

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СИСТЕМНОГО СКЛЕРОЗА

Ягур В.Е., Досин Ю.М., Достанко Н.Ю.

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь*

*УО «Белорусский государственный педагогический университет»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Введение. Системная склеродермия или, согласно Международной классификации болезней и причин смерти X пересмотра, прогрессирующий системный склероз (М34.0) – аутоиммунное системное поражение соединительной ткани (СПСТ), характеризующееся вазоспастическими сосудистыми реакциями с ишемическими нарушениями, генерализованной васкулопатией, активацией фиброобразования с избыточным отложением коллагена в коже, суставах, внутренних органах [1, 2].

Анализ литературных данных позволяет рассматривать системный склероз (СС) как мультифакториальное заболевание (МФЗ), в возникновении которого принимают участие генетические и внешнесредовые факторы, а наследственная предрасположенность к нему определяется совокупностью аддитивно взаимодействующих генов, т.е. она является полигенной [2, 3, 4].

Характерной особенностью МФЗ является наличие ассоциаций с рядом как качественных, так и количественных признаков, объединяемых понятием биологические маркеры (биомаркеры), среди которых различают генотипические, фенотипические (морфологические, физиологические, иммунологические, биохимические, клинические и экотипические [5].

При обследовании пациентов с СС русской национальности была обнаружена ассоциация заболевания с антигенами А10, В35 и С4 системы HLA, а также выявлена ассоциация антигена А10 с поражением легких по типу пневмофиброза, С4 – с выраженными сосудистыми нарушениями и хроническим течением процесса, В18 – с поражением почек [3].

Исследование иммуногенетических маркеров при СС в белорусской популяции может быть полезным как в плане выявления факторов риска/резистентности к данной патологии, так и биомар-

керов дифференциальной диагностики с другими СПСТ на ранней стадии процесса.

Цель исследования – поиск иммуногенетических маркеров риска/резистентности к СС в белорусской популяции, а также дифференциально-диагностических маркеров с системной красной волчанкой (СКВ) и ревматоидным артритом (РА) на ранней стадии заболевания.

Материал и методы. Для диагностики включенных в исследование РЗ заболеваний использовали следующие критерии: СС – критерии Американской ревматологической ассоциации (АРА) 1980 г., РА – критерии АРА 1987 г.; СКВ – критерии АРА 1982 г.

Группы крови по системе АВ0 определяли на плоскости с помощью стандартных гемагглютинирующих сывороток анти-0, анти-А, анти-В, анти-АВ (контроль). Резус-принадлежность определяли на чашках Петри двумя сериями стандартных моноспецифических сывороток анти-Rh0(D) соответствующих групп крови и универсальной сывороткой анти-Rh0(D) группы крови АВ (IV).

Определение фенотипов гаптоглобина (Hr₁₋₁, Hr₂₋₁, Hr₂₋₂) проводили с помощью вертикального диск-электрофореза в полиакриламидном геле. Идентификацию фенотипов гаптоглобина осуществляли путем окрашивания столбиков геля бензидином. Идентификацию специфичностей локусов А, В, С I класса системы HLA проводили в стандартном двухступенчатом комплементзависимом микролимфоцитотоксическом тесте по P.I. Terasaki и J.D. McClelland.

Статистический анализ данных проводили в программах «MS Excel» и «Statistica 6.0». Для сравнения частот качественных признаков в несвязанных группах применяли двусторонний точный метод Фишера (ТМФ, p_{2-t}). Для оценки точности диагностических (прогностических) тестов вычисляли следующие операционные характеристики: отношение шансов (OR), отношение правдоподобия положительного (LR^+) и отрицательного (LR^-) тестов [6].

Результаты исследования. Группы крови по системе АВ0. Частота встречаемости четырех групп крови по системе АВ0 изучена у 61 пациента с СС, 81 – с СКВ, 319 – с РА, 308 лиц контрольной группы (таблица 1). Статистически значимые различия в частоте встречаемости этих групп крови у женщин и мужчин с СС не выявлены. Также не установлены статистически значимые разли-

чия в частоте встречаемости эритроцитарных антигенов по системе АВ0 по параметрам объединенных групп при попарном сравнении пациентов с СС сравнительно с пациентами с СКВ и РА, а также с лицами контрольной группы.

Таблица 1. – Распределение групп крови системы АВ0 у пациентов с СС, СКВ, РА и в контроле

Группы сравнения	Пол	0(I)		A(II)		B(III)		AB(IV)	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Пациенты с СС, n=61; ♀=52, ♂=9	♀	10	19,2	28	53,8	12	23,1	2	3,8
	♂	1	11,1	3	33,3	5	55,6*	0	0,0
	♀+♂	11	18,0	31	50,8	17	27,9	2	3,3
Пациенты с СКВ, n=81; ♀=71, ♂=10	♀	21	29,6	30	42,3	17	23,9	3	4,2
	♂	3	30,0	4	40,0	3	30,0	0	0,0
	♀+♂	24	29,6	34	42,0	20	24,7	3	3,7
Пациенты с РА, n=319; ♀=262, ♂=57	♀	90	34,4	107	40,8	50	19,1	15	5,7
	♂	26	45,6	21	36,8	7	12,3*	3	5,3
	♀+♂	116	36,4	128	40,1	57	17,9	18	5,6
Контрольная группа, n=308; ♀=120, ♂=188	♀	42	35,0	45	37,5	23	19,2	10	8,3
	♂	61	32,5	72	38,3	40	21,3	15	8,0
	♀+♂	103	33,4	117	38,0	63	20,5	25	8,1

У мужчин с СС в 4,5 раза чаще, нежели у мужчин с РА, встречался фенотип B(III)⁺ – 55,6% и 12,3, соответственно (ТМФ, $p_{2-t}=0,0074$), поэтому фенотип B(III)⁺ имеет разграничительную ценность при проведении дифференциальной диагностики между мужчинами с подозрением на СС vs РА: OR=8,9, LR⁺=4,5, LR⁻=0,51. Наличие фенотипа B(III)⁺ повышает вероятность СС vs РА в 1,6 раза.

Эритроцитарный антиген Rh₀(D). Частота встречаемости Rh₀⁺ и Rh₀⁻ лиц изучена у 59 пациентов с СС, 81 – с СКВ, 319 – с РА, у 308 лиц контрольной группы (табл. 2). Статистически значимые различия в частоте встречаемости фенотипов Rh₀⁺ и Rh₀⁻ у женщин и мужчин с СС выявлены не были (табл. 2). Также не установлены статистически значимые различия в частоте встречаемости фенотипов Rh₀⁺ и Rh₀⁻ по параметрам объединенных групп при попарном сравнении пациентов с СС сравнительно с пациентами с СКВ и РА, а также с лицами контрольной группы.

Таблица 2. – Частота встречаемости эритроцитарного антигена Rh₀ системы Rhesusy пациентов с СС, СКВ, РА и в контроле

Группы сравнения	Пол	Rh ₀ ⁺		Rh ₀ ⁻	
		n	%	n	%
Пациенты с СС, n=59; ♀=50, ♂=9	♀	45	90,0	5	10,0
	♂	6	66,7	3	33,3
	♀+♂	51	86,4	8	13,6
Пациенты с СКВ, n=81; ♀=71, ♂=10	♀	57	80,3	14	19,7
	♂	8	80,0	2	20,0
	♀+♂	65	80,2	16	19,8
Пациенты с РА, n=319; ♀=262, ♂=57	♀	224	85,5	38	14,5
	♂	47	82,5	10	17,5
	♀+♂	271	85,0	48	15,0
Контрольная группа, n=308; ♀=120, ♂=188	♀	102	85,0	18	15,0
	♂	160	85,1	28	14,9
	♀+♂	262	85,1	46	14,9

Двумерный маркер «ABO+Rh₀» у пациентов с СС. При анализе частоты встречаемости 8 возможных фенотипов по этим группам крови статистически значимые различия между пациентами с СС сравнительно с пациентами с СКВ и РА, а также лицами контрольной группы выявлены не были.

Фенотипы гаптоглобина исследованы у 46 пациентов с СС, 46 – с СКВ, 198 – с РА (табл. 3). Для сравнения были использованы опубликованные данные исследования частоты встречаемости фенотипов гаптоглобина у лиц белорусской национальности [7].

Таблица 3. – Распределение фенотипов гаптоглобина у пациентов с СС, СКВ, РА и в контроле

Группы сравнения	Пол	Hr ₁₋₁		Hr ₂₋₁		Hr ₂₋₂	
		n	%	n	%	n	%
Пациенты с СС, n=46; ♀=35 ♂=11	♀	3	8,6	15	40,0	17	48,6
	♂	3	27,2	4	36,4	4	36,4
	♀+♂	6	13,0	19	41,3	21	45,7
Пациенты с СКВ, n=46; ♀=38 ♂=8	♀	7	18,4	18	47,4	13	34,2
	♂	0	0,0	4	50,0	4	50,0
	♀+♂	7	15,2	22	47,8	17	37,0
Пациенты с РА, n=198; ♀=160, ♂=38	♀	18	11,3	67	41,9	75	46,9
	♂	4	10,5	18	47,4	16	42,1
	♀+♂	22	11,1	85	42,9	91	46,0
Контроль, n=390	♀+♂	68	17,4	197	50,5	125	32,1

Статистически значимые различия в распределении фенотипов гаптоглобина между женщинами и мужчинами с СС не выявлены. Также не установлены статистически значимые различия в частоте встречаемости фенотипов гаптоглобина по параметрам объединенных групп при попарном сравнении пациентов с СС сравнительно с пациентами с СКВ и РА, а также с лицами контрольной группы.

Распределение специфичностей локусов А, В и С системы HLA у пациентов с СС

Локус А. Частота встречаемости 8 специфичностей локуса А системы HLA изучена у 68 пациентов с СС (52 женщин и 16 мужчин), 199 – с СКВ (182 женщин и 17 мужчин), 305 – с РА (260 женщин и 45 мужчин) и у 308 лиц контрольной группы (188 женщин и 120 мужчин). В результате проведенного анализа можно отметить лишь одно различие – условно выделяемая специфичность «Blank» встречалась статистически значимо чаще у пациентов с СС по сравнению с лицами контрольной группы – 33,8% и 17,2%, соответственно (ТМФ, $p_{2-t}=0,0041$). Гомозиготы по локусу А, вероятно, имеют больший риск заболеть СС по сравнению с гетерозиготами (OR=2,5).

Локус В. Частота встречаемости 16 специфичностей локуса В системы HLA изучена у 68 пациентов с СС, 199 – с СКВ, 305 – с РА и у 308 лиц контрольной группы. Антиген В12 встречался в 2 раза чаще у мужчин с СС сравнительно с мужчинами контрольной группы – 50,0% и 25,0%, соответственно (ТМФ, $p_{2-t}=0,0705$), что позволяет рассматривать антиген В12 в качестве возможного иммуногенетического маркера риска развития СС у мужчин белорусской популяции (OR=3,0). Кроме того, В12 более чем в 2 раза чаще встречался у мужчин с СС сравнительно с мужчинами с РА – 50,0% и 24,4, соответственно (ТМФ, $p_{2-t}=0,0384$).

Локус С. Частота встречаемости 8 специфичностей локуса С системы HLA изучена у 23 пациентов с СС (17 женщин, 6 мужчин), 79 – с СКВ (65 женщин, 5 мужчин), 109 – с РА (91 женщина, 18 мужчин) и у 308 лиц контрольной группы (188 женщин, 120 мужчин).

Статистически значимые различия в распределении антигенов локуса С между женщинами и мужчинами во всех сравниваемых

группах отсутствовали, поэтому для анализа различий между группами использовали объединенные выборки женщин и мужчин.

У пациентов с СС антиген С4 встречался в 2 раза чаще, чем в контроле – 52,2% и 26,0%, соответственно (ТМФ, $p_{2-t}=0,0135$): $OR=3,1$, $LR^+=2,0$, $LR^-=0,65$, что позволяет рассматривать антиген С4 в качестве иммуногенетического маркера риска развития СС у лиц белорусской популяции. Антиген С7, напротив, обладает протективным свойством в отношении развития СС: $OR=0,13$, $LR^+=0,20$, $LR^-=1,6$. Эти данные означают, что риск развития СС у лиц с фенотипом $C7^-$ в 4,9 раза меньше, чем у лиц с фенотипом $C7^+$.

Антиген С4 имеет определенное разграничительное значение между СС и РА, так как встречался в 52,2% и 19,3% случаев, соответственно (ТМФ, $p=0,0049$): $OR=4,6$, $LR^+=2,7$, $LR^-=0,59$. Антиген С7 был обнаружен у 41,3% пациентов с РА и у 8,7% пациентов с СС (ТМФ, $p_{2-t}=0,0033$): $OR=7,4$, $LR^+=4,7$, $LR^-=0,64$. Это означает, что наличие у пациента антигена С7 повышает вероятность предварительного диагноза РА vs СС в 1,6 раза.

Межлокусные фенотипы и гаплотипы по локусам А и В. Проанализирована частота встречаемости некоторых (с частотой более 5% в выборке СС) парных фенотипов по локусам А и В, а также их определяемые непрямым методом гаплотипы у пациентов с СС и РА. Частота фенотипов $A1^+/B8^+$, $A2^+/B5^+$, $A9^+/B18^+$, $A10^+/B18^+$ в выборке пациентов с СС превысила 5% и составила 5,9%, 10,3%, 8,8% и 7,4%. Частота аналогичных фенотипов среди пациентов с РА была 11,8%, 9,2%, 2,0% и 12,1%. Статистически значимые различия получены по фенотипу $A9^+/B18^+$ (ТМФ, $p=0,0437$): $OR=4,8$, $LR^+=4,5$, $LR^-=0,93$. Расчет частоты гаплотипа $A9|B18$ показал, что у пациентов с СС он определяется с частотой 38 (H_{1000}), у пациентов с РА – 2, в контрольной группе – 8. Дифференциально-диагностическая ценность гаплотипа $A9|B18$ по разграничению СС и РА, выраженная с помощью LR^+ , равна 19,0 (5,1-71,3). Гаплотип $A9|B18$ можно рассматривать также в качестве фактора риска развития СС ($OR=4,9$).

Выводы:

1. Факторами риска СС в белорусской популяции являются: гомозиготность по локусу А ($OR=2,5$); антиген В12 для мужчин ($OR=3,0$); антиген С4 для обоих полов ($OR=3,1$); гаплотип $A9|B18$ ($OR=4,9$) для обоих полов.

2. Фактором резистентности к СС в белорусской популяции является антиген С7 (OR=0,13 или OR=-7,7) – риск развития СС у лиц с фенотипом С7⁻ в 4,9 раза меньше, чем у лиц с фенотипом С7⁺.

3. Для проведения дифференциальной диагностики между СС и РА на ранней стадии процесса можно использовать следующие иммуногенетические маркеры: третью группу крови для мужчин – наличие фенотипа В(III)⁺ повышает вероятность СС vs РА в 1,6 раза; антиген С4 (OR=4,6); фенотип А9⁺/В18⁺ (OR=4,8); антиген С7 повышает вероятность предварительного диагноза РА vs СС в 1,6 раза.

4. Исследованные иммуногенетические маркеры не могут быть использованы для разграничения СС и СКВ на ранней стадии процесса.

Литература

1. Гусева, Н.Г. Системная склеродермия: ранняя диагностика и прогноз / Н.Г. Гусева // Научно-практическая ревматология. – 2007. – № 1. – С. 39-44.
2. Ревматология: национальное руководство / Под ред. Е.Л. Насонова, В.А. Насоновой. – М.: ГЕОТАР-Медиа, 2008. – 720 с.
3. Клиническая ревматология: руководство для врачей / под общей ред. В.И. Мазурова. – СПб: Фолиант, 2005. – 520 с.
4. Ревматические заболевания: В 3 т. Т. I. Основы ревматологии: [руководство] / под ред. Дж.Х. Клиппела, Дж.Х. Стоуна, Л.Дж. Кроффорд, П.Х. Уайт; пер. с англ. под ред. Е.Л. Насонова, В.А. Насоновой, Ю.А. Олюнина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 368 с.
5. Ростовцев, В.Н. Генетика и диагноз / В.Н. Ростовцев. – Минск: Изд-во «Университетское», 1986. – 190 с.
6. Халафян, А.А. Statistica 6. Статистический анализ данных: учебник / А.А. Халафян. – М.: Бином-Пресс, 2008. – 512 с.
7. Саливон, И.И. Очерки антропологии Белоруссии / И.И. Саливон, Л.И. Тегако, А.И. Микулич. – Минск: Наука и техника, 1976. – 272 с.