

# Особенности иммунного статуса у больных с острым и хроническим диффузным миокардитом

В.Н. Коваленко, Е.Г. Несукай, Т.И. Гавриленко, С.В. Чернюк,  
Л.В. Якушко, Н.А. Рыжкова

Национальный научный центр «Институт кардиологии им. Н.Д. Стражеско» НАМН Украины, г. Киев

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** миокардит, иммунный статус, цитокины, антитела к миокарду

В настоящее время получены неоспоримые доказательства ведущей роли иммунопатологических реакций как патогенетической основы формирования воспалительного процесса в миокарде [3, 6]. В последние годы проведено большое количество исследований, результаты которых подтверждают важную роль антимиокардиальных антител, С-реактивного протеина (СРП), фактора некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), васкулярного эндотелиального фактора роста (ВЭФР),  $\gamma$ -интерферона ( $\gamma$ -ИФ), интерлейкина-2 (ИЛ-2) и других цитокинов в развитии систолической дисфункции сердца и сердечной недостаточности, обусловленных воспалением сердечной мышцы [2, 8, 9, 10, 17, 18].

Цель исследования – изучить показатели иммунного статуса у пациентов с острым и хроническим диффузным миокардитом.

## Материал и методы

Обследовано 67 пациентов, которые были разделены на две группы: 1-я – 32 больных с острым диффузным миокардитом (ОДМ), средний возраст – (35,2 $\pm$ 3,2) года; 2-я – 35 больных с хроническим диффузным миокардитом (ХДМ), средний возраст – (36,2 $\pm$ 2,9) года. Контрольная группа состояла из 20 сопоставимых по возрасту здоровых лиц.

Диагноз устанавливали с использованием современных стандартов диагностики миокардитов на основании данных анамнеза заболевания, клинико-лабораторных и инструментальных методов исследования [4, 5, 13].

Материалом для иммунологических исследований служила периферическая кровь, которую брали натощак. Определяли:

– количество лимфоцитов периферической крови с антигенными детерминантами CD3+ (Т-лимфоциты), CD4+ (Т-хелперы), CD8+ (Т-супрессоры), CD16+ (Т-киллеры), CD19+ (В-лимфоциты), с использованием моноклональных антител производства Bioprobe BW (Нидерланды) согласно инструкции производителя. Учет реакции проводили на проточном цитофлюориметре Beckton Dickinson (США). Иммунорегуляторный индекс (ИРИ) определяли как отношение Т-хелперы/Т-супрессоры;

– интенсивность пролиферативного ответа лимфоцитов на специфический антиген к тканям миокарда – с помощью реакции бласттрансформации (РБТЛ);

– функционально-метаболическую активность нейтрофилов (н) и моноцитов (м) в тесте редукции нитросинего тетразолия (НСТ-тест) с изучением резервных возможностей клеток (РВ) – как разницу индуцированного пирогеналом в дозе 1,25 мкг/мл НСТ-теста (НСТ инд.) и спонтанного (НСТ спонт.);

– уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) – по методу Digeon;

– уровни цитокинов – методом иммуноферментного анализа: в сыворотке крови – ВЭФР с использованием тест-системы производства Invitrogen Corporation (США); в супернатантах мононуклеарных клеток периферической крови – уровни ФНО- $\alpha$  с использованием тест-системы ProCon (Россия), ИЛ-2 при помощи тест-системы фирмы BioSource Invitrogen Corporation (Канада) и  $\gamma$ -ИФ с использованием Amersham (США). Супернатанты получали после 24 ч инкубации при температуре 37° С;

– уровень СРП в сыворотке крови – с помощью иммуноферментной тест-системы фирмы Diagnostic Automation (Канада);

– уровень иммуноглобулина Е (IgE) в сыворотке крови – методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы «Хема» (Россия), количество иммуноглобулинов классов А, М, G – методом Mancini.

Всем пациентам проводили эхокардиографическое исследование на аппарате Imagic-5000 (Kontron Medical, Франция) с измерением фракции выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ) по Симпсону [4].

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием программ Microsoft Excel и Statistica 6. Достоверность различий показателей в группах определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Для выявления корреляционных связей между показателями использовали коэффициент корреляции Пирсона.

## Результаты и их обсуждение

Частота выявления антител к миокарду у больных 1-й группы по сравнению со 2-й была большей – соответственно 62 и 32 %, в контрольной группе – 5 %. У больных 1-й группы регистрировали достоверно более высокий средний титр антител к миокарду ( $18,6 \pm 1,1$ ) усл. ед. по сравнению с таковым во 2-й группе ( $13,5 \pm 1,2$ ) усл. ед. ( $P < 0,02$ ). Концентрации иммуноглобулинов классов М, А и Е, как в 1-й группе, так и во 2-й, были достоверно выше, чем в контрольной, причем в 1-й группе отмечена более высокая концентрация IgM по сравнению с таковой во 2-й группе (табл. 1). Процент отклонения от нормы концентрации ЦИК был подсчитан по формуле Земскова и оказался выше соответствующего значения в контрольной группе – в 1-й группе больных на 67 %, во 2-й группе на 34 % [1]. Эти данные свидетельствуют о более выраженной активации гуморального звена иммунитета у больных 1-й группы по сравнению со 2-й.

ФВ ЛЖ у больных 1-й группы была достоверно ниже, чем у пациентов 2-й группы, – соответственно ( $30,4 \pm 2,7$ ) и ( $38,8 \pm 3,1$ ) % ( $P < 0,02$ ), что может свидетельствовать о большем повреждении сердечной мышцы аутоантителами при ОДМ, чем при ХДМ.

У больных с миокардитом отмечена более высокая ( $P < 0,001$ ) активность РБТЛ, чем у лиц контрольной группы ( $1,43 \pm 0,19$  %). При этом в

Таблица 1

Концентрации иммуноглобулинов различных классов и ЦИК в группах больных

Показатель	Величина показателя (M±m) в группах		
	контрольной	1-й	2-й
IgG, г/л	10,85±0,39	10,30±0,37	10,85±0,55
IgM, г/л	1,11±0,06	1,51±0,08*°	1,33±0,07
IgA, г/л	2,08±0,16	2,59±0,28*	2,55±0,21*
IgE, МЕ/мл	46,23±6,77	147,6±31,6**	124,7±28,1**

**Примечание.** Различия показателей достоверны по сравнению с таковыми в контрольной группе: \* –  $P < 0,05$ , \*\* –  $P < 0,01$ ; во 2-й группе: ° –  $P < 0,05$ .

1-й группе активность РБТЛ была выше ( $P < 0,01$ ) по сравнению с таковой во 2-й группе – соответственно ( $6,88 \pm 0,74$ ) и ( $4,28 \pm 0,39$ ) %, что характеризует аутоенсибилизацию лимфоцитов к миокардиальной ткани, которая при ОДМ проявляется в большей мере, чем при ХДМ.

Более высокие концентрации ФНО-α и γ-ИФ выявлены у больных 1-й группы по сравнению с таковыми во 2-й группе (рисунок). Отмечена обратная корреляционная связь между величиной ФВ ЛЖ и концентрацией ФНО-α в супернатанте моноцитов как в 1-й группе пациентов ( $r = -0,47$ ,  $P < 0,02$ ), так и во 2-й ( $r = -0,45$ ,  $P < 0,05$ ). Также установлена обратная корреляционная связь между величиной ФВ ЛЖ и концентрацией СРП в сыворотке крови у больных 1-й группы ( $r = -0,43$ ,  $P < 0,05$ ).

Повышение концентрации ФНО-α и γ-ИФ в сыворотке крови сопровождается выраженной стимуляцией как клеточного, так и гуморального звена иммунитета и может приводить к усугублению аутоиммунного повреждения сердечной мышцы [7, 14, 21]. Полученные результаты слу-

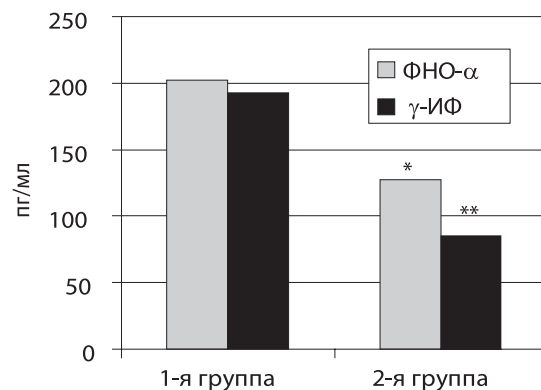


Рисунок. Концентрации ФНО-α и γ-ИФ у больных с миокардитом. Различия показателей в группах достоверны: \* –  $P < 0,02$ ; \*\* –  $P < 0,01$ .

Таблиця 2

Сравнительная характеристика показателей иммунного статуса в группах больных

Показатель	Величина показателя (M±m) в группах		
	контроль- ной	1-й	2-й
В-лимфоциты, ·10 <sup>9</sup> /л	0,17±0,02	0,19±0,01	0,18±0,01
Т-лимфоциты, ·10 <sup>9</sup> /л	1,39±0,13	1,47±0,08	1,42±0,11
Т-хелперы, ·10 <sup>9</sup> /л	0,75±0,06	0,91±0,06°	0,78±0,04
Т-супрессоры, ·10 <sup>9</sup> /л	0,52±0,04	0,59±0,04	0,56±0,04
Т-киллеры, ·10 <sup>9</sup> /л	0,26±0,02	0,27±0,02	0,28±0,03
ИРИ (Т-хелперы/ Т-супрессоры)	1,45±0,06	1,54±0,06°	1,39±0,05
Нейтрофилы НСТспонт, %	34,54±2,41	32,92±2,61	33,61±2,74
НСТинд, %	57,44±3,51	42,94±3,62**	47,82±2,87**
PВ, %	29,10±3,04	17,85±3,71**	18,62±4,12**
Моноциты НСТспонт, %	13,84±0,69	9,91±0,61	12,30±1,12
НСТинд, %	16,90±1,45	12,18±0,88*	13,32±1,16*
PВ, %	33,14±5,78	18,46±3,89**	16,50±5,69**
СРП, мг/мл	1,12±0,18	7,85±0,98°***	4,43±0,48***
ВЭФР, пг/мл	167,5±16,1	281,8±37,4°	153,98±33,60
ИЛ-2, пг/мл	2,18±0,27	5,69±1,06**	5,34±0,89**

**Примечание.** Различия показателей достоверны по сравнению с таковыми у лиц контрольной группы: \* –  $P < 0,05$ , \*\* –  $P < 0,01$ , \*\*\* –  $P < 0,001$ ; 2-й группы: ° –  $P < 0,05$ , °° –  $P < 0,01$ .

жат подтверждением существующей точки зрения о том, что ФНО-α и СРП являются важными маркерами активации иммунопатологических реакций и предикторами тяжести сердечной недостаточности при миокардите [15, 24, 25].

У больных 1-й группы отмечено повышение количества Т-хелперов и, как следствие, увеличение отношения Т-хелперы/Т-супрессоры (ИРИ) по сравнению с этим показателем во 2-й и контрольной группах, что характеризует активацию клеточного звена системного иммунитета. Кроме того, в 1-й группе больных по сравнению со 2-й и контрольной установлена активация гуморального звена иммунитета, что подтверждается более высокой концентрацией антител к миокарду, ЦИК и IgM. Количество В-лимфоцитов и остальных типов Т-клеток достоверно не отличалось во всех исследуемых группах (табл. 2).

Обращает на себя внимание то, что в группах пациентов с миокардитом по сравнению с контрольной группой выявлено снижение резервных возможностей нейтрофилов и моноцитов на фоне уменьшения активности НСТ-теста, который характеризует процессы внутриклеточного кислородзависимого метаболизма иммунных клеток (см. табл. 2). Полученные результаты свидетельствуют о том, что у больных с миокардитом наблюдается активация как нейтрофилов, так и моноцитов, однако их функциональный резерв в значительной степени угнетен. Концентрации ИЛ-2 в группах больных с миокардитом достоверно не отличались, однако были значительно выше, чем в контрольной. В настоящее время доказана важная роль этого цитокина в регуляции иммунопатологических реакций при миокардите [12, 22].

У больных 1-й группы по сравнению со 2-й была выше концентрация СРП и ВЭФР (см. табл. 2). Как известно, уровень СРП характеризует активность течения воспалительных реакций и ассоциируется с тяжестью поражения сердечной мышцы [20, 23]. Под действием ВЭФР происходит стимуляция моноцитов и эндотелиальных клеток, что приводит к выработке провоспалительных цитокинов и активации процессов неангиогенеза [16, 19].

## Выводы

1. У больных с острым диффузным миокардитом отмечена бóльшая частота выявления и более высокий средний титр антител к миокарду, а также бóльшая концентрация IgM на фоне повышенного количества Т-хелперов, что свидетельствует о более выраженной активации реакций гуморального типа по сравнению с таковой у пациентов с хроническим диффузным миокардитом.

2. Для острого диффузного миокардита характерна более выраженная иммуновоспалительная реакция по сравнению с хроническим диффузным миокардитом, что проявлялось гиперпродукцией провоспалительных факторов: γ-интерферона, фактора некроза опухоли α, васкулярного эндотелиального фактора роста, С-реактивного протеина и активацией пролиферативной способности лимфоцитов.

3. У больных с острым диффузным миокардитом отмечено более выраженное угнетение сократительной способности сердечной мыш-

цы, чем у пациентов с хроническим диффузным миокардитом, о чем свидетельствует меньшая величина фракции выброса левого желудочка, которая тесно коррелировала с концентрациями фактора некроза опухоли  $\alpha$  и С-реактивного протеина.

## Литература

1. Клиническая иммунология / Под ред. А.В. Караваева. – М.: Медицина, 1999. – 655 с.
2. Коваленко В.Н., Несукай Е.Г., Чернюк С.В. Миокардит: новые подходы к решению актуальных проблем // Укр. ревматол. журн. – 2009. – № 1. – С. 11-16.
3. Палеев Н.Р., Палеев Ф.Н. Цитокины и их роль в патогенезе заболеваний сердца // Клин. медицина. – 2004. – № 5. – С. 4-7.
4. Коваленко В.Н., Несукай Е.Г. Раздел «Миокардит» в книге «Руководство по кардиологии» / Под ред. В.Н. Коваленко. – К.: Морион, 2008. – С. 971-981.
5. Серцево-судинні захворювання: класифікація, стандарти діагностики та лікування / За ред. В.М. Коваленка, М.І. Лутая, Ю.М. Сіренка. – К.: ПП ВМБ, 2010. – 128 с.
6. Aukrust P., Gullestad L., Ueland T. et al. Inflammatory and anti-inflammatory cytokines in chronic heart failure: potential therapeutic implications // Ann. Med. – 2005. – Vol. 37. – P. 74-85.
7. Barin J.G., Taylor M.V., Baldeviano C.C. et al. Mechanisms of IFN- $\gamma$  regulation in autoimmune myocarditis // Exp. Mol. Pathol. – 2010. – P. 83-91.
8. Caforio A.L., Tona F., Bottaro S. et al. Clinical implications of anti-heart autoantibodies in myocarditis and dilated cardiomyopathy // Autoimmunity. – 2008. – Vol. 41 (11). – P. 35-45.
9. Cooper L.T. Myocarditis from bench to bedside. – New Jersey: Humana Press Totowa, 2003. – P. 256-267; 354-358.
10. Dennert R., Crijns H.L., Heymans S. Acute viral myocarditis // Eur. Heart J. – 2008. – Vol. 29. – P. 2073-2082.
11. Dorner A., Kallwellis-Opapa A., Pauschinger M. et al. Cardiac autoantibodies in viral myocarditis // Heart Fail. Clin. – 2005. – Vol. 3. – P. 333-343.
12. Eisner R.M., Husain A., Clark J.I. Case report and brief review: IL-2-induced myocarditis // Cancer invest. – 2004. – Vol. 22 (3). – P. 401-404.
13. Elliott P., Andersson B., Arbustini E. et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European society of cardiology working group on myocardial and pericardial diseases // Eur. Heart J. – 2008. – Vol. 29 (2). – P. 270-276.
14. Hegewisch S.C., Weh H.J., Hossfeld D.H. TNF-induced cardiomyopathies // Lancet. – 2006. – Vol. 11. – P. 294-295.
15. Huber S. Tumor necrosis factor-alpha promotes myocarditis in female mice infected with coxsackievirus B3 through upregulation of CD1d on hematopoietic cells // Viral Immunol. – 2010. – Vol. 23. – P. 79-86.
16. Huusko J., Merantie M., Dijkstra F. et al. The effects of VEGF-R1 and VEGF-R2 ligands on angiogenic responses and left ventricular function in mice // Cardiovasc. Res. – 2010. – Vol. 86 (1). – P. 122-130.
17. Mahrholdt H., Wagner A., Deluigi C.C. et al. Presentation, patterns of myocardial damage and clinical course of viral myocarditis // Circulation. – 2006. – Vol. 108. – P. 54-59.
18. Noutsias M., Pankuweit S., Maisch B. Biomarkers of inflammatory and non-inflammatory cardiomyopathy // Herz. – 2009. – Vol. 34 (8). – P. 614-623.
19. Park C.W., Kim H.W., Lim J.H. et al. Vascular endothelial growth factor inhibition by drk6 causes endothelial apoptosis, fibrosis in the heart in db/db mice // Diabetes. – 2009. – Vol. 58 (11). – P. 2666-2676.
20. Pearson T.A., Mensah C.A., Alexander R.W. et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease // Circulation. – 2003. – Vol. 107. – P. 499-511.
21. Smolik S., Domal-Kwiatkowska D., Novalany-Kozielska E. et al. Transcriptional activity of interferon gamma and two subunits of its receptor as molecular markers of myocarditis // Acta Pol. Pharm. – 2008. – Vol. 65 (6). – P. 685-689.
22. Thavendiranathan P., Verhaert D., Kendra K.L., Raman S.V. Fulminant myocarditis owing to high-dose interleukin-2 therapy for metastatic melanoma // Brit. J. Radiol. – 2011. – Vol. 84. – P. 99-102.
23. Tousolis D., Antoniadis C., Stefanadis C. Assessing inflammatory status in cardiovascular disease // Heart. – 2007. – Vol. 93. – P. 1001-1007.
24. Yin W.H., Chen J.W., Jen H.L. et al. Independent prognostic value of elevated high-sensitivity C-reactive protein in chronic heart failure // Am. Heart J. – 2004. – Vol. 147. – P. 931-938.
25. Zimmermann O., Bienek-Ziolkowski M., Wolf B. et al. Myocardial inflammation and non-ischemic heart failure: is there role for C-reactive protein // Basic Res. Cardiol. – 2009. – Vol. 104 (5). – P. 591-599.

Поступила 20.04.2011 г.

## The distinctive features of immune status in patients with acute and chronic diffuse myocarditis

V.N. Kovalenko, Ye.G. Nesukai, T.I. Gavrilenko, S.V. Cherniuk, L.V. Yakushko, N.A. Ryzhkova

*The aim was to study distinctive features of immune status in patients with acute and chronic diffuse myocarditis. We examined 67 patients, divided into 2 groups: 32 with acute diffuse myocarditis and 35 with chronic diffuse myocarditis. Control group included 20 healthy people. In both groups of patients with myocarditis we observed activation of immunopathologic reactions with autoimmune-induced cardiac damage. The most significant activation of the immune system and impairment of left ventricular systolic function, as its sequence, was found in the group of patients with acute diffuse myocarditis. The most important markers of myocardial damage in myocarditis are cardiac autoantibodies and their titers, C-reactive protein, tumor necrosis factor  $\alpha$  and interferon  $\gamma$ .*