

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2019-23(4)-07

УДК: 616.127-005.8-004:616-092.19:611.018.54:616-005.6

РІВНІ ТОЛ-ПОДІБНИХ РЕЦЕПТОРІВ 2 ТА 4 В СИРОВАТЦІ КРОВІ У ЧОЛОВІКІВ З ПІСЛЯІНФАРКТНИМ КАРДІОСКЛЕРОЗОМ: ЗВ'ЯЗОК З КОМПОНЕНТАМИ АНТИФОСФОЛІПІДНОГО СИНДРОМУ

Назарова М.С., Станіславчук М.А., Бурдейна Л.В.

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

Відповідальний за листування:
e-mail: mburdeyna@gmail.com

Статтю отримано 29 серпня 2019 р.; прийнято до друку 07 жовтня 2019 р.

Анотація. Спостерігається тенденція до підвищення частоти ішемічної хвороби серця (ІХС) серед осіб молодого віку, з розвитком гострого інфаркту міокарду (ІМ) за відсутності вираженого атеросклерозу та обструкції коронарних артерій. У якості чинників необструктивного ушкодження коронарних судин розглядають антифосфоліпідний синдром (АФС), клітинні та гуморальні медіатори імунізапальної активації ендотелію. До нових тригерних чинників дисфункції ендотелію, кардіального фіброзу та гіпертрофії міокарду відносять тол-подібні рецептори (TLR2 та TLR4). Ендогенними активаторами тол-подібних рецепторів можуть виступати антифосфоліпідні антитіла. Дослідження зв'язку між компонентами АФС та експресією тол-подібних рецепторів у хворих на ІХС з післяінфарктним кардіосклерозом залишається актуальним. Мета роботи - оцінити зв'язок рівнів TLR2 та TLR4 у сироватці крові з компонентами АФС у чоловіків з післяінфарктним кардіосклерозом. Обстежено 164 хворих на стабільну ішемічну хворобу серця (ІХС) з післяінфарктним кардіосклерозом (100% чоловіки, віком $53,0 \pm 9,14$ років) та 48 чоловіків групи контролю (без ІХС). Рівні сумарних антифосфоліпідних антитіл (аФЛ), антитіл до $\beta 2$ -глікопротеїну 1 (анти- $\beta 2$ -ГП 1) класів IgG та IgM, TLR2, TLR4 в сироватці крові визначали методом ELISA. Дослідження проведені із дотриманням біоетичних норм. Статистичну обробку результатів проводили у пакеті SPSS Statistics 22.0. Встановлено, що у чоловіків з післяінфарктним кардіосклерозом виявлялись більш високі рівні TLR2 та TLR4 (в 1,8-2,2 рази, $p < 0,001$) в сироватці крові, ніж у групи контролю. Більш високі (в 1,2-1,4 рази) рівні TLR2 та TLR4 виявлялись у пацієнтів, які перенесли Q-інфаркт міокарду, повторні ІМ та мали судинні прояви АФС (інсульт, транзиторні ішемічні атаки, ліведро). Підвищення рівнів TLR2 та TLR4 тісно асоціювалось зі збільшенням рівнів аФЛ та анти- $\beta 2$ -ГП 1 класу IgG ($r = |0,31-0,51|$, $p < 0,01$). Таким чином, у чоловіків з післяінфарктним кардіосклерозом за умов позитивності за аФЛ та анти- $\beta 2$ -ГП 1 класу IgG формується несприятливий імунізапальний патерн, що характеризується підвищенням експресії циркулюючих TLR2 та TLR4. Дисбаланс в системі TLR2 та TLR4 є більш виразним у хворих на ІХС молодого віку і асоціюється з Q-інфарктами та повторними інфарктами.

Ключові слова: ішемічна хвороба серця, тол-подібні рецептори, антифосфоліпідний синдром.

Вступ

В останні роки спостерігається тенденція до підвищення захворюваності на ішемічну хворобу серця (ІХС) осіб молодого віку, з розвитком гострого інфаркту міокарду (ІМ) за відсутності вираженого атеросклерозу та обструкції коронарних артерій. ІМ без обструкції коронарних артерій частіше реєструється серед осіб чоловічої статі, осіб з ожирінням, курців та з сімейним анамнезом ІМ [18].

В якості чинників необструктивного ушкодження коронарних судин розглядають спадкову тромбофілію та антифосфоліпідний синдром [18], дисбаланс клітинних та гуморальних чинників імунізапальної активації ендотелію, зокрема порушення нейтрофільно-лімфоцитарних, лімфоцитарно-моноцитарних співвідношень [2, 3], зростання рівнів прозапальних цитокінів та ядерно-транскрипційних факторів [6, 22]. До нових тригерних чинників дисфункції ендотелію [18], кардіального фіброзу та гіпертрофії міокарду [20, 21] відносять активацію тол-подібних рецепторів. Ендогенними активаторами тол-подібних рецепторів виступають аутоантитіла до фосфоліпідів [10, 13]. Нещодавно було виявлено асоціацію між стенозом коронарних артерій та рівнем тол-подібних рецепторів 2/4 типів (TLR2/4) в сироватці крові

у хворих на ІХС [7]. Тому дослідження зв'язку між АФС та системою тол-подібних рецепторів у пацієнтів з різними формами ІХС набуває все більшої актуальності

Мета роботи - оцінити зв'язок рівнів TLR2 та TLR4 в сироватці крові з компонентами антифосфоліпідного синдрому (АФС) у чоловіків з післяінфарктним кардіосклерозом.

Матеріали та методи

Обстежено 164 чоловіки, хворих на стабільну ІХС з післяінфарктним кардіосклерозом, середнім віком $53,0 \pm 9,14$ років та загальною тривалістю захворювання 42,0 (14-99) місяці. Усі хворі перебували на лікуванні в кардіологічному та поліклінічному відділеннях Вінницької обласної клінічної лікарні ім. М.І. Пирогова у 2013-2018 рр. Дослідження було проведено із дотриманням біотичних норм згідно Гельсінської декларації "Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження", затвердженою 18-ою Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (Гельсінкі, 1964) із подальшими переглядами, Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1977), відповідним положенням ВООЗ.

Діагноз стабільної ІХС з післяінфарктним кардіосклерозом встановлювали за рекомендаціями АНА/АСС (2014) та ESC (2013). Верифікацію компонентів АФС у хворих на ІХС здійснювали згідно з діагностичними критеріями Sapporo (2006) [9] та останніми рекомендаціями EULAR-2019 [19].

Критерії включення хворих у дослідження були наступні: чоловіча стать; вік > 25 років; верифікований діагноз стабільної ІХС; верифікований післяінфарктний кардіосклероз; тривалість захворювання від 3-х та більше місяців після останнього ІМ; згода пацієнта взяти участь у дослідженні. Критеріями виключення були: жіноча стать, гострий коронарний синдром, нестабільна стенокардія, неконтрольована артеріальна гіпертензія, гемодинамічно нестабільні аритмії, цукровий діабет 1 та 2 типу, важкі та некомпенсовані стани.

Дослідження було проведено за принципом випадок-контроль. У дослідження увійшло 123 (75%) пацієнти, які перенесли 1-й Q-ІМ та 41 (25%) пацієнти, які перенесли не Q-ІМ, в тому числі у 17 (10,4%) пацієнтів були повторні ІМ. Коморбідні стани виявлялись у 143 (87,2 %) пацієнтів, серед яких найбільш часто виявлялись артеріальна гіпертензія (85,4%) та абдомінальне ожиріння (50,6%). Серед хворих на ІХС 13 (7,9%) осіб перенесли інсульт чи транзиторну ішемічну атаку, а у 7 (4,3%) осіб виявлено сітчасте ліведо. У 93 (56,7%) хворих, виявлялись позитивні рівні сумарних антифосфоліпідних антитіл (аФЛ) та антитіл до β 2-глікопротеїну 1 (анти- β 2-ГП 1) класу IgG, в тому числі у 58 (35,4%) осіб виявлялись низькопозитивні рівні та у 35 (21,3%) середньопозитивні рівні одного або обох видів антитіл. Хворі на ІХС залежно від лабораторних складових АФС розподілили на 4 групи: група 1 включала 71 пацієнта з негативними результатами за двома видами антитіл класу IgG (аФЛ та анти- β 2-ГП 1); група 2 - 58 пацієнтів з низькопозитивними результатами за аФЛ та/або анти- β 2-ГП 1 класу IgG; група 3 - 24 пацієнти з середньопозитивними результатами за одним видом антитіл (аФЛ або анти- β 2-ГП 1) класу IgG; група 4 - 11 пацієнтів з середньопозитивними рівнями обох антитіл (аФЛ + анти- β 2-ГП 1) класу IgG.

Група порівняння складалась з 48 чоловіків віком $52,1 \pm 8,69$ років, які відповідали за клініко-демографічними параметрами основній групі, при цьому не мали в анамнезі ІХС, ІМ, цереброваскулярних захворювань, тромбозів, клінічних маніфестацій АФС. У 29,2% осіб групи контролю виявлялись низько позитивні рівні одного з видів антитіл до фосфоліпідів класу IgG. Позитивні рівні аФЛ та анти- β 2-ГП1 класу IgM були виявлені у 11,6% хворих та 6,2% осіб групи порівняння ($p=0,55$).

Кров для досліджень отримували в стандартних умовах, вранці натщесерце. Визначення сумарних аФЛ (до кардіоліпіну, фосфатидилсерину, фосфатидилінозитолу) класів IgG та IgM проводилось методом ELISA за набором Anti-Phospholipid Screen IgG/ IgM (Orgentec Diagnostika GmbH, Німеччина). Результати інтерпретували наступним чином: негативний результат (нормаль-

ний рівень) - аФЛ < 10 Од/мл, позитивний результат - ≥ 10 Од/мл. Рівні аФЛ вище 40 Од/мл вважали високо позитивними, 20-40 Од/мл - середньо позитивними, 10-20 Од/мл - низько позитивними. Рівні анти- β 2-ГП1 класів IgG та IgM визначали методом ELISA за набором Aeskulisa β 2-Glyco-GM (AESKU diagnostics, Німеччина, lot 18200). Результати інтерпретували наступним чином: негативний результат (нормальний рівень) - < 12 Од/мл, низько позитивний - 12-18 Од/мл, позитивний - > 18 Од/мл, у тому числі середньо позитивний - 18-40 Од/мл, високо позитивний - вище 40 Од/мл.

Рівні TLR2 та TLR4 в сироватці крові визначали імуноферментним методом за наборами Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Toll Like Receptor 2 (TLR2) (SEA663Hu, Cloud-Clone Corp.) та Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Toll Like Receptor 4 (TLR4) (SEA753Hu, Cloud-Clone Corp.) відповідно до інструкції фірми-виробника.

Статистичну обробку проводили за допомогою SPSS Statistics 22.0. Для оцінки різниці між групами за нормального розподілу використовували t-критерій Ст'юдента, а при розподілі, що відрізнявся від нормального - U критерії Манна-Уїтні. Нормальність розподілу перевіряли за критерієм Колмогорова-Смірнова та Шапіро-Уїлка. Для визначення зв'язків між показниками застосовували кореляційний аналіз за Пірсоном, при порівнянні частоти змін користувались точним методом Фішера. Оцінювали відношення шансів (ВШ), довірчі інтервали (95 % ДІ). Достовірно вважали різницю при $p < 0,05$.

Результати

Як свідчать результати наших досліджень (табл. 1) в групі порівняння рівень TLR2 в сироватці крові коливався від 0,02 до 0,38 нг/мл (95 % ДІ) і в середньому становив $0,21 \pm 0,10$ нг/мл. Відповідно до персентильного розподілу, рівні TLR2 менші 75-го персентилля (< 0,28 нг/мл) вважали нормальними, з 75 го по 95-й персентиль (0,28-0,38 нг/мл) - високими нормальними, вищі 95-го персентилля (> 0,38 нг/мл) - високими. Рівень TLR4 коливався в межах 0,01-0,55 нг/мл (95 % ДІ) і в середньому становив $0,32 \pm 0,16$ нг/мл. Відповідно до персентильного розподілу, рівні TLR4 менші 75-го персентилля (< 0,42 нг/мл) вважали нормальними, з 75 го по 95-й персентиль (0,42-0,55 нг/мл) - високими нормальними, вищі 95-го персентилля (> 0,55 нг/мл) - високими.

У хворих на ІХС середні рівні TLR2 та TLR4 виявились достовірно вищими в 2,2 та 1,8 рази, ніж в групі порівняння. Крім того, серед хворих на ІХС частки осіб з нормальними рівнями TLR2 та TLR4 були достовірно меншими (в 3,7 та 3,4 рази), а частки осіб з високими рівнями цих рецепторів - вищими (в 9,5 та 6,3 рази), ніж в групі порівняння. У хворих на ІХС спостерігався дисбаланс в системі тол-подібних рецепторів, про що свідчить вище (в 1,33 рази) відношення TLR2 / TLR4, ніж в групі порівняння.

Таблиця 1. Рівні TLR2 та TLR4 в сироватці крові у чоловіків, хворих на ІХС з післяінфарктним кардіосклерозом, та в групі порівняння.

Показник		Група порівняння, n=48	Хворі на ІХС, n=164	p
Рівень TLR2, нг/мл	M±σ	0,21 0,10	0,46 0,17	<0,001
	< 0,28, n (%)	35 (72,9 %)	32 (19,5 %)	<0,001
	0,28 - 0,38, n (%)	10 (20,8 %)	34 (20,7 %)	> 0,5
	> 0,38 (високий), n (%)	3 (6,3 %)	98 (59,8 %)	<0,001
Рівень TLR4, нг/мл	M±σ	0,32 0,16	0,58 0,21	<0,001
	< 0,42, n (%)	36 (75,0 %)	36 (22,0 %)	<0,001
	0,42 - 0,55, n (%)	8 (16,7 %)	42 (25,6 %)	> 0,5
	> 0,55 (високий), n (%)	4 (8,3 %)	86 (52,4 %)	<0,001
TLR2 / TLR4 (M±σ)		0,63 0,24	0,84 0,46	<0,01

Таблиця 2. Рівні TLR2 та TLR4 у хворих на ІХС із післяінфарктним кардіосклерозом залежно від складових АФС.

Характеристика	Розподіл хворих залежно від складових АФС				p
	Група 1, n=71	Група 2, n=58	Група 3, n=24	Група 4, n=11	
TLR2, нг/мл (M±σ)	0,39±0,14	0,48±0,15	0,54±0,19	0,62±0,23	p _{1,2} < 0,05 p _{1,3} < 0,001 p _{1,4} < 0,001
Високий рівень TLR2, n (%)	32 (45,1 %)	40 (69,0 %)	17 (66,7 %)	9 (72,7 %)	p _{1,2} < 0,01 p _{1,3} < 0,05 p _{1,4} < 0,05
TLR4, нг/мл (M±σ)	0,52±0,17	0,57±0,16	0,67±0,30	0,75±0,26	p _{1,2} > 0,05 p _{1,3} < 0,05 p _{1,4} < 0,05
Високий рівень TLR4, n (%)	32 (45,1 %)	33 (56,9 %)	14 (58,3 %)	7 (63,7 %)	p _{1,2} > 0,05 p _{1,3} > 0,05 p _{1,4} > 0,01
TLR2 / TLR4	0,75±0,13	0,84±0,14	0,95±0,44	0,92±0,30	p _{1,2} < 0,01 p _{1,3} < 0,001 p _{1,4} < 0,001

Примітки: група 1 - негативні (нормальні) рівні аФЛ та анти-β2-ГП1 класу IgG; група 2 - низькопозитивні рівні аФЛ та/або анти-β2-ГП1; група 3 - середньопозитивні рівні аФЛ або анти-β2-ГП1; група 4 - середньопозитивні рівні аФЛ та анти-β2-ГП1.

Аналіз рівнів TLR2 та TLR4 у хворих на ІХС залежно від лабораторних складових АФС засвідчив певні особливості (табл. 2). Виявилось, що у пацієнтів з позитивними рівнями аФЛ та анти-β2-ГП1 виявляються більш високі рівні TLR2, ніж у хворих з негативними рівнями антитіл: в групах 2, 3 та 4 цей показник був достовірно вищим (в 1,23, 1,38 та 1,59 рази), ніж у пацієнтів групи 1. Аналогічна закономірність виявлена і при аналізі рівня TLR4, який в групах 4 та 3 був достовірно вищим (в 1,44 та 1,29 рази), ніж в групі 1. В групах пацієнтів з позитивними рівнями аФЛ та анти-β2-ГП1 достовірно частіше виявлялись особи з високими рівнями TLR2 і спостерігалась стійка тенденція до підвищення частки осіб з високими рівнями TLR4. Аналіз співвідношення TLR2 /

TLR4 в групах хворих на ІХС засвідчив достовірні відмінності між хворими з негативними та позитивними рівнями аФЛ та анти-β2-ГП1 класу IgG: в групах 2, 3 та 4 цей показник був достовірно вищим в 1,12, 1,27 та 1,23 рази, ніж в групі 1.

Кореляційний аналіз підтвердив наявність достовірних прямих зв'язків між рівнями тол-подібних рецепторів та рівнями антифосфоліпідних антитіл. Слід відзначити, що зв'язки рівнів TLR2 та TLR4 з рівнем анти-β2-ГП1 класу IgG були більшої сили (r = 0,51 та 0,36, p<0,001), ніж з рівнем сумарних аФЛ класу IgG (r = 0,31 та 0,24, p<0,01). Між рівнями TLR2 та TLR4 виявлявся сильний прямий зв'язок (r=0,72, p<0,0001). Отже, зі збільшенням рівнів аФЛ та анти-β2-ГП1 класу IgG у хворих на ІХС поглиблювався дисбаланс рівнів циркулюючих в крові TLR2 та TLR4, що може впливати на перебіг післяінфарктного періоду.

Аналіз рівнів TLR2 та TLR4 чоловіків з післяінфарктним кардіосклерозом залежно від клініко-демографічних характеристик висвітлює певні особливості (табл. 3). Слід відзначити, що вищі (на 15-25%) рівні TLR2 та TLR4 виявлялись у пацієнтів молодого віку (до 44 років) та пацієнтів, які перенесли ІМ у віці до 44 років. Найбільш суттєві відмінності за рівнями TLR2 та TLR4 виявлялись залежно від таких клінічних характеристик як варіант та

Таблиця 3. Рівень TLR2 та TLR4 у хворих на ІХС з післяінфарктним кардіосклерозом залежно клініко-демографічних характеристик.

Характеристика		TLR2, нг/мл (M±σ)	TLR4, нг/мл (M±σ)
Вік	< 44 років (n = 21)	0,55±0,20	0,65±0,30
	≥ 44 років (n = 143)	0,44±0,16*	0,57±0,19
Тривалість ІХС, роки	< 2 років (n = 51)	0,46±0,18	0,56±0,22
	2-5 років (n = 56)	0,45±0,15	0,57±0,20
	> 5 років (n = 57)	0,47±0,19	0,60±0,20
Вік, в якому виник 1-й ІМ	< 44 років (n = 41)	0,51±0,21	0,66±0,28
	≥ 44 років (n = 123)	0,44±0,15*	0,55 ±,17*
Варіант 1-го ІМ	Q-ІМ (n = 123)	0,49±0,17	0,61±0,21
	Не Q-ІМ (n = 41)	0,37±0,13***	0,48±0,18**
Кількість ІМ	Один ІМ (n = 147)	0,45±0,16	0,57±0,20
	Повторні ІМ (n = 17)	0,58±0,24*	0,63±0,25
Судинна коморбідність	без ЦВЗ та ліведо (n = 147)	0,44±0,17	0,57±0,21
	з ЦВЗ + ліведо (n = 17)	0,58±0,15**	0,62±0,18
Індекс маси тіла	< 30 кг/м ² (n = 81)	0,44±0,15	0,57±0,19
	≥ 30 кг/м ² (n = 83)	0,48±0,19	0,59±0,22
Тютюнопаління	Ніколи не палили (n=19)	0,41±0,14	0,52±0,15
	Активні курці (n=67)	0,47±0,17	0,58±0,21
	Екс-курці (n=78)	0,47±0,18	0,59±0,22

Примітки: * - p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001; ЦВЗ - цереброваскулярні захворювання.

Таблиця 4. Шансові відношення щодо ІМ у чоловіків з ІХС з післяінфарктним кардіосклерозом залежно від рівнів TLR2 та TLR4.

Показники		Відношення шансів, ВШ (95% ДІ)		p ₁	p ₂
		Q-ІМ	повторний ІМ		
TLR2	варіант норми	1	1	0,009	0,041
	високі рівні	2,68 (1,31 - 5,50)	3,05 (0,99 - 9,38)		
TLR4	варіант норми	1	1	0,011	0,99
	високі рівні	2,67 (1,29-5,54)	1,02 (0,38-2,71)		

Примітки: p₁ - достовірність щодо "Q-ІМ"; p₂ - "повторний ІМ".

кількість перенесених ІМ, наявність ймовірних судинних маніфестацій АФС (цереброваскулярної патології - ішемічні інсульти, транзиторні ішемічні атаки та/або сітчастого ліведо). Зокрема, у хворих, які перенесли Q-ІМ, рівні TLR2 та TLR4 були вищими на 32,4% та 27,1% (p<0,01), ніж у хворих, які перенесли не Q-ІМ. Більш високі рівні TLR2 виявлялись у пацієнтів, які перенесли повторні ІМ (на 28,9%, p<0,05) або мали судинні прояви АФС (на 31,8%, p<0,01), а рівень TLR4 виявляв тенденцію до зростання.

При аналізі відношення TLR2 / TLR4 достовірні відмінності були виявлені лише залежно від варіанту та кількості перенесених ІМ. Так, у пацієнтів з Q-ІМ відношення TLR2 / TLR4 було достовірно вищим на 14,5%, ніж у пацієнтів з не Q-ІМ (0,86 0,33 проти 0,75 0,18, p<0,05), а у пацієнтів з повторним ІМ - на 18,9% вищим, ніж у пацієнтів з одним ІМ (0,94 0,25 проти 0,79 0,18, p<0,05).

Аналіз шансових відношень підтвердив, що у чоловіків з післяінфарктним кардіосклерозом підвищення експресії циркулюючих TLR2 та TLR4 асоціюється достовірно асоціюється з перенесеним Q-ІМ (ВШ 2,68 та 2,67, p≤0,01) (табл. 4). Повторні ІМ більш сильно асоціюються з високими рівнями TLR2 (ВШ 3,05; p<0,05), ніж з рівнями TLR4.

Обговорення

Таким чином, у хворих на ІХС виявляється підвищення експресії циркулюючих TLR2 та TLR4, що асоціюється з позитивністю за сумарними аФЛ та анти-β2-ГП1 класу IgG. Існують дані, що β2-глікопротеїн 1 може взаємодіяти з TLR4, які розташовані на ендотеліальних клітинах [8], а TLR4 безпосередньо залучені до реалі-

зації протромбогенного та ендотеліпошкоджуючого потенціалу анти-β2-ГП1 [4, 14]. За умов первинного АФС підвищення експресії TLR2 / TLR4 в моноцитах асоціювалось з ендотеліальною дисфункцією, підвищенням рівнів прозапальних та протромботичних медіаторів (ФНП-α, тканинного фактору), але вказаний ефект зникав за умов нокауту генів TLR2 та TLR4 [1]. За даними Satta N. та ін. (2011), введення аФЛ, отриманих у хворих з первинним АФС, в культури ендотеліальних та ембріональних клітин викликає підвищення експресії TLR2 і не впливає на експресію TLR4 [17]. аФЛ та анти-β2-ГП1 підвищують експресію прозапальних медіаторів (MCP-1, ICAM-1, інтерлейкіну-6) в культурі ембріональних фібробластів із нокаутом гену TLR4, але не впливають на фібробласти із нокаутом гену TLR2 [16].

TLR2 здатні індукувати запальну реакцію в ендотелії коронарних судин [23] знижувати життєздатність ендотеліоцитів, посилювати мобілізацію нейтрофілів, підвищувати вміст міофібробластів в атеросклеротичних бляшках, викликати їх ерозуювання [5, 11, 12].

Таким чином, експериментальні дослідження засвідчують певні відмінності щодо зв'язку TLR2 та TLR4 з компонентами АФС, що відмічалось і у нашому дослідженні. Підвищення експресії TLR2 та TLR4 асоціюється з позитивністю за аФЛ та анти-β2-ГП1 класів IgG, що свідчить про глибокі зміни в імунорегуляторних процесах у чоловіків з післяінфарктним кардіосклерозом і може суттєво погіршувати функціональний стан серцево-судинної системи у подальшому.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. У чоловіків з післяінфарктним кардіосклерозом за умов позитивності за аФЛ та анти-β2-ГП1 класу IgG формується несприятливий імунзапальний патерн, що характеризується підвищенням експресії циркулюючих TLR2 та TLR4. У хворих на ІХС поглиблення дисбалансу в системі TLR2 та TLR4 асоціюється з Q-інфарктом та повторними інфарктами, і є більш виразним у осіб молодого віку. Підвищення експресії TLR2 та TLR4 може бути потенційним чинником модифікації післяінфарктного ремоделювання серця та судин у чоловіків з ІХС.

Отримані результати стимулюють до подальшого розгляду експресії TLR2 та TLR4, як потенційних чинників модифікації післяінфарктного ремоделювання серця та судин у чоловіків з ІХС.

Список посилань - References

- Benhamou, Y., Bellien, J., Armengol, G., Brakenhielm, E., Adriouch, S., Iacob, M., ... Joannides, R. (2014). Role of Toll-like receptors 2 and 4 in mediating endothelial dysfunction and arterial remodeling in primary arterial antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheumatol.*, 66(11), 3210-3220. doi: 10.1002/art.38785.
- Caimi, G., Montana, M., Andolina, G., Hopps, E., & Lo Presti, R. (2019). Plasma Viscosity and NLR in Young Subjects with Myocardial Infarction: Evaluation at the Initial Stage and at 3 and 12 Months. *Clin. Med. Insights Cardiol.*, 13, 1179546819849428. doi: 10.1177/1179546819849428.
- Chen, H., Li, M., Liu, L., Dang, X., Zhu, D., & Tian, G. (2019). Monocyte/lymphocyte ratio is related to the severity of coronary artery disease and clinical outcome in patients with non-ST-elevation myocardial infarction. *Medicine*, 98(26), 1-10. doi: 10.1097/MD.00000000000016267.
- Colasanti, T., Alessandri, C., Capozzi, A., Sorice, M., Delunardo, F., Longo, A., ... Margutti, P. (2012). Autoantibodies specific to a peptide of β2-glycoprotein I cross-react with TLR4, inducing a proinflammatory phenotype in endothelial cells and

- monocytes. *Blood*, 120(16), 3360-3370. doi: 10.1182/blood-2011-09-378851.
5. Franck, G., Mawson, T., Sausen, G., Salinas, M., Masson, G. S., Cole, A., ... Libby, P. (2017). Flow Perturbation Mediates Neutrophil Recruitment and Potentiates Endothelial Injury via TLR2 in Mice: Implications for Superficial Erosion. *Circ. Res.*, 121(1), 31-42. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.310694.
 6. Hjort, M., Eggert, K. M., Lindhagen, L., Agewall, S., Brolin, E. B., Collste, O., ... Lindahl, B. (2019). Increased Inflammatory Activity in Patients 3 Months after Myocardial Infarction with Nonobstructive Coronary Arteries. *Clin. Chem.*, 65(8), 1023-1030. doi: 10.1373/clinchem.2018.301085.
 7. Huang, Z., Liu, Y., Liang, L., Liu, W., Sooranna, S. R., Mo, J., ... Guo, J. (2019). Correlation between coronary stenosis and Toll-like receptors 2 and 4 levels in Chinese Zhuang patients with coronary heart disease. *Exp. Ther. Med.*, 18(3), 2346-2352. doi: 10.3892/etm.2019.7805.
 8. Meroni, P. L., Raschi, E., Testoni, C., Parisio, A., & Borghi, M. O. (2004). Innate immunity in the antiphospholipid syndrome: role of toll-like receptors in endothelial cell activation by antiphospholipid antibodies. *Autoimmun. Rev.*, 3(7-8), 510-515. DOI: 10.1016/j.autrev.2004.07.007.
 9. Miyakis, S., Lockshin, M. D., Atsumi, T., Branch, D. W., Brey, R. L., Cervera, R., ... Krilis, S. A. (2006) International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J. Thromb. Haemost.*, 4(2), 295-306. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2006.01753.x.
 10. Pierangeli, S. S., Vega-Ostertag, M. E., Raschi, E., Liu, X., Romay-Penabad, Z., De Micheli, V., ... Meroni, P. L. (2007) Toll-like receptor and antiphospholipid mediated thrombosis: in vivo studies. *Ann. Rheum. Dis.*, 66(10), 1327-1333. DOI: 10.1136/ard.2006.065037.
 11. Quillard, T., Araujo, H. A., Franck, G., Shvartz, E., Sukhova, G., & Libby, P. (2015). TLR2 and neutrophils potentiate endothelial stress, apoptosis and detachment: implications for superficial erosion. *Eur. Heart J.*, 36(22), 1394-1404. doi: 10.1093/eurheartj/ehv044.
 12. Quillard, T., Franck, G., Mawson, T., Folco, E., & Libby, P. (2017). Mechanisms of erosion of atherosclerotic plaques. *Curr. Opin. Lipidol.*, 28(5), 434-441. doi: 10.1097/MOL.0000000000000440.
 13. Raschi, E., Borghi, M. O., Grossi, C., Brogini, V., Pierangeli, S., & Meroni, P. L. (2008). Toll-like receptors: another player in the pathogenesis of the anti-phospholipid syndrome. *Lupus*, 17(10), 938-943. doi: 10.1177/0961203308095140.
 14. Raschi, E., Testoni, C., Bosio, D., Borghi, M. O., Koike, T., Mantovani, A., & Meroni, P. L. (2003). Role of the MyD88 transduction signaling pathway in endothelial activation by antiphospholipid antibodies. *Blood*, 101(9), 3495-3500. DOI: 10.1182/blood-2002-08-2349.
 15. Salvador, B., Arranz, A., Francisco, S., Cordoba, L., Punzon, C., Llamas, M. A., & Fresno, M. (2016). Modulation of endothelial function by Toll like receptors. *Pharmacol. Res.*, 108, 46-56. doi: 10.1016/j.phrs.2016.03.038.
 16. Satta, N., Dunoyer-Geindre, S., Reber, G., Fish, R. J., Boehlen, F., Kruithof, E. K., & de Moerloose, P. (2007). The role of TLR2 in the inflammatory activation of mouse fibroblasts by human antiphospholipid antibodies. *Blood*, 109(4), 1507-1514. DOI: 10.1182/blood-2005-03-024463.
 17. Satta, N., Kruithof, E. K., Fickentscher, C., Dunoyer-Geindre, S., Boehlen, F., Reber, G., ... de Moerloose P. (2011). Toll-like receptor 2 mediates the activation of human monocytes and endothelial cells by antiphospholipid antibodies. *Blood*, 117(20), 5523-5531. doi: 10.1182/blood-2010-11-316158.
 18. Stepien, K., Nowak, K., Wypasek, E., Zalewski, J., & Undas, A. (2019). High prevalence of inherited thrombophilia and antiphospholipid syndrome in myocardial infarction with non-obstructive coronary arteries: Comparison with cryptogenic stroke. *Int. J. Card.*, 290, 1-6. doi: 10.1016/j.ijcard.2019.05.037.
 19. Tektonidou, M. G., Andreoli, L., Limper, M., Amoura, Z., Cervera, R., Costedoat-Chalumeau, N., ... Ward, M. M. (2019). EULAR recommendations for the management of antiphospholipid syndrome in adults. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 78(10), 1296-1304. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-215213.
 20. Timmers, L., Sluiter, J. P., van Keulen, J. K., Hoefer, I. E., Nederhoff, M. G., Goumans, M. J., ... de Kleijn, D. P. V. (2008). Toll-like receptor 4 mediates maladaptive left ventricular remodeling and impairs cardiac function after myocardial infarction. *Circ. Res.*, 102, 257-264. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.107.158220.
 21. Trentin-Sonoda, M., da Silva, R. C., Kmit, F. V., Abrahao, M. V., Monnerat Cahli, G., Brasil, G. V., ... Carneiro-Ramos, M. S. (2015). Knockout of Toll-Like Receptors 2 and 4 Prevents Renal Ischemia-Reperfusion-Induced Cardiac Hypertrophy in Mice. *PLoS One*, 10, 0139350. doi: 10.1371/journal.pone.0139350.
 22. Wang, H., Zhang, N., Li, G., & Xu, B. (2019). Proinflammatory cytokine IFN- γ , lncRNA BANC and the occurrence of coronary artery disease. *Life Sci.*, 231, 116510. doi: 10.1016/j.lfs.2019.05.066.
 23. Wang, Y., Chen, L., Tian, Z., Shen, X., Wang X., Wu H., ... Liang, J. (2018). CRISPR-Cas9 mediated gene knockout in human coronary artery endothelial cells reveals a pro-inflammatory role of TLR2. *Cell Biol Int.*, 42(2), 187-193. doi: 10.1002/cbin.10885.

УРОВНІ ТОЛ-ПОДІБНИХ РЕЦЕПТОРІВ 2 І 4 В СИВОРОТКЕ КРОВІ У МУЖЧИН С ПОСТІНФАРКТНИЙ КАРДІОСКЛЕРОЗ: СВ'ЯЗЬ С КОМПОНЕНТАМИ АНТИФОСФОЛІПІДНОГО СИНДРОМА

Назарова М.С., Станіславчук Н.А., Бурдейна Л.В.

Анотація. Наблюдается тенденция к повышению частоты ишемической болезни сердца (ИБС) среди лиц молодого возраста, с развитием острого инфаркта миокарда (ИМ) при отсутствии выраженного атеросклероза и обструкции коронарных артерий. В качестве факторов необструктивного повреждения коронарных сосудов рассматривают антифосфолипидный синдром (АФС), клеточные и гуморальные медиаторы аутоиммунной активации эндотелия. К новым триггерным факторам дисфункции эндотелия, кардиального фиброза и гипертрофии миокарда относят тол-подобные рецепторы (ТЛР2 и ТЛР4). Эндогенными активаторами тол-подобных рецепторов могут выступать антифосфолипидные антитела. Исследование связи между компонентами АФС и экспрессией тол-подобных рецепторов у больных ИБС с постинфарктным кардиосклерозом остается актуальным. Цель работы - оценить связь уровней TLR2 и TLR4 в сыворотке крови с компонентами АФС у мужчин с постинфарктным кардиосклерозом. Обследовано 164 больных со стабильной ИБС с постинфарктным кардиосклерозом (100% мужчины в возрасте 53,0±9,14 лет) и 48 мужчин группы контроля (без ИБС). Уровни суммарных антифосфолипидных антител (аФЛ), антител к β_2 -гликопротеину 1 (анти- β_2 -ГП 1) классов IgG и IgM, TLR2, TLR4 в сыворотке крови определяли методом ELISA. Исследования проведены с соблюдением биоэтических норм. Статистическую обработку результатов проводили в пакете SPSS Statistics 22.0. Установлено, что у мужчин с постинфарктным кардиосклерозом оказывались более высокие уровни TLR2 и TLR4 (в 1,8-2,2 раза, $p < 0,001$) в сыворотке крови, чем у группы контроля. Более высокие (в 1,2-1,4 раза) уровне TLR2 и TLR4 оказывались у пациентов, перенесших Q-

ИМ, повторные ИМ и имели сосудистые проявления АФС (инсульт, транзиторные ишемические атаки, livedo). Повышение уровней TLR2 и TLR4 тесно ассоциировалось с увеличением уровней аФЛ и анти-β2-ГП 1 класса IgG ($r = | 0,31-0,51 |$ $p < 0,01$). Таким образом, у мужчин с постинфарктным кардиосклерозом в при положительных аФЛ и анти-β2-ГП 1 класса IgG формируется неблагоприятный аутоиммунный паттерн, который характеризуется повышением экспрессии циркулирующих TLR2 и TLR4. Дисбаланс в системе TLR2 и TLR4 более выразительным у больных ИБС молодого возраста и ассоциируется с Q-ИМ и повторными ИМ.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, тол-подобные рецепторы, антифосфолипидный синдром.

LEVELS OF TOLL-LIKE RECEPTORS 2 AND 4 IN SERUM OF MEN WITH POSTINFARCTION CARDIOSCLEROSIS AND ITS RELATIONSHIP WITH ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME COMPONENTS

Nazarova M.S., Stanislavchuk M.A., Burdeina L.V.

Annotation. There is a tendency for an increase of incidence of coronary heart disease (CHD) among young people, with the development of acute myocardial infarction (MI) in the absence of marked atherosclerosis and obstruction of the coronary arteries. Antiphospholipid syndrome (APS), cellular and humoral mediators of immunoinflammatory activation of endothelium are considered as factors of non-obstructive damage to the coronary vessels. New trigger factors for endothelial dysfunction, cardiac fibrosis, and myocardial hypertrophy include toll-like receptors (TLR2 and TLR4). Antiphospholipid antibodies may act as endogenous activators of toll-like receptors. The study of the association between APS components and expression of toll-like receptors in patients with CHD with postinfarction cardiosclerosis remains relevant. The aim is to study the levels of TLR2 and TLR4 and its relationship with APS components in men with postinfarction cardiosclerosis. 164 patients with stable CHD with postinfarction cardiosclerosis (100% of men, age 53.0 ± 9.14 years) and 48 men of control group (without CHD) were examined. Levels of total antiphospholipid antibodies (aPL), antibodies to β2-glycoprotein 1 (anti-β2-GP 1) IgG and IgM, TLR2, TLR4 in serum were determined by ELISA. The studies were conducted in compliance with bioethical standards. Statistical processing of the results was performed in SPSS Statistics 22.0. Determined that men with postinfarction cardiosclerosis showed higher levels of TLR2 and TLR4 (in 1.8-2.2 times, $p < 0.001$) in serum than control group. Higher (in 1.2-1.4 times) levels of TLR2 and TLR4 were found in patients who underwent Q-MI, recurrent MI and had clinical manifestations of APS (stroke, transient ischemic attacks, livedo reticularis). An increase TLR2 and TLR4 levels was closely associated with an increase of aPL and anti-β2-GP 1 of IgG ($r = | 0.31 - 0.51 |$, $p < 0.01$). Thus, in men with postinfarction cardiosclerosis who had aPL and anti-β2-GP 1 IgG positivity had an unfavorable immunoinflammatory pattern, that characterized by increased expression of TLR2 and TLR4. The imbalance in TLR2 and TLR4 is more pronounced in young CHD patients and associated with Q-MI and recurrent MI.

Keywords: coronary heart disease, toll-like receptors, antiphospholipid syndrome.