

СЛУЖБА
ИЗВЕШТАЈИ

4
2003

ФАКТОР НЕКРОЗУ ПУХЛИН У ХВОРИХ НА ДИФТЕРІЙНИЙ МІОКАРДИТ ПРИ ПРОСПЕКТИВНОМУ СПОСТЕРЕЖЕННІ

О.К. ДУДА¹, М.О. ВОДЯНИК², М.Є. ГУМЕНЮК²

¹Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ,
кафедра інфекційних хвороб

зав. кафедри – академік АМН України, професор Ж.І. Возіанова

²Інститут педіатрії, акушерства та гінекології АМН України
керівник лабораторії імунології – професор В.П. Чернишов

ключові слова:

*дифтерія, дифтерійний міокардит,
фактор некрозу пухлин*

Захворюваність на дифтерію на початку нового тисячоліття є актуальною інфекційною проблемою для України [3, 4]. Збільшується кількість хворих, які мають ускладнення з боку серця після цієї інфекційної патології [1, 5].

Спостереження в катамнезі за хворими на дифтерійний міокардит свідчать про наявність серцевої недостатності (СН) не менше ніж в 1/3 хворих. СН спостерігається навіть з нормальною скорочувальною функцією міокарда внаслідок порушення наповнення серця в діастолу і є одним з головних чинників, що призводить до інвалідизації хворих у віддалений період хвороби [1].

Втрата скоротливих елементів, а саме кардіоміоцитів, відіграє головну роль у розвитку і прогресуванні СН [7, 10]. Загибель кардіоміоцитів опосередкована двома механізмами: некрозом та апоптозом. Вони характеризуються різноманітними морфологічними й молекулярними проявами та різними ефектами на тканини, які їх оточують. Так, при апоптозі насамперед виникають різні зміни в ядрі з конденсацією хроматину, який утворює так звані "кільця" на внутрішній поверхні мембран ядра. У цитоплазмі спостерігається конденсація і зморщення гранул, розширення ендоплазматичного ретикулулу. Мембрана втрачає мікроворсинки і звичайну збірчастість, утворює пухироподібні здуття. У подальшому клітини заокруглюються, інтрацелюлярні простори розширюються та порушуються міжклітинні контакти. Спостерігається фрагментація ядер і цитоплазми, а самі клітини розпадаються на дрібні тільця, які вмістять інтактні органели, грудки хроматину, оточені мембранами. Такі апоптозні тільця швидко фагоцитуються макрофагами й сусідніми клітинами того ж виду. На відміну від некрозу апоптоз часто спостерігається в окремих клітинах, тому не виділяються медіатори запалення, а в оточуючих тканинах не спостерігається розвиток вторинної запальної реакції [8, 10].

З одного боку, апоптоз – це механізм, який здійснює фізіологічно програмовану загибель клітин у процесі ембріогенезу і звичайної життєдіяльності тканин, а з іншого – відіграє важливу роль при патологічних процесах, які викликані різноманітними пошкоджувальними факторами, в тому числі й інфекційними. Довгий час вважали, що програмована клітинна загибель нехарактерна для високодиференційованих тканин. Тільки у 1994 році Kawano H. та співавт. [10] встановили присутність апоптозу при гострому і хронічному перебігу міокардиту. У літературі ми зустріли поодинокі роботи, присвячені апоптозу при міокардиті, а при дифтерійному міокардиті не зустріли жодної.

Механізм безпосередньої активації апоптозу вільними радикалами до кінця не встановлено [6]. Не дивлячись на велику кількість патофізіологічних агентів, які провокують апоптоз, вважають, що головну роль відіграє ФНП. ФНП- α є автокринним співучасником міокардіальної дисфункції і смерті кардіоміоцитів при міокардитах. Місцево синтезований ФНП- α сприяє гіпоксичній міокардіальній дисфункції шляхом прямої депресії контрактильності й індукції кардіоміоцитів; системно синтезований — пов'язаний з недостатністю кровообігу (СН) внаслідок розвитку кахексії. При розвинутій СН спостерігається високий рівень циркуляції розчинних ФНП- α і ФНП- α -рецепторів (рФНП-Р) [9].

Біологічна активність фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α) опосередковується зв'язуванням із специфічними високоафінними мембранними рецепторами (ФНП-Р) з молекулярною масою 55 кДа (рецептор I-го типу) і масою 75 кДа (рецептор II-го типу) — ФНП-Р55 і ФНП-Р75. У сироватці та інших біологічних рідинах визначають розчинені ФНП-Р (рФНП-Р), які є позаклітинним доменом мембранасоціюваного ФНП-Р [2].

Загальна характеристика хворих та методи. Обстежено 40 хворих, які перенесли на дифтерію різного ступеня тяжкості з ускладненням з боку серця. Хворі знаходилися на лікуванні та обстеженні в інфекційному відділенні ЦМКЛ м. Києва у 1996-2000 рр., з них частина була переведена до кардіологічного відділення. Хворих виписували із стаціонару після клінічного одужання. У подальшому за ними проводили диспансерний нагляд на амбулаторному етапі. Проспективне спостереження тривало від 6 до 12 місяців.

Вік хворих становив від 19 до 68 років (в середньому — $33,5 \pm 3,7$ років); чоловіків було 18 (45%), жінок — 22 (55%). Частота виникнення і ступінь тяжкості ускладнень з боку різних органів та їх комбінації частіше збігалися з проявами тяжкості дифтерії. Відповідно до ступеня тяжкості дифтерії хворі були розділені наступним чином: дифтерія легкого ступеня була у 32,3% хворих, середньотяжкого — у 52,2%; тяжкого — 14,5%.

Діагноз "дифтерія" встановлювали на підставі типових клінічних проявів та бактеріологічного підтвердження шляхом виділенням *Corynebacterium diphtheriae*. Діагноз "міокардит" встановлювали відповідно до критеріїв Нью-Йоркської асоціації кардіологів (NYHA), 1964, 1973 рр. з доповненнями Палєєва Н.Р. та співавт., 1982 та Новікова Ю.І., 1988. Ступінь серцевої недостатності встановлювали за критеріями Василенко В.Х., Стражеско М.Д., 1934.

При обстеженні хворих у катамнезі ретельно вивчали анамнез, аналізували скарги в різні періоди хвороби, дані об'єктивного дослідження (пульс, артеріальний тиск); проводили електрокардіографічне (ЕКГ) дослідження в динаміці, враховували результати ехокардіографічного (ЕхоКГ) обстеження, а також результати клініко-лабораторних показників. Розподіл хворих на дифтерійний міокардит за ступенем СН подано на рис. 1.

У хворих з перенесеною дифтерією та з ускладненням ДМ при динамічному спостереженні визначали фактор некрозу пухлин (ФНП). Для цього використовували наступні системи: рекомбінантний ФНП людини (питома активність 4×10^7 од/мг), отриманий від Fermentas MBI (м. Вільнюс, Литва) і НВО "Вектор" (м. Бердськ, Росія). Біологічний стандарт ФНП людини (№ 87/650) отримано від NIBCS (National Institute for Biological Standards and Control, Hertfordshire, England). Високоочищені препарати р55 і р75, рФНП-Р, мкАт проти р55 (mAb № 20) і р75 (mAb № 13), а також анти-р55 пкАт люб'язно надані проф. Wallach D. (Weizmann Institute of Science, Rebovot, Israel). Всі біологічні реагенти отримані від Sigma Chemical Co., USA.

Біологічну активність ФНП оцінювали за цитотоксичною дією на клітини L929 і HEp-2 у тесті з кристалічним фіолетовим (Aggarwal et al., 1985) і за апоптозним ефектом на клітини U973 у тесті з 3Н-тимідином (Higuchi et al., 1995). Імуноферментний аналіз виконували на спеціальному обладнанні фірм Wallas (Фінляндія) і Labsystems (Фінляндія). Включення 3Н-тимідину вимірювали на приладі Betaplate (Wallas, Фінляндія).

Отримані результати проведених досліджень обробляли методами варіаційної статистики. Вірогідність відмінностей при порівнянні середніх арифметичних значень визначали за допомогою критерію Стьюдента, а при порівнянні частоти ознаки — методом альтернативного варіювання. Для статичного аналізу також викори-

Рис. 1. Розподіл хворих на ДМ по проявах серцевої недостатності

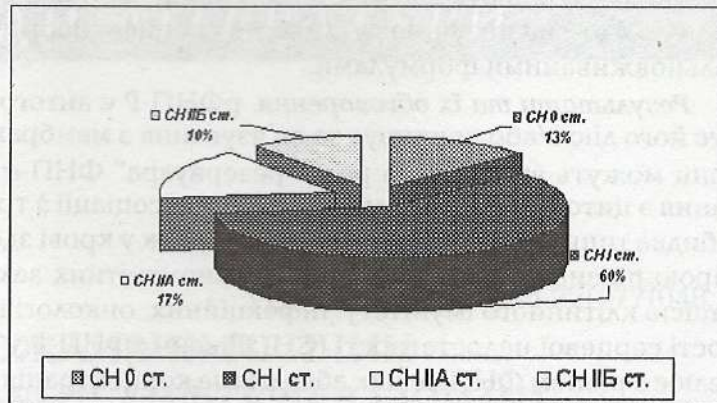


Рис. 2. Фактор некрозу пухлин у хворих на ДМ при проспективному спостереженні протягом 6-12 місяців

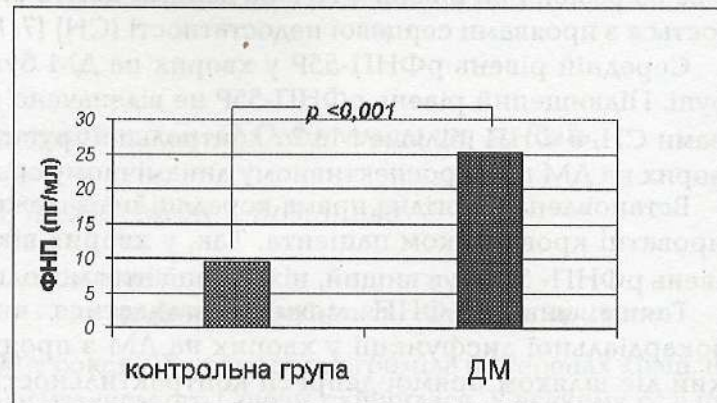


Рис. 3. рФНП - 55Р у хворих на ДМ при проспективному спостереженні протягом 6 - 12 місяців

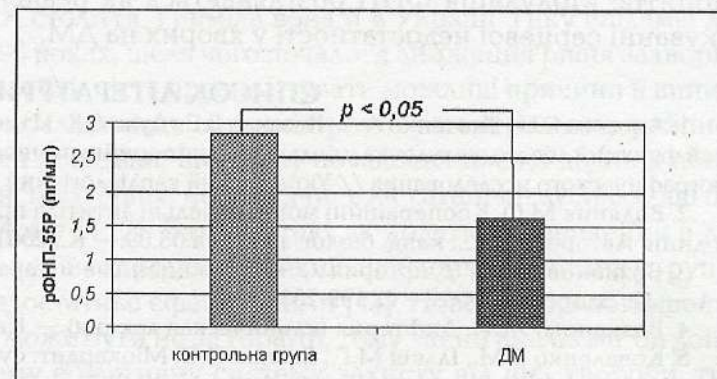
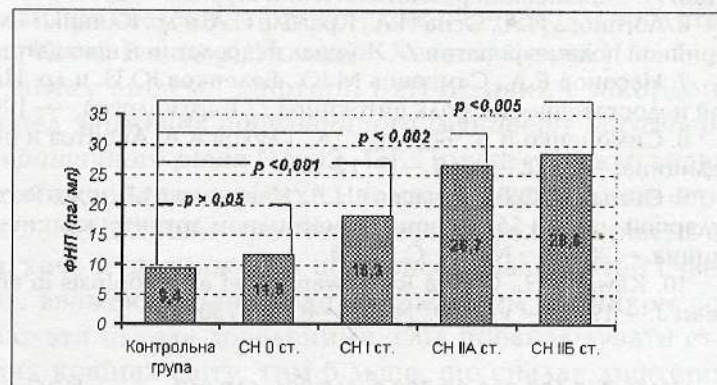


Рис. 4. Показник ФНП у хворих на ДМ з різними проявами СН при проспективному спостереженні



стовували наступні тести: (1) тест Колмогорова-Смирнова для нормального розподілу; (2) t-тест Стюдента і U-тест Mann-Whitney для порівняння середніх величин у непарних вибірках; (3) тест Wilcoxon для порівняння середніх величин у парних вибірках; (4) кореляційний і регресивний аналіз. Відмінності вважались вірогідними при $p < 0,05$. Кореляційний аналіз показників проводили за допомогою пакета прикладних програм Statistica (версія 5.3).

Контрольну групу становили 25 здорових людей. Групи спостереження були близькі за віком та статтю.

Інформативність діагностичних і диференціально-діагностичних ознак оцінювали шляхом визначення чутливості, специфічності та цінності передбачення за загальноновживаними формулами.

Результати та їх обговорення. рФНП-Р є антогоністами ФНП- α напряму, блокує його дію і/або конкурує за зв'язування з мембранними рецепторами. Водночас вони можуть виконувати роль "резервуара" ФНП- α в організмі, а шляхом зв'язування з цитокином і уповільнення його дисоціації з тримера в неактивний мономер. Обидва типи рФНП-Р визначаються також у крові здорових осіб. Їх рівень значною мірою підвищується за наявності різноманітних захворювань, пов'язаних з активністю клітинного імунітету: інфекційних, онкологічних, аутоімунних та при наявності серцевої недостатності (СН). Рівень рФНП-Р у сироватці крові не завжди корелює з рівнем ФНП, однак абсолютна концентрація рФНП-Р частіше значно вища (у 20-30 разів), ніж рівень ФНП. За даними цілого ряду авторів, рівень ФНП корелюється з проявами серцевої недостатності (СН) [7, 8].

Середній рівень рФНП-55Р у хворих на ДМ був нижчим, ніж у контрольній групі. Підвищений рівень рФНП-55Р не відзначено в жодній з груп хворих з проявами СН, а ФНП (більше $M \pm 2\sigma$ контрольної групи) виявили підвищеним у 68,7% хворих на ДМ при проспективному динамічному спостереженні ($p < 0,001$).

Встановлена вірогідна пряма кореляційна залежність між рівнем рФНП- 55Р у сироватці крові і віком пацієнта. Так, у хворих віком старше 50 років середній рівень рФНП- 55Р був вищий, ніж у пацієнтів молодшого віку ($p < 0,005$).

Таким чином, ФНП може розглядатися як автокринний співучасник міокардіальної дисфункції у хворих на ДМ з проявами серцевої недостатності, який діє шляхом прямої депресії контрактильності та індукції апоптозу кардіоміоцитів. Модуляція ФНП розглядається як реальна мета клінічної медицини в лікуванні серцевої недостатності у хворих на ДМ.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Амосова Е.Н., Ткаченко Л.А., Казаков В.Е., Дуда А.К. Изменения систолической и диастолической функций левого желудочка у больных с дифтерийным миокардитом по данным доплерэхокардиографического исследования // Український кардіологічний журнал. — 1999. — № 4. — С. 48 - 52.
2. Водяник М.О. Коопераційні моноклональні антитіла проти фактора некрозу пухлин (TNF) людини: Автореф. дис... канд. біолог. наук: 14.03.08. — К., 2001. — 20 с.
3. Возианова Ж.И. Дифтерия // «Инфекционные и паразитарные болезни» в 3-х томах. — Т. 1. — К.: Здоров'я, 2000. — С. 199-233.
4. Возианова Ж.И. Дифтерия (клиническая лекция). — Киев, 1995. — 43 с.
5. Коваленко В.М., Ілляш М.Г., Базика О.Є. Міокардит: сучасні аспекти патогенезу та діагностики // Український ревматологічний журнал. — 2001. — № 1(3). — С. 18-22.
6. Логинова И.А., Осна Н.А., Кравале И.А. и др. Клинико-иммунологическое исследование дифтерийной полиневропатии // Журнал неврологии и психиатрии. — 2000. — № 9. — С. 58-60.
7. Насонов Е.Л., Самсонов М.Ю., Беленков Ю.И. и др. Иммунопатология застойной сердечной недостаточности: роль цитокинов // Кардиология. — 1999. — № 3. — С. 66 - 73.
8. Симоненко В.Б., Бойцов С.А., Глухов А.А. Апоптоз и патология миокарда // Клиническая медицина. — 2000. — № 8. — С. 12-16.
9. Степанец О.В., Чичасова Н.В., Насонова М.Б. и др. Растворимый рецептор ФНО- α с молекулярной массой 55 кДа при ревматоидном артрите: клиническое значение // Клиническая медицина. — 2003. — № 4. — С. 42-46.
10. Kawano H., Okada R., Kawano Y. et al. Apoptosis in acute and chronic myocarditis // Jpn. Heart J. — 1994. — Vol. 90., № 6. — P. 745-750.

УДК: 616.127-002-02-036.6: 616.931: 612.017
А.К. Дуда, М.А. Водяник, М.Е. Гуменюк
**Фактор некроза опухоли у больных
дифтерийным миокардитом при
проспективном наблюдении**

Проведено проспективное исследование фактора некроза опухоли у 40 больных, перенесших ДМ через 6-12 месяцев от момента выявления заболевания. Установлено, что у этих больных с проявлениями сердечной недостаточности повышенные показатели ФПО выявили у 68,7% больных.

UDC: 616.127-002-02-036.6: 616.931: 612.017
A.K. Duda, M.O. Vodyanik, M.E. Humenyuk
**Tumour necrosis factor at patients
diphtheritic myocarditis in prospective
supervision**

It is carried spent prospective research of the tumour necrosis factor at 40 patients, who have transferred DM in 6-12 months from the moment of revealing of disease. It is established, that at these patients with displays of intimate insufficiency the raised (increased) parameters ФПО have revealed at 68,7% of patients.