

Т-КЛЕТОЧНОЕ ЗВЕНО ИММУНИТЕТА И ФУНКЦИЯ ЕСТЕСТВЕННЫХ КЛЕТОК-КИЛЛЕРОВ У БОЛЬНЫХ НЕРЕВМАТИЧЕСКИМИ И РЕВМАТИЧЕСКИМИ МИОКАРДИТАМИ

(Сообщение 1)

Ю.И. Афанасьев, А.А. Попов

Интерес к неревматическим миокардитам обусловлен неоднозначностью сведений о роли иммунологических механизмов в патогенезе и клинике болезни и стремлением выявить дифференциально-диагностические критерии с близким по патогенезу ревматическим поражением миокарда.

Материалы и методы исследования

Исследовано 34 индивидуума, страдающих неревматическим миокардитом, и 100 – с ревматическим поражением миокарда. В контрольную группу вошли 155 человек. Возраст исследованного контингента составлял от 20 до 55 лет.

В диагностике ревматического поражения миокарда руководствовались рекомендациями, разработанными Институтом ревматологии РАМН [3, 9].

Клапанное поражение миокарда верифицировали с помощью эхокардиографического метода исследования. Инфекционно-аллергический миокардит диагностировали, используя критерии, предложенные В.А. Максимовым (1979 г.) и Н.Р. Палеевым с соавт. (1982 г.). Тонзиллогенную этиологию инфекционно-аллергического миокардита определяли на основании заключения врача-отоларинголога и результатов бактериологического исследования. Этиологическими факторами острых респираторных заболеваний, явившихся причиной миокардита, были аденовирусы и вирусы Коксаки «В». Аритмический вариант течения миокардита наиболее часто регистрировался при тонзиллогенной природе заболевания, смешанный вариант – при вирусной. При аритмическом варианте регистрировалась политопная экстрасистолия, блокада правой ножки пучка Гиса, пароксизмальная тахикардия. Смешанный вариант течения миокардита характеризовался комбинацией кардиалгического, астматического и аритмического признаков болезни. Эффективность проводимой терапии оценивали на основании положительной динамики ЭКГ, уменьшения признаков сердечной декомпенсации, стойкого исчезновения нарушений ритма и проводимости, нормализации гематологических сдвигов. В качестве базисной терапии использовали общепринятые, этиопатогенетически обусловленные методы медикаментозной коррекции.

Для проведения иммунологических исследований использовали лимфоциты, выделенные седиментацией 10 мл периферической венозной крови в градиенте плотности фиколл-верографин (1,077 г/см³).

Количественное содержание Т-лимфоцитов и их клонотипов определяли в микролимфоцитотоксическом тесте [6] с применением моноклональных антител («Ortho»). Функциональную активность Т-лимфоцитов исследовали в реакции бласттрансформации (РБТЛ), индуцированной поликлональными митогенами – фитогемагглютинином (ФГА) и конканавалином «А» (Кон «А»). Оценка пролиферативного ответа лимфоцитов производили через 72 часа по уровню включения ³Н-тимидина, введенного в дозе 5 мкКи/мл за 4 часа до окончания культивирования. Активность неспецифических Кон «А»-индуцированных Т-супрессоров определяли методом двойной бласттрансформации [12]. Активность естественных клеток-киллеров (ЕКК) оценивали по их

мембранотоксическому действию на клетки-мишени K562, меченные ³H- уридином (5 мкКи/мл) в присутствии РНК- азы в дозе 1 мкг/мл [11].

Статистическая обработка иммунологических показателей проведена с вычислением средней арифметической (M), ошибки средней арифметической (t) и достоверности различия по критерию Стюдента (t).

Корреляционный анализ показателей иммунокомпетентных клеток с вычислением регрессионных функций проведен общепринятыми методами [4, 7], используя в зависимости от формы распределения признаков критерии Браве – Пирсона и Спирмена.

Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью персонального компьютера с применением пакета прикладных программ.

Результаты исследования и их обсуждение

В табл. 1 представлены результаты оценки иммунологического статуса у больных неревматическим миокардитом.

Таблица 1

Количественные и функциональные показатели клеточного звена иммунитета у больных неревматическим миокардитом

Показатели клеточного иммунитета	n		Неревматический миокардит	n	Здоровые
Включение ³ H- тимидина в нестимулированную культуру клеток (имп/мин)		34	810,0 ± 50,4	129	744,0 ± 41,4
РБТЛ (ИС, %)	30	34	35,6 ± 5,3*	128	51,4 ± 2,8
ФГА (мкг/мл)	40	31	41,3 ± 6,4	94	53,5 ± 3,1
	50	31	37,5 ± 5,6	94	48,4 ± 3,2
опт. доза		34	44,7 ± 6,2*	128	58,8 ± 3,0
РБТЛ (ИС, %)	1	31	73,3 ± 0,9****	99	24,7 ± 1,9
Кон «А» (мкг/мл)	2	34	7,8 ± 1,7****	87	26,9 ± 1,9
	5	31	9,0 ± 1,5****	87	25,1 ± 1,8
опт. доза		34	14,1 ± 3,2****	114	30,4 ± 1,7
Активность Кон «А» -индуцированных Т- супрессоров:					
индекс активации		14	-40,2 ± 7,8***	47	-103,1 ± 21,1
индекс супрессии		19	36,6 ± 4,9	68	43,4 ± 2,2
индекс регуляции		33	9,5 ± 7,9	115	-16,5 ± 11,0
Активность ЕКК (ИЦ %)		34	37,8 ± 1,6*	104	43,3 ± 2,2
ОКТ 3 ⁺		20	28,3 ± 4,0	61	35,0 ± 2,4
ОКТ 4 ⁺		20	30,8 ± 7,0	61	34,0 ± 2,7
ОКТ 8 ⁺		20	16,4 ± 3,1	61	17,9 ± 1,3

Примечание: здесь и далее * – p < 0,05; ** – p < 0,02; *** – p < 0,01; **** – p < 0,001

Анализ количественных показателей ОКТ⁺ лимфоцитов показал отсутствие существенных различий в сравниваемых группах здоровых и больных лиц. Из приведенных данных видно, что при неревматическом миокардите регистрируется значительное угнетение митогениндуцированной пролиферации Т-клеток, наиболее ярко проявляющиеся при воздействии на клетки в РБТЛ Кон «А»-лектина.

Уровень пролиферативной активности лимфоцитов в группе больных миокардитом оказался в 2 – 3 раза ниже показателей здоровых доноров.

Отмечены различия с контрольной группой и при анализе регуляторного звена иммунитета. Если в группе здоровых доноров отчетливо регистрируется активирующее направление Т- регуляторов, то при миокардите отмечается превалирование супрессирующей потенции Т- регуляторов: активирующий потенциал Т-супрессоров при неревматическом поражении миокарда оказался более чем в 2 раза ниже контрольных цифр ($p < 0,01$).

Ощутимое угнетение функциональной активности иммунокомпетентных клеток выявлено в группе больных лиц и при сопоставлении мембранотоксического эффекта ЕКК ($p < 0,05$).

Количественная характеристика и функциональные показатели клеточного иммунитета у больных ревматическим миокардитом представлены в табл. 2.

Таблица 2

Количественные и функциональные показатели клеточного звена иммунитета у больных с ревматическим поражением миокарда

Показатели клеточного иммунитета	Здоровые		Больные	
	n	Здоровые	n	Больные
Включение ³ H- тимидина в нестимулированную культуру клеток (имп/мин)	129	744,0 ± 41,4	94	425,0 ± 30,1****
РБТЛ (ИС %) ФГА (мгк/мл)	30	128	88	25,5 ± 1,9****
	40	94	74	31,8 ± 2,4
	50	94	73	33,1 ± 2,5****
	опт. доза	128	88	36,0 ± 2,9****
РБТЛ (ИС %) Кон «А» (мгк/мл)	1	99	66	12,8 ± 1,5****
	2	87	74	13,5 ± 1,4****
	5	87	61	14,3 ± 1,6****
	опт. доза	114	82	18,2 ± 1,6****
Активность Кон «А» - индуцированных Т- супрессоров: индекс активации индекс супрессии индекс регуляции	47	-103,1 ± 21,1	33	-86,6 ± 15,5
	68	43,4 ± 2,2	43	47,2 ± 3,8
	115	-16,5 ± 11,0	76	-10,6 ± 10,5
Активность ЕКК (ИЦ %)	104	43,3 ± 2,2	77	46,9 ± 3,1
ОКТ 3 ⁺	61	35,0 ± 2,3	42	25,2 ± 2,2*
ОКТ 4 ⁺	61	34,0 ± 2,7	42	26,3 ± 2,4*
ОКТ 8 ⁺	61	17,9 ± 1,3	42	16,5 ± 2,1

Из приведенных в табл. 2 данных видно, что при ревматическом процессе, в сравнении со здоровыми лицами, регистрируется снижение общего пула Т-клеток и Т-хелперов. Выявляется достоверное снижение функциональных характеристик Т-лимфоцитов в ответ на воздействие оптимального диапазона доз поликлональных митогенов. Показатели регуляторного звена иммунитета и активности ЕКК были близкими в сравниваемых группах.

Зарегистрированное в двух сравниваемых группах больных угнетение функциональной активности иммунокомпетентных клеток свидетельствует об однотипности признаков иммунологической недостаточности при изучаемых заболеваниях миокарда. Изолированные нарушения в количественных и функциональных параметрах клеточного звена иммунитета в условиях ревматического и неревматического миокардита не могут претендовать на роль диагностических критериев, поскольку подобные сдвиги являются в большей степени лишь отражением сложных процессов, локализованных преимущественно в регуляторных системах. В связи с этим представлялось необходимым провести поиск взаимосвязей функциональных характеристик иммунокомпетентных клеток и оценить их роль в патогенезе и клинике поражений миокарда.

**Взаимосвязь (r) между функциональными компонентами
Т-супрессоров и активностью ЕКК
у больных ревматическим и неревматическим миокардитом**

Группы исследованных	n	Индекс супрессии – активность ЕКК	n	Индекс активации – активность ЕКК	n	Индекс регуляции – активность ЕКК
Контроль	44				83	
Ревматизм	36	-0,37*			63	
Возвратный ревмокардит с пороком	31	-0,45*			53	
Слабо выраженный кардит	20	-0,56**			28	
Наличие наследственной отягощенности по ревмати- ческим заболеваниям	14	-0,51*			19	
Отсутствие агрегации болезни в родословной	30	-0,45**			49	
Наличие агрегации болезни в родословной	18		8	+0,67*	13	
Отсутствие эффекта прово- димой терапии	18		18	+0,52*	40	
Неревматический миокардит: аритмический вариант			14	+0,59	33	0,31
позитивный эффект проводимой терапии			10	+0,78**	16	+0,63***
тонзилотенный			11	+0,76*	11	+0,60*
			6	+0,78	11	+0,75***

Как показали проведенные исследования у здоровых лиц регистрируются обратные корреляционные отношения функциональных компонентов Т-супрессоров с митогениндуцированной пролиферацией лимфоцитов: коэффициент корреляции (r) в системах индекс супрессии – ФГА-индуцированная пролиферация клеток составил – 0,53 ($p < 0,001$); индекс супрессии – Кон «А»-индуцированная пролиферация клеток – 0,38 ($p < 0,02$); индекс активации – ФГА-индуцированная пролиферация клеток – 0,59 ($p < 0,01$).

Взаимодействие регуляторного звена иммунитета с функциональной активностью Т-системы лимфоцитов у здоровых лиц развивается в соответствии с уравнением линейной регрессии ($Y=69,89 - 0,4 X$; $Y= -68,8 - 0,7X$).

Как видно из табл. 3, в общей группе больных ревматизмом теряются связи, свойственные здоровой группе изучаемого контингента лиц, и формируются новые на уровне взаимодействия показателей супрессирующего потенциала Т-регуляторов, спонтанной пролиферацией лимфоцитов ($p < 0,05$) и активностью ЕКК ($p < 0,05$).

Взаимоотношения между супрессирующим компонентом Т-супрессоров и ЕКК становятся еще более демонстративными при клинических проявлениях болезни. Так, при слабовыраженном ревмокардите и у больных с наследственной отягощенностью эти связи усиливаются до уровня регрессионных отношений, развивающихся в соответствии с уравнениями линейной и степенной регрессии ($Y = 117,44 + X^{-0,27}$; $Y = 59,28 - 0,04X$). Помимо этого, в случаях рефрактерности проводимой терапии и агрегации болезни в родословной формируется прямая связь между активирующим потенциалом Т-супрессоров и мембранотоксичностью ЕКК.

Учитывая принадлежность ЕКК к популяции полипотентных клеток с разнообразными функциями, в том числе и иммуномодулирующими [2, 5, 13], можно полагать, что в патогенезе ревматического поражения миокарда существенная роль принадлежит взаимодействию двух иммунорегуляторных систем – Т-супрессорам и ЕКК.

В отличие от ревматического процесса у больных миокардитом (табл. 3) характерным явилось формирование прямых регрессионных отношений между активирующим потенциалом Т-регуляторов и мембранотоксической функцией ЕКК ($Y = 40,79 + 0,14X$).

Еще более разительно отличались сравниваемые группы больных при анализе суммарного иммунорегуляторного индекса с активностью ЕКК. При ревматическом процессе подобная связь вообще не выявлялась, в то время как при неревматическом миокардите она встречалась в большинстве исследованных случаев, носила прямой характер и развивалась в соответствии с уравнением линейной регрессии ($Y = 38,86 + 0,09X$; $Y = 36,45 + 0,22X$; $Y = 36,72 + 0,09X$). Важно отметить, что связь иммунорегуляторного индекса с активностью ЕКК обнаружена при миокардите тонзиллогенной этиологии, т.е. состоянии, являющимся пусковым для ревматического процесса. Полученные данные, очевидно, позволяют отнести выявленную иммуноклеточную взаимосвязь, формирующуюся в условиях превалирования активирующего потенциала Т-регуляторов, к признакам проявления компенсаторных механизмов, поскольку при ее наличии у больных неревматическим миокардитом зарегистрирована положительная динамика в лечении и отмечено, в отличие от ревматического поражения миокарда, участие ЕКК во взаимоотношениях со сниженной ФГА-индуцированной функцией Т-клеток.

С этих позиций тонзиллогенный миокардит представляет собой, вероятно, патологию с компенсированной стадией иммунологической недостаточности, а ревматизм – с декомпенсированной. Вирусный миокардит, по-видимому, следует выделить как особую форму иммунопатологии, специфичность которой при изучаемом заболевании подлежит уточнению в дополнительных экспериментах, поскольку по исследованным параметрам при данной форме болезни не удалось выявить существенных различий в сравнении со здоровыми людьми.

Библиографический список

1. *Афанасьев Ю.И.* Иммунология заболеваний миокарда различного генеза у жителей аридной зоны: Дис. ... д-ра. мед. наук. - М., 1993.
2. *Бахов Н.И., Александрова Л.З., Осипов С.Г. и др.* Антителозависимая и естественная клеточная цитотоксичность у больных кардиомиопатией // Тер. архив. - 1986. - №10. - С. 62-67.
3. *Беневоленская Л.И., Андреев Н.А., Бржезовский М.М. и др.* Апробация диагностических критериев ревматизма, предназначенных для эпидемиологических исследований // Вопросы ревматологии. - 1975. - №3. - С. 3-8.
4. *Гублер Е.В.* Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. - М.: Медицина, 1978. - С. 293.
5. *Дмитриева Н.Г.* HLA- генетический контроль активности естественных клеток-киллеров: Дис. ... канд. мед. наук. - М., - 1988.
6. *Исхаков А.Т., Алексеев Л.П., Багурин П.С., Яздовский В.В.* Комплементзависимый микролимфоцитолит для количественного анализа субпопуляций лимфоцитов // Иммунология. - №6, - С. 75-76.
7. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. - М.: Высшая школа, 1980. - С. 289.
8. *Максимов В.А.* Миокардиты. - Л.: Медицина, 1979. - С. 235.
9. *Насонова В.А., Астапенко М.Г.* Клиническая ревматология. - М.: Медицина, 1989. - С. 590.
10. *Палеев Н.Р., Одинокова В.А., Гуревич М.А., Найшитедт Г.М.* Миокардиты. - М.: Медицина, 1982. - С. 268.
11. *Рыкова М.П., Спиранде И.В., Зедгендзе М.С. и др.* Новая высокочувствительная техника тестирования нормальных киллеров // Иммунология. - 1981. - №3. - С. 88-90.
12. *Shou L., Schwartz S.A., Good R.A.* Suppressor cell activity after concanavalin A treatment lymphocytes from normal donors // J. exp. Med. - 1976. -Vol. 143. -P. 1100-1110.
13. *Wilder J.A., Yuan D.* Reduction of murine natural killer cell activity in vivo partially inhibits a specific anti-TNP response: Abstr. Keystone Symp., Keystone, 10 - 1993 // J. Cell. Biochem. - 1993. -Suppl. 178. -P. 212.