

HLA – ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ОТДЕЛЬНЫХ ЗВЕНЬЕВ ПАТОГЕНЕЗА НЕКОРОНАРОГЕННЫХ И КОРОНАРОГЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МИОКАРДА

(Сообщение 2)

Ю.И. Афанасьев

К настоящему времени нет сомнений в том, что антигенный состав HLA-системы играет важную роль в механизмах индукции различных заболеваний человека, в том числе и при поражении миокарда. Выявленные связи HLA-генетических структур с некоронарогенными и коронарной болезнями сердца [3, 4, 12, 10, 13], а также обнаруженные особенности в деятельности иммунной системы у здоровых и больных лиц с поражениями миокарда предопределили необходимость поиска вероятных путей реализации HLA-ассоциированной предрасположенности или устойчивости индивидуумов к развитию заболеваний миокарда на моделях функционирования Т-звена иммунитета и ЕКК.

Материалы и методы исследования

Исследованная выборка больных лиц включала в себя индивидуумов с ишемической болезнью сердца (ИБС), ревматическим и неревматическим миокардитом. Возраст исследованных больных составил от 20 до 59 лет. Диагноз ИБС устанавливали на основании общепринятых клинико-лабораторных и инструментальных данных.

Ревматическое и неревматическое поражение миокарда верифицировали согласно рекомендациям Института ревматологии и критериев, предложенных В.А. Максимовым (1979 г.) и Н.Р. Палеевым в соавт. (1982 г.).

В группу больных ИБС (77 человек) входили лица со стабильной стенокардией II – III функционального класса (35) и стабильной стенокардией I – III функциональных классов с признаками перенесенного инфаркта миокарда.

Больных с ревматическими поражениями миокарда (100 человек) представляли лица с возвратным ревмокардитом с поражением сердца (83) и первичным ревмокардитом (17) с различной выраженностью кардита. В группу больных с неревматическим миокардитом включены 34 человека с тонзиллогенной и вирусной этиологией болезни.

В контрольную группу вошли 155 человек. Все исследованные лица проживали в аридной зоне Центральной Азии и относились к единой этнической группе. Функциональную активность Т-лимфоцитов изучали в реакции бласттрансформации (РБТЛ), стимулированной поликлональными митогенами – фитогемагглютинином (ФГА) и конканавалином «А» (Кон «А»). Активность неспецифических Кон «А»-индуцированных супрессоров определяли методом двойной бласттрансформации [15]. Т-супрессоры стимулировали Кон «А» в течение 48 часов с последующим тестированием их активности по подавлению РБТ аутологичных лимфоцитов, стимулированных ФГА. Активность ЕКК определяли по их цитотоксическому действию на клетки-мишени К-562, меченных ³Н-уридином (5 мКи/мл) в присутствии РНК-азы в дозе 1 мкг/мл [9].

HLA-фенотип устанавливали в стандартном двухступенчатом лимфоцитотоксическом тесте с использованием HLA-антисывороток Санкт-Петербургского НИИ гематологии и переливания крови. Достоверность различий в частоте HLA-антигенов определяли по критерию χ^2 с поправкой на непрерывность выборки или по методу Фишера для 4-польных таблиц. Статистическая оценка ассоциации HLA-антигенов с заболеваниями проводилась по рекомендациям Л.А. Певницкого (1988 г.). Регрессионный анализ иммунологических показателей проведен общепринятыми методами [5]. Статистическая обработка полученных данных произведена на персональном компьютере с применением пакета прикладных программ.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследования показали [11, 14], что у здоровых людей регистрируется снижение митогениндуцированной пролиферации лимфоцитов в ответ на воздействие оптимальной дозы ФГА и Кон «А» у HLA- A 1 и HLA- A 11 позитивных индивидуумов.

Обнаружена связь высокой ФГА- индуцированной пролиферации Т-клеток с представительством в фенотипе HLA- В13 и сниженный уровень спонтанной пролиферации лимфоцитов у лиц с HLA- В 40 в фенотипе.

Высокая мембранотоксическая функция ЕКК отмечена у индивидуумов с HLA- В8 и В35 в фенотипе.

Взаимосвязанной с HLA- генетическими структурами оказалась и функция Т-регуляторов: высокий уровень супрессирующей потенции выявлен у HLA- В7 позитивных индивидуумов [3, 11, 14].

Дальнейший анализ взаимосвязи клеточных иммунных реакций с HLA- фенотипом здоровых лиц позволил обнаружить значительное угнетение ФГА- индуцированной пролиферации у HLA- В21⁺ индивидуумов. Индекс стимуляции у этих лиц составил $38,4 \pm 3,9$, что значительно ниже показателей в группе лиц с HLA- В21⁻-фенотипом – $60,4 \pm 3,6$ ($p < 0,001$).

В исследованной популяции отмечено снижение и Кон «А»-индуцированного ответа лимфоцитов: лица с HLA- Сw4⁺ фенотипом характеризовались уровнем Кон «А»-индуцированной пролиферации, равным $21,9 \pm 1,8$, в то время как у HLA- Сw4⁻-индивидуумов митогениндуцированный ответ был ощутимо ниже – $32,9 \pm 4,9$ ($p < 0,05$).

Полученные данные согласуются с гипотезой о существовании генетических механизмов реализации функциональной активности иммунокомпетентных клеток, предопределяющих развитие различного уровня иммунного ответа и, тем самым, способствующих или препятствующих формированию условий в инициации различных заболеваний человека, в том числе и поражений сердечной мышцы.

Таблица 1

HLA-генетические маркеры ревматического поражения миокарда

Нозологические формы	HLA-генетические маркеры	RR	EF
Ревматизм	B21	4,7***	0,13
	Cw4	2,3**	0,15
Ревматический порок сердца	B21	5,9****	0,16
Выраженность кардита: яркая слабая	B35	3,4**	0,28
	B21	8,1****	0,21
Агрегация ревматизма в родословной	A28	8,7****	0,45
Отсутствие эффекта в проводимой терапии	B21	7,5****	0,20

Примечание RR – степень относительного риска; EF – величина этиологической фракции

В предыдущих сообщениях [4] было показано, что при ревматическом поражении миокарда в исследованной популяции людей обнаружены ассоциации HLA- генетических структур с заболеванием. Так, HLA- В21 и Сw4 предопределяли риск развития ревмокардита в возрасте от 1 до 24 лет (табл. 2) слабо выраженной картины ревмопроцесса в сердечной мышце, деструкции митрального клапана, рефрактерности к проводимой терапии.

Таблица 2

**Величина относительного риска (RR) этиологической (EF)
и превентивной (PF) фракций для отдельных HLA- A, B, C
антигенов в зависимости от возраста начала ревматического процесса**

HLA-антиген	Возраст начала болезни (годы)								
	7 - 14 (n=27)			15 - 24 (n=40)			25 - 40 (n=26)		
	RR	EF	PF	RR	EF	PF	RR	EF	PF
A10				0,38		1,6	0,13		6,6
B8				0,16		5,3			
B13				0,46		1,9			
B16							0,32		0,21
B21				10,6****	0,27				
Cw1							12,8*	0,07	
Cw2	6,6****	0,40							

Повышенная аллельная частота HLA- A28 коррелировала с агрегацией болезни в родословной (табл. 1).

Приведенные сведения свидетельствуют об участии генетических факторов в механизмах формирования клинической вариабельности ревматического поражения миокарда и предполагают существование HLA- ассоциированной детерминации отдельных звеньев патогенеза болезни.

При ревматическом процессе в ассоциацию с функциональной активностью иммунокомпетентных клеток вступают иные, нежели у здоровых лиц, HLA- генетические маркеры. Наиболее демонстративными (табл. 3) оказались показатели функционирования иммунокомпетентных клеток у больных ревматическими поражениями миокарда с фенотипом HLA- A1⁺, HLA- A9⁺, HLA- A28⁺, HLA- B21⁺.

Таблица 3

**Функциональная активность Т- супрессоров и ЕКК
у больных с ревматическим поражением миокарда
в зависимости от наличия в фенотипе отдельных HLA- A, B –антигенов**

HLA-фе- нотип	Активность Т-супрессоров							Активность ЕКК
	n	Индекс активации	n	Индекс супрессии	n	Индекс регуляции	n	
A1 ⁺	4	-27,4 ± 5,6****	10	56,0 ± 8,3	14	32,1 ± 11,8***	14	45,2 ± 6,0
A1 ⁻	29	-94 ± 17,1	33	44,6 ± 4,1	62	21,4 ± 12,3	63	47,4 ± 3,5
A28 ⁺	4	-41,0 ± 18,0	4	31,6 ± 8,9	8	-4,7 ± 16,3	10	32,4 ± 6,1**
A28 ⁻	24	-92,9 ± 17,1	39	48,8 ± 4,0	68	-12,2 ± 11,6	67	48,7 ± 3,3
B21 ⁺	3	-47,9 ± 16,7	10	50,1 ± 5,2	13	27,5 ± 12,7***	15	34,7 ± 6,2*
B21 ⁻	30	-88,6 ± 16,3	33	46,4 ± 4,6	63	-19,9 ± 11,9	56	49,4 ± 3,6

Представительство в фенотипе больных HLA- A9 предопределяло сниженный в сравнении с опозитной группой HLA- A9 негативных индивидуумов, уровень включения ³H- тимидина в нестимулированную культуру клеток (p < 0,05); HLA- A1 – угнетение

активирующего потенциала Т- супрессоров ($p < 0,001$) с переключением суммарного иммунорегуляторного индекса в сторону супрессирующего действия ($p < 0,01$); HLA- A28 – депрессию мембранотоксической функции ЕКК ($p < 0,02$.)

Обращают на себя внимание взаимосвязи, обнаруженные у больных ревматическим миокардитом, имеющих в фенотипе маркер заболевания HLA- B21. У этих лиц более высокая, в сравнении с оппозитной выборкой больных, ФГА- индуцированная пролиферация Т- лимфоцитов ($p < 0,001$) и угнетенный мембранотоксический эффект ЕКК ($p < 0,05$.)

При ревматическом процессе обнаружено участие маркера низкой функциональной активности Т-лимфоцитов и ЕКК- HLA- A1 и Cw4 – в формировании патогномичной для данной патологии обратной регрессивной связи между индексом супрессии в функционировании Т- регуляторов и активностью ЕКК, что позволяет ожидать в ближайшем будущем повышения встречаемости HLA- A1 в фенотипе больных ревматизмом (табл. 4).

Таблица 4

Ассоциация HLA- фенотипа с коэффициентом корреляции (r) функциональных взаимоотношений в Т- системе лимфоцитов и ЕКК у больных с ревматическим поражением миокарда

HLA- фенотип	n	Индекс супрессии - ФГА- индуцированная пролиферация клеток		n	Индекс супрессии - активность ЕКК	
		r	Уравнение регрессионной функции		r	Уравнение регрессионной функции
A1 ⁺	10	-0,22		10	-0,72 ^{**}	$y = 82,4 - 0,7X$
A1 ⁻	30	-0,11		26	-0,19	
A2 ⁺	19	-0,02		15	-0,02	
A2 ⁻	21	-0,25		20	-0,75 ^{****}	$y = 66,8 - 0,6X$
B21 ⁺	10	-0,9 ^{****}	$y = 242,4 \times X^{-1,5}$	10	-0,48	
B21 ⁻	30	-0,09		28	-0,20	
Cw4 ⁺	13	-0,36		12	-0,72 ^{***}	$y = 125,3 \times X^{-0,5}$
Cw4 ⁻	27	-0,04		23	-0,2	

Для HLA- A2, по-видимому, больше предвидится роль протектора болезни, поскольку присутствие данной специфичности сдерживает развитие аномальной связи в показателях системы Т- регуляторов и активности ЕКК.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что взаимосвязи HLA- фенотипа больных ревматизмом с активностью иммунокомпетентных клеток обнаруживаются преимущественно с теми HLA- генетическими маркерами, которые ассоциированы с клиническими признаками болезни (HLA- B21, Cw4, A28). Отсюда становится очевидным, например, что генетически детерминированный дефект Т-клеток в здоровой популяции является, по-видимому, одним из механизмов, определяющих повышенный риск развития ревматического процесса у HLA- B21⁺ и HLA- Cw4⁺ людей.

У больных неревматическим миокардитом (вирусной этиологии), носителей маркера восприимчивости к болезни HLA- B35 [3], выявлена ассоциация данной детерминанты с высоким уровнем супрессирующей потенции Т-регуляторов.

Как указано выше, HLA- B35 маркирует у здоровых лиц высокий мембранотоксический эффект ЕКК, роль которых в развитии противовирусного и противоопухолевого иммунитета весьма существенна. С этих позиций выглядит парадоксальной ситуация, когда HLA- B35- маркер повышенной мембранотоксической функции ЕКК – ассоциирует с развитием миокардита вирусной этиологии. Найденный парадокс является не случайным, поскольку участие HLA- B35 в механизмах формирования предрасположенности

индивидуумов к возникновению вирусных заболеваний показано и в работах других исследователей [10, 13], в которых также регистрируется высокий мембранотоксический эффект ЕКК у HLA- В35⁺ лиц.

Одно из предположительных объяснений обнаруженного несоответствия лежит в самом определении мембранотоксичности ЕКК, под которым подразумевают [6] обратимое нарушение проницаемости клеток-мишеней для молекул РНК- азы, что не отражает в полной мере эффективность ЕКК в развитии противовирусной и противоопухолевой защиты.

Полученные данные предсказывают существование ассоциаций HLA- В35 с иными механизмами противовирусного иммунитета, например, с уровнем активации ОКТ4⁺ лимфоцитов или вирусиндуцированного синтеза антител к иммунокомпетентным клеткам, продукцией интерферона и интерлейкина-2, метаболизмом Mg [1].

При неревматическом миокардите вирусной природы не обнаружена ассоциация HLA-В35 с характерным для тонзиллогенного миокардита феноменом регрессионных взаимоотношений иммунорегуляторного индекса с мембранотоксической функцией ЕКК, что подтверждает принадлежность данной специфичности к маркеру вирусного поражения миокарда (табл. 5).

Таблица 5

Ассоциация HLA- фенотипа с коэффициентом корреляции (r) функциональных взаимоотношений регуляторного звена иммунитета и ЕКК у больных неревматическим миокардитом

HLA- фенотип	n	Индекс регуляции - активности ЕКК (r)	Управление регрессионной функцией
A2 ⁺	10	+ 0,35	
A2 ⁻	23	+ 0,23	
A9 ⁺	11	+ 0,28	
A9 ⁻	22	+ 0,23	
B35 ⁺	14	+ 0,30	
B35 ⁻	18	+ 0,54*	$y = 39.06 + 0,1X$

Таким образом, ревматический и неревматический миокардиты характеризуются включением в условиях патологического процесса HLA-ассоциированных генов, предопределяющих формирование специфического для каждой патологии типа клеточных иммунных реакций.

При ИБС [3] не удалось выявить особенности функционирования иммунокомпетентных клеток в ассоциациях с HLA-маркерами предрасположенности к болезни. Обнаруженные связи антигенов HLA- A1, B5, A11, В 13 и B35 с увеличением, соответственно, иммунорегуляторного индекса, активирующим компонентом Т-регуляторов, угнетением ФГА- и Кон «А»-индуцированной пролиферации лимфоцитов указывают больше на существование одного из путей развития иммунологической искаженности неспецифического характера в условиях коронарогенных поражений миокарда.

Представлялось интересным сопоставить активность иммунокомпетентных клеток в группе больных с иными патологическими состояниями, но так же ассоциирующихся с маркерами заболеваний миокарда. Таким требованиям отвечали в изучаемой популяции людей хронические неспецифические заболевания легких (ХНЗЛ), в клинике которых зарегистрировано участие HLA- В21 и HLA- В35 [11, 14].

Сравнительный анализ ассоциативных связей HLA-В21 с активностью клеточных иммунных реакций при ревматическом процессе и ХНЗЛ выявил различие в детерминации ФГА-индуцированной пролиферации клеток. При ревматическом процессе HLA-В21⁺ индивидуумы характеризовались усилением митогениндуцированного ответа Т- клеток, в то время как при ХНЗЛ данная HLA- генетическая детерминанта ассоциировала с угнетением стимулированной ФГА-пролиферации лимфоцитов [11]. Повышенная спонтанная пролиферация

клеток в условиях ревматического процесса коррелирует с наличием в фенотипе HLA- A9, в то время как при ИБС данная аллель ассоциирует с низким уровнем включения ³H- тимидина в нестимулированную культуру клеток. Антигенная детерминанта HLA- A11 выступает в качестве маркера сниженного КОИ «А»- индуцированного ответа лимфоцитов при ХНЗЛ [11], а при ревматическом процессе и ИБС указанная специфичность ассоциирует, соответственно, с низкой и высокой супрессирующей активностью Т-регуляторов. Присутствие в фенотипе больных HLA- B5 предопределяет при ИБС формирование высокого суммарного иммунорегуляторного индекса, в случаях же ХНЗЛ данная HLA- структура ассоциирует с повышенной мембранотоксической функцией ЕКК.

Такая очерченность одних и тех же HLA-генетических структур в детерминации конкретных вариантов иммунологических реакций в условиях развития, отличающихся по патогенезу и клинике патологических состояний человека, свидетельствует в пользу принадлежности найденных специфичностей к генному микроокружению, функционирование которого, по-видимому, и является предрасполагающим фактором, способствующим пенетрантности главных генов рассматриваемых заболеваний в виде соответствующего иммунопатологического или иммуномодулирующего синдрома и клиники болезни в целом.

Библиографический список

1. Александров Е.Н., Зимин Ю.И., Носов Е.Л. Антителозависимая и естественная клеточная цитотоксическая реакция при ревматических заболеваниях // Терапевтический архив. - 1984. - №10. - С. 130-136.
2. Афанасьев Ю.И. и др. HLA- генетические маркеры ревматического поражения миокарда у жителей отдельных регионов Зарафшанской долины: Тез. докл. I съезда ревматологов России. - М., 1993.
3. Афанасьев Ю.И. Иммунология заболеваний миокарда различного генеза у жителей аридной зоны: Дис. ... д-ра мед. наук. - М., 1993.
4. Афанасьев Ю.И. и др. HLA- ассоциированные иммунологические механизмы при ревматическом поражении миокарда // Терапевтический архив. - 1995. - №8. - С. 56 - 59.
5. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. - М.: Медицина, 1978. - С. 293.
6. Дмитриева Н.Г. HLA- генетический контроль активности естественных клеток-киллеров: Дис. ... канд. мед. наук. - М., 1989.
7. Максимов В.А. Миокардиты. - Л.: Медицина, 1979. - С. 235.
8. Палеев Н.Р., Одишкова В.А., Гуревич М.А., Найштедт Г.М. Миокардиты. - М., Медицина, 1982. - С. 268.
9. Рыкова М.П., Спиранде И.В., Зедгендзе М.С. и др. Новая высокочувствительная техника тестирования нормальных киллеров // Иммунология. - 1981. - №3. - С. 88-90.
10. Тананов А.Т. Теоретическое и практическое значение ассоциации HLA и болезнями // Гематология и трансфузиология. - 1984. - №2. - С. 53-57.
11. Хаитова Н.М. Роль HLA- генетического контроля в патогенезе хронических неспецифических заболеваний легких: Дис. ... д-ра мед. наук. - Киев, 1990.
12. Хаитов Р.М. и др. Антигены системы HLA у больных с сердечно-сосудистым заболеванием // Терапевтический архив. - 1990. - №8. - С. 70-73.
13. Шабалин В.Н., Серова Л.Д. Клиническая иммуногематология. - Л., Медицина, 1988. - С. 310.
14. Khaitova N.M., Afanasjev Yu.I., Kadyrova R.T. Relation ship of HLA- Genetic Factors to the Immunocompromised State in Chronic Bronchitis // Soviet Archives of IntenalMedicins. - 1991. Vol. 63. - N 1, -P. 58-60.
15. Shou L., Schwartz S.A., Good R.A. Supressor cell activity after conca-navalin A treatment hypmphocytes from normal donors // J. exp. Med. -1976. - Vol. 143. - P. 1100-1110.