



Иммунологическая характеристика воспалительных заболеваний миокарда вирусной этиологии

Палеев Ф.Н. • Санина Н.П. • Макаров А.И. • Мылов Н.М. • Островский Е.И. • Хишова Н.Н. • Москалец О.В. • Палеев Н.Р.

Палеев Филипп Николаевич – д-р мед. наук, профессор, директор¹

Санина Наталья Петровна – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры терапии факультета усовершенствования врачей¹
✉ 125464, г. Москва, Пятницкое шоссе, 10–194, Российская Федерация.
Тел.: +7 (495) 754 13 14.
E-mail: natalyasaniina2@yandex.ru

Макаров Александр Иванович – канд. мед. наук, науч. сотр.²

Мылов Николай Маммаевич – канд. мед. наук, доцент кафедры терапии факультета усовершенствования врачей¹

Островский Евгений Игоревич – канд. мед. наук, заведующий 1-м терапевтическим отделением¹

Хишова Наталья Николаевна – аспирант кафедры терапии факультета усовершенствования врачей¹

Москалец Оксана Владимировна – канд. мед. наук, глав. науч. сотр. лаборатории иммунологии¹

Палеев Николай Романович – академик РАН, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой терапии факультета усовершенствования врачей¹

¹ ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация

² ГБУЗ г. Москвы «Центр планирования семьи и репродукции Департамента здравоохранения г. Москвы»; 119501, г. Москва, ул. Нежинская, 3, Российская Федерация

Актуальность. Ключевую роль в патогенезе инфекционно-иммунного миокардита (ИИМ) играют аутоантитела против антигенных детерминант миокарда и соответствующие клоны аутореактивных Т-клеток, выступающие в роли основных факторов повреждения сердечной мышцы. Центральное место в механизмах иммунорегуляции при миокардите отводится балансу основных субпопуляций хелперных Т-лимфоцитов и регуляторных Т-клеток, а также продуцируемых ими цитокинов.

Цель – изучить количественные параметры и особенности функционального состояния основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови больных ИИМ и миокардитическим кардиосклерозом (МК).

Материал и методы. В исследовании приняли участие 35 больных ИИМ и 39 больных МК. У 17 больных ИИМ отмечались выраженные симптомы сердечной недостаточности (СН) – III функциональный класс (ФК) по классификации Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA), у 18 пациентов с ИИМ признаки СН отсутствовали или были умеренно выражены (0–II ФК по NYHA). У 18 больных МК симптомы СН отсутствовали, а у 21 пациента выявлялись незначительные признаки СН (I ФК по NYHA). Контрольную группу составили 10 условно здоровых лиц.

Исследование популяционного и субпопуляционного состава и активационных маркеров лимфоцитов периферической крови проводили методом четырехцветной лазерной проточной цитометрии с использованием прибора FACSCalibur и соответствующих моноклональных антител (Becton Dickinson, США).

Результаты. Воспалительные заболевания миокарда характеризуются изменениями как

врожденного, так и адаптивного иммунитета. При ИИМ и МК выявлено значительное уменьшение числа NKT-лимфоцитов, не зависящее от выраженности симптомов СН и продолжительности заболевания.

Количественные особенности Т-клеточного иммунитета проявлялись преимущественно изменением доли CD3⁺CD4⁺-клеток и зависели от сроков заболевания и выраженности симптомов СН. Число В-лимфоцитов у больных ИИМ оказалось повышенным.

Признаки иммуоактивации выявлялись у больных как ИИМ, так и МК, однако у пациентов с МК их выраженность была существенно меньше.

Прирост экспрессии раннего активационного маркера CD25 отмечен в первые 2 недели от начала заболевания в группе больных ИИМ. В последующем, к концу 1-го месяца и на 2-м месяце от начала заболевания, регистрировали прирост числа Т- и не-Т-лимфоцитов с признаками поздней активации, выявляемой по экспрессии антигена HLA-DR. Паттерн активационных маркеров различался у пациентов с разной степенью выраженности симптомов СН.

Прирост экспрессии маркера апоптоза CD95 наблюдался во всех группах больных ИИМ и МК, при этом наибольших значений этот показатель достиг у больных ИИМ в конце 1-го месяца от начала заболевания.

Заключение. Нарушения противoinфекционного иммунитета и механизмов самоограничения иммунных реакций играют важную роль в возникновении и прогрессировании пораженного миокарда воспалительной природы.

Ключевые слова: инфекционно-иммунный миокардит, миокардитический кардиосклероз, лимфоциты, иммуоактивация.



Введение

Миокардиты представляют собой поражение сердечной мышцы преимущественно воспалительного характера, обусловленное непосредственным или опосредованным через иммунные механизмы воздействием инфекции, химических и физических факторов, а также возникающее при аллергических и аутоиммунных заболеваниях. Наиболее частой причиной миокардитов является вирусная инфекция. Исследования последних лет убедительно показали ключевую роль иммунных механизмов в возникновении и прогрессировании поражения миокарда [1, 2, 3, 4].

При доброкачественном течении инфекционно-иммунного миокардита (ИИМ) цитотоксические реакции направлены на элиминацию инфицированных кардиомиоцитов с закономерной выработкой антител к вирусам [5, 6]. У больных со злокачественным течением ИИМ обнаруживается выраженная активация цитотоксических иммунных механизмов в сочетании с выработкой большого количества аутоантител, что указывает на цитолитическое аутоиммунное повреждение неинфицированных кардиомиоцитов [7, 8, 9]. Цитотоксические иммунные реакции, обеспечивающие на начальном этапе элиминацию чужеродного – вирусного или бактериального – генома, становятся затем основным фактором повреждения миокарда [6, 10, 11]. Гуморальный ответ вносит свою лепту в нарушение взаимодействия сократительных белков миокарда, дисрегуляцию рецепторного аппарата кардиомиоцитов и энергетического обмена миокарда [12, 13].

Применительно к вирусным миокардитам необходимо учитывать баланс иммунных реакций, направленных на элиминацию инфекционного патогена, и аутоагрессивных иммунных факторов, оказывающих повреждающее воздействие на миокард. Известно, что на ранних стадиях заболевания доминируют Th1-опосредованные иммунорегуляторные механизмы, обеспечивающие эффективную работу клеточного звена иммунитета; в последующем возрастает активность Th2-клеток, ответственных за гуморальный иммунитет, из-за чего ИИМ приобретает затяжное или хронически-рецидивирующее течение [14, 15].

Комплексное изучение состояния различных звеньев иммунитета при миокардите открывает перспективы для выявления высокочувствительных и специфических индикаторов воспалительного поражения миокарда

и определения их места в диагностическом алгоритме.

Исследование поверхностного фенотипа лимфоцитов периферической крови служит надежным и высокоинформативным инструментом иммунодиагностики, позволяющим оценить как количественный состав, так и особенности функционального состояния иммунокомпетентных клеток [16].

Материал и методы

В исследовании приняли участие 35 больных ИИМ и 39 больных миокардитическим кардиосклерозом (МК). У 17 больных ИИМ отмечались выраженные симптомы сердечной недостаточности (СН) – III функциональный класс (ФК) по классификации Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (New York Heart Association – NYHA). У 18 пациентов с ИИМ признаки СН отсутствовали или были умеренно выражены (0–II ФК по NYHA). У 18 больных МК симптомы СН отсутствовали, а у 21 пациента выявлялись незначительные признаки СН (I ФК по NYHA). Контрольную группу составили 10 условно здоровых лиц.

Исследование популяционного и субпопуляционного состава и активационных маркеров лимфоцитов периферической крови проводили методом четырехцветной лазерной проточной цитометрии с использованием прибора FACSCalibur и соответствующих моноклональных антител (Becton Dickinson, США).

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программы PASW Statistics 18. Для определения статистической обоснованности различия исследуемых групп применяли непараметрический U-критерий Манна – Уитни. Для оценки характера, силы и достоверности связи отдельных показателей использовали коэффициент линейной корреляции Пирсона.

Результаты и обсуждение

Изменение популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови

Данные о популяционном и субпопуляционном составе лимфоцитов периферической крови больных ИИМ и МК представлены в табл. 1. Мы не обнаружили значимых изменений общего числа Т-лимфоцитов (фенотип CD3⁺), а также клеток, относящихся к хелперной (CD3⁺CD4⁺) и цитотоксической (CD3⁺CD8⁺) субпопуляциям. Соответственно, величина

Таблица 1. Характеристика популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови при воспалительных заболеваниях миокарда

Маркер	Инфекционно-иммунный миокардит	Миокардитический кардиосклероз	Контрольная группа
CD3 ⁺	71,3±1,01	71,2±1,13	70,6±1,21
CD3 ⁺ CD4 ⁺	41,8±1,11	42,9±1,41	40,1±1,79
CD3 ⁺ CD8 ⁺	26,6±1,00	25,5±1,31	27,9±2,06
ИРИ	1,69±0,08	1,87±0,17	1,73±0,17
CD3 ⁺ CD16/56 ⁺	13,1±0,77	15,6±1,08***	16,0±1,33
CD3 ⁺ CD16/56 ⁺	5,3±0,47*	4,3±0,51*	13,9±2,02
CD19 ⁺	12,4±0,66**	10,4±0,74	9,4±0,39

ИРИ – иммунорегуляторный индекс

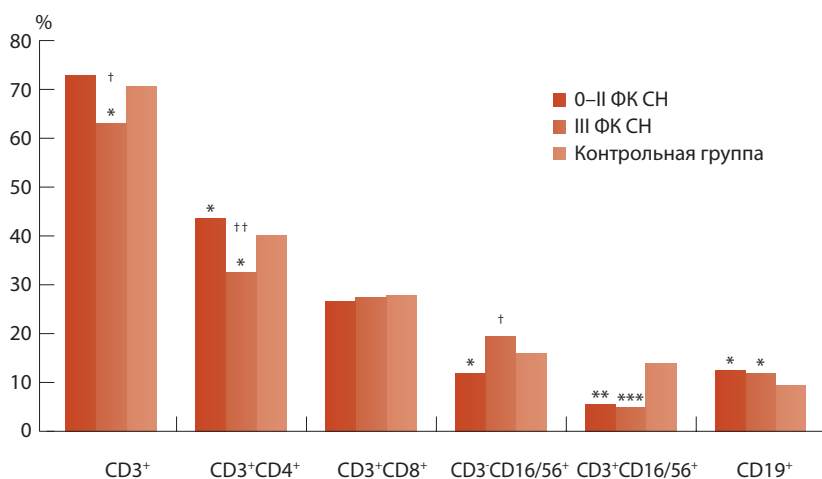
Данные представлены как средние значения (M) и стандартная ошибка среднего (± m)

* p < 0,001 по сравнению с контрольной группой; ** p < 0,05 по сравнению с контрольной группой;

*** p < 0,05 по сравнению с группой больных ИИМ

иммунорегуляторного индекса (ИРИ – отношение числа CD4⁺ к CD8⁺ Т-клеткам) достоверно не различалась у больных с ИИМ, МК и в контрольной группе. Напротив, число В-лимфоцитов (CD19⁺-лимфоциты) оказалось достоверно выше в группе пациентов с ИИМ, составив 12,5% (по сравнению с 9,4% в контрольной группе, p < 0,05).

Примечательной особенностью популяционного состава лимфоцитов периферической крови при воспалительных поражениях миокарда стало трехкратное снижение числа клеток,


Рис. 1. Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у больных ИИМ с отсутствием или умеренной выраженностью симптомов СН (0–II ФК СН) и выраженными симптомами СН (III ФК СН); * p < 0,05 по сравнению с контрольной группой; ** p < 0,001 по сравнению с контрольной группой; *** p < 0,01 по сравнению с контрольной группой; † p < 0,01 по сравнению с подгруппой больных с 0–II ФК СН; †† p < 0,001 по сравнению с подгруппой больных с 0–II ФК СН

одновременно экспрессирующих поверхностный антиген Т-лимфоцитов CD3 и маркеры НК-клеток CD16 и/или CD56. Эти клетки, получившие название НКТ-лимфоцитов, играют важную роль в противовирусном иммунитете и реализации цитотоксических иммунных реакций. Число НКТ-клеток оказалось сниженным на 62% при ИИМ и на 69% при МК по сравнению с показателем контрольной группы.

Инфекционно-иммунный миокардит

Мы проанализировали зависимость популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови больных ИИМ от выраженности симптомов СН и обнаружили разнонаправленные изменения числа Т-лимфоцитов в группах с отсутствием или умеренной выраженностью СН (0–II ФК по NYHA) и выраженной СН (III ФК по NYHA). Результаты представлены на рис. 1.

Общее количество Т-клеток у больных с отсутствием или умеренной выраженностью симптомов СН демонстрировало тенденцию к увеличению, составив 72,8% по сравнению с 70,6% в контрольной группе. При этом количество CD3⁺CD4⁺ хелперных Т-лимфоцитов оказалось достоверно выше: 43,5 по сравнению с 40,1% в контрольной группе (p < 0,05). У пациентов с выраженными симптомами СН (III ФК), напротив, имело место существенное снижение общего числа Т-лимфоцитов – до 63,0% (p < 0,05 по сравнению с контрольной группой), а также Т-хелперов – до 32,5% (p < 0,05 по сравнению с контрольной группой). При этом общее число Т-лимфоцитов различалось между группами больных с отсутствием или умеренной выраженностью симптомов СН и выраженными симптомами СН (p < 0,01). Количество Т-хелперов также было достоверно ниже у пациентов с выраженными симптомами СН (p < 0,001).

Количество цитотоксических CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов не различалось между исследованными группами пациентов, а величина ИРИ оказалась больше в группе больных с отсутствием или умеренной выраженностью симптомов СН по сравнению с больными с выраженными симптомами СН (1,77 и 1,26 соответственно, p < 0,05).

Число CD19⁺ В-лимфоцитов оказалось повышенным у пациентов обеих групп: 12,5% у больных с отсутствием или умеренной выраженностью симптомов СН и 12,0% у больных с выраженными симптомами СН (p < 0,05 для обеих групп по сравнению с контролем,



различие между группами исследования статистически недостоверно).

Число лимфоидных клеток, формирующих неспецифическую защиту против патогенов, также зависело от степени выраженности симптомов СН. Содержание в крови $CD3^+CD16/56^+$ НК-клеток у пациентов с отсутствием или умеренной выраженностью симптомов СН оказалось ниже, чем в контрольной группе (11,9 по сравнению с 16,0%, $p < 0,05$), в то время как у больных с выраженными симптомами СН отмечалась тенденция к увеличению числа $CD3^+CD16/56^+$ -клеток (19,5, $p > 0,05$ по сравнению с контролем). Число НК-клеток у пациентов с отсутствием или умеренной выраженностью симптомов СН и с выраженными симптомами СН достоверно различалось ($p < 0,01$).

Количество $CD3^+CD16/56^+$ NKT-клеток было существенно сниженным как в группе пациентов с отсутствием или умеренной выраженностью симптомов СН (5,4%, $p < 0,001$), так и среди больных с выраженными симптомами СН (4,8%, $p < 0,01$).

Как видно из рис. 2, субпопуляционный состав Т-лимфоцитов у больных ИИМ зависел от сроков заболевания. Наиболее существенно изменялось число $CD3^+CD4^+$ Т-лимфоцитов: в 1-ю неделю содержание в крови хелперных клеток возрастало до 45,6% ($p < 0,05$ по сравнению с показателем контрольной группы), во 2-ю неделю оно все еще оставалось несколько выше, чем в контроле (43,5%, $p > 0,05$), однако к концу 1-го

месяца и на 2-й месяц от начала заболевания возвращалось к нормальному уровню и даже демонстрировало тенденцию к снижению по сравнению с контрольной группой (39,6 и 38,2% соответственно, $p > 0,05$).

Содержание цитотоксических $CD3^+CD8^+$ -лимфоцитов, как и общее число Т-клеток, существенно не зависело от сроков заболевания; величина ИРИ также достоверно не менялась.

Число $CD19^+$ В-лимфоцитов демонстрировало тенденцию к повышению в 1-й месяц от начала заболевания, и во 2-й половине месяца было достоверно выше, чем в контрольной группе, составив 14,3% ($p < 0,01$).

Мы также выявили достоверное снижение числа НК-клеток во 2-ю неделю от начала заболевания до 10,7% ($p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой). Число NKT-клеток было сниженным и не зависело от сроков заболевания: 5,0% в 1-ю неделю ($p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой), 4,6% во 2-ю неделю ($p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой), 6,5% в конце 1-го месяца ($p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой) и 5,2% во 2-м месяце от начала заболевания ($p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой).

Миокардитический кардиосклероз

В группу с МК вошли пациенты, у которых отсутствовали симптомы СН, а также пациенты с ИФК СН по классификации NYHA. Мы не обнаружили значимых различий в популяционном

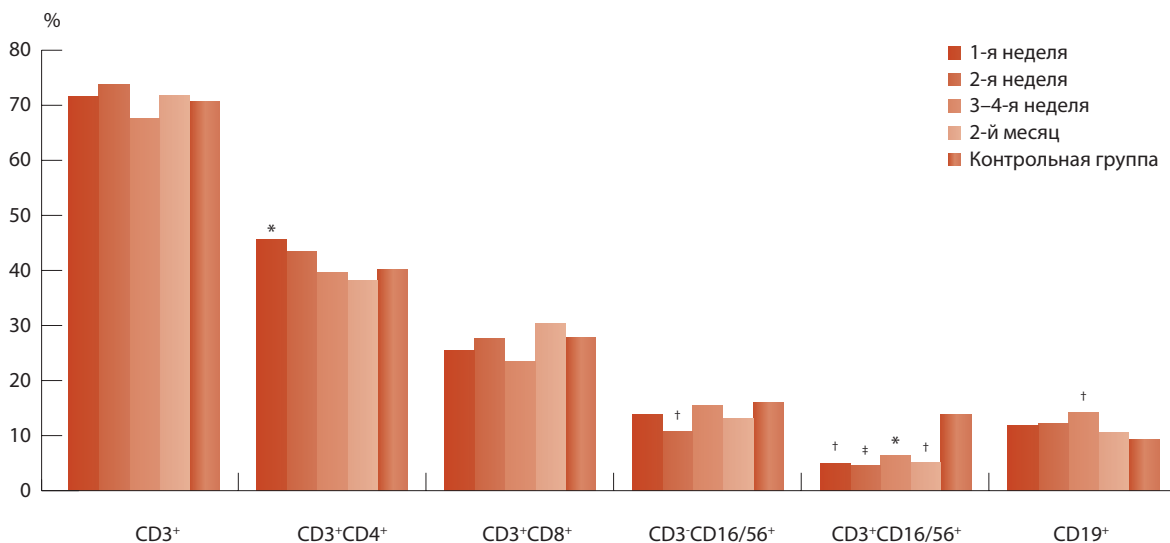


Рис. 2. Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у больных ИИМ в зависимости от сроков заболевания; * $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; † $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой; ‡ $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой

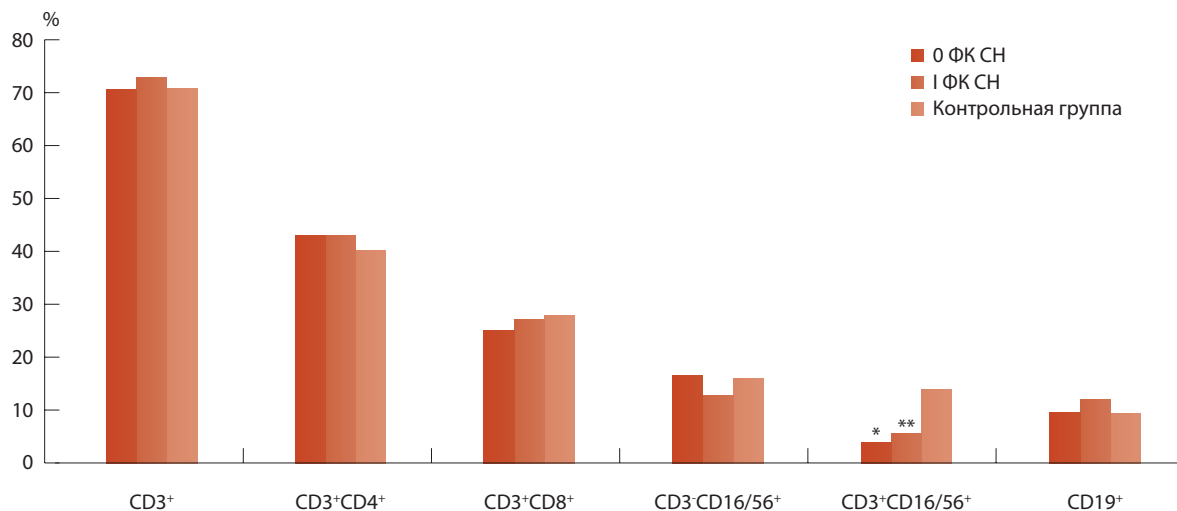


Рис. 3. Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у больных МК с отсутствием (0 ФК СН) или незначительной выраженностью (I ФК СН) симптомов СН; * $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; ** $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой

и субпопуляционном составе лимфоцитов периферической крови больных указанных групп (рис. 3). Примечательно, что число $CD3^+CD16/56^+$ NKT-клеток было значительно сниженным как у пациентов без признаков СН (3,8%, $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой), так и у больных с ФК СН I (5,5%, $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой).

В группе больных МК наиболее заметные изменения популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови отмечены в период от 6 месяцев до 1 года от начала заболевания. Как видно из рис. 4, общее количество Т-лимфоцитов существенно превышало показатель контрольной группы: 77,0 и 70,6% соответственно ($p < 0,05$). Рост числа Т-клеток

происходил за счет хелперной субпопуляции. Доля $CD3^+CD4^+$ -клеток составила 48,0% по сравнению с 40,1% в контрольной группе ($p < 0,01$).

В этот же период заболевания мы наблюдали снижение числа NK-клеток до 11,2% (16,0% в контрольной группе, $p < 0,05$). Число NKT-клеток было сниженным и не зависело от сроков заболевания: 4,4% в первые 6 месяцев ($p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой), 3,7% в период от 6 месяцев до 1 года от начала заболевания ($p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой) и 4,7% спустя более чем 1 год от начала заболевания ($p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой).

Изменение активационных маркеров лимфоцитов периферической крови

Для исследования особенностей функционального состояния лимфоцитов периферической крови больных ИИМ и МК мы оценивали число клеток, экспрессирующих ранний активационный маркер CD25, поздний активационный маркер HLA-DR и маркер готовности лимфоидной клетки к восприятию апоптогенного сигнала и реализации апоптотической программы CD95 [5].

Инфекционно-иммунный миокардит

Согласно полученным данным (табл. 2), ИИМ характеризовался ростом числа клеток, экспрессирующих поверхностный антиген CD25. Число $CD4^+CD25^+$ возрастало на 84% по сравнению с контрольной группой, различие

Таблица 2. Экспрессия активационных маркеров и маркера апоптоза лимфоцитами периферической крови больных с воспалительными поражениями миокарда

Маркер	Инфекционно-иммунный миокардит	Миокардитический кардиосклероз	Контрольная группа
$CD4^+CD25^+$	$5,7 \pm 0,73^*$	$3,4 \pm 0,23$	$3,1 \pm 0,18$
$CD3^+CD25^+$	$5,2 \pm 0,63$	$3,5 \pm 0,26$	$3,2 \pm 0,22$
$CD3^+HLA-DR^+$	$7,6 \pm 0,70$	$3,7 \pm 0,41^+$	$6,1 \pm 0,89$
$CD3^+HLA-DR^+$	$15,6 \pm 0,82^{**}$	$12,4 \pm 1,00$	$11,0 \pm 0,42$
$CD3^+CD95^+$	$23,1 \pm 1,81^{***}$	$13,4 \pm 1,33^{**,+}$	$7,7 \pm 1,06$

Данные представлены как средние значения (M) и стандартная ошибка среднего ($\pm m$)

* $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; ** $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой; *** $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; $^+$ $p < 0,001$ по сравнению с группой больных ИИМ

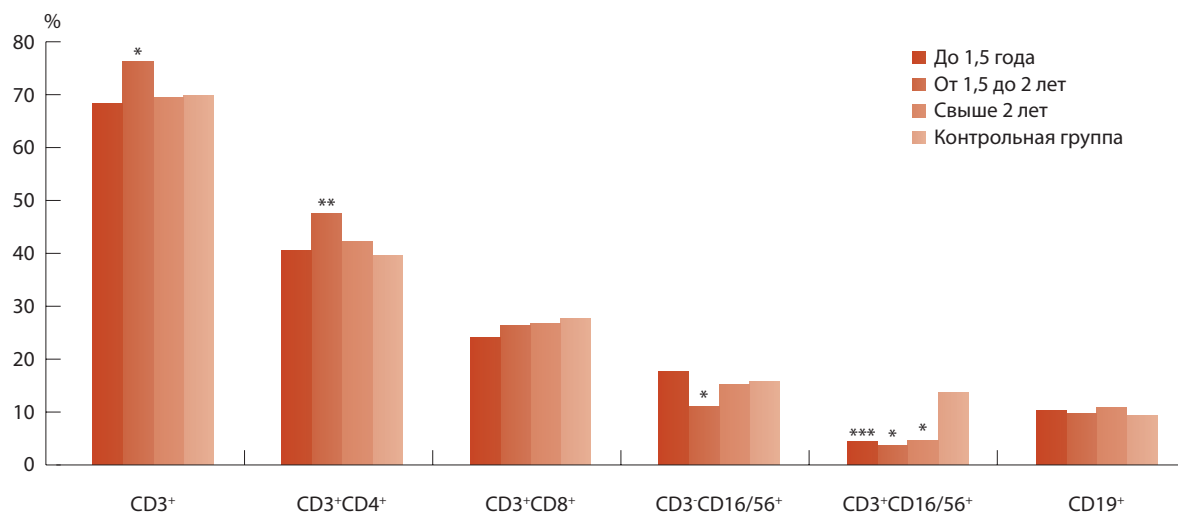


Рис. 4. Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у больных МК в зависимости от сроков заболевания; * $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; ** $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой; *** $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой

показателей достигло уровня статистической значимости ($p < 0,05$). Общее число активированных Т-лимфоцитов (фенотип $CD3^+CD25^+$) также демонстрировало тенденцию к увеличению (на 62%), которая, однако, не была статистически значимой.

Интересным представляется увеличение числа $CD3^+HLA-DR^+$ -клеток при ИИМ. Эту клеточную популяцию принято рассматривать как активированные не-Т-клетки, под которыми подразумевают В- и НК-лимфоциты. Принимая во внимание рост числа В-лимфоцитов у больных ИИМ, можно говорить об активации не только клеточного, но и гуморального иммунитета при этом заболевании. В пользу данного предположения свидетельствуют наличие положительной корреляционной связи между числом $CD19^+$ и $CD3^+HLA-DR^+$ -клеток в группе больных с воспалительными поражениями миокарда ($r = 0,52$, $p < 0,001$) и отсутствие связи между этими показателями в контрольной группе.

Число Т-лимфоцитов, экспрессирующих маркер апоптоза $CD95$, у больных ИИМ оказалось в 3 раза выше, чем в контрольной группе. При этом количество клеток, несущих маркер поздней активации $HLA-DR$, не отличалось от контрольного показателя. Последнее наблюдение позволяет предположить дисгармоничный характер иммуноактивации у больных ИИМ.

Мы проанализировали зависимость изучаемых иммунологических показателей от степени тяжести симптомов СН у больных ИИМ. Как видно из рис. 5, группа пациентов с отсутствием

или умеренной выраженностью симптомов СН (0–II ФК СН) характеризовалась приростом числа активированных Т-клеток, экспрессирующих антиген $CD25$. Доля $CD3^+CD25^+$ -лимфоцитов составила 5,0% ($p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой), а доля $CD4^+CD25^+$ -клеток – 5,7% ($p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой). В группе больных с выраженными симптомами СН (III ФК) содержание $CD3^+CD25^+$ и $CD4^+CD25^+$ -клеток не превышало соответствующие показатели контрольной группы, составив 2,7 и 2,5% соответственно ($p > 0,05$). При этом число $CD3^+HLA-DR^+$ -лимфоцитов было нормальным в периферической крови пациентов с отсутствием или умеренной выраженностью симптомов СН (7,1%, $p > 0,05$ по сравнению с контрольной группой). Однако в группе больных с выраженными симптомами СН этот показатель превышал значение контрольной группы, составив 10,0% ($p < 0,05$).

Количество активированных не-Т-клеток (фенотип $CD3^+HLA-DR^+$) составило 14,3% в группе пациентов с отсутствием или умеренной выраженностью симптомов СН ($p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой) и 22,8% в группе больных с выраженными симптомами СН ($p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой). Различие между группами с разной степенью выраженности симптомов СН оказалось статистически достоверным ($p < 0,01$), что указывает на более высокую степень активации механизмов гуморального иммунитета у пациентов с тяжелой СН.

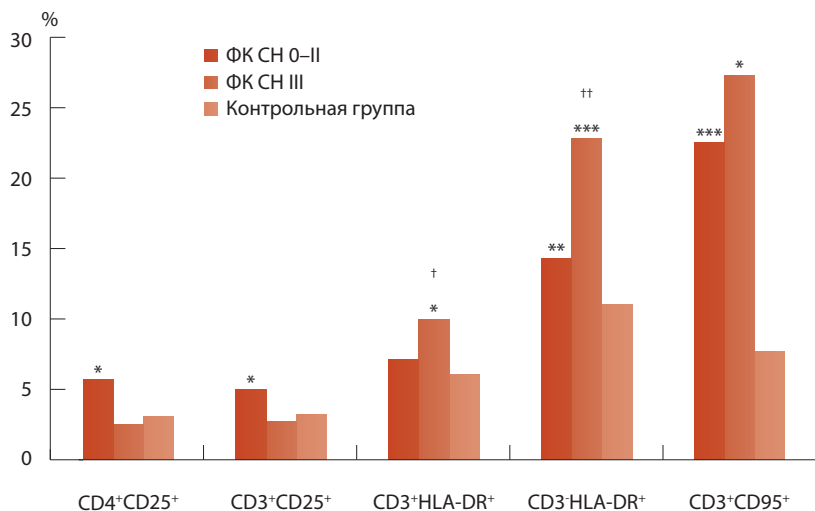


Рис. 5. Экспрессия активационных маркеров и маркера апоптоза лимфоцитами больных ИИМ с отсутствием или умеренной выраженностью симптомов СН (0-II ФК СН) и выраженными симптомами СН (III ФК СН); * $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; ** $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой; *** $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; † $p < 0,05$ по сравнению с подгруппой больных с ФК СН 0-II; †† $p < 0,01$ по сравнению с подгруппой больных с ФК СН 0-II

Количество CD3⁺CD95⁺-лимфоцитов в группе пациентов с отсутствием или умеренной выраженностью симптомов СН превышало показатель контрольной группы в 3 раза ($p < 0,001$), а в группе с выраженными симптомами СН – в 3,5 раза ($p < 0,05$).

Активационный профиль лимфоцитов периферической крови больных ИИМ зависел от сроков заболевания (рис. 6). Признаки ранней активации иммунокомпетентных клеток были наиболее выражены в 1-ю неделю заболевания.

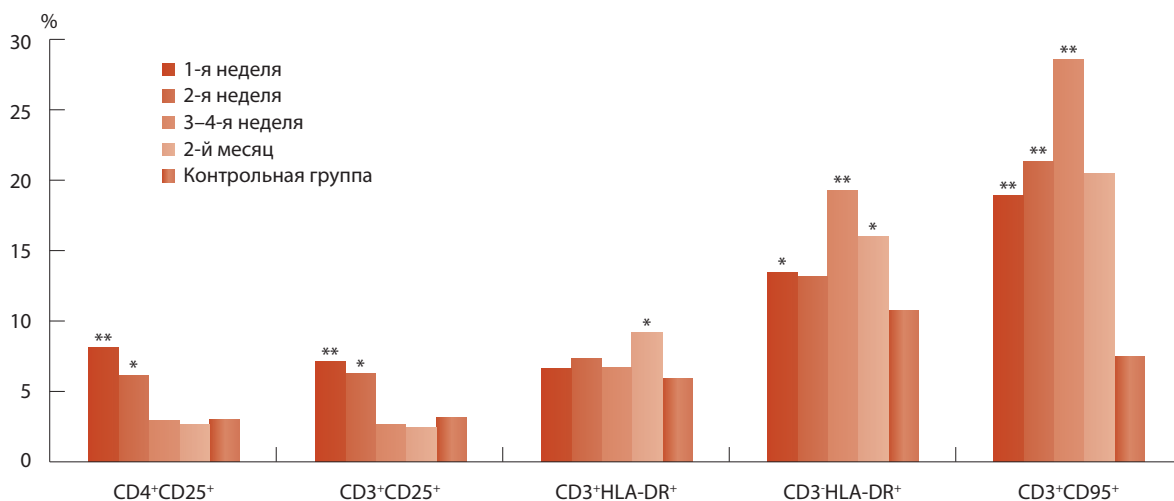


Рис. 6. Экспрессия активационных маркеров и маркера апоптоза лимфоцитами больных ИИМ в зависимости от сроков заболевания; * $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; ** $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой

Количество CD4⁺CD25⁺-клеток составило 8,3% ($p < 0,001$ по сравнению с показателем контрольной группы), а количество CD3⁺CD25⁺-лимфоцитов – 7,3% ($p < 0,001$ по сравнению с показателем контрольной группы). На 2-й неделе заболевания показатели ранней активации Т-клеточного иммунитета также были повышены: число CD4⁺CD25⁺-клеток составило 6,3% ($p < 0,05$ по сравнению с показателем контрольной группы), а CD3⁺CD25⁺-клеток – 6,4% ($p < 0,05$ по сравнению с показателем контрольной группы). Позднее число клеток, экспрессирующих маркеры CD4⁺CD25⁺ и CD3⁺CD25⁺, не отличалось от показателей контрольной группы.

Число Т-лимфоцитов, несущих признаки поздней активации (фенотип CD3⁺HLA-DR⁺) не отличалось от показателя контрольной группы в 1-й месяц от начала заболевания. Однако на 2-м месяце показатель возрастал до 9,4% ($p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой).

Количество активированных не-Т-лимфоцитов с фенотипом CD3⁺HLA-DR⁺ повышалось уже в 1-ю неделю от начала заболевания, составив в среднем 13,8% ($p < 0,01$ по сравнению с показателем контрольной группы). Однако наибольшей величины данный показатель достигал в конце 1-го месяца (19,8%, $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой) и во 2-м месяце от начала заболевания (16,4%, $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой).

Количество Т-лимфоцитов, несущих маркер готовности к апоптозу CD95, было повышено у всех больных ИИМ: 19,5% на 1-й неделе заболевания ($p < 0,001$ по сравнению с контрольной



группой), 21,9% на 2-й неделе ($p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой) и 29,3% в конце 1-го месяца ($p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой). На 2-м месяце от начала заболевания имела место тенденция к увеличению средней величины показателя до 21,0%, не достигшая уровня статистической значимости из-за значительного разброса индивидуальных показателей.

Миокардитический кардиосклероз

При МК в целом отсутствовали признаки активации иммунной системы. Число $CD3^+CD25^+$ и $CD4^+CD25^+$ -клеток не отличалось от соответствующих показателей контрольной группы, а количество $CD3^+HLA-DR^+$ -клеток демонстрировало тенденцию к снижению. При этом, однако, доля клеток с фенотипом $CD3^+CD95^+$ оставалась повышенной, хотя и не столь значительно, как при ИИМ.

Мы проанализировали особенности активационного профиля лимфоцитов периферической крови больных МК в зависимости от отсутствия (0 ФК СН) или наличия (I ФК СН) симптомов СН. В группе пациентов, у которых не выявлялись симптомы СН, экспрессия маркеров активации лимфоцитов не отличалась от показателей контрольной группы (рис. 7). Напротив, в группе пациентов с признаками СН (I ФК СН) мы обнаружили прирост числа активированных Т-лимфоцитов. Количество $CD4^+CD25^+$ -клеток составило 4,3% ($p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой и $p < 0,01$ по сравнению с группой, в которой отсутствовали симптомы СН). Число $CD3^+CD25^+$ -лимфоцитов также оказалось повышенным – до 5,0% ($p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой и $p < 0,01$ по сравнению с группой, в которой отсутствовали симптомы СН).

Число Т-лимфоцитов с признаками поздней активации (фенотип $CD3^+HLA-DR^+$) у больных с I ФК СН составило 2,5%, то есть было ниже показателя контрольной группы ($p < 0,05$). Наконец, количество Т-лимфоцитов, экспрессирующих маркер апоптоза $CD95$, в группе больных с симптомами СН (I ФК СН) составило 17,6% ($p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой и $p < 0,05$ по сравнению с группой, в которой отсутствовали симптомы СН).

Полученные данные позволяют предположить, что иммунные механизмы продолжают участвовать в патогенезе поражения миокарда у лиц, у которых ИИМ клинически завершился формированием кардиосклероза. При этом

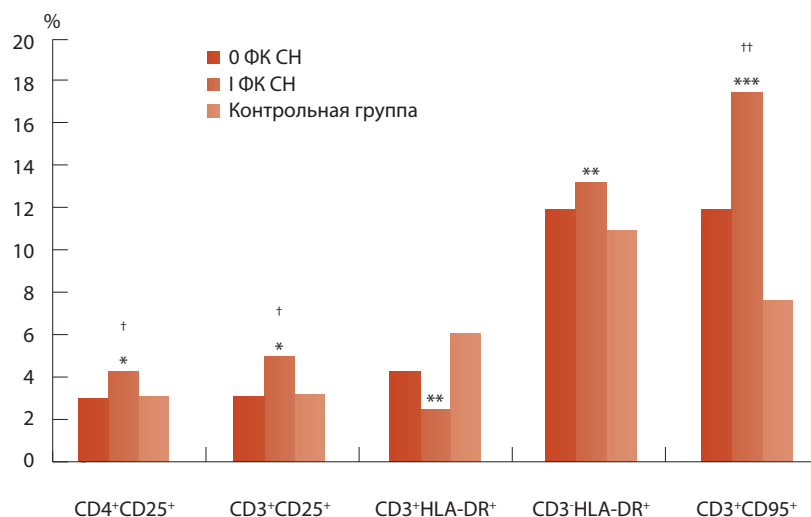


Рис. 7. Экспрессия активационных маркеров и маркера апоптоза лимфоцитами больных МК с отсутствием (0 ФК СН) или незначительной выраженностью (I ФК СН) симптомов СН; * $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой; ** $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; *** $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; † $p < 0,01$ по сравнению с подгруппой больных с 0 ФК СН; †† $p < 0,05$ по сравнению с подгруппой больных с 0 ФК СН

симптомы СН могут быть связаны в том числе с сохраняющейся активацией иммунокомпетентных клеток.

Умеренные признаки иммуноактивации выявлялись в группе больных МК со сроком заболевания свыше 1 года (рис. 8). В частности, число $CD4^+CD25^+$ -клеток составило 4,3% ($p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой), а число $CD3^+CD25^+$ -лимфоцитов – 4,7% ($p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой). Что касается числа $CD3^+HLA-DR^+$ клеток у больных МК со сроком заболевания менее 6 месяцев, то оно оказалось ниже, чем в контроле (2,5%, $p < 0,05$). Количество $CD3^+CD95^+$ -лимфоцитов демонстрировало тенденцию к увеличению во всех подгруппах больных с МК, однако это повышение было статистически достоверным только у пациентов со сроком заболевания менее 6 месяцев, составив 12,5% ($p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой).

Заключение

Особенности иммунного статуса больных ИИМ необходимо рассматривать в контексте баланса реакций противовирусной защиты и аутоиммунного повреждения сердечной мышцы. При ИИМ выявлено значительное снижение числа НКТ-лимфоцитов, обладающих противовирусной и цитотоксической активностью. Т-лимфоциты больных ИИМ с минимальными проявлениями СН характеризовались

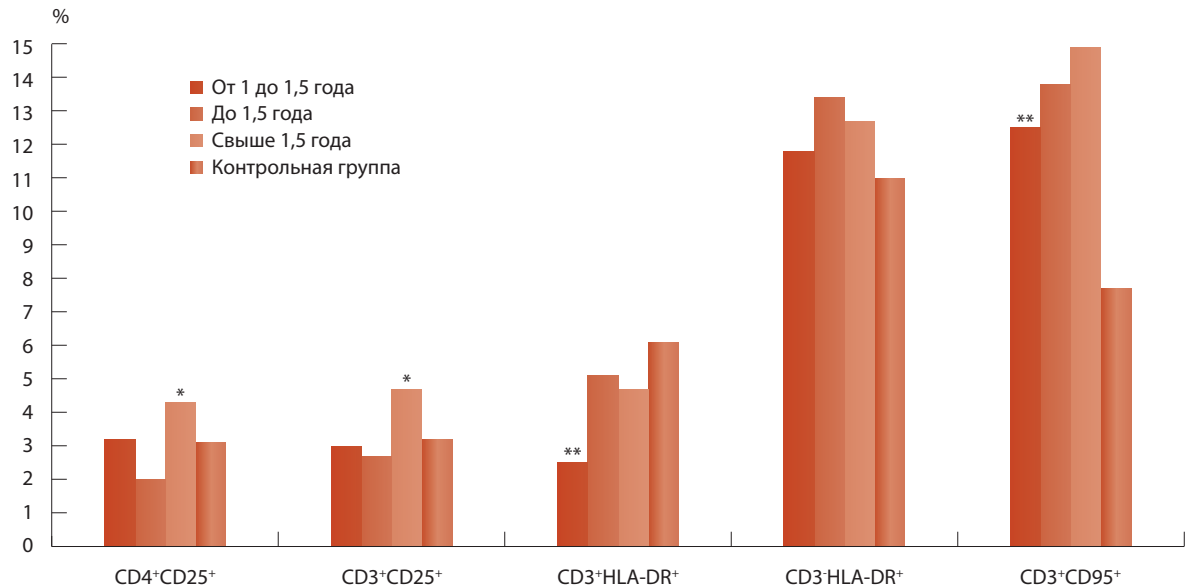


Рис. 8. Экспрессия активационных маркеров и маркера апоптоза лимфоцитами больных МК в зависимости от сроков заболевания; * $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой; ** $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой

признаками «ранней» активации, выявляемой по повышенной экспрессии маркера CD25. Напротив, в крови больных с выраженными симптомами СН было отмечено увеличение числа активированных не-T-клеток, связанное, вероятно, со стимуляцией гуморальных иммунных реакций. Наконец, иммунный статус больных

ИИМ характеризовался преобладанием лимфоцитов, несущих признаки «поздней» активации и готовности к реализации апоптотической программы, особенно в группе с выраженными симптомами СН. Последнее наблюдение указывает на вероятное нарушение механизмов активационного апоптоза лимфоцитов при ИИМ. ☺

Литература (References)

1. Палеев НР, Палеев ФН, Санина НП. Миокардиты. Альманах клинической медицины. 2004;7: 118–26. (Paleev NR, Paleev FN, Sanina NP. [Myocarditis]. Al'manakh klinicheskoy meditsiny. 2004;7:118–26. Russian).
2. Палеев НР, Палеев ФН. Некоронарогенные заболевания миокарда и их классификация. Российский кардиологический журнал. 2009; (3):5–9. (Paleev NR, Paleev FN. [Non-coronary myocardial disease and its classification]. Rossiyskiy kardiologicheskii zhurnal. 2009;(3): 5–9. Russian).
3. Blauwet LA, Cooper LT. Myocarditis. Prog Cardiovasc Dis. 2010;52(4):274–88.
4. Палеев НР, Палеев ФН. Иммунопатология миокардитов. Креативная кардиология. 2007; (1–2):46–55. (Paleev NR, Paleev FN. [Immunopathology of myocarditis]. Kreativnaya kardiologiya. 2007; (1–2):46–55. Russian).
5. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE Jr, Drazner MH, Fonarow GC, Geraci SA, Horwich T, Januzzi JL, Johnson MR, Kasper EK, Levy WC, Masoudi FA, McBride PE, McMurray JJ, Mitchell JE, Peterson PN, Riegel B, Sam F, Stevenson LW, Tang WH, Tsai EJ, Wilkoff BL; American College of Cardiology Foundation; American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. J Am Coll Cardiol. 2013;62(16):e147–239.
6. Schultheiss HP, Kühl U, Cooper LT. The management of myocarditis. Eur Heart J. 2011;32(21):2616–25.
7. Kindermann I, Barth C, Mahfoud F, Ukena C, Lenski M, Yilmaz A, Klingel K, Kandolf R, Sechtem U, Cooper LT, Böhm M. Update on myocarditis. J Am Coll Cardiol. 2012;59(9): 779–92.
8. Qian Q, Xiong S, Xu W. Manipulating intestinal immunity and microflora: an alternative solution to viral myocarditis? Future Microbiol. 2012;7(10):1207–16.
9. Макарьков АИ, Салмаси ЖМ, Санина НП. Апоптоз и сердечная недостаточность. Сердечная недостаточность. 2003;(6):312–4. (Makarkov AI, Salmasi ZhM, Sanina NP. [Apoptosis and heart failure]. Serdechnaya nedostatochnost'. 2003;(6):312–4. Russian).
10. Frustaci A, Russo MA, Chimenti C. Randomized study on the efficacy of immunosuppressive therapy in patients with virus-negative inflammatory cardiomyopathy: the TIMIC study. Eur Heart J. 2009;30(16):1995–2002.
11. Салмаси ЖМ, Санина НП, Макарьков АИ, Островский ЕИ, Линник АП, Хишова НН. Роль Th17-опосредованных механизмов иммунорегуляции в патогенезе воспалительных поражений миокарда. Российский иммунологический журнал. 2012;6(3):211–22. (Salmasi ZhM, Sanina NP, Makarkov AI, Ostrovskiy EI, Linnik AP, Khishova NN. [The role of Th17-mediated mechanisms of immune regulation in pathogenesis of inflammatory heart dis-



- ease]. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal*. 2012;6(3):211–22. Russian).
12. Krueger GRF, Rojo J, Buja LM, Lassner D, Kuehl U. Human Herpes virus-6 (HHV-6) is a possible cardiac pathogen: an immune-histological and ultra-structural study. *Hosp Gen*. 2008;71:187–91.
 13. Никитин ВЮ, Сухина ИА, Цыган ВН, Гусев ДА. Иммунологическая характеристика стадий хронического гепатита С и оценка факторов иммунной системы как прогностических критериев течения заболевания. *Журнал инфектологии*. 2009;(1):30–40.
 - (Nikitin VYu, Sukhina IA, Tsygan VN, Gusev DA. [The immunologic characteristic of the stages of chronic hepatitis C and an assessment of immune system factors as prognostic criteria of a current disease]. *Zhurnal infektologii*. 2009;(1):30–40. Russian).
 14. Simoni Y, Diana J, Ghazarian L, Beaudoin L, Lehen A. Therapeutic manipulation of natural killer (NK) T cells in autoimmunity: are we close to reality? *Clin Exp Immunol*. 2013;171(1):8–19.
 15. Liu W, Huber SA. Cross-talk between CD1d-restricted NKT cells and $\gamma\delta$ cells in T regulatory cell response. *Virology*. 2011;8:32.
 16. Санина НП, Хишова НН, Москалец ОВ, Макаров АИ. Характеристика CD3⁺CD16⁺CD56⁺ субпопуляции Т-лимфоцитов у больных инфекционно-иммунным миокардитом. В: Тезисы докладов III Евразийского конгресса кардиологов; 20–21 февраля 2014 г.; Москва, РФ. М.; 2014. с. 112.

(Sanina NP, Khishova NN, Moskalets OV, Makarkov AI. Characteristics of CD3⁺CD16⁺CD56⁺ T-lymphocyte subpopulation in patients with infectious-immune myocarditis. In: Proceedings of the 3rd Eurasian Cardiology Congress; 2014 Feb 20–21; Moscow, RF. Moscow; 2014. p. 112. Russian).

Immunological features of inflammatory myocardial diseases due to viral infections

Paleev F.N. • Sanina N.P. • Makarkov A.I. • Mylov N.M. • Ostrovskiy E.I. • Khishova N.N. • Moskalets O.V. • Paleev N.R.

Paleev Filipp Nikolaevich – MD, PhD, Professor, Director¹

Sanina Natal'ya Petrovna – MD, PhD, Professor, Internal Diseases Department, Postgraduate Medical School¹

✉ 10–194 Pyatnitskoe shosse, Moscow, 125464, Russian Federation. Tel.: +7 (495) 754 13 14.

E-mail: natalyasantina2@yandex.ru

Makarkov Aleksandr Ivanovich – PhD, Research Associate²

Mylov Nikolay Mammaevich – PhD, Associate Professor, Internal Diseases Department, Postgraduate Medical School¹

Ostrovskiy Evgeniy Igorevich – MD, PhD, Chief of the 1st Internal Diseases Department¹

Khishova Natal'ya Nikolaevna – Fellow, Internal Diseases Department, Postgraduate Medical School¹

Moskalets Oksana Vladimirovna – PhD, Chief Research Associate, Immunologic Laboratory¹

Paleev Nikolay Romanovich – Member of the Russian Academy of Sciences, MD, PhD, Professor, Chief of the Internal Diseases Department, Postgraduate Medical School¹

Background: Autoantibodies to myocardial antigenic epitopes and corresponding autoreactive T cell clones play an important role in myocardial damage and in pathogenesis of infectious immune myocarditis. T lymphocytes subpopulations/regulatory T cells balance as well as T cell-derived cytokines are crucial in the mechanisms of immune regulation in myocarditis.

Aim: To assess quantitative parameters and functional characteristics of basic peripheral blood lymphocytes subpopulations in patients with infectious immune myocarditis and post-myocarditis cardioclerosis.

Material and methods: 35 patients with infectious immune myocarditis and 39 patients with post-myocarditis cardioclerosis were included. Among infectious immune myocarditis patients, 17 patients had advanced congestive heart failure (CHF) (NYHA III), and 18 patients had mild, moderate or no heart failure (NYHA 0-II). Among cardioclerosis patients, 18 patients had no CHF, and 21 had only mild symptoms of heart failure (NYHA I). 10 healthy volunteers were enrolled in the control group.

Populations and subpopulations of peripheral blood lymphocytes and markers of lymphocytes activation were studied using quadricolor laser flow cytometry (FACSCalibur) and suitable monoclonal antibodies (Becton Dickinson, USA).

Results: Inflammatory myocardial diseases are characterized by alterations of innate and adaptive immunity. In our study, patients with infectious immune myocarditis and post-myocarditis cardioclerosis had significantly reduced numbers of

natural killer T cells irrespective of CHF symptoms and disease duration.

T cell immunity disturbances were characterized by decreased numbers of CD3⁺CD4⁺ cells depending from the disease duration and symptoms severity. Patients with infectious immune myocarditis also had increased numbers of B cells.

Immune activation was demonstrated both in infectious immune myocarditis and (less prominent) in post-myocarditis cardioclerosis.

Increased expression of early activation marker CD25 was found during the first 2 weeks from the disease onset in patients with infectious immune myocarditis. In 1 month and during the second month of the disease, increased numbers of T cells and non-T lymphocytes were demonstrated along with late activation manifested by the expression of HLA-DR antigen. Different severity of CHF symptoms was associated with different patterns of activation markers.

Increased expression of apoptosis marker CD95 was found in both infectious immune myocarditis and post-myocarditis cardioclerosis; maximal CD95 values were demonstrated in myocarditis patients in 1 month after the disease onset.

Conclusion: Disturbances of anti-infection immunity and self-limitation mechanisms of immune reactions play an important role in the development and progression of inflammatory myocardial diseases.

Key words: infectious immune myocarditis, post-myocarditis cardioclerosis, lymphocytes, immune activation.

¹ Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation

² Center of Family Planning and Reproduction of the Moscow City Health Department; 3 Nezhinskaya ul., Moscow, 119501, Russian Federation