

О.М. Ломаковський
Ж.М. Мінченко
Т.І. Гавриленко
О.А. Підгайна

DOI: 10.32471/rheumatology.2707-6970.86.16547
УДК: 616.127-005.4+616.127-005.8+577.212+612.017

ІМУНОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СИСТЕМИ HLA У ПАЦІЄНТІВ З РАННІМ І ПІЗНІМ РОЗВИТКОМ ІХС ТА ПЕРЕНЕСЕНИМ ІНФАРКТОМ МІОКАРДА

ДУ «ННЦ «Інститут кардіології імені академіка М.Д. Стражеска» НАМН України»,
ДУ «ННЦ радіаційної медицини» НАМН України,
Київ

Ключові слова: ішемічна хвороба серця, імуногенетика, система HLA, запалення, прогноз.

Вступ. Спадкова складова даної патології містить поліморфізм генів за різними генетичними системами, які задіяні як в розвитку ішемічної хвороби серця (ІХС), так і розвитку її ускладнень. **Мета** дослідження — визначення можливості використання імуногенетичних показників у якості прогностичних маркерів раннього розвитку і ускладнень ІХС на основі зіставлення фенотипічних та генотипічних характеристик системи HLA з появою перших клінічних проявів ІХС в різному віці пацієнтів та з розвитком інфаркту міокарда. **Об'єкт і методи дослідження.** Обстежено 58 пацієнтів зі стабільною ІХС. У контрольну групу включили 50 здорових осіб. Матеріалом імунологічного дослідження була периферична венозна кров. Типування HLA-антигенів проводили за методом реакції комплементзалежної цитотоксичності в мікролімфоцитотоксичному тесті. Типування проводили за 19 HLA-сироватками локусу А та 36 — локусу В. Генотипування алельних варіантів HLA I класу (локуси А, В, С), II класу (локуси DRB1, DQA1, DQB1) проводили молекулярно-генетичним методом. Рівні фактора некрозу пухлин α , інтерлейкіну-6 та 8, інтерферону γ в сироватці крові і культурі мононуклеарних клітин (моноцити та лімфоцити), високочутливого С-реактивного білка та антитіл до окиснених ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) в сироватці крові визначали твердофазним імуноферментним методом. Проліферативну неспецифічну активність лімфоцитів на міоген фітогемаглютинін та специфічну сенсibiliзацію лімфоцитів до антигенів судинної стінки оцінювали в реакції бласттрансформації. **Результати.** Імуногенетичні характеристики фенотипу та генотипу системи HLA впливають на розвиток ІХС. HLA-специфічність генетичного контролю імунної відповіді пов'язана зі схильністю та толерантністю до раннього початку клінічних проявів ІХС та розвитку інфаркту міокарда. Показано позитивний та негативний зв'язок деяких HLA-антигенів і HLA-генів з продукцією медіаторів запалення, сенсibiliзацією лімфоцитів до тканин судинної стінки та рівнем антитіл до окиснених ЛПНЩ. **Висновки.** Наявність певних HLA-антигенів I класу та HLA-генів II класу може свідчити про генетичну схильність та генетичну стійкість до ІХС. Ранній початок клінічних проявів ІХС (до 45 років), а також перенесений інфаркт міокарда асоціюються з видами HLA-специфічності генетичного контролю імунної відповіді. Виявлено позитивний та негативний зв'язок деяких HLA-антигенів і HLA-генів з продукцією медіаторів запалення, проліферативною активністю Т-лімфоцитів, сенсibiliзацією лімфоцитів до тканин судинної стінки та рівнем антитіл до окиснених ЛПНЩ.

ВСТУП

Відомо, що ішемічна хвороба серця (ІХС) є багатифакторною патологією, в патогенезі якої велике значення мають генетичні й імунологічні компоненти [14]. Спадкова складова даної патології містить поліморфізм генів за різними генетичними системами, які задіяні як в розвитку ІХС, так і розвитку її ускладнень [10]. Ідентифіковано в ці-

лому 32 локуси генома, функція кожного з яких асоційована з ІХС. Проте сукупний ефект цих генів не був пов'язаний зі спадковою схильністю до розвитку ІХС [12]. Зв'язок між сімейним анамнезом передчасної ІХС і наслідками у пацієнтів зі встановленою ІХС залишається нез'ясованим. Показано, що у пацієнтів з ангіографічно підтвердженою ІХС сімейний анамнез передчасної ІХС

парадоксально асоціюється з підвищенням довгострокової виживаності незалежно від клінічних характеристик, особливостей проявів і ступеня захворювання [7]. Найбільш істотною відмінністю між пацієнтами, які перенесли інфаркт міокарда (ІМ), і контрольною групою можна вважати значне поширення серед відносно здорових чоловіків великого числа гомозиготних генотипів таких протизапальних цитокінів, як інтерлейкін (ІЛ)-4 і ІЛ-10 [3]. З цих позицій важливе значення приділяють вивченню певних порушень в імунному гомеостазі у зіставленні з поліморфізмом маркерів системи HLA, які відповідають за генетичний контроль імунної відповіді.

Мета дослідження — визначення можливості використання імуногенетичних показників в якості прогностичних маркерів раннього розвитку й ускладнень ІХС на основі зіставлення фенотипічних та генотипічних характеристик системи HLA з появою перших клінічних проявів ІХС в різному віці пацієнтів та з розвитком ІМ.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Обстежено 58 пацієнтів зі стабільною ІХС. Діагноз стабільної ІХС встановлювався за даними незмінних клінічних проявів типової стенокардії впродовж останніх 2 міс, позитивного результату проби з дозованим фізичним навантаженням та ураження коронарних артерій за даними коронарографії. Діагноз післяінфарктного кардіосклерозу встановлювався через 2 та більше місяців після перенесеного гострого ІМ. Розраховували сумарне ураження артерій серця (СУАС за Ю.С. Петросян, Д.Г. Иоселиани, 1976) [5]. Контрольну групу становили 50 здорових осіб.

Матеріалом імунологічного дослідження була периферична венозна кров, яку брали натще. Типування HLA-антигенів проводили за методом реакції комплементзалежної цитотоксичності в мікролімпфоцитотоксичному тесті загальноприйнятим методом [11, 13] із застосуванням тест-панелі типуючих сироваток (Санкт-Петербург, Росія). Типування проводили за 19 HLA-сироватками локусу А та 36 — локусу В. Генотипування алельних варіантів HLA I класу (локуси А, В, С), II класу (локуси DRB1, DQA1, DQB1) проводили молекулярно-генетичним методом. HLA-генотип визначали методом алельспецифічної ампліфікації із сиквенспецифічними праймерами (SSP) фірми PROTRANS (Німеччина) на основі полімерно-ланцюгової реакції на рівні груп алелів [9]. Для типування використовували набори «HLA-ДНК-Тех» фірми «НПФ ДНК-Технологія», Росія. Реакцію ампліфікації проводили на ампліфікаторі «Терцик» («НПФ ДНК-Технологія»). Ідентифікацію продуктів ампліфікації та їх архівування проводили з використанням відеосистеми «Gel-Doc II» (Німеччина). Аналіз результатів імуногенетичного типування проводили за такими основними показниками, як частота виявлення генного представництва антигенів, фенотипів та гаплотипів з урахуванням нерівноважного зчеплення [4].

Рівні фактора некрозу пухлин α (ФНП- α), ІЛ-6 в сироватці крові і культурі мононуклеарних клітин (моноцити та лімфоцити) визначали твердофазним імуоферментним методом із застосуванням набору реагентів фірми ProCon (Санкт-Петербург, Росія). Рівні ІЛ-8 у плазмі крові та супернатантах мононуклеарних клітин визначали імуоферментним методом з використанням ензимозв'язаних імуносорбентних ELISA-наборів фірм «Amersham» (США). Кількісне визначення високочутливого С-реактивного білка (СРБ) в сироватці крові здійснювали за допомогою імуоферментного аналізу з використанням тест-систем DAI (США) та Diagnostic Automation (Канада). Рівні інтерферону γ (ІФ- γ) в культурі моноклональних клітин і плазмі крові визначали імуоферментним аналізом за допомогою ELISA-наборів Diaclone (Франція) та «Biosource» (Канада). Рівні антитіл до окиснених ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) в сироватці крові визначали імуоферментним аналізом за допомогою тест-системи Biomedica Gruppe (Австрія). Для кількісного визначення антитіл до компонентів судинної стінки і міокарда використовували реакцію поглинання комплекменту за методикою Н.І. Кондрашової [2]. Проліферативну неспецифічну активність лімфоцитів на міоген фітогемаглютенін (ФГА) та специфічну сенсibiliзацію лімфоцитів до антигенів судинної стінки оцінювали в реакції бласттрансформації (РБТЛ) [1, 6].

Центральні тенденції та розкид кількісних ознак представлені медіаною (Me) та інтерквартильним інтервалом (значення 25-го та 75-го процентилів). Відмінність між групами вважали статистично значущою при рівні значущості $p < 0,05$. Для оцінки розбіжностей у частоті наявності фактора у групах порівняння використовували показник відносного ризику. Для аналізу зв'язку двох кількісних та якісних ознак використовували метод рангової кореляції Спірмена із зазначенням коефіцієнта кореляції R та точного значення r. При порівнянні двох коефіцієнтів кореляції різницю оцінювали за значенням r.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дані фенотипової та генотипової характеристик пацієнтів зі стабільною ІХС за антигенною специфічністю HLA імуногенетичних чинників класу I і II порівняно з контрольною групою представлені в табл. 1 та 2. Найбільш поширеною специфічністю в локусі А, як і в контрольній групі, є HLA-A2. Найменшу частку порівняно з контролем становить специфічність HLA-A 31. Відмічено підвищення концентрації антигенів HLA-A 29 і HLA-A33.

У локусі В статистично значимо поширеними є антигени В35 і В27 (незалежні генетичні маркери аутоімунних процесів). Достовірно підвищена поширеність антигену В49.

Порівняння поширеності неповних фенотипів в локусах А і В свідчить про їх переважну кількість в локусі В — 7,5 проти 4,1% в локусі А. Але в цілому поширеність неповних фенотипів у дослі-

Таблиця 1

Поширеність HLA-антигенів I класу у пацієнтів зі стабільною ІХС

HLA-антиген	Контрольна група (n=50)	Група хворих (n=58)	Відносний ризик (RR)	p
HLA-A				
1	0,1144	0,1250	1,205	нд
2	0,3505	0,2750	0,341	нд
3	0,1238	0,0415	0,335	<0,05
3	0,1238	0,0917	0,825	нд
11	0,0631	0,0833	1,312	нд
23	0,0374	0,0250	0,334	нд
24	0,0911	0,0833	0,947	нд
25	0,0397	0,0583	1,724	нд
26	0,0467	0,0417	0,975	нд
28	0,0304	0,0417	1,329	нд
29	0,0158	0,0250	2,517	<0,05
30	0,0224	0,0250	1,242	нд
31	0,0210	0,0083	0,214	<0,01
33	0,0158	0,0250	2,517	<0,05
Abl	0,0750	0,0408	0,415	нд
HLA-B				
7	0,1122	0,0352	0,314	<0,05
7	0,1122	0,1083	0,937	нд
8	0,0444	0,0500	1,385	нд
13	0,0794	0,0733	0,925	нд
14	0,0281	0,0583	2,443	<0,05
15	0,0935	0,0417	0,315	<0,05
16	0,0608	0,0250	0,253	<0,05
17	0,0408	0,0250	0,431	нд
18	0,1122	0,0750	0,767	нд
27	0,0281	0,0683	3,443	<0,05
35	0,0794	0,1533	3,673	<0,05
40	0,0561	0,0250	0,306	нд
41	0,0281	0,0083	0,211	<0,001
44	0,0747	0,0583	0,762	<0,05
45	0,0101	0,0167	1,923	нд
49	0,0186	0,0334	3,152	<0,05
51	0,0327	0,0500	1,873	нд
54	0,0101	0,0083	0,265	нд
55	0,0142	0,0167	1,257	нд
56	0,0101	0,0084	0,269	нд
62	0,0256	0,0417	2,245	нд
Bbl	0,0408	0,0750	1,853	нд

Примітка: нд – недостовірно (p>0,05).

дженій популяції відповідає генетичній структурі в контрольній групі.

У локусі HLA DR (див. табл. 2) у групі дослідження найбільш поширеним алелем є DRB1*07 (частота гена — 0,1587; відповідає поширеності у контрольній групі). Наступним за частотою виявлення є DRB1*15. Достовірні відмінності в частоті виявлення відмічені для алеля DRB1*12, який має частоту 0,075 порівняно з 0,021 в групі контролю (p<0,05). Алель DRB1*04 відмічається достовірно рідше у зіставленні з контрольною групою і має частоту 0,050 проти 0,114 у групі контролю (p<0,05).

У локусі DQA1* достовірно частіше визначено алелі DQA1*0103 (0,1917 проти 0,0771; p<0,05) і DQA1*0501 (0,3833 проти 0,1065; p<0,05). Вірогідно рідше відмічають алелі специфічності DQA1*0201 (0,0667 проти 0,1402; p<0,05).

У локусі DQB1* найбільш поширеним алелем є DQB1*0301 (0,1917), що відповідає поширенню в контрольній групі (0,2033).

Таблиця 2

Поширеність HLA-генів II класу у пацієнтів зі стабільною ІХС

HLA-алелі	Контрольна група (n=50)	Група хворих (n=58)	Відносний ризик (RR)	p
HLA-DRB1*				
01	0,1168	0,0833	0,453	нд
03	0,0756	0,0668	0,865	нд
04	0,1143	0,0500	0,346	<0,05
07	0,1449	0,1587	1,128	нд
08	0,0491	0,0411	0,746	нд
11	0,1698	0,2000	2,341	нд
12	0,0211	0,0750	4,153	<0,05
13	0,1285	0,1417	1,216	нд
15	0,1308	0,1500	1,337	нд
16	0,0491	0,0334	0,719	нд
HLA-DQA1*				
0101	0,1262	0,0436	0,350	<0,05
0101	0,1262	0,1500	1,231	нд
0102	0,2032	0,1250	0,416	нд
0103	0,0771	0,1917	4,328	<0,05
0201	0,1402	0,0667	0,230	<0,05
0301	0,1262	0,0167	0,030	<0,01
0401	0,0351	0,0416	1,315	нд
0501	0,1065	0,3833	5,764	<0,05
0505	0,1682	0,0083	0,111	<0,001
0601	0,0173	0,0167	0,835	нд
HLA-DQB1*				
0201	0,1334	0,1750	1,305	нд
0301	0,2033	0,1917	0,841	нд
0302	0,1098	0,1417	1,825	нд
0303	0,0321	0,0833	4,312	<0,05
0304	0,0101	0,0250	2,334	нд
0305	0,0072	0,0417	12,147	<0,001
0401	0,0126	0,0167	1,724	нд
0501	0,1285	0,0520	0,400	<0,05
0501	0,1285	0,1250	0,985	нд
0502	0,0514	0,0250	0,429	нд
0503	0,0163	0,0166	1,021	нд
0601	0,1968	0,0916	0,262	<0,05
0602	0,1285	0,0667	0,305	<0,05

Примітки: *номенклатурне позначення алелів HLA-системи; нд – недостовірно (p>0,05).

Вірогідно частіше у зіставленні з контрольною групою в локусі DQB1* відмічаються алелі DQB1*0303 (0,0833 проти 0,0321; p<0,05) і алель DQB1*0305 (0,0417 проти 0,0072; p<0,001). Вірогідно рідше в даному локусі виявляють алелі DQB1*0601 (0,0916 проти 0,1968; p<0,05) і DQB1*0602 (0,0667 проти 0,1285; p<0,05).

Із гаплотипових сполучень найбільш поширеними в групі хворих на ІХС є HLA B35, DRB1*12, DQA1*0501, DQB1*0301. У контрольній групі — HLA A2, B7, DRB1*11, DQA1*0102, DQB1*0201.

Таким чином, аналіз поширеності видів ізольованої HLA-специфічності та її гаплотипових сполучень свідчить про особливості їх розподілу в групі пацієнтів із ІХС порівняно з контрольною групою. Слід зазначити, що серед видів специфічності, які відмічають достовірно частіше, переважають ті, що асоційовані з імунологічними порушеннями та підвищеною чутливістю до інфекційних чинників.

Вивчення зв'язку генотипу системи HLA із захворюванням на ІХС показало певні особливості розподілу антигенів і генів залежно від клінічної характеристики груп. У групі хворих виявлено

Поширеність видів HLA-специфічності залежно від особливостей клінічного перебігу ІХС

HLA-специфічність	Клінічна характеристика					
	ІМ		Дебют захворювання			
	ІМ в анамнезі (n=32)	Без ІМ (n=26)	RR	Ранній дебют (n=29)	Пізній дебют (n=18)	RR
A 24	0,1094	0,0385	3,93*	0,1034	0,0833	1,24
A 28	0,0313	0,0576	0,55	0,0172	0,1111	0,14*
B 7	0,0469	0,1732	0,11*	0,0862	0,1389	0,62
B 8	0,0781	0,0192	5,17*	0,0345	0,0556	0,62
B 14	0,0938	0,0192	5,26*	0,1035	0,0278	4,83*
B 27	0,0781	0,0385	3,11*	0,0862	0,0278	4,25*
DRB1*01	0,0625	0,0769	0,81	0,0518	0,1389	0,22*
DRB1*11	0,2345	0,1538	1,52	0,2238	0,1111	4,52*
DQA1*0101	0,0938	0,2115	0,22*	0,1035	0,2503	0,21*
DQA1*0102	0,1562	0,0962	1,62	0,1724	0,0633	3,24*
DQB1*0201	0,2032	0,1346	1,51	0,2069	0,0556	6,72*
DQB1*0501	0,0469	0,1923	0,12*	0,0689	0,2222	0,21*
DQB1*0602	0,0781	0,0577	1,35	0,0345	0,1389	0,11*

Примітка: * – p<0,05

зв'язок з видами антигенної специфічності маркерів HLA I та II класу (локус В) і II класу (локуси DRB1; DQA1; DQB1)(див. табл. 1 і 2).

Встановлена достовірна позитивна асоціація з наявністю ІХС антигенів локусу В — HLA-B27 (RR=3,44; p<0,05), HLA-B35 (RR=3,67; p<0,05), HLA-B14 (RR=2,44; p<0,05) і HLA-B49 (RR=3,15; p<0,05). Протекторну функцію відносно ризику виникнення ІХС несуть антигени HLA-A3 (RR=0,34; p<0,05), B7 (RR=0,31; p<0,05), B41 (RR=0,21; p<0,001), HLA-B16 (RR=0,25; p<0,05) і HLA-B15 (RR=0,31; p<0,05).

Серед імуногенетичних маркерів HLA-II класу найбільш виражений асоціативний зв'язок з ІХС встановлено для видів специфічності локусів DRB1, DQA1, DQB1. Так, в локусі DRB1 позитивна асоціація із захворюванням встановлена для алеля DRB1*12 (RR=4,15; p<0,05). Негативна асоціація визначена для специфічності DRB1*04 (RR=0,35; p<0,05). У локусі DQA1 позитивно асоційовані з ІХС алелі DQA1*0103 (RR=4,33; p<0,05), DQA1*0501 (RR=5,76; p<0,05). Негативні асоціації визначені для алелів DQA1*0505 (RR=0,11; p<0,001), DQA1*0101 (RR=0,35; p<0,05). Найбільш виражену протекторну функцію несе алель DQA1*0301 (RR=0,03; p<0,01).

У локусі DQB1 позитивний асоціативний зв'язок з ІХС мають алель DQB1*0305 з високим коефіцієнтом відносного ризику (RR=12,10; p<0,001), а також алель DQB1*0303 (RR=4,30; p<0,05). Негативні асоціації визначені для алелів DQB1*0501 (RR=0,40; p<0,05), DQB1*0601 (RR=0,26; p<0,05) і DQB1*0602 (RR=0,31; p<0,05), що підтверджує їх протекторну функцію.

Таким чином, наявність HLA-антигенів I класу A29, A33, B14, B27, B35, а також HLA-генів II класу DQA1*0103, DQA1*0501, DRB1*12, DQB1*0305, DQB1*0303 може свідчити про генетичну схильність до розвитку ІХС і дозволяє віднести пацієнта до групи ризику відносно реалізації захворювання. Наявність HLA-антигенів I класу A3, B7, B16, B15 та HLA-генів II класу DQA1*0101, DQA1*0301, DQB1*0501, DQB1*0601 свідчить про генетичну толерантність до ІХС.

Одним із завдань дослідження було дослідити можливий зв'язок структури генетичної системи HLA з раннім/пізнім дебютом ІХС і розвитком ІМ для прогнозування раннього розвитку ІХС та її ускладнень.

Дослідження HLA генетичної структури хворих на ІХС залежно від клінічної характеристики свідчить про особливості поширеності окремих видів специфічності відносно терміну дебюту захворювання і наявності ІМ в анамнезі (табл. 3). Так, у групі хворих з ІМ в анамнезі серед HLA-антигенів I класу вірогідно підвищена у зіставленні з хворими без ІМ поширеність видів специфічності A24 (RR=3,93; p<0,05) і B27 (RR=3,11; p<0,05), який вважається маркером аутоімунних процесів. До факторів ризику виникнення ІМ можна віднести також HLA-антигени B14 (RR=5,26; p<0,05) і B8 (RR=5,17; p<0,05). Щодо частоти наявності мар-

керів A3 (RR=0,21; p<0,05), B7 (RR=0,11; p<0,05) та B62 (RR=0,20; p<0,05) виявлено, що в групі без перенесеного ІМ ці види специфічності відмічають значно частіше, ніж у групі порівняння, і мають негативний асоціативний зв'язок із ризиком розвитку ІМ.

Серед алелів генів II класу достовірно рідше виявляють відносно групи порівняння алелі DQB1*0501 (RR=0,12; p<0,05) і DQA1*0101 (RR=0,22; p<0,05), що може свідчити про протекторну функцію даних алелів.

Таким чином, наявність у фенотипі антигенів HLA A24, B8, B14, B27 та в генотипі алелю DQA1*0102 свідчить про генетичну схильність до розвитку ІМ. Навпаки, наявність антигенів HLA A3, B7 і B62 та алелів DQA1*0101 і DQB1*0501 свідчить про генетичну толерантність до розвитку ІМ.

Вивчення поліморфізму фенотипу та генотипу системи HLA свідчить про певні відмінності у пацієнтів віком старше 60 років із незначним ураженням коронарних судин за даними коронарографії та розвитком клінічних проявів ІХС у віці старше 60 років порівняно з пацієнтами віком до 45 років зі значним ураженням коронарних судин та розвитком клінічних проявів ІХС у віці до 45 років.

Так, у пацієнтів із раннім дебютом захворювання достовірно частіше порівняно з групою порівняння відмічають види HLA-специфічності B14 (RR=4,83; p<0,05) та B27 (RR=4,25; p<0,05), що співпадає з даними відносно асоціації даного маркера з розвитком ІМ. Також позитивний зв'язок з раннім дебютом захворювання мають види HLA-специфічності DRB1*11 (RR=4,52; p<0,05), DQA1*0102 (RR=3,24; p<0,05), DQB1*0201 (RR=6,72)(p<0,05), DQB1*0303 (RR=2,47; p<0,05), DQB1*0305 (RR=2,36; p<0,05).

Про протекторну функцію свідчать HLA-антиген A28 (RR=0,14; p<0,05) та алелі DRB1*01

Поширеність видів HLA-специфічності серед пацієнтів із ІХС з урахуванням порушень імунного статусу

HLA-специфічності	Імунологічна характеристика											
	Аутоімунні чинники			РБТЛ				ААТ до окиснених ЛПНЩ			ІЛ-6	
	Наявність ААТ (n=29)	Відсутність ААТ (n=24)	RR	РБТЛ норма (n=40)	РБТЛ низьке (n=14)	RR	ААТ у нормі (n=30)	ААТ підвищено (n= 29)	RR	1-ша група (n=28)	2-га група (n=28)	RR
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
A1	0,1207	0,1667	0,72	0,1625	0,0357*	0,12	0,1207	0,1666	1,38	0,1429	0,1071	0,75
A 26	0,0345	0,0625	0,55	0,0625	0,0357	0,57	0,0172	0,0667*	4,38	0,0536	0,0357	0,67
B7	0,1207	0,1667	0,72	0,1625	0,0357*	0,12	0,1207	0,0833	0,69	0,0536	0,1606	3,00
B8	0,1207*	0,0625	3,34	0,0875	0,1072	1,23	0,0517	0,0500	0,97	0,0714	0,0357	0,50
B14	0,0862*	0,0417	4,69	0,0875	0,0357	0,41	0,0345	0,1000*	4,69	0,0893	0,0357	0,40
B35	0,0518	0,0833	0,62	0,0500	0,1072*	2,97	0,1726	0,1333	0,77	0,1071	0,2142*	4,17
DRB1*03	0,0689	0,0625	1,10	0,0500	0,1429*	4,23	0,0862	0,0667	0,77	0,0536	0,1671*	3,82
DRB1*16	0,0689	-	-	0,0250	0,1071*	3,68	0,0172	0,0500	2,91	0,0536	0,0179	0,33
DQA1*0101	0,1723	0,1250	1,38	0,1625	0,0714*	0,21	0,1379	0,1500	1,09	0,1250	0,1429	1,14
DQA1*0103	0,1897	0,1667	1,14	0,1750	0,2144*	3,47	0,2069	0,1833	0,89	0,1071	0,2857*	4,23
DQB1*0501	0,0689*	0,1667	0,17	0,1125	0,1071	0,95	0,0862	0,1333	1,55	0,1071	0,0536*	0,17

Примітки: * $p < 0,05$; АТ – антитіла, ААТ – аутоантитіла

(RR=0,22; $p < 0,05$), DQA1*0101 (RR=0,21; $p < 0,05$), DQB1*0501 (RR=0,21; $p < 0,05$), DQB1*0602 (RR=0,11; $p < 0,05$). Слід відзначити, що алелі DQA1*0101 та DQB1*0501 є спільним протектором відносно розвитку ІХС і раннього дебюту захворювання.

Таким чином, наявність в генотипі ізольованих алелів HLA DRB1*11, DQA1*0102, DQB1*0201, DQB1*0303, DQB1*0305 та антигенів HLA B14, B27 свідчить про генетичну схильність до розвитку ІХС і дозволяє віднести пацієнта до групи ризику раннього розвитку захворювання. Разом з тим наявність в генотипі алелів HLA DRB1*01, DQA1*0101, DQB1*0501, DQB1*0602 та антигену A28 свідчить про генетичну толерантність до розвитку ІХС.

Аутоімунні чинники в патогенезі ІХС відіграють важливу роль, а головний комплекс гістосумісності контролює якість і силу імунної відповіді на вплив екзогенних і ендогенних чинників, тобто виконує свою основну функцію — генетичний контроль імунної відповіді [8]. Тому доцільним було дослідити поліморфізм антигенних видів специфічності системи HLA у зіставленні з імуннопатологічними порушеннями (табл. 4).

Вивчення поширеності імуногенетичних факторів у групі хворих з наявністю підвищеної сенсibilізації лімфоцитів до антигену тканин судинної стінки свідчить про вірогідне підвищення концентрації HLA-антигенів A33 (RR=4,32; $p < 0,05$), B8 (RR=3,34; $p < 0,05$), B14 (RR=4,69; $p < 0,05$), B54 (RR=3,34; $p < 0,05$). Також встановлена позитивна асоціація підвищеної сенсibilізації лімфоцитів з HLA-алелями DRB1*01 (RR=3,28; $p < 0,05$), DRB1*16 (RR=4,66; $p < 0,05$), DQB1*0303 (RR=2,28; $p < 0,05$), DQB1*0602 (RR=3,45; $p < 0,05$). У пацієнтів з ІХС з нормальним рівнем бластоутворення на специфічний антиген виявлено, що протекторну функцію виконують HLA-антигени A3 (RR=0,37; $p < 0,05$), A25 (RR=0,25; $p < 0,05$) та HLA-алелі DRB1*08 (RR=0,17; $p < 0,05$), DQB1*0601 (RR=0,37; $p < 0,05$). Слід відзначити негативну асоціацію клітинної аутоімунної реакції з алелем DQB1*0501 (RR=0,17; $p < 0,05$), тобто наявність даного алеля

в генотипі свідчить про певну стійкість до аутоімунізації організму.

Позитивну спільну асоціацію з розвитком ІМ та клітинною аутоімунною реакцією мають HLA-антигени B8 — (RR=5,17) та (RR=3,34), B14 — (RR=5,26) та (RR=4,69) відповідно. Негативну спільну асоціацію з розвитком ІМ та клітинною аутоімунною реакцією має HLA- ген DQB1*0501 — (RR=0,12) та (RR=0,17) відповідно. Коефіцієнт кореляції Спірмена між аутоімунною сенсibilізацією лімфоцитів до тканин судинної стінки та наявністю післяінфарктного кардіосклерозу дорівнював 0,43 ($p = 0,02$), фракцією викиду лівого шлуночка — $-0,95$ ($p = 0,05$), наявністю клінічних проявів серцевої недостатності — 0,35 ($p = 0,07$). Це свідчить про те, що аутоімунна сенсibilізація лімфоцитів до тканин судинної стінки у пацієнтів із хронічними формами ІХС супроводжується частішим розвитком ускладнень ІХС у вигляді ІМ та серцевої недостатності.

Високий рівень антитіл до окиснених ЛПНЩ (n=29) асоціюється з HLA-антигенами A26 (RR=4,38; $p < 0,05$), A29 (RR=3,33; $p < 0,05$), B14 (RR=4,69; $p < 0,05$). Отримані дані свідчать про підвищений ризик реалізації генетичної схильності до гуморальної аутоімунізації у випадках гомозиготності індивіда, що підтверджується коефіцієнтами ризику. Нормальний рівень антитіл до окиснених ЛПНЩ був пов'язаний з антигенами HLA A3 (RR=0,39; $p < 0,05$), B16 (RR=0,22; $p < 0,05$) та B27 (RR=0,14; $p < 0,05$).

Позитивну спільну асоціацію з розвитком ІМ та гуморальною аутоімунною реакцією має HLA-антиген B14 — (RR=5,26) та (RR=4,69) відповідно. Негативну спільну асоціацію з розвитком ІМ та гуморальною аутоімунною реакцією має HLA-антиген A3 — (RR=0,20) та (RR=0,39) відповідно.

Аналіз асоціативного зв'язку видів HLA-специфічності з активністю РБТЛ свідчить про наявність негативних коефіцієнтів ризику, що відображає генетичну підтримку стабільності певних систем імунітету. Встановлені протекторні властивості HLA-антигенів A1 (RR=0,12; $p < 0,05$),

B7 (RR=0,12; p<0,05) і HLA-алеля DQA1*0101 (RR=0,21; p<0,05). Встановлені і позитивні асоціації HLA-системи з низькою активністю РБТЛ. Так, позитивно асоційований HLA-антиген В35 (RR=2,97; p<0,05) і алелі DRB1*03 (RR=4,23; p<0,05), DRB1*16 (RR=3,68; p<0,05), DQA1*0103 (RR=3,47; p<0,05), DQB1*0303 (RR=4,72; p<0,05) мають досить вагомі коефіцієнти асоціації.

Встановлено позитивний асоціативний зв'язок антигену В35 (RR=4,17; p<0,05) і генів DRB1*03 (RR=3,82; p<0,05) та DQA1*0103 (RR=4,23; p<0,05) з підвищеним вмістом прозапальних ІЛ-6, ІЛ-8, інтерферон- γ , ФНП- α та СРБ, що дозволяє віднести дані HLA-специфічності до маркерів ризику гіперреактивності імунної системи відносно гіперпродукції прозапальних медіаторів. Встановлені протекторні властивості алеля DQB1*0501 (RR=0,17; p<0,05). Можна вважати, що наявність даного алеля в генотипі пацієнта свідчить про певну стійкість до запальної гіперреакції імунної системи.

ВИСНОВКИ

1. Імуногенетичні характеристики фенотипу та генотипу системи HLA впливають на розвиток ІХС. Наявність HLA-антигенів I класу: A29, A33, B14, B27, B35; HLA-генів II класу: DQA1*0103, DQA1*0501, DRB1*12, DQB1*0303, DQB1*0305 — може свідчити про генетичну схильність до ІХС і дозволяє віднести пацієнта до групи ризику розвитку ІХС. Наявність HLA-антигенів I класу: A3, B7, B16, B15 та HLA-генів II класу: DQA1*0101, DQA1*0301, DQB1*0501, DQB1*0601 свідчить про генетичну стійкість до ІХС.

2. Ранній початок клінічних проявів ІХС (віком до 45 років), а також перенесений ІМ асоціюються з видами HLA-специфічності генетичного контролю імунної відповіді. Наявність HLA-генів II класу DRB1*11, DQA1*0102, DQB1*0201, DQB1*0303, DQB1*0305 та HLA-антигенів I класу B14, B27 свідчить про генетичну схильність до раннього розвитку ІХС. Наявність HLA-антигенів A24, B8, B14, B27 та HLA-алелі DQA1*0102 свідчить про генетичну схильність до розвитку ІМ. Навпаки, наявність HLA-антигенів A3, B7 і B62 та HLA-алелів DQA1*0101 і DQB1*0501 може свідчити про генетичну толерантність до розвитку ІМ.

3. Позитивний асоціативний зв'язок HLA-антигену В35 і HLA-генів DRB1*03 та DQA1*0103 з гіперпродукцією медіаторів запалення (ІЛ-6, ІЛ-8, інтерферон- γ , ФНП- α та СРБ) у пацієнтів з ІХС дозволяє віднести дані HLA-специфічності до маркерів ризику розвитку активної імунозапальної реакції. HLA-алель DQB1*0501, навпаки, виконує протекторну функцію щодо розвитку імунного запалення.

4. Позитивний асоціативний зв'язок HLA-антигенів В8, В14 і HLA- алелей DRB1*01, DRB1*16, DQB1*0303 та DQB1*0602 з високою сенсibilізацією лімфоцитів до тканин судинної стінки у пацієнтів з ІХС дає підставу вважати їх генетичними маркерами розвитку клітинних аутоімунних реакцій. Протекторну функцію щодо роз-

витку клітинної аутоімунізації мають HLA-антигени A3 і A25 та HLA-гени DRB1*08, DQB1*0501 і DQB1*0601.

5. Позитивний та негативний асоціативний зв'язок HLA-антигенів I та HLA-генів II класів з кількістю бластоутворених клітин у відповідь на міоген ФГА свідчить про генетичну зумовленість високої та низької проліферативної активності лімфоцитів. Т-клітинна супресія у пацієнтів із хронічною ІХС асоціюється з HLA-антигеном В35 і HLA-алелями DRB1*03, DRB1*16 та DQB1*0303.

6. HLA-антиген В14 має спільну позитивну асоціацію з високими показниками як сенсibilізації лімфоцитів до артеріальних судин (RR=4,69), так і рівня антитіл до окиснених ЛПНЩ (RR=4,69), що свідчить про наявності цього алеля про ризик розвитку клітинної і гуморальної аутоімунних реакцій.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. **Иммунологические методы** (1987) Под ред. Г. Фримеля. М.: Медицина, 249–302 с.
2. **Кондрашова Н.И.** (1974) Реакция потребления комплекта в новой постановке для выявления противотканевых антител. Лаб. Дело, 9: 552–554.
3. **Коненков В.И., Шевченко А.В., Прокофьев В.Ф. и др.** (2012) Комплекс генотипов цитокинов как генетический фактор риска развития инфаркта миокарда у мужчин европеоидного населения России. Кардиология, 7: 22–29.
4. **Певницкий М.А.** (1988) Статистическая оценка ассоциации HLA-антигенов с заболеваниями. Вестник АМН СССР, 7: 48–51.
5. **Петросян Ю.С., Иселиани Д.Г.** (1976) О суммарной оценке коронарного русла у больных ишемической болезнью сердца. Кардиология, 12: 41–46.
6. **Стефани Д.Ф.** (1996) Клиническая иммунология и иммунопатология детского возраста. М.: Медицина, 372 с.
7. **Abdi-Ali A., Shaheen A., Southern D. et al.** (2016) Relation Between Family History of Premature Coronary Artery Disease and the Risk of Death in Patients With Coronary Artery Disease. The American Journal of Cardiology, 117(3): 353–358. doi.org/10.1016/j.amjcard.2015.11.008.
8. **Assimes T.L., Roberts R.** (2016) Genetics: Implications for Prevention and Management of Coronary Artery Disease. Journal of the American College of Cardiology, 68(25): 2797–2818. doi.org/10.1016/j.jacc.2016.10.039.
9. **Berglund A. et al.** (2012) Comprehensive DNA typing for HLA-A, B, C, DRB1, DRB3, DRB4, DRB5, DQB1, DQA1 by PCR with mixes utilizing sequence-specific primers (PCR-SSP). Tissue Antigens, 82: 355–367.
10. **Kausik K.R.** (2014) Interleukin-1 Revisited: Further Insights Into its Role in Atherosclerosis and as a Potential Therapeutic Target for Treatment. J. Am. Coll. Cardiol., 63(17): 1735–1738. doi.org/10.1016/j.jacc.2014.01.021.
11. **Middleton D., Bodmer J., Heyes J.** (1992) HLA typing reagents: alloantisera and monoclonal antibodies in histocompatibility testing. A practical approach. Oxford University Press.: 294.
12. **Prins B.P., Lagou V., Asselbergs F.W. et al.** (2012) Genetics of coronary artery disease: Genome-wide association studies and beyond. Atherosclerosis, 225(1): 1–10. doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.05.015.
13. **Terasaki P.I., Bernoco F., Park M.S.** (1978) Microdroplet testing for HLA-A, -B, -C and -D antigens. J. Clin. Patol., 69: 103–120.
14. **Tsimikas S., Duff G.W., Berger P.B.** (2014) Pro-Inflammatory Interleukin-1 Genotypes Potentiate the Risk of Coronary Artery Disease and Cardiovascular Events Mediated by Oxidized Phospholipids and Lipoprotein(a) J. Am. Coll. Cardiol., 63(17): 1724–1734. doi.org/10.1016/j.jacc.2013.12.030.

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ HLA У ПАЦИЕНТОВ С РАННИМ И ПОЗДНИМ РАЗВИТИЕМ ИБС И ПЕРЕНЕСЕННЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА

А.Н. Ломаковский, Ж.Н. Минченко,
Т.И. Гавриленко, Е.А. Подгайна

ГУ «ННЦ «Институт кардиологии имени академика Н.Д. Стражеско» НАМН Украины»,
ГУ «ННЦ радиационной медицины»
НАМН Украины, Киев

Резюме. Вступление. Наследственная составляющая данной патологии включает полиморфизм генов по разным генетическим системам, которые задействованы как в развитии ишемической болезни сердца (ИБС), так и развитии ее осложнений. **Цель исследования** — определение возможности использования иммуногенетических показателей в качестве прогностических маркеров раннего развития и осложнений ИБС на основе сопоставления фенотипических и генотипических характеристик системы HLA с появлением первых клинических проявлений ИБС в разном возрасте пациентов и с развитием инфаркта миокарда. **Объект и методы исследования.** Обследовано 58 больных со стабильной ИБС. В контрольную группу включили 50 здоровых лиц. Материалом иммунологического исследования была периферическая венозная кровь. Типирование HLA-антигенов проводили методом реакции комплемент-зависимой цитотоксичности в микролимфоцитотоксическом тесте. Типирование проводили по 19 HLA-сывороткам локуса A и 36 — локуса B. Генотипирование аллельных вариантов HLA I класса (локусы A, B, C), II класса (локусы DRB1, DQA1, DQB1) проводили молекулярно-генетическим методом. Уровни фактора некроза опухоли α , интерлейкина-6 и -8, интерферона γ в сыворотке крови и культуре мононуклеарных клеток (моноциты и лимфоциты), уровни высокочувствительного C-реактивного белка и антител к окисленным липопротеинам низкой плотности (ЛПНП) в сыворотке крови определяли твердофазным иммуноферментным методом. Пролиферативная неспецифическая активность лимфоцитов на митоген фитогемагглютинин и специфическая сенсibilизация лимфоцитов к антигенам сосудистой стенки оценивалась в реакции бласттрансформации. **Результаты исследования.** Иммуногенетические характеристики фенотипа и генотипа системы HLA влияют на развитие ИБС. HLA-специфичность генетического контроля иммунного ответа связана со склонностью и толерантностью к раннему началу клинических проявлений ИБС и развитию инфаркта миокарда. Показана положительная и отрицательная связь некоторых HLA-антигенов и HLA-генов с продукцией медиаторов воспаления, сенсibilизацией лим-

фоцитов к тканям сосудистой стенки и уровнем антител к окисленным ЛПНП. **Выводы.** Наличие определенных HLA-антигенов I класса и HLA-генов II класса может свидетельствовать о генетической предрасположенности и генетической устойчивости к ИБС. Раннее начало клинических проявлений ИБС (в возрасте до 45 лет), а также перенесенный инфаркт миокарда ассоциируются с видами HLA-специфичности генетического контроля иммунного ответа. Выявлена положительная и отрицательная связь некоторых HLA-антигенов и HLA-генов с продукцией медиаторов воспаления, пролиферативной активностью T-лимфоцитов, сенсibilизацией лимфоцитов к тканям сосудистой стенки и уровнем антител к окисленным ЛПНП.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, иммуногенетика, система HLA, воспаление, прогноз.

IMMUNOGENETIC CHARACTERISTICS OF THE HLA SYSTEM IN PATIENTS WITH EARLY AND LATE CHD AND PERMANENT MYOCARDIAL INFARCTION

A.N. Lomakovsky, J.N. Minchenko,
T.I. Gavrilenko, E.A. Podgaina

State Institution «National scientific center «Institute of Cardiology named after academician M.D. Strazhesko» National Academy of Medical Sciences of Ukraine, State Institution «National scientific center Radiation Medicine» National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv

Abstract. Introduction. The hereditary component of this pathology includes gene polymorphism for different genetic systems, which are involved both in the development of ischemic heart disease and the development of its complications. **The aim of the study** was to determine the possibility of using immunogenetic parameters as prognostic markers of early development and complications of coronary artery disease by comparing the phenotypic and genotypic characteristics of the HLA system with the appearance of the first clinical manifestations of coronary artery disease at different ages of patients and with the development of myocardial infarction. **Object and research methods.** 58 patients with stable coronary artery disease were examined. The control group was matched by 50 healthy individuals. The material for the immunological study was peripheral venous blood. The typing of HLA antigens was performed by the complement-dependent cytotoxicity test in the microlymphocytotoxic test. Typing was carried out on 19 HLA-sera of locus A and 36 — locus B. Genotyping of allelic variants of HLA class I (loci A, B, C), II class (loci DRB1, DQA1, DQB1) was carried out by a molecular genetic method. Levels of tumor necrosis factor α , interleukin-6 and 8, interferon γ in blood serum and culture of mononuclear cells (monocytes and lymphocytes), levels of highly sensitive C-reactive pro-

tein and antibodies to oxidized low density lipoproteins in serum were determined by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. The proliferative nonspecific activity of lymphocytes to the mitogen phytohemagglutinin and the specific sensitization of lymphocytes to antigens of the vascular wall was assessed in the blast transformation reaction. **Research results.** Immunogenetic characteristics of the phenotype and genotype of the HLA system affect the development of ischemic heart disease. The HLA-specificity of the genetic control of the immune response is associated with the propensity and tolerance for the early onset of clinical manifestations of coronary artery disease and the development of myocardial infarction. A positive and negative relationship of some HLA antigens and HLA genes with the production of inflammatory mediators, sensitization of lymphocytes to the tissues of the vascular wall, and the level of antibodies to oxidized LDL has been shown. **Conclusions.** The presence of certain class I HLA antigens and class II HLA genes may indicate a genetic predisposition and genetic resistance to ischemic heart disease. The early

onset of clinical manifestations of coronary artery disease (up to 45 years of age), as well as myocardial infarction, are associated with HLA-specificities of the genetic control of the immune response. A positive and negative relationship of some HLA antigens and HLA genes with the production of inflammatory mediators, proliferative activity of T-lymphocytes, sensitization of lymphocytes to the tissues of the vascular wall and the level of antibodies to oxidized LDL was revealed.

Key words: coronary heart disease, immunogenetics, HLA system, inflammation, prognosis.

Адреса для листування:

Ломаковський Олександр Миколайович
03151, Київ, вул. Народного ополчення, 5
ДУ «ННЦ «Інститут кардіології імені академіка М.Д. Стражеска» НАМН України»,
відділення атеросклерозу та ІХС
E-mail: lomakovsky@ukr.net
Тел.: (067) 727-27-17

РЕФЕРАТИВНА ІНФОРМАЦІЯ

Безсимптомна гіперурикемія: контроль рівня сечової кислоти для попередження загострень подагри

Підготувала Анна Хиць

Подагра — одна з найпоширеніших форм запалення суглобів, частота якої становить 0,9–2,5% серед населення країн Європи. Захворювання спричинене тривалим підвищенням рівня сечової кислоти (СК) — гіперурикемією — і відкладенням у тканинах опорно-рухового апарату та внутрішніх органах натрієвої солі СК (кристали моноурати) з розвитком гострого артриту та утворенням подагричних вузликів (тофусів). Воно клінічно характеризується наявністю загострень, які епізодично виникають у багатьох пацієнтів з подагрою. Відкладення уратів проходить через декілька стадій: від безсимптомної форми, коли відсутні будь-які симптоми подагри, до симптомної форми, що супроводжується розвитком хронічного подагричного артриту та формуванням тофусів [1].

Відповідно до міжнародних гайдлайнів лікування подагри передбачає застосування УЗТ, яка показана пацієнтам з клінічними проявами подагри, наявністю тофусів та сечокам'яної хвороби [2, 3]. Ініціювання УЗТ рекомендується якомога раніше з моменту встановлення діагнозу, особливо у пацієнтів молодого віку (<40 років) або з дуже високим рівнем СК та/або супутніми захворюваннями (порушення функції нирок, артеріальна гіпертензія, ішемічна хвороба серця, серцева недостатність). Ключовою метою УЗТ є контроль рівня СК у сироватці крові в межах $\leq 6,0$ мг/дл.

На сьогодні відсутній консенсус щодо того, чи слід призначати УЗТ з профілактичною метою пацієнтам з безсимптомною гіперурикемією до першого загострення. Японські рекомендації регламентують починати УЗТ з метою профілактики розвитку загострень

ня ще перед першим спалахом у пацієнтів із безсимптомною гіперурикемією [4].

Проведено ретроспективне когортне дослідження, в якому аналізувалися дані амбулаторних карт пацієнтів з бази даних JMDC Claims Database у період з квітня 2012 по червень 2019 р. Пацієнти, у яких рівень СК у сироватці крові був вищим або дорівнював 8,0 мг/дл, включалися у дослідження, статус захворювання (видача направлень на УЗТ, факт загострення подагри, концентрація СК у сироватці крові) відстежувався протягом 1 року. Час до першого загострення і частота виникнення загострень визначалися подібно до статусу захворювання протягом ≥ 2 років. Оцінка наявності зв'язку між загостренням подагри та показниками концентрації СК у сироватці крові проводилася за допомогою багатовимірного аналізу. Загалом в аналіз включені дані амбулаторних карт 19 261 пацієнта, які відповідали критеріям включення в дослідження. Результати аналізу виявили, що частота загострень подагри була значно нижчою у пацієнтів, які отримували УЗТ і досягли концентрації СК у сироватці крові $\leq 6,0$ мг/дл, ніж у пацієнтів, концентрація СК в яких залишалася $>6,0$ мг/дл, або у пацієнтів, які не отримували УЗТ незалежно від активності захворювання. Зокрема, аналіз моделі пропорційних ризиків Кокса при розрахунку часу до першого загострення подагри виявив, що відношення було найнижчим (коефіцієнт ризику (КР) 0,45; 95% довірчий інтервал (ДІ) 0,27–0,76) у пацієнтів із безсимптомною гіперурикемією, які отримували УЗТ (СК $\leq 6,0$ мг/дл), порівняно з пацієнтами, які не отримували терапію (СК $\geq 8,0$ мг/дл). Результати цього дослідження продемонстрували, що частота загострень подагри може знижуватися шляхом контролю СК у сироватці крові в межах $\leq 6,0$ мг/дл як у пацієнтів із безсимптомною гіперурикемією, так і з подагрою.