

ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННИХ ФАКТОРІВ ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА ДИЛАТАЦІЙНУ КАРДІОМІОПАТІЮ

О.Я.Беспалова

*Інститут серцево-судинної хірургії
ім. акад. М. М. Амосова АМН України (Київ)*

Вступ

Вивчення імунопатологічних механізмів розвитку дилатаційної кардіоміопатії є однією з актуальних проблем сучасної кардіології. Дилатаційна кардіоміопатія (ДКМП) вважається захворюванням серцевого м'яза нез'ясованої етіології, що супроводжується розширенням порожнини серця з порушенням його систолічної функції. Серед причин розвитку дилатаційної кардіоміопатії може бути інфекційне ураження міокарда вірусами, бактеріями проте останнім часом все більше досліджень повідомляють про участь імунних реакцій в механізмах виникнення і розвитку дилатаційної кардіоміопатії [1,5,9]. Однією з ключових ланок патогенезу дилатаційної кардіоміопатії, незалежно від пошкоджувального чинника, є порушення біосинтетичних процесів в кардіоміоцитах, які приводять до виникнення функціональної недостатності, що супроводжується порушенням їх скорочувальної функції [3,4,8]. Імунозапальна реакція, яка протікає в міокарді серця приводить до розвитку системної гіпоксії, важких розладів мікроциркуляції, що визначає розвиток міокардіальної дисфункції [2,7,10]. В патогенезі розвитку дилатаційної кардіоміопатії важливу роль відводять вивченню імунних механізмів, зокрема функціональному стану імунокомпетентних клітин.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана згідно основного плану науково-дослідних робіт Інституту серцево-судинної хірургії ім.акад. М. М. Амосова АМН України (Київ) та є фрагментом теми "Дослідження особливостей імунітету та його корекція при патології міокарда у кардіохірургічних хворих" (№ держреєстрації 0106U000662).

Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

Мета роботи - вивчити стан клітинної ланки імунітету у хворих на дилатаційну кардіоміопатію.

Матеріали та методи дослідження

Матеріалом для дослідження служила венозна кров. Проведено обстеження 35 хворих на дилатаційну кардіоміопатію, середній вік хворих $42,3 \pm 7,8$ р. Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб - донорів крові.

Кількісні характеристики субпопуляцій лімфоцитів: CD3 (Т-лімфоцити), CD4 (Т-хелпери), CD8 (Т-супресори), CD16 (NK-клітини), CD25 (лімфоцити з рецептами до ІЛ-2), CD95 (рецептор апоптозу) - визначали методом фенотипування лімфоцитів в тестах розеткоутворення з частинками покритими моноклональними антитілами. Статистична обробка матеріалу проводилася з використанням універсальних статистичних програм Microsoft Excel з урахуванням критерію Ст'юдента [6].

Отримані результати та їх обговорення

При проведенні досліджень встановлено, що на момент обстеження у хворих на дилатаційну кардіоміопатію спостерігалось порушення стану клітинної ланки імунної системи (табл.1).

Таблиця 1

**Імунологічні показники у хворих
на дилатаційну кардіоміопатію**

До ліджувани показники периферичної крові	Хворі ДКМП	Контрольна група
	n = 35	n = 20
Лейкоцити Г/л	$9,8 \pm 1,3^*$	$5,64 \pm 0,8$
Лімфоцити, %	$29,6 \pm 1,5^*$	$37,2 \pm 1,8$
CD3 ⁺ %	$32,4 \pm 2,3^*$	$41,3 \pm 3,2$
CD4 ⁺ %	$23,5 \pm 1,9^*$	$16,7 \pm 1,7$
CD8 ⁺ %	$16,3 \pm 0,8^*$	$12,5 \pm 0,6$
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	$1,69 \pm 0,12^*$	$1,31 \pm 0,11$
CD16 ⁺ %	$25,7 \pm 2,2^*$	$20,3 \pm 1,7$
CD25 ⁺ %	$15,4 \pm 1,3^*$	$23,8 \pm 1,1$
CD95 ⁺ %	$28,3 \pm 1,7^*$	$16,8 \pm 0,9$

Примітки: * - відмінності показників відносно контрольної групи, ($p < 0,05$).

Виявлено достовірне збільшення кількості лейкоцитів у хворих ДКМП в порівнянні з контрольною групою і становило $9,8 \pm 1,3$ Г/л і $5,64 \pm 0,8$ Г/л, $p < 0,05$. При дослідженні імунних

Екологічна і клінічна імунологія та імунореабілітація

порушень у хворих на ДКМП важливим є визначення вмісту лімфоцитів в периферичній крові. Лімфоцити - головні клітини імунної системи. Вони приймають участь в розпізнаванні та зв'язуванні антигену, виробляють на цей антиген специфічні антитіла. Як показало дослідження у хворих ДКМП спостерігається достовірне зниження відносної кількості лімфоцитів і становить $29,6 \pm 1,5\%$, в порівнянні з контрольною групою $37,2 \pm 1,8\%$, $p < 0,05$. Зниження кількості лімфоцитів у хворих ДКМП, характеризує інтенсивність розвитку деструктивно-запального процесу в міокарді.

Виявлені зміни імунологічних показників характеризувалися статистично достовірним зниженням вмісту Т-лімфоцитів (CD3+) в порівнянні з контрольною групою. Так, відносна кількість CD3+ лімфоцитів у хворих на дилатаційну кардіоміопатію склала $32,4 \pm 2,3\%$ в порівнянні з контрольною групою $41,3 \pm 3,2\%$, $p < 0,05$. Зниження кількості Т-лімфоцитів у хворих на $22,5\%$ в порівнянні з контрольною групою, може приводити до клітинної дисфункції, а також впливати на диференційовку лімфоцитів.

Визначення субпопуляційного складу Т-клітин виявило достовірне підвищення відносної кількості CD4+ і CD8+ лімфоцитів у хворих на дилатаційну кардіоміопатію. Так рівень CD4+ лімфоцитів у хворих на дилатаційну кардіоміопатію склав $23,5 \pm 1,9\%$, при порівнянні з контрольною групою $16,7 \pm 1,7\%$, $p < 0,05$. Кількість CD8+ лімфоцитів теж достовірно відрізнялася від контрольної групи і становила у хворих ДКМП $16,3 \pm 0,8\%$ в порівнянні з контрольною групою практично здорових осіб $12,5 \pm 0,6\%$, $p < 0,05$. Одночасне збільшення популяції CD4+ і CD8+ лімфоцитів є результатом специфічних імунологічних кооперацій і може сприяти ще більшій дисфункції Т-клітин. Вивчення субпопуляційного складу Т-лімфоцитів показало, що збільшення хелперної та супресорної популяції призводило до підвищення імунорегуляторного індексу - співвідношення CD4+/CD8+ лімфоцитів. У хворих на дилатаційну кардіоміопатію він становив $1,69 \pm 0,12$ в контрольній групі $1,31 \pm 0,11$, $p < 0,05$. Таке співвідношення CD4+/CD8+ лімфоцитів при збільшеній кількості як хелперної так і супресорної популяції спостерігається при протіканні запального процесу в міокарді хворих дилатаційною кардіоміопатією і підтверджує посилену роботу імунної системи організму.

Для вивчення деструктивно - запального процесу в міокарді хворих на дилатаційну кардіоміопатію важливе значення має визначення рівня натуральних кілерів - НК клітин (CD16+ лімфоцитів). Натуральні кілерні клітини (CD16+) мають важливе значення в механізмі неспецифічного імунітету. Загальною особливістю цих клітин є здатність поглинати клітини мішені без попередньої антигенної стимуляції. Крім кілінгового ефекту НК клітини можуть здійснювати і регуляторну функцію, виділяючи при цьому різні біологічно активні речовини, такі як альфа- і гамма- інтерферони, інтерлейкіни - 1, 2 які проявляють регуляторну функцію в специфічному імунітеті. Як показали дослідження у хворих на дилатаційну кардіоміопатію спостерігався достовірно підвищений рівень CD16+ клітин в порівнянні з контрольною групою практично здорових осіб донорів крові і становив $25,7 \pm 2,2\%$ при контролі $20,3 \pm 1,7\%$, $p < 0,05$. Збільшення відносної кількості CD16+ лімфоцитів у хворих на дилатаційну кардіоміопатію можливо пов'язано з розвитком запальної реакції в міокарді, коли крім антиген-специфічних механізмів елімінації патогенна приймають участь і антиген-неспецифічні.

Стан клітинної ланки імунної системи характеризується, як кількісними характеристиками імунокомпетентних клітин так і їх функціональним станом. Одним із показників функціонального стану лімфоцитів є рівень експресії на їх клітинній поверхні рецепторів активації цих клітин - рецептора до інтерлейкіну 2 - CD25+, який утворюється на активованих Т-хелперах і бере участь в запуску імунологічної відповіді на антиген. Для оцінки можливості клітин імунної системи до активації, проліферації, диференціації і регуляції, проводили фенотипування маркеру активації CD25+.

При визначенні рівня CD25+ лімфоцитів у хворих на дилатаційну кардіоміопатію, виявили достовірне зниження рівня експресії рецепторів до ІЛ-2 (CD25+ лімфоцитів), що склало $15,4 \pm 1,3\%$ в порівнянні з контрольною групою $23,8 \pm 1,1\%$, $p < 0,05$. Можливо це саме той механізм, який підтверджує зниження специфічної імунної відповіді у хворих на дилатаційну кардіоміопатію. Зниження відносного числа CD25+ лімфоцитів в 1,5 раза у хворих на дилатаційну кардіоміопатію в порівнянні з контрольною групою

пояснюється зниженням функціональної активності лімфоцитів, що приводить до дисфункції клітинної ланки.

Для нормальної імунної відповіді необхідно взаємодія всіх імунокомпетентних клітин, а дисбаланс якої не будь в ланцюгу передачі інформації від клітини до клітини приводить до порушення імунної відповіді. Якщо клітина в ланцюгу передачі інформації не отримує необхідного сигналу, то настає анергія клітини, тобто розвивається неможливість до її активації і реалізації еферентної частини імунної відповіді, що приводить до апоптозу. Апоптоз, або запрограмована (фізіологічна) смерть клітини є тим механізмом, через який здійснюється генетична програма запрограмованої клітинної смерті в нормальних і патологічних процесах. Апоптоз як загально-біологічний процес присутній в усіх клітинних системах, в тому числі і в імунній. Поряд з проліферацією і диференціацією (альтернативними формами відповіді на антигенну стимуляцію) регулює кількісний склад різних популяцій клітин імунної системи і визначає результат антигенного впливу на організм, а саме розвиток імунної відповіді. Механізм апоптозу та порушенням їх регуляції належить одне з провідних місць у виникненні запалення та імунодефіцитних станів.

Як показали проведені дослідження у хворих на дилатаційну кардіоміопатію збільшена кількість лімфоцитів з CD95+ рецепторами, які готові сприйняти сигнал до індукції апоптозу. Так рівень CD95+ лімфоцитів у хворих на дилатаційну кардіоміопатію становив $28,3 \pm 1,7\%$, при порівнянні з контрольною групою практично здорових осіб $16,8 \pm 0,9\%$, $p < 0,05$, що може призводити до зниження кількості імунокомпетентних клітин які беруть участь в імунній відповіді.

Висновки

1. У хворих на дилатаційну кардіоміопатію спостерігалася дисфункція клітинної ланки імунної системи, що проявлялася достовірним зниженням відносної кількості Т-лімфоцитів на 22,5% в порівнянні з групою практично здорових осіб та порушенням субпопуляційного складу за рахунок достовірного збільшення хелперної та супресорної популяції клітин.

2. Розвиток деструктивно-запального процесу в міокарді серця хворих дилатаційною кардіоміопатією призводить до порушень

клітинних факторів імунітету: в 1,3 рази збільшена відносна кількість натуральних кілерів; знижений рівень CD25+ лімфоцитів та активовані лімфоцити з рецепторами апоптозу CD95.

3. В подальшому є перспективним вивчення можливості проведення імунокорекції, направленої на ліквідацію дисбалансу клітинної ланки імунної системи у хворих на дилатаційну кардіоміопатію.

Література

1. Барт Б.Я. Дилатационная кардиомиопатия в практике терапевта и кардиолога / Б.Я. Барт, В.Ф. Беневская // *Терапевтический архив*. - 2004. - № 1. - С.12-17.
2. Гурвич М.А. Дилатационная и ишемическая кардиомиопатия: вопросы дифференциальной диагностики / М.А. Гурвич, Б.В. Гордиенко // *Клиническая медицина*. - 2003. - № 9. - С. 68-71.
3. Имунный ответ на некоторые внутриклеточные антигены у больных с различными вариантами дилатационной кардиомиопатии / Д.В. Рябенко, Л.Л. Сидорей, В.И. Бобык [и др.] // *Украинский журнал*. - 2001. - № 1. - С.72-75.
4. Иммунологические аспекты дилатационной кардиомиопатии / Л.З. Александрова, М.Ю. Самсонов, С.Г. Осипов [и др.] // *Клиническая медицина*. - 1988. - № 6. - С. 48-51.
5. Коваленко В.Н. Некоронарные болезни сердца. Практическое руководство / В.Н. Коваленко, Е.Г. Несукай; под ред. В.Н. Коваленко. - Киев: Морион, 2001. - 480 с.
6. Лапач С.Н. Статистические методы в медикобиологических исследованиях с использованием EXCEL / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. - Киев: Морион, 2000. - 320 с.
7. Насонов Е.Л. Дилатационная кардиомиопатия, вирусная инфекция и аутоиммунитет / Е.Л. Насонов // *Клиническая медицина*. - 1990. - № 7. - С.3-8.
8. Ройт А. Иммунология / А. Ройт, Дж. Бристофф, Д. Мейл; пер. с англ. - М.: Мир, 2000. - 592 с.
9. Antiinflammatory effects of cardiac resynchronization therapy in patients with chronic heart failure / Panaciota Flevari, Christos Kroupis, Stamatis Adamopoulos, Anna Kostopoulou // *Pacing and Clinical Electrophysiology*. - 2006. - Vol. 29, № 3. - P.255-261.
10. Caforio A. Cardiac autoantibodies to myosin and other heart- and dilated cardiomyopathy / A. Caforio, N. Mahon, W. McKenna // *Autoimmunity*. - 2001. - Vol. 34. - P.199-204.

Резюме

Беспалова О.Я. *Особенности клеточных факторов иммунитета у больных на дилатационную кардиомиопатию.*

Проведені дослідження клітинних факторів імунітету показали, що у хворих дилатационною кардиомиопатією спостерігався дисбаланс клітинної ланки імунної системи, що проявлявся достовірним зниженням відносної кількості CD3+ лімфоцитів, дисбалансом імунорегуляторних клітин підвищенням хелперної та супресорної популяції клітин, що призводило до підвищення імунорегуляторного індексу. Одночасно мало місце достовірне збільшення кількості CD16+ та CD95+ лімфоцитів. Зниження функціональної активності лімфоцитів, проявлялося достовірним зменшенням кількості CD 25+ клітин. Розвиток деструктивно-запального процесу в міокарді серця хворих дилатационною кардиомиопатією призводить до порушень клітинних факторів імунітету.

Ключові слова: дилатационна кардиомиопатія, лімфоцити, клітинний імунітет.

Резюме

Беспалова Е.Я. *Особенности клеточных факторов иммунитета у больных дилатационной кардиомиопатией.*

Исследования клеточных факторов иммунитета показали, что у больных дилатационной кардиомиопатией наблюдался дисбаланс клеточного звена иммунной системы, который проявлялся достоверным снижением относительного количества CD3+ лимфоцитов, дисбалансом имунорегуляторных клеток повышением хелперной и супресорной популяции клеток. Одновременно имело место достоверное увеличение количества CD16+ и CD95+ лимфоцитов. Снижение функциональной активности лимфоцитов, проявлялось достоверным уменьшением количества CD 25 + клеток. Развитие деструктивно-воспалительного процесса в миокарде больных дилатационной кардиомиопатией приводит к нарушениям клеточных факторов иммунитета.

Ключевые слова: дилатационная кардиомиопатия, лимфоциты, клеточный иммунитет.

Summary

Bespalova E. Ya. *Cellular factors of immunity peculiarities in patients with dilated cardiomyopathy.*

Studies of cellular immunity factors showed that in patients with dilated cardiomyopathy imbalance of cellular link of the immune system is observed, which revealed significant reduction in the relative number of CD3+ lymphocytes, imbalance of immunoregulatory cells increase in helper and suppressor cell population, which led to an increase in immunoregulation index. At the same time there has been a significant increase in CD16+ and CD95+ lymphocytes. Reduced of lymphocytes functional activity, manifested reliable decrease in CD 25+ cells. Development of destructive, inflammatory process in the myocardium of patients with dilated cardiomyopathy leads to disturbances of factors cellular immunity.

Key words: dilated cardiomyopathy, lymphocytes, cellular immunity.

Рецензент: д. мед. н., проф. М. О. Пересадин

УДК 612.017.1.08

**ALTERNATIVELY SPLICED INTERLEUKIN-4
PROTEIN, INTERLEUKIN-4 DELTA2,
IS NATURALLY SECRETED BY T CELLS**

A.Bocharov

*National University of Pharmacy (Kharkov)
University of Maryland School of Medicine*

Introduction

Interleukin-4 (IL-4) is a pleiotropic cytokine produced predominantly by Th2 lymphocytes that is involved in the regulation of various functions of B cells [9], T cells [15], macrophages [3], and other hematopoietic [12] and nonhematopoietic cells [6]. IL-4 gene is expressed in two mRNA forms: 1) full-length form containing all four exons and 2) alternatively spliced mRNA form, known as interleukin-4 delta 2 (IL-4δ2), in which exon 2 (corresponds to amino acids 22 to 37) is omitted [10,18]. Expression of IL-4δ2 mRNA was described previously in peripheral blood mononuclear cells (PBMC), thymocytes and bronchoalveolar lavage cells. It was observed that IL-4δ2 mRNA is expressed in the PBMC in lower amounts than IL-4 mRNA. In contrast, IL-4δ2 mRNA is expressed in much higher levels than IL-4 mRNA in thymocytes and bronchoalveolar lavage cells, suggesting tissue specificity of expression [2,13]. It was also reported that the total levels of combined IL-4 + IL-4δ2 mRNAs and IL-4/IL-4δ2 mRNA ratios change in patients with asthma [7, 16], systemic sclerosis [17], associated with infectious diseases such as pulmonary tuberculosis [4], Helicobacter pylori infection [11], HIV-tuberculosis co-infection [5], and in patients with severe sepsis [8]. However, it still remains unknown whether IL-4δ2 is expressed as a protein in vivo. Comparative analysis between predicted molecular model of IL-4δ2 proteins and crystal structure of human recombinant interleukin-4 showed that they have similar conformational structure and nearly identical charge [20].

Recombinant human IL-4 delta 2 protein (rhIL-4δ2p) was expressed in yeast [2] and in Escherichia coli [14] and effects of rhIL-4 δ2p in vitro were studied. As described previously, rhIL-