

Визначення показників клітинного і гуморального імунітету та рівня БТШ 70 кДа у хворих інфекційним ендокардитом, оперованих із застосуванням загальної керованої гіпертермічної перфузії

Книшов Г.В., Беспалова О.Я., Колтунова Г.Б., Пустовалова А.О., Греков Д.А.

ДУ «Національний інститут серцево-судинної хірургії імені М.М. Амосова НАМН» (Київ)

Загальна керована гіпертермічна перфузія при хірургічному лікуванні хворих на інфекційний ендокардит модифікує вироблення в організмі білків теплового шоку (БТШ) (70 кДа), які через внутрішньоядерний фактор транскрипції (NF-κB) регулюють активність клітинної та гуморальної імунної відповіді. В реалізації лікувальної дії гіпертермії найважливішу роль відіграє активація імунної системи як за рахунок безпосереднього впливу підвищення температури на імуніцити, так і в результаті синтезу білків теплового шоку, які проявляють активуючу дію відносно імунокомпетентних клітин.

Показано імуномодуючий вплив температури на клітинну ланку імунної системи у хворих на інфекційний ендокардит через дві години після проведення гіпертермічної перфузії, що проявлялося збільшенням рівня БТШ 70 кДа порівняно з доопераційним показником і активацією спонтанної проліферативної активності лімфоцитів.

Ключові слова: загальна керована гіпертермічна перфузія, лімфоцити, імунна система, білки теплового шоку, інфекційний ендокардит.

Важливим чинником, що визначає розвиток і поширення захворювання, пов'язаного з інфекцією, є стан імунологічної системи організму. Особливе місце серед цих захворювань посідає інфекційний ендокардит. Інфекційний ендокардит – це захворювання септичного генезу з ураженням клапанного та парієтального ендокарда, яке спричиняється умовно патогенною або патогенною мікрофлорою і характеризується швидким розвитком клапанної недостатності, системних емболічних ускладнень та імунопатологічних симптомів [1]. Ці фактори і зумовлюють актуальність пошуку сукупності лікувальних заходів, спрямованих на всі патогенетичні ланки розвитку інфекційного процесу у кардіохірургічних хворих на інфекційний ендокардит (ІЕ).

Одним із перспективних напрямів указаних досліджень є розробка методу стимуляції захисних сил організму хворих на ІЕ підвищеною температурою [2]. Лікувальна дія гіпертермії полягає в активації імунної системи за рахунок безпосередньої дії підвищеної температури на імуніцити та синтез білків теплового шоку 70 кДа (БТШ), які через внутрішньоядерний фактор транскрипції (NF-κB) регулюють активність клітинної та гуморальної імунної відповіді [3, 5]. БТШ активують систему вродженого і набутого імунітету, індукуючи підвищення активності натуральних кілерних клітин, дозрівання антиген-презентуючих клітин (АПК) і вироблення цитокінів [4, 6].

Мета роботи – дослідження рівня БТШ та клітинних і гуморальних факторів імунної системи у хворих на інфекційний ендокардит, оперованих із застосуванням гіпертермічної перфузії.

Об'єкт і методи дослідження. Матеріалом для досліджень слугувала периферична кров хворих на ІЕ. Дослідження проводили до операції та через дві години після проведення гіпертермічної перфузії (ГП) з температурою 39,0–39,5 °С протягом 30 хвилин. У першу групу ввійшли

хворі на ІЕ з високою активністю ІЕ, гострим перебігом захворювання, ураженням аортального клапана, аортальною недостатністю. Другу групу становили пацієнти з ареактивним перебігом ІЕ, переважним ураженням атріовентрикулярних клапанів, анемією та грибковою етіологією захворювання. Контрольну групу склали 19 практично здорових осіб – донорів крові.

За загальноприйнятою методикою визначали абсолютний вміст лейкоцитів і лімфоцитів у периферичній крові. Кількісну характеристику субпопуляцій лімфоцитів CD3, CD4, CD8, CD16, CD19 визначали методом фенотипування лімфоцитів за допомогою моноклональних антитіл. Функціональну активність Т-лімфоцитів оцінювали за допомогою реакції бластної трансформації лімфоцитів (РБТЛ) з міогенами морфологічним методом. Для кількісного визначення імуноглобулінів G, A, M, E та БТШ використовували імуноферментний аналіз.

Статистична обробка матеріалу проводилася з використанням універсальних статистичних програм Microsoft Excel з урахуванням критерію Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. У хворих першої групи рівень БТШ становив $4,43 \pm 2,78$ нг/мл, другої групи – $7,87 \pm 2,73$ нг/мл (табл. 1). Таким чином, у хворих другої групи рівень БТШ в 1,8 раза перевищував цей показник хворих ІЕ першої групи, $p < 0,05$.

Через дві години після проведення ГП в сироватці крові хворих ІЕ першої групи відзначалося збільшення рівня БТШ до $8,0 \pm 6,72$ нг/мл, тоді як у хворих другої групи цей показник достовірно знизився до $2,0 \pm 1,04$ нг/мл, $p < 0,05$.

Таблиця 1

Рівень БТШ 70 кДа у хворих на інфекційний ендокардит

Показник		Хворі ІЕ 1-а група (n=8)	Хворі ІЕ 2-а група (n=9)
БТШ 70 кДа (нг/мл)	до операції	$4,43 \pm 2,78^*$	$7,87 \pm 2,73$
	через 2 год. після проведення ГП	$8,0 \pm 6,72$	$2,0 \pm 1,04^{**}$

Примітка: * – достовірні відмінності показників відносно другої групи ($p < 0,05$);

** – достовірні відмінності показників відносно показника до операції ($p < 0,05$)

Дисфункція клітинної ланки імунітету мала імуносупресивний характер і проявлялася зменшенням відносної і абсолютної кількості Т-хелперів (CD4) та збільшенням кількості Т-супресорів (CD8). Так, у хворих першої групи відносна кількість CD4 лімфоцитів становила $32,1 \pm 7,7\%$, CD8 – $32,8 \pm 7,4\%$, в другій групі – $34,7 \pm 6,1\%$ і $33,7 \pm 4,8\%$ відповідно, тоді як у контрольній групі CD4 становили $38,19 \pm 0,88\%$, CD8 – $27,49 \pm 0,62\%$.

Дисбаланс імунорегуляторних клітин периферичної крові пацієнтів обох груп відобразився на імунорегуляторному індексі. Так, у пацієнтів ІЕ 1-ї групи імунорегуляторний індекс мав тенденцію до зменшення порівняно з контрольною групою і становив: $1,0 \pm 0,5$ (1-а група), $1,1 \pm 0,4$ (2-а група), $1,42 \pm 0,05$ (контрольна група).

Зміни кількісних показників клітинної ланки імунної системи узгоджувалися із зміною функціональної активності лімфоцитів у реакції бласт-трансформації лімфоцитів. Простежувалася активація спонтанної проліферативної активності лімфоцитів у хворих ІЕ першої групи через дві години після проведення ГП, що характеризує імуномодулюючий вплив температури на клітинну ланку імунної системи. У хворих другої групи рівень проліферативної активності лімфоцитів залишався достовірно зниженим порівняно з контрольною групою і склав $2,2 \pm 1,1\%$, в контролі – $6,8 \pm 0,13\%$, $p < 0,05$ (табл. 2).

Показники клітинного і гуморального імунітету через дві години після використання гіпертермії у хворих на інфекційний ендокардит

Досліджувані показники		Хворі ІЕ 1-а група (n=8)	Хворі ІЕ 2-а група (n=9)	Контрольна група (n=19)
CD3	%	65,4±8,0	68,0±6,9	62,43±0,69
	10 ⁹ /л	0,72±0,33	0,82±0,22	1,25±0,08
CD4	%	32,1±7,7	34,7±6,1	38,19±0,88
	10 ⁹ /л	0,35±0,24	0,42±0,14	0,74±0,05
CD8	%	32,8±7,4	33,7±4,8	27,49±0,62
	10 ⁹ /л	0,34±0,12	0,40±0,10	0,51±0,04
CD4 /CD8		1,0±0,50	1,1±0,4	1,45±0,10
CD16	%	13,1±4,14	13,9±3,1	14,53±0,81
	10 ⁹ /л	0,15±0,10	0,17±0,1	0,32±0,03
CD19	%	9,9±5,6	7,9±1,7	9,74±0,33
	10 ⁹ /л	0,11±0,1	0,09±0,02	0,22±0,01
РБТЛ, спонт.	%	5,2±2,4	2,2±1,1	6,81±0,13
РБТЛ, ФГА	%	36,8±6,7	42,8±5,4	47,6±1,82
РБТЛ, тканинами міокарда	%	8,3±5,7*	3,8±1,6	2,14±0,08
Ig G	г/л	12,4±2,6	11,6±2,8	10,91±0,25
Ig A	г/л	2,8±1,2	1,8±0,6	1,92±0,18
Ig M	г/л	1,6±0,8*	2,1±1,1*	1,13±0,05
Ig E	г/л	141,3±14,27*	195,2±22,56*	51,28±5,93
ЦІК	ум. од.	55,45±26,2	59,1±18,4	79,92±3,12
Ауто а/т до міокарда здорового	%	13,3±5,0*	14,4±8,8*	1,84±0,64
Ауто а/т до міокарда ішемізованого	%	13,3±5,2*	14,11±9,28*	0,79±0,44
Ауто а/т до аорти здорової	%	12,2±6,63*	14,0±8,66*	1,07 ±0,6
Ауто а/т до аорти склерозованої	%	13,25±5,17*	14,89±9,27*	0,36±0,16

Примітка: * – достовірні відмінності показників відносно контрольної групи, (p<0,05)

Дослідження гуморальної ланки імунної системи через дві години після ГП показало, що, незважаючи на відсутність достовірних відмінностей у кількості В-лімфоцитів (CD19⁺), гуморальна ланка імунної системи залишалася активованою. Залишалася достовірно збільшеною концентрація Ig M та Ig E в сироватці крові обох груп хворих ІЕ порівняно з контрольною групою. Це можна пояснити впливом на імунну систему так званого постперфузійного синдрому, який виникає у хворих, оперованих в умовах штучного кровообігу.

При проведенні порівняльного аналізу імунологічних показників крові у хворих ІЕ 1-ї та 2-ї груп виявлені зміни клітинної і гуморальної ланок імунної системи були однотипні і достовірно між собою не відрізнялися, за винятком збільшення проліферативної активності у пацієнтів першої групи.

Висновки. Виявлено імуномодулюючий вплив температури на клітинну ланку імунної системи у хворих ІЕ першої групи через дві години після проведення гіпертермічної

перфузії, що проявлявся збільшенням рівня БТШ порівняно з доопераційним показником та активацією спонтанної проліферативної активності лімфоцитів.

Література

1. Кнышов Г.В. Инфекционный эндокардит [Текст] / Г.В. Кнышов, В.Н. Коваленко. – К., 2004. – 255 с.
2. Theriault J.R., Adachi H., Calderwood S.K. Role of scavenger receptors in the binding and internalization of heat shock protein 70 // J. Immunol. – 2006. – Vol. 177 (12). – P. 8604–8611.
3. Radons J., Multhoff G. Immunostimulatory functions of membrane-bound and exported heat shock protein 70 // Exerc. Immunol. Rev. – 2012. – Vol. 11. – P. 17– 33.
4. Свешников П.Г., Малайцев В.В., Киселев В.И. Роль белков теплового шока в развитии реакций врожденного иммунитета // Журн. микроб. – 2007. – № 5. – С. 97–106.
5. Драннік Г.М., Порошина Т.В. Роль білків теплового шоку в нормі і імунопатології // Імунологія та алергологія. – 2004. – № 4. – С. 5–9.

Определение показателей клеточного и гуморального иммунитета и уровня БТШ 70 кДа у больных инфекционным эндокардитом, оперированных с применением общей управляемой гипертермической перфузии

Кнышов Г.В., Беспалова Е.Я., Колтунова А.Б., Пустовалова А.А., Греков Д.А.

Общая управляемая гипертермическая перфузия при хирургическом лечении больных инфекционным эндокардитом модифицирует выработку в организме белков теплового шока (70 кДа), которые через внутриядерный фактор транскрипции (NF-κB) регулируют активность клеточного и гуморального иммунного ответа. В реализации лечебного действия гипертермии важнейшую роль играет активация иммунной системы как за счет непосредственного воздействия повышения температуры на иммуноциты, так и в результате синтеза белков теплового шока, которые проявляют активирующее действие в отношении иммунокомпетентных клеток.

Показано иммуномодулирующее влияние температуры на клеточное звено иммунной системы у больных ИЭ через два часа после проведения гипертермической перфузии, что проявлялось увеличением уровня БТШ 70 кДа по сравнению с дооперационным показателем и активацией спонтанной пролиферативной активности лимфоцитов.

Ключевые слова: *общая управляемая гипертермическая перфузия, лимфоциты, иммунная система, белки теплового шока, инфекционный эндокардит.*

Determination of Cellular and Humoral Immunity and the Level of HSP 70 kDa in Patients with Infective Endocarditis Operated with the Use of Total Controlled Hyperthermic Perfusion

Knyshev G.V., Bespalova E.Y., Koltunova A.B., Pustovalova A.A., Grekov D.A.

Total controlled hyperthermic perfusion in surgical treatment of patients with infective endocarditis modifies production of heat shock proteins (70 kDa), which through intranuclear transcription factor (NF-κB) regulate the activity of cellular and humoral immune response. Implementation of hyperthermia plays a crucial role in immune system activation both due to the direct temperature effect on the immune cells and the synthesis of heat shock proteins, which initiate immune response.

Immunomodulatory effects of temperature on cellular part of the immune system in patients with IE in 2 hours after the hyperthermic perfusion are displayed, that were reflected in increased levels of HSP 70 kDa and activation of spontaneous proliferative activity of lymphocytes postoperatively.

Key words: *total controlled hyperthermic perfusion, lymphocytes, immune system, heat shock proteins, infective endocarditis.*