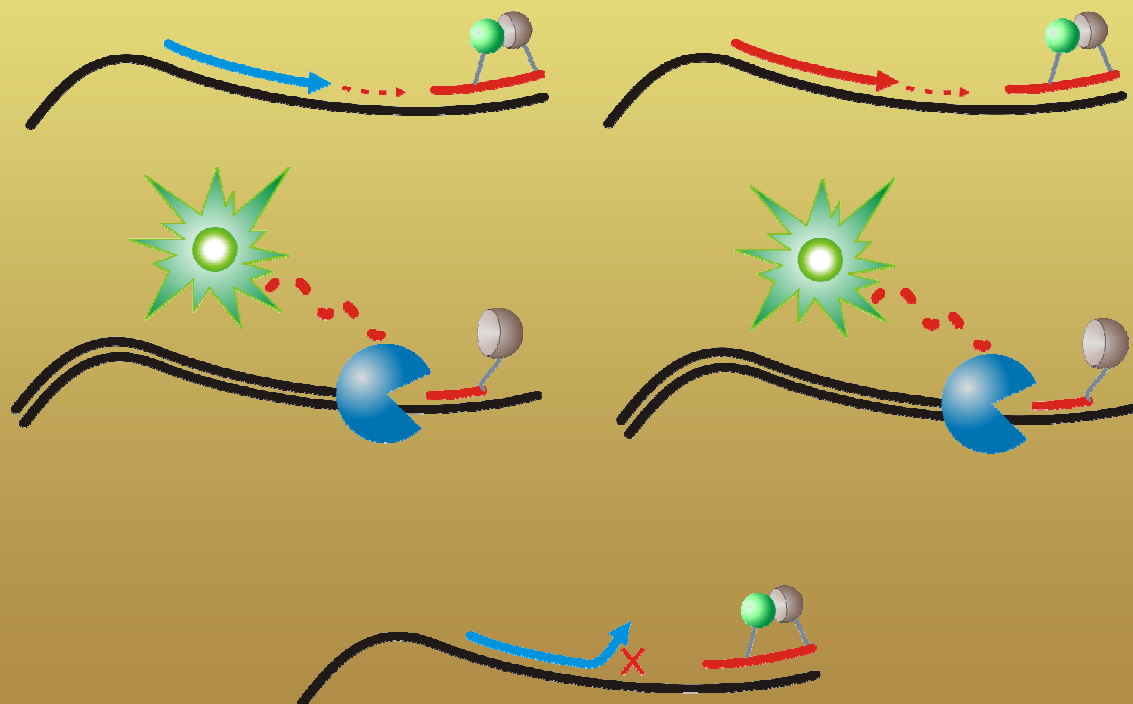
→ Праймер комплементарный аллелю 1

→ Праймер комплементарный аллелю 2

→ Общий праймер

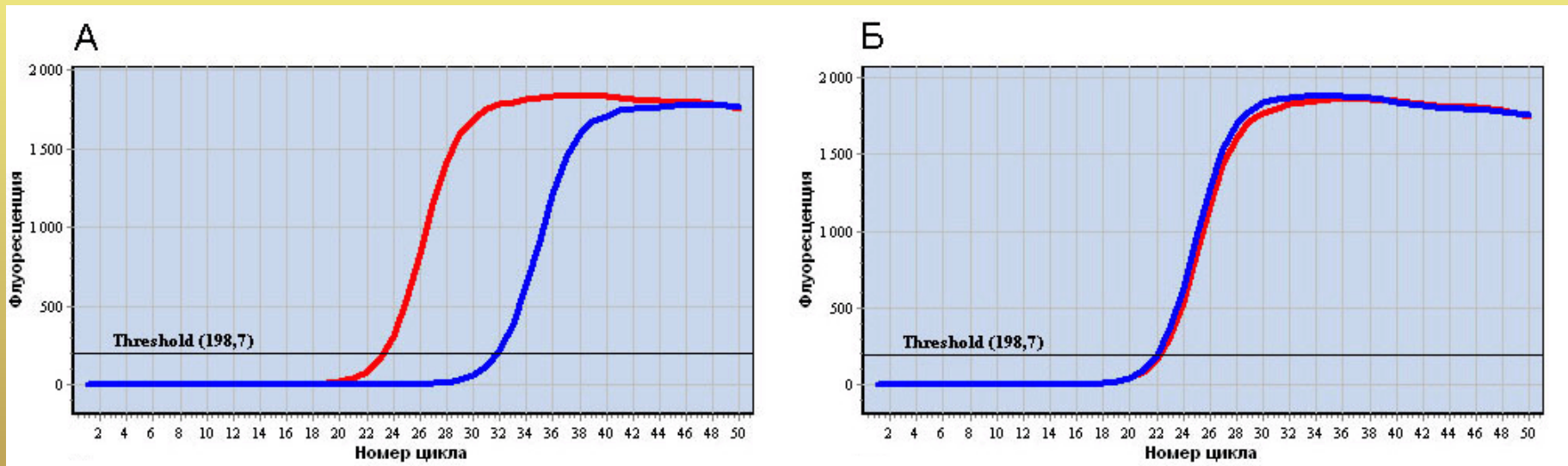
Аллель 1

Аллель 2



Результаты и обсуждение

Аллель-специфичная ПЦР в «реальном времени»



Графики накопления ДНК, полученные с помощью детектирующего амплификатора.

А – результат исследования гомозиготного образца. Красная кривая отражает накопление продукта реакции с частично некомплементарного праймера;

Б – результат исследования гетерозиготного образца.

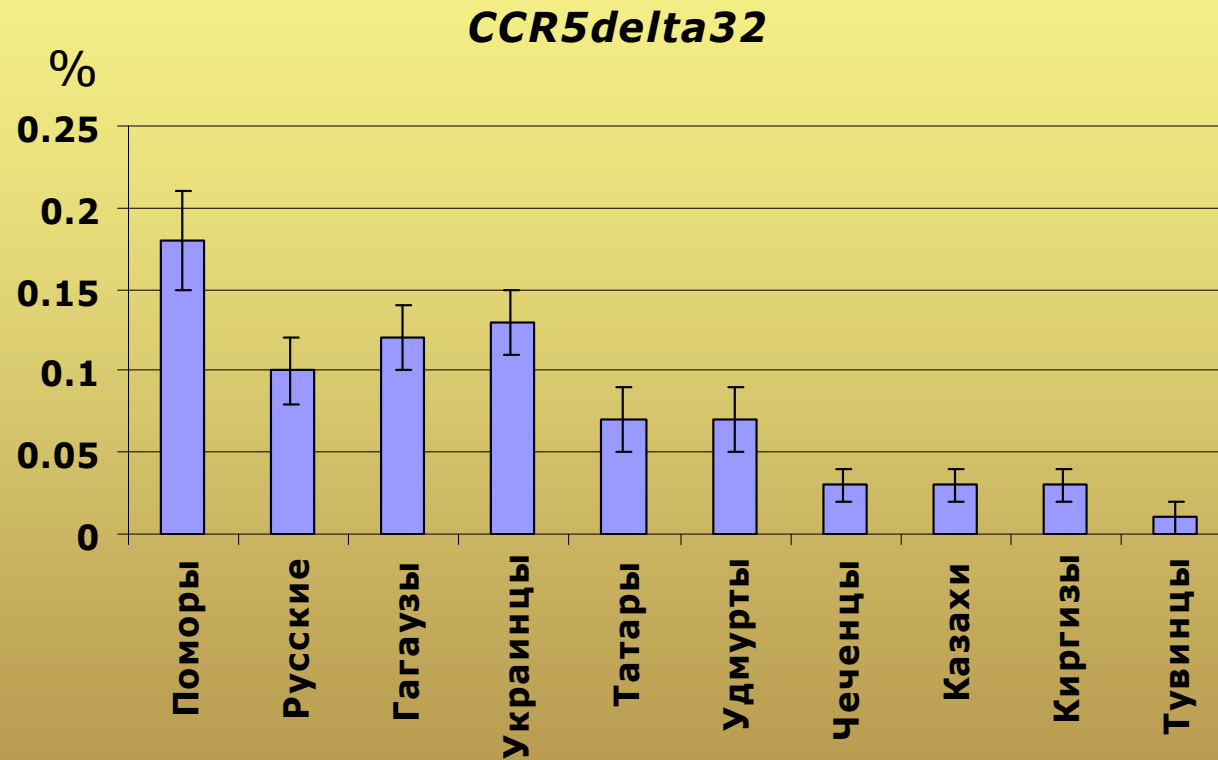
ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ОБРАЗЦОВ

Популяция	n	Частота генотипов (%) <i>CCR5</i>			Частота генотипов (%) <i>CCR2</i>			Частота генотипов (%) <i>SDF1</i>		
		+/+	+/ <i>del</i>	<i>del/del</i>	G/G	G/A	A/A	G/G	G/A	A/A
Поморы	96	67	30	3	82	18	0	69	28	3
Вологодцы	96	79	21	0	83	17	0	69	28	3
Гагаузы	96	78	20	2	76	23	1	60	33	7
Украинцы	96	77	21	2	82	16	2	68	30	2
Татары	96	88	11	1	89	11	0	72	28	0
Удмурты	96	87	13	0	88	11	1	72	26	2
Чеченцы	96	94	6	0	72	23	5	64	36	0
Казахи	96	94	6	0	45	47	8	78	21	1
Киргизы	96	95	5	0	54	38	8	76	24	0
Тувинцы	96	98	2	0	91	9	0	69	28	3

 Генотипы, обеспечивающие устойчивость к СПИД

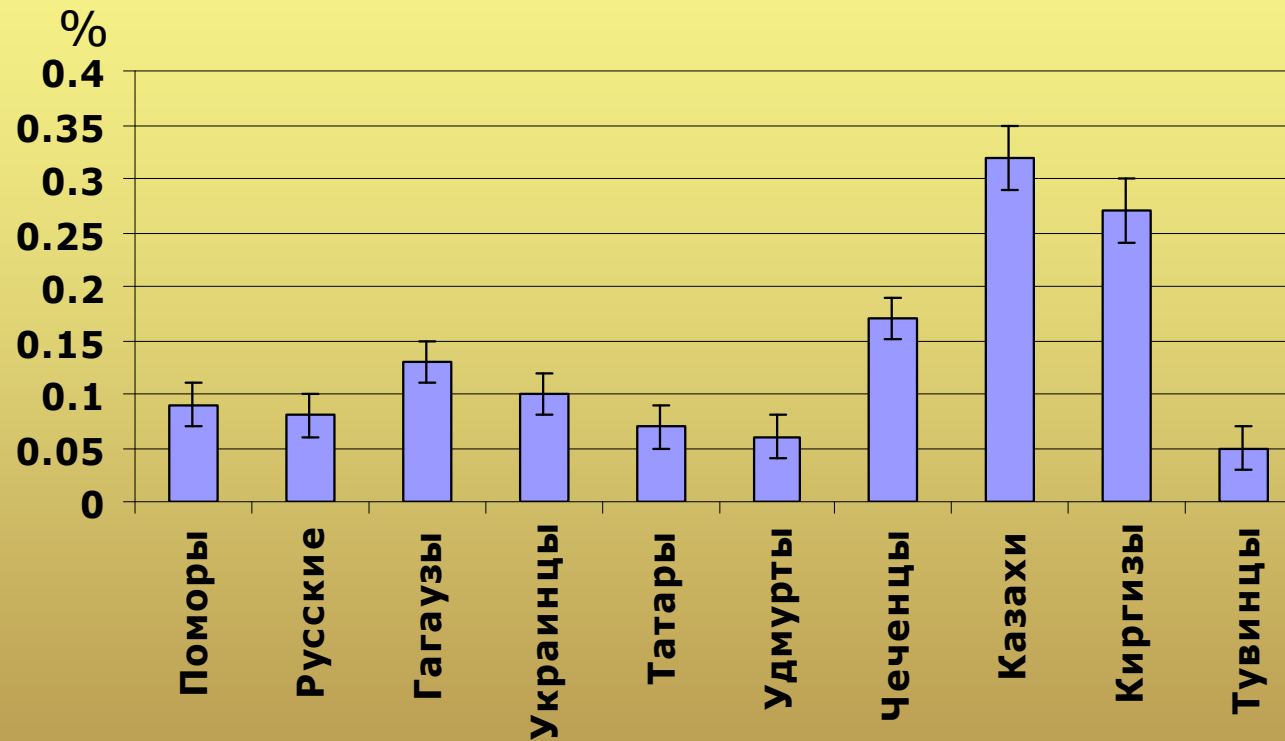
 Генотипы, обеспечивающие устойчивость к ВИЧ

ОСОБЕННОСТИ ЧАСТОТНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЗАЩИТНЫХ АЛЛЕЛЕЙ В ИССЛЕДОВАННЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ.



Частота аллеля *CCR5delta32* в исследованных популяциях

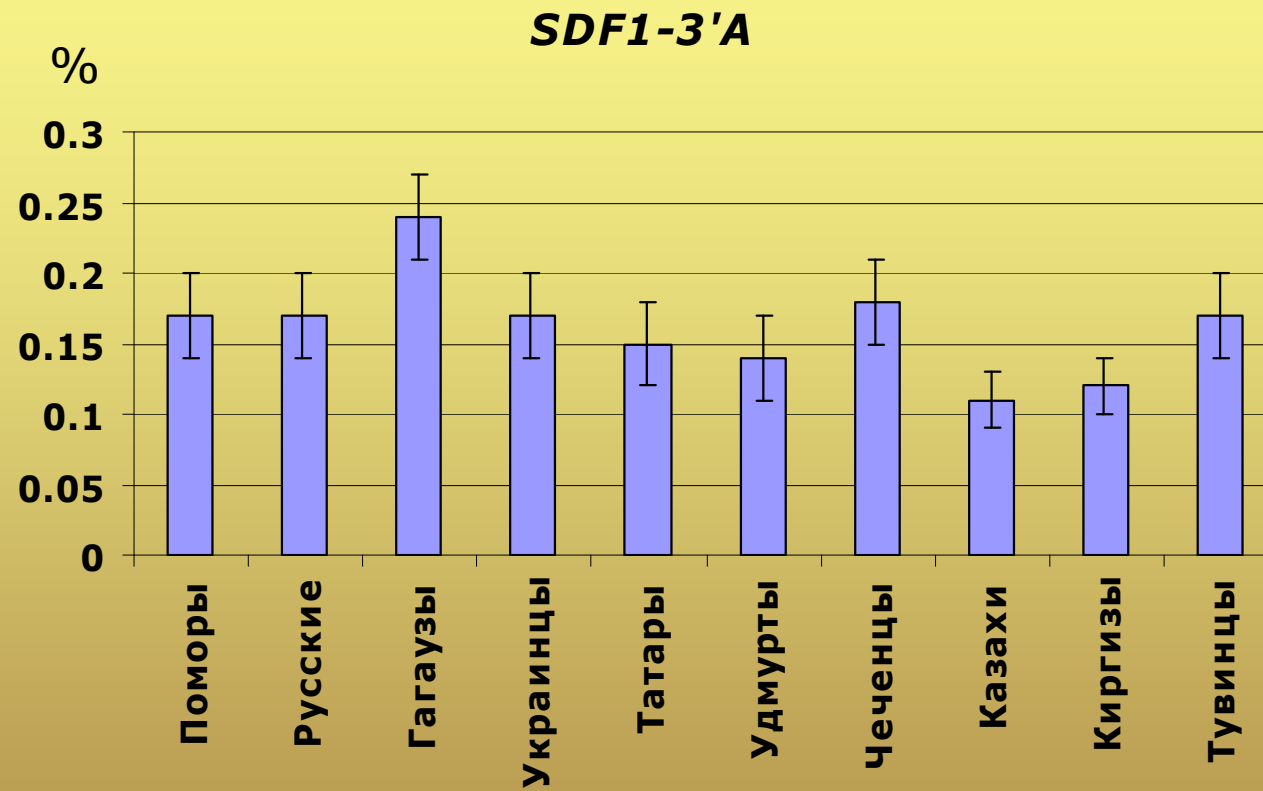
CCR2-64I



Частота аллеля *CCR2-64I* в исследованных популяциях

Географическое распределение аллеля *CCR2-64I*





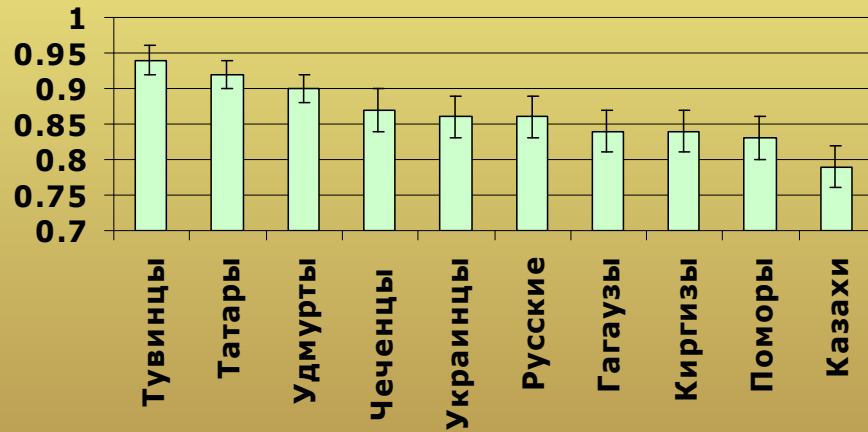
Частота аллеля *SDF1-3'A* в исследованных популяциях

Распределение сочетаний протективных аллелей

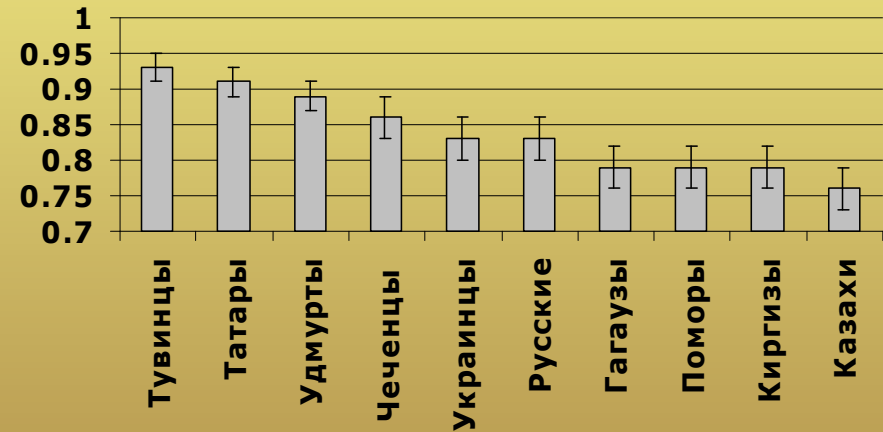
Генотип			Доля генотипа									
<i>CCR5</i>	<i>CCR2</i>	<i>SDF1</i>	Поморы	Русские	Гагаузы	Украинцы	Татары	Удмурты	Чеченцы	Казахи	Киргизы	Тувинцы
AA	BB	C-	52%	60%	56%	61%	77%	72%	65%	41%	53%	85%
a-	b-	C-	45%	37%	36%	36%	23%	26%	35%	58%	47%	12%
a-	BB	C-										
AA	b-	C-										
AA	BB	cc	1%	3%	4%	1%	0%	2%	0	1%	0%	3%
a-	b-	cc	2%	0%	3%	1%	0%	0%	0	0%	0%	0%
a-	BB	cc										
AA	b-	cc										

Относительная опасность развития СПИД (ООР) и смерти от СПИД (ООС)

ООР



ООС



Выводы

1. Разработан лабораторный вариант тест-систем, позволяющих определять аллели *CCR5delta32*, *CCR2-64I* и *SDF1-3'A* методом ПЦР «в реальном времени». Данный подход точен и прост в применении и может быть рекомендован для использования в лабораторной практике.
2. Наиболее генетически устойчивы к заражению ВИЧ, среди обследованных выборок представители популяции русских поморов, ареал обитания которых близок к предполагаемому месту происхождения делеционного полиморфизма *CCR5delta32*.
3. Наиболее генетически устойчивы к развитию заболевания представители центрально-азиатских популяций, вследствие широкого распространения протективных аллелей, связанных с замедленной прогрессией СПИД.
4. Частота аллеля *CCR5delta32* снижается с северо-запада на юго-восток России с максимальной частотой в популяции русских поморов.
5. Частота аллеля *CCR2-64I* демонстрирует изменчивость в распространении на территории России с максимальной частотой в центрально-азиатских популяциях.

Спасибо за внимание

И.А. Кофиади

ГНЦ «Институт Иммунологии ФМБА России»,

тел.: (495) 727-91-19

e-mail: kofiadi@dna-technology.com