

УДК 616.13-004.6-092:612.017.1

**ІМУНОЛОГІЧНІ КРИТЕРІЇ ПРОГНОЗУВАННЯ
РИЗИКУ РОЗВИТКУ ГОСТРОГО
КОРОНАРНОГО СИНДРОМУ У ОСІБ З
ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ,
ІНФІКОВАНИХ ВІРУСАМИ РОДИНИ
HERPESVIRIDAE**

**Перемот С.Д., Смілянська М.В., Волянський А.Ю.,
Перемот Я.О., Кашпур Н.В., Усенко С.А.
ДУ “Інститут мікробіології та імунології ім.
І.І.Мечникова АМН України”**

Широка розповсюдженість вірусів сімейства герпесу в популяції та їх можливий вплив на окремі ланки атерогенезу не можуть не впливати на формування і перебіг ішемічної хвороби серця (ІХС), особливо на розвиток та перебіг такої форми ІХС, як гострий коронарний синдром (ГКС). При герпесі, як і при інших хронічних захворюваннях, розвивається імунодефіцитний стан, обумовлений недостатністю різних ланок імунної системи і неспроможністю елімінувати вірус з організму. Герпесвірус, проникнувши в кров, репродукується в лейкоцитах і в клітинах моноцитарно-макрофагальної системи або персистує в лімфоїдних органах [3].

Відомо, що ІХС супроводжує хронічний персистуючий системний запальний процес, який характеризується активізацією та проліферацією ендотеліальних і гладком'язових клітин, особливо коронарних судин, і гіперфункцією імуноцитів (лімфоцитів, моноцитів, макрофагів, нейтрофілів та ін.) із секрецією прозапальних медіаторів, що відіграють важливу роль у розвитку атеросклерозу. В експериментах показано, що зміни властивостей ендотелію судин з наступним розвитком атеросклеротичних бляшок можуть виникати під впливом хімічних сполук, імунних комплексів, цитотоксинів, вірусів, ліпідних перекислів [1].

Активність запалення при атеросклерозі не така велика, як, наприклад, при гострому інфекційному процесі, але рівень його маркерів досить високий. Тому, усе більше науковців висловлює думку, що вагомий внесок у патогенез атеросклерозу й серцево-судинних захворювань дає персистуюче запалення, ймовірно – вірусної природи. Було виявлено присутність частин геному вірусу герпесу простого в ядрах клітин інтими аорти людей, які страждали на атеросклероз, поряд з атеросклеротичними бляшками. Герпесвірусна гіпотеза етіології атеросклерозу в повній мірі узгоджується з відомою концепцією про роль альтерації ендотелію і значення проліферації гладком'язових клітин, а також про передбачуваний механізм такої проліферації у формуванні атеросклеротичних бляшок [2]. В основі загострення ІХС лежить дестабілізація атеросклеротичної бляшки, що в значній мірі зумовлено запальним процесом. Крім активації місцевого запального процесу в стінці судин, у хворих з гострим коронарним синдромом відмічено збільшення кількості лейкоцитів в периферичній крові та підвищення концентрації ряду білків гострої фа-

зи запалення, таких як С-реактивний білок, цитокіни та ін. Доведено, що підвищення маркерів системної запальної відповіді, зумовлено збереженою активністю запальних процесів у пошкоджених атеросклеротичних бляшках. Формування у хворих на ІХС імунологічних синдромів, що характерні і для вірусної інфекції може бути не простим збігом, а наслідком персистенції вірусу і його впливу на імунний гомеостаз цих хворих [4].

Відповідно до сучасних уявлень, імунозапальна активація є не лише маркером дестабілізації перебігу атеросклеротичного процесу, а і незалежним фактором високого серцево-судинного ризику. Прогноз хворого з ГКС залежить від багатьох чинників. Але, безумовно, важливим є використання сукупності всіх стратегічних підходів, наявних в сучасному арсеналі [2,5,6]. Встановлення одного з чинників ускладнень ГКС – представників герпесвірусів – буде сприяти покращенню прогнозу пацієнтів та знизить кількість ускладнень, що можуть виникати в процесі лікування ГКС.

В літературі відомо багато критеріїв прогнозування перебігу гіпертонічної хвороби або розвитку ускладнень у пацієнтів з ішемічною хворобою серця. Це [8] і дослідження крові до лікування та визначення біохімічних критеріїв ($\alpha - 1 - \text{III}$) та оцінка розвитку серцево-судинних захворювань. Однак, вони дозволяють спрогнозувати тільки перебіг гіпертонічної хвороби (стадії хвороби) та розвиток клінічних проявів стенокардії.

Також визначають групи і ризик розвитку інфаркту міокарда [9] по визначенні жирнокислотного складу ліпідів еритроцитів крові за допомогою методу газорідинної хроматографії. Автори пропонують знаходити вміст насичених жирних кислот та розраховувати їх співвідношення, а за отриманим коефіцієнтом прогнозувати розвиток інфаркту міокарда. Отриманню бажаного технічного результату заважає той факт, що цей показник в значній мірі знаходиться під впливом герпесвірусної інфекції та рівень доступності цього методу в умовах вітчизняної системи організації медичного сервісу дуже низький.

За кордоном пропонуються декілька способів прогнозування ризику ГКС по визначенню різних білкових маркерів: Ischemia-Modified Albumin (IMA), Myeloperoxidase (MPO), Glycogen Phosphorylase Isoenzyme BB-(GPBB), а також Natriuretic peptide - Both B-type natriuretic peptide (BNP), Monocyte chemoattractive protein (MCP)-1 [4-6]. Однак, всі вони стосуються прогнозування ГКС у пацієнтів, оперованих з приводу серцево-судинних захворювань. Також ці методи потребують спеціального обладнання, матеріально-технічного забезпечення та фахівців, що володіють такими методиками. Нажаль в нашій країні використання цих методик не можливо.

В одному з останніх повідомлень [7] пропонується спосіб діагностики та прогнозування серцево-судинних захворювань, при якому оцінюють рівень інтерлейкіну 33 (ІЛ-33). Це можна застосовувати для прогнозування не тільки ГКС, а іншої патології: інфаркт міокарду, міокардити, гіпертонія, артеріоск-

лероз, панкардити та ін. Однак, ця пропозиція має, на наш погляд, суттєве обмеження, яке пов'язане з тим, що прогнозування базується на визначенні тільки одного інтерлейкіну із цілої низки цитокинів та інших імунологічних показників. А відповідно до сучасних уявлень, імунозапальна активація, що регулюється про- та протизапальними цитокінами є не лише маркером дестабілізації перебігу атеросклеротичного процесу, а і незалежним фактором високого серцево-судинного ризику. Слід відзначити і те, що цей інтерлейкін є досить мало, або зовсім невідомий та недоступний широкому колу лікарів в нашій країні. Всі наведені приклади не враховують у хворих на ІХС персистенцію герпесвірусів, як чинників системного запалення. Наявність імунологічних критеріїв несприятливого перебігу могло б підвищити точність прогнозу. А відомо, що саме такі цитокіни, як ІЛ-6 і фактор некрозу пухлин (ФНП) індують синтез білків гострої фази. Нашими попередніми дослідженнями встановлено, що рівень інфікованості хворих на ГКС достовірно вищий ніж із стабільним перебігом ІХС.

В організмі клінічно здорової людини рівень цитогенетичних змін варіює та може суттєво зростати під впливом різноманітних фізичних, хімічних та біотичних факторів. І, якщо адекватна реакція імунної системи на спонтанний антиген лежить в межах її фізіологічного навантаження, то реакція на індукований (зокрема персистентною герпесвірусною інфекцією), може привести до функціональної декомпенсації із відповідними наслідками для організму. В теперішній час в якості невід'ємної складової патогенезу гострого коронарного синдрому розглядається внутрішньосудинне запалення, дестабілізація ендотелію та герпесвіруси, як тригер-фактори цього процесу

Герпесвіруси відносять до інфекційної (набутої) хвороби імунної системи, при якій довготривала персистенція вірусу в ряді випадків супроводжується продуктивною інфекцією практично у всіх видах клітин імунної системи, що часто супроводжується їх функціональною недостатністю та сприяє формуванню імунодефіциту, а в свою чергу, вірусіндукований імунологічний дисбаланс є підґрунтям дестабілізації перебігу ІХС з формуванням гострого коронарного синдрому. Якщо на тлі такого стану імунітету з'явиться осередок запалення, його не буде виявлено та знешкоджено [2,5]. По Г.Сельє реакція імунної системи на стресорний фактор розглядається як стереотипне соматичне виявлення мобілізації захисних сил організму. При ГКС через особливості його клінічних проявів, адаптація до дії пошкоджуючих агентів нижче ніж при стабільному перебігу ІХС. За таких умов вірогідність розвитку гострого коронарного синдрому у осіб з ІХС, що інфіковані вірусами родини *Herpesviridae*, цілком ймовірно.

Метою роботи було вивчити та відібрати імунологічні критерії прогнозування ризику розвитку гострого коронарного синдрому у осіб з ІХС, інфікованих вірусами родини *Herpesviridae*, на основі об'єктивних змін показників, що характеризують стан імунологічної резистентності організму. Визначення найбільш інформативних імунологічних та вірусоло-

гічних показників дасть можливість зробити об'єктивний та достовірний прогноз.

Проведені нами дослідження були спрямовані на виявлення інформативних критеріїв оцінки змін в стані імунітету, що виникають саме під впливом персистуючої герпесвірусної інфекції [3] та визначення ознак функціональної декомпенсації імунної системи у хворих на ГКС, асоційований з цими патогенами.

Матеріали та методи

Обстежено 60 хворих (38 чоловіків та 22 жінки) на гострий коронарний синдром (ГКС), які знаходилися на лікуванні у кардіологічному відділенні №2 клінічної лікарні №8 м. Харкова. Середній вік пацієнтів становив $(52,8 \pm 2,6)$ роки. Діагноз ІХС та форми клінічного перебігу встановлювалася відповідно до рекомендацій Європейського товариства кардіологів та Американської колегії кардіологів на підставі загально клінічних, лабораторних та інструментальних методів. Контрольна група представлена 21 хворим на ІХС з клінічними проявами стабільної стенокардії.

Визначення антигенів родини *Herpesviridae* проводили імунофлуоресцентним методом з використанням поліклональних мишачих антитіл проти вірусів простого герпесу 1 та 2 типів (HSV-1, HSV-2), вірусу герпесу людини 6 типу (HHV-6), цитомегаловірусу (CMV), вірусу вітряної віспи-оперізуючого лишая (VZV) та вірусу Епштейна-Барр (EBV). HSV-1, HSV-2, HHV-6, CMV, VZV, EBV-EA, бичачі антисироватки проти Ig G миші та FITC(F4/1) антисироватки фірми Santa Cruz Biotechnology, Inc. Також обчислювали індекс флуоресценції (ІФ), що становив відсоток інфікованих лейкоцитів на 100 клітин.

Матеріалом для імунологічних досліджень була венозна кров, взята вранці, натщесерце. Визначення вмісту С-реактивного білку, рівнів прозапальних (ІЛ-1, ІЛ-6, ФНП- α) та протизапальних (ІЛ-4, ІЛ-10) цитокинів в сироватці крові проводили з використанням імуноферментного аналізу за допомогою набору реагентів ЗАТов "Вектор-Бест" (м.Новосибірськ, Росія). Дослідження оптичної щільності в зразках проводилось за допомогою спектрофотометра STATFAX 2200. Обчислення оптичної щільності в пробах здійснювалось при довжині хвилі 405 нм. Клітини CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD19⁺ визначали за допомогою моноклональних антитіл імуноферментним методом. Окисно-відновлювальну активність нейтрофілів визначали за допомогою спонтанного та стимульованого НСТ-тесту. Стан системи комплементу оцінювався загальною комплементарною активністю сироватки за 50 % - им гемолізом еритроцитів. Визначення концентрації циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в крові проводили методом селективної преципітації ЦІК у 3,5 % - му поліетиленгліколю (ПЕГ-6000) з подальшим визначенням концентрації білка в преципітаті; реакція бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ) з фітогемаглютинином (ФГА). Отримані результати обробляли на персональному комп'ютері методами варіаційної статистики за допомогою *t*-критерію Стьюдента і показника достовірності *P*.

Результати та обговорення

В результаті проведеного дослідження виявлені характерні ознаки порушення імунного статусу у хворих на ІХС та ГКС, проведено дослідження змін імунного статусу у хворих на ІХС та ГКС, у яких встановлено персистенцію ГВ в імунітах, визначено основні тенденції розвитку імунологічних порушень та ризику розвитку гострого коронарного синдрому. Та після ретельного аналізу отриманих даних встановлено найбільш інформативні прогностичні імунологічні критерії.

Порівняльний аналіз стану імунітету у хворих на ГКС без та з герпесвірусною персистенцією в імунітах дозволив виявити наступні прогностично цінні параметри: кількісний та якісний склад популяції лімфоцитів (CD3,CD4,CD8), реакція бласттрансформації лімфоцитів у відповідь на антигенний стимул (РБТЛ), рівень прозапальних інтерлейкінів (ФНП), індекс флуоресценції лейкоцитів (ІФ) з антигенами герпесвірусів. Означений перелік параметрів дозволяє скоротити програму імунологічного дослідження та є цілком доступним для здійснення в умовах клініко-діагностичної лабораторії лікувального закладу з мінімальним рівнем забезпечення обладнанням та реактивами.

Для більш лаконічного викладення основних тенденцій та діапазонів коливань наведених прогностичних критеріїв застосовано формули розладів імунної системи (ФРІС), в яких знаками "+/-" відображено тенденцію до збільшення/зменшення показника, цифрами позначено ступінь зміни величини показника у порівнянні із нормою (1 - < 33 %; 2 – 33-66 %; 3 - > 66 %). За обраними параметрами особливості та діапазон змін імунного статусу осіб з персистенцією ГВ в імунітах з відмінним рівнем ризику розвитку ГКС характеризуються наступними ФРІС:

1. ІФ_{10-30%}, CD3₁₋, CD4₁₋, CD8₁₋, ФНП₁₊
(відповідає низькому рівню ризику розвитку ГКС)
2. ІФ_{30-45%}, CD3₁₋, CD4₁₋, CD8₂₋, РБТЛ₂₋, ФНП₂₊
(відповідає підвищеному ризику розвитку ГКС)
3. ІФ_{45-80%}, CD3₁₋, CD4₂₋, CD8₃₋, РБТЛ₃₊, ФНП₃₊
(відповідає надзвичайно високому ризику розвитку ГКС)

Наприклад, за нашими розрахунками, прогнозування підвищеного ризику розвитку ГКС здійснюється за фактом виявлення в імунітах антигенів герпесвірусів з ІФ від 30 % до 45 %, зниження загальних Т-клітин на 33 %, кількості CD4 та CD8, РБТЛ - на 33 % та більше та збільшений ФНП у сироватці крові від 33 % до 66 %.

Таким чином, ми пропонуємо основними імунологічними критеріями прогнозування ризику розвитку ГКС у осіб з ішемічною хворобою серця, які інфіковані герпесвірусами вважати: ступінь зменшення загальної кількості та функціональної активності субпопуляції лімфоцитів CD3,CD4,CD8, підвищення рівня прозапальних інтерлейкінів, а саме ФНП. Підвищення ризику виникнення ГКС у хворих на ІХС констатують за наявності персистенції герпесвірусів в

імунітах, підвищенням прозапальних інтерлейкінів, тенденції до зниження кількісних, якісних та функціональних параметрів, що характеризують стан клітинної ланки імунітету.

ВИСНОВОК. Запропоновані формули імунних розладів доцільно визначати у хворих на ішемічну хворобу серця з метою встановлення предикторів несприятливого найближчого прогнозу. Використання отриманих імунологічних діагностичних критеріїв буде слугувати чіткому визначенню найближчого прогнозу, що сприятиме своєчасному вибору відповідної тактики лікування хворих на нестабільну стенокардію, попередженню ускладнень і покращенню якості життя пацієнтів.

Перелік посилань

1. Горбась І.М. Профілактика хронічних неінфекційних захворювань – реальний шлях поліпшення демографічної ситуації в Україні [Текст]/ І.М. Горбась //Український кардіологічний журнал. 2009; 3: 6–11.
2. Дзяк Г.В., Коваль Е.А. Значение изменений иммунологического статуса в определении характера течения атеросклероза и ИБС [Текст]/ Г.В.Дзяк, Е.А.Коваль. //Журн. АМН України. 1996; 2, 2: 317 – 334.
3. Перемот С.Д., Мартынов А.В., Смелянская М.В. Персистирующие герпесвирусы как триггер-фактор соматических заболеваний. [Текст]/ С.Д.Перемот, А.В.Мартынов, М.В.Смелянская // Аналі Мечніківського інституту. 2006; 4: 29 - 33.
4. Bertrand M.E. Management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation.[Text]/ M.E.Bertrand // Eur.Heart J. 2002; 23: 1809-1840.
5. Methe H., Brunner S., Wiegund D., et al. Enhanced T-Helper-1 lymphocyte Activation Patterns in Acute Coronary Syndromes. .[Text]/ H.Methe, S.Brunner, D.Wiegund// Issue. 2005; 45, 12:1939-1945.
6. Braunwald E. With Unstable Angina and Non-ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. .[Text]/ E.Braunwald// Circulation. 2002; 106: 1893.
7. Snider James, Jacobson Sven Interleukin-22 (IL-33) for the diagnosis and prognosis of cardiovascular disease. [Text] /J.Snider, S.Jacobson //US2009305265.-2009-12-10
8. Лазарева С.А., Самохіна Л.М., Зубов П.М./ С.А.Лазарева, Л.М.Самохіна, П.М.Зубов [Текст]/ Деклараційний патент на корисну модель № 11018. Процес прогнозування перебігу гіпертонічної хвороби або розвитку ускладнень у пацієнтів з ішемічною хворобою серця. // Бюл.№12,-2005 р.
9. Загородний М.І., Свінціцький А.С., Брюзгіна Т.С.Деклараційний патент на корисну модель № 23511. Спосіб визначення групи ризику розвитку інфаркту міокарда. [Текст] / М.І.Загородний, А.С.Свінціцький., Т.С.Брузгіна // Бюл.№7, - 2007 р.

УДК 616.13-004.6-092:612.017.1
ІМУНОЛОГІЧНІ КРИТЕРІЇ ПРОГНОЗУВАННЯ РИЗИКУ РОЗВИТКУ ГОСТРОГО КОРОНАРНО-

ГО СИНДРОМУ У ОСІБ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ, ІНФІКОВАНИХ ВІРУСАМИ РОДИНИ HERPESVIRIDAE

**Перемот С.Д., Смілянська М.В., Волянський А.Ю.,
Перемот Я.О., Кашпур Н.В.**

Встановлені імунологічні критерії для прогнозування ризику розвитку гострого коронарного синдрому у осіб з ІХС, інфікованих вірусами родини Herpesviridae. Підвищення ризику виникнення ГКС констатують при наявності тенденції до зниження (на 33 % та більше) кількості лімфоцитів субпопуляцій CD3, CD4, CD8 та їх співвідношення (CD4/CD8), зниження показників реакції бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ) при одночасному збільшенні (на 33 % та більше) показників вмісту прозапального ФНП, а також виявленню антигенів вірусів групи Herpesviridae в лейкоцитах (ІФ).

УДК 616.13-004.6-092:612.017.1

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РИСКА РАЗВИТИЯ ОСТРОГО КОРОНАРНОГО СИНДРОМА У ЛИЦ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСАМИ HERPESVIRIDAE

**Перемот С.Д., Смялянская М.В., Волянский А.Ю.,
Перемот Я.А., Кашпур Н.В.**

Установлены иммунологические критерии прогнозирования риска развития острого коронарного синдрома у лиц с ИБС, инфицированных вирусами семейства Herpesviridae. Повышение риска возникновения ОКС констатируют при наличии тенденции к снижению (на 33 % и более) количества лимфоцитов субпопуляций CD3, CD4, CD8 и их соотношение (CD4/CD8), снижение показателей реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) при одновременном увеличении (на 33 % и более) показателей содержания провоспалительного ФНО, а также выявлению антигенов вирусов семейства Herpesviridae в лейкоцитах (ИФ).

UDC 616.13-004.6-092:612.017.1

IMMUNOLOGICAL CRITERIA OF PROGNOSTICATION OF RISK OF DEVELOPMENT OF ACUTE CORONAL SYNDROME AT PERSONS WITH ISCHEMIC HEART DISEASES, INFECTED THE VIRUSES OF HERPESVIRIDAE

**Peremot S.D., Smelyanskaya M.V., Volyanskiy A.J.,
Peremot J.A., Kashpur N.V.**

Immunological criteria of prognostication of risk of development of acute coronal syndrome (ACS) at persons with IHD infected the viruses of family of Herpesviridae. The increases of risk of origin of ACS establish at presence of tendency to the decline (on 33 % and more) of amount of lymphocytes of CD3, CD4, CD8 and their correlation (CD4/CD8), decline of indexes of reaction functionally incomplete T lymphocytes at the simultaneous increase (on 33 % and more) of indexes of maintenance of proinflammatory TNF, and also to the exposure of antigens of viruses of family of Herpesviridae in leucocytes (IF).