**УДК: 616.12-008.46-036.12-085.37:612.017.1**

**Влияние иммунокорекции на состояние специфической клеточной и гуморальной иммунологической реактивности больных** **с хронической сердечной недостаточностью.**

Е.А. Павлова, д. мед. н.

Харьковский национальный медицинский университет

Кафедра патологической физиологии

Сердечно-сосудистые заболевания, как важнейшая медико-социальная проблема современного здравоохранения, по распространённости, занимают лидирующие позиции в структуре заболеваемости и смертности населения нашей страны [1,2]. Одним из наиболее распространенных и тяжелых синдромов является хроническая сердечная недостаточность (ХСН) - неспособность сердца обеспечивать питательными веществами ткани организма в соответствии с их метаболическими потребностями вследствие кардиальной дисфункции. На особенности течения и прогноза ХСН в дальнейшем оказывают влияние нарушения иммунологической реактивности организма возникающие в условиях ишемии, гемодинамической перегрузки, интоксикации [4,6,8-12,14-18]. По данным Фрамингемского исследования, основной причиной ХСН является ишемическая болезнь сердца (ИБС), которая в 70% случаев выступает этиологическим фактором декомпенсации ХСН [18,19].

Целью настоящей работы явилось изучение закономерностей сдвигов показателей специфического клеточного и гуморального иммунитета у больных c ХСН до и после стандартной терапии и у аналогичных больных где в дополнение к стандартной терапии проводилась иммунокоррекция.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находились 18 больных, возрасте (45 - 65 лет). Из них 9 человек (группа А, контроль) - больные ИБС, III функциональный класс (ФК) (одышка, сердцебиение, ангинозные боли возникали при обычной физической нагрузке), ХСН - II А ст. (нарушения гемодинамики-умеренные), проводилась стандартная терапия. И 9 наблюдаемых (группа В) – больные ИБС, III ФК, ХСН - II А ст., которым проводилась профилактическая иммунокоррекция на фоне общепринятой терапии. В качестве иммуномодулятора использовался иммунофан, который вводили по 1 мл 0,005% раствора внутримышечно один раз в сутки в течение 7 дней. Длительность заболевания колебалась от 3-х до 5-ти лет. При определении ФК стенокардии напряжения пользовались критериями Нью-Йоркской ассоциации сердца (NYHA), диагноз устанавливался на основании жалоб, анамнеза заболевания, данных объективного обследования, 6-минутного теста-ходьбы [7].

Исследование иммунного статуса проводили дважды: до начала лечения и через 10 дней после начала лечения. Забор крови из локтевой вены проводили в утренние часы натощак. Для получения чистой суспензии лимфоцитов венозную кровь больных (2-3мл), смешанную с этилендиаминтетрацетатом натрия (10мМ), разбавляли изотоническим раствором NaCl (1:1) и центрифугировали в градиенте плотности фиколл-верографин (d=1,077). Выделенные лимфоциты трижды промывали изотоническим раствором NaCl, ресуспендировали в 1 мл этого раствора, и подсчитывали количество клеток в камере Горяева [9]. Определение популяций и субпопуляций лимфоцитов (иммунофенотипирование клеток) проводили с использованием панели моноклональных антител к поверхностным антигенам лейкоцитов человека (СD-маркеры) («Клоноспектр», г. Москва) методом иммунофлуоресцентной микроскопии. Изучали относительное и абсолютное содержание следующих клеток: СD3+, CD4+, CD8+, СD16+, CD19+, а также определяли соотношение CD4+/CD8+ - иммунорегуляторный индекс (ИРИ). Учет результатов реакции производили непосредственно на предметных стеклах. Просмотр препаратов осуществляли на флуоресцентном микроскопе JenaVal производства Karl Zeiss (Германия). Результаты реакции учитывали через 24 часа после ее выполнения. Количество антигенположительных клеток определяли как % флуоресцирующих клеток при просматривании 200 лимфоцитов за вычетом % флуоресцирующих клеток в препарате отрицательного контроля [11]. Уровень крупно- и низкомолекулярных циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови определяли на спектрофотометре при длине волны 450 нм после преципитации 3,5% и 7% раствором полиэтиленгликоля 6000 (по методике Гриневича Ю.А.) [5]. Содержание сывороточных иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG) определяли методом радиальной иммунодифузии в агаровом геле по G. Manchini с использованием наборов моноспецифических антисывороток к иммуноглобулинам разных классов, с помощью иммунодиффузионных планшетов производства "РЕАФАРМ", г. Москва [5]. Основная часть математических расчетов выполнена с помощью пакета STATISTICA v.6.0 (компания StatSoft, Inc ®) [3,13].

**Результаты исследований и их обсуждение.**

Анализ результатов исследований, отражающих состояние специфической клеточной иммунологической реактивности, больных с ХСН средней тяжести, возникшей на фоне ИБС указывает на положительную динамику после применения иммуномодулирующих препаратов в дополнение к стандартной терапии. Так, общее количество лейкоцитов до лечения существенно не отличалось от контроля (6,21 (0,42)×109/л и 6,78 (0,64)×109/л), в то время как после лечения определялся некоторый рост показателя - в 1,2 раза - по отношению к исходным данным (с 6,21 (0,42)×109/л до 7,70 (1,07)×109/л) и достоверное увеличение - в 1,12 раза **(**р<0,01) - по отношению к контролю (табл. 1).

**Таблица 1**

**Показатели клеточной специфической иммунологической реактивности у больных с ХСН средней степени тяжести на фоне обычной терапии c иммунокоррекцией (М (m), n = 9)**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатель | Группа  А до  лечения | Группа  В до  лечения | Группа А после  лечения | Группа В после  лечения |
| Лейкоциты,  х109/л | 6,78  (0,64) | 6,21  ( 0,42) | 6,94  (1,16) | 7,70  (1,07)\*\* |
| Абсолютное кол-во лимфо-цитов, х109/л | 2,09  (0,17) | 1,34  (0,22)\* | 1,61  (0,12) | 2,13  (0,11)\*\*## |
| Нейтрофилы с/я, % | 56,60  (2,84) | 67,78  (3,02)\* | 62,90  (3,35) | 59,89  (3,36)# |
| Моноциты, % | 4,10  (0,46) | 4,78  (0,43) | 4,30  (0,45) | 3,11  (0,35)## |
| Лимфоциты, % | 32,20  (2,48) | 21,33  (2,73)\* | 26,70  (3,57) | 28,89  (3,45) |
| Т-л (CD3+),  х109/л | 0,98  (0,08) | 0,56  (0,08)\*\* | 0,74  (0,07) | 0,89  (0,13)## |
| Т-х (CD4+),  х109/л | 0,34  (0,03) | 0,19  (0,02)\*\* | 0,25  (0,03) | 0,37  (0,05)## |
| Т-с (CD8+),  х109/л | 0,22  (0,03) | 0,13  (0,02)\* | 0,17  (0,02) | 0,22  (0,03)# |
| NK-кл (CD16+), х109/л | 0,15  (0,02) | 0,13  (0,03) | 0,13  (0,01) | 0,15  (0,03) |
| ИРИ | 1,60  (0,10) | 1,53  (0,13) | 1,57  (0,09) | 1,83  (0,20) |
| Лейко -Т- клеточный индекс | 7,39  (0,91) | 12,38  (1,35) | 9,88  (1,45) | 9,27  (1,13)# |

Примечание: группа А – ХСН, средняя тяжесть (обычная терапия), группа В – ХСН, средняя тяжесть, иммунокоррекция на фоне обычной терапии. \*- р<0,05; \*\*- р<0,01- достоверность различий с контролем и (#) данными до лечения.

Абсолютное количество лимфоцитов до начала лечения было достоверно - в 1,6 раза **(**р<0,05) - меньше значений контроля (1,34 (0,22)×109/л и 2,09 (0,17)×109/л соответственно), а после лечения отмечалось достоверное увеличение - в 1,6 раза **(**р<0,01) - относительно исходного уровня (с 1,34 (0,22)×109/л до 2,13 (0,32)×109/л) и - в 1,3 раза - относительно контроля (2,13 (0,32)×109/ли 1,61 (0,12)×109/л соответственно) (табл. 1).

Возрастало и содержание CD3+, CD4+, CD8+- клеток и ИРИ. До начала лечения интегральный показатель Т-лимфоцитов (СD3+) был в 1,8 раза **(**р<0,05) меньше такового в контрольной группе, а после лечения наблюдалось увеличение количества CD3+- клеток - в 1,6 раза **(**р<0,01) по отношению к исходным данным и в 1,2 раза по отношению к контролю. Количество основних лимфоцитов/индукторов (СD4+) при первичном обследовании определялось на уровне 0,19 (0,02)×109/л, что было достоверно - в 1,8 раза **(**р<0,01) - ниже контроля (0,34 (0,05) × 109/л), в то время как после лечения их количество достоверно увеличивалось - в 1,9 раза **(**р<0,05) – относительно исходных данных (0,37 (0,05)×109/л и 0,19 (0,02)×109/л), что было в 1,5 раза, - однако недостоверно, больше значений контроля (табл. 1).

Эффекторные СD8+ - лимфоциты определялись на уровне 0,13 (0,02)×109/л, что было достоверно - в 1,7 раза **(**р<0,05) - ниже контроля (0,22 (0,03)×109/л), затем их число достоверно возрастало – в 1,7 раза **(**р<0,05) - по отношению к исходным данным (0,22 (0,03)×109/л) и в 1,3 раза превышало значения контрольной группы (0,17 (0,02)×109/л), составив 0,22 (0,03)×109/л. Изменений количества естественных киллеров (СD16+) мы не наблюдали.

ИРИ до лечения имел тенденцию к смещению влево (1,53 (0,13)) и существенно не отличался от ИРИ в контроле (1,60 (0,10)), что подтверждало существующий дисбаланс СD4+/СD8+ у больных исследуемой группы. После лечения наблюдалась положительная динамика - показатель возрастал (с 1,53 (0,13) до 1,83 (0,20)) и в 1,2 раза превышал значения контрольной группы (1,83 (0,20) и 1,57 (0,09) соотвестственно), что позволяет предполагать функциональную перестройку Т-клеточного звена иммунитета под влиянием иммунокоррекции и является положительным для дальнейшего прогноза течения болезни. Лейко-Т-клеточный индекс при первичном обследовании был выше такового в контрольной группе - в 1,7 раза **(**р<0,01), а после лечения снижался - в 1,3 раза **(**р<0,05) по отношению к исходным значениям и в 1,1 раза - контролю свидетельствуя о стабилизации процесса.

Изучение данных отражающих состояние гуморального специфического звена иммунитета у больных с ХСН средней тяжести (табл. 2) показало, что количество СD19+- лимфоцитов до начала лечения было достоверно - в 1,7 раза **(**р<0,05) - ниже контроля (0,31 (0,04)×109/л и 0,52 (0,06)×109/л соответственно). После лечения с применением иммунокоррекции наблюдалось достоверное увеличение СD19+- лимфоцитов относительно исходного уровня - в 1,6 раза (р<0,05) и в 1,3раза - относительно контроля. Лейко-В-клеточный индекс при первичном обследовании достоверно превышал - в 1,6 раза **(**р<0,05) - значения контроля, а затем снижался - в 1,2 раза - по отношению к исходным данням.

Содержание IgA и IgG в сыворотке крови больных исследуемой группы до лечения существенно не отличалось от таковых в контроле (табл. 2).

После лечения содержание IgA в исследуемой группе достоверно увеличивалось - в 1,33 раза (р<0,01) (3,01 (0,31) г/л и 2,26 (0,20) г/л) по отношению к исходным данным, что было несколько выше таковых контроля. Изменениям был подвержен и уровень IgM. В начале исследования он был существенно выше значений контрольной группы - в 1,4 раза (р<0,05). При последующем исследовании, после лечения уровень IgM достоверно снижался - в 1,6 раза (р<0,01) - по отношению к исходным данным, что было несколько ниже такового в группе контроля (табл. 2). IgM - антитела первичного иммунного ответа лучше других Ig активирующие систему комплемента и вместе с IgА принимает участие в местном иммунитете слизистых оболочек Под влиянием иммунокоррекции наблюдается своевременное переключение на синтез IgG, которые являются более специфическими и лучше проникают в ткани так как имеют меньший размер и участвуют в образовании ЦИК.

*Таблица 2*

**Показатели гуморальной специфической иммунологической реактивности у больных с ХСН средней степени тяжести на фоне обычной терапии с иммунокоррекцией (М (m), n = 9)**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатель | Группа  А до  лечения | Группа  В до  лечения | Группа А после  лечения | Группа В после  лечения |
| В-л (CD19+),  х 109/л | 0,52  (0,03) | 0,31  (0,04)\* | 0,39  (0,04)\* | 0,49  (0,10) |
| Лейко-B  клет. индекс | 14,52  (2,38) | 23,14  (2,70)\* | 19,10  (3,01) | 19,10  (2,78) |
| Ig A, г/л | 2,19  (0,23) | 2,26  (0,20) | 2,29  (0,25) | 3,01  (0,15)\***##** |
| Ig G, г/л | 13,78  (0,80) | 13,49  (1,41) | 14,91  (1,30) | 18,37  (0,79)\***##** |
| Ig M, г/л | 2,03  (0,14) | 2,93  (0,22)\*\* | 2,17  (0,16) | 1,87  (0,17)**##** |
| ЦИК с 3,5% ПЭГ, | 0,06  (0,001) | 0,05  (0,001) | 0,07  (0,001) | 0,07 (0,001)**##** |
| ЦИК с 7%  ПЭГ, | 0,08  (0,01) | 0,07  (0,001) | 0,10  (0,01) | 0,08  (0,01) |

Примечание: группа А - ХСН, средняя степень тяжести, обычная терапия, группа В – ХСН, средняя тяжесть, иммунокоррекция на фоне обычной терапии.

\*- р<0,05; \*\*- р<0,01- достоверность различий с контролем.

#- р<0,05; ##- р<0,01 - достоверность различий показателей до и после лечения в группах С и Е.

Так уровень IgG до лечения не отличался от такового в контрольной группе (13,49 (1,41) г/л и 13,78 (0,80) г/л). После лечения уровень IgG достоверно увеличивался относительно исходного уровня (р<0,01) и контроля (р<0,05) (18,37 (0,79) г/л и 14,91 (1,30) г/л). Концентрация ЦИК в крови больных была несколько ниже - в 1,25 раза - показателей контрольной группы (0,08 (0,01) е.о.п. и 0,10 (0,01) е.о.п. соответственно), что позволяет предполагать менее активную антигенную стимуляцию гуморального звена иммунитета в исследуемой группе и более активное разрушение ЦИК фагоцитами.

Применение иммунокоррекции в сочетании со стандартной терапией приводит к восстановлению потенциала иммунной системы, за счет коррекции Т-клеточного звена и межклеточного (Т- и B-лимфоцитов) взаимодействия влияющего на процесс образования антител, цитокинов приводя к уменьшению выраженности иммунологических расстройств, что ассоциируется с тяжестью ХСН. Вышеприведенное подтверждает, что для эффективного осуществления гуморальных реакций необходимо вовлечение клеточного компонента, и, наоборот эффективность клеточного иммунитета возрастает при параллельном синтезе специфических антител.

Перспективы дальнейших исследований в данном направлении возможны, в частности, в виде изучения показателей специфического клеточного и гуморального иммунитета у больных с ХСН тяжелой степени, осложнившейся застойной пневмонией до и после иммунокоррекции на фоне стандартной терапии.

**Выводы**

1. Применение иммунокоррекции в дополнение к общепринятой терапией для лечения ХСН средней тяжести, сопровождается увеличением интегрального СD3+-Т-клеточного пула, абсолютного числа лимфоцитов по сравнению с контролем, функциональной перестройкой Т-клеточного звена иммунитета влияющего на процесс образования антител и является показателем положительной динамики в течении болезни.
2. Гуморальное специфическое звено иммунитета после иммунокоррекции характеризуется увеличением СD19+-В-лимфоцитов, снижением образования IgМ, увеличением IgG и IgА, ЦИК с 3,5% ПЭГ, что коррелирует с тяжестью заболевания и связано с повторным взаимодействием антигенспецифических CD4+-клеток с плазмоцитами.
3. Вторичная недостаточность специфического клеточного и гуморального иммуннитета при ХСН средней тяжести, требует применения иммунокоррекции для восстановления измененных и иммунных показателей путем нормализации кооперативного взаимодействия Т- и B-лимфоцитов  в процессе антителообразования.

**Список литературы**

1. Барна О.М. Маркери запалення в стратифікації ризику серцево-судинних захворювань // Ліки України. - 2007. - № 115-116. - С. 6 - 11.
2. Беловол А. Н. Стратификация прогноза больных хронической сердечной недостаточностью / А. Н. Беловол, П. Г. Кравчун, Ю. Н. Мозговая // Врачебная практика. – 2006. – № 4. – С. 44–47.
3. Гмурман В.Е. Теория вероятностей и математическая статистика.- М.: Высшая школа, 2001. — 479 с.
4. Выявление особенностей аутоиммунных реакций при хронической сердечной недостаточности различной этиологии / К. А. Зыков, С. Н. Татенкулова, В. П. Масенко [и др.] // Терапевтический архив. – 2009. – Т. 81, № 4. – С. 22–28.
5. Медицинские лабораторные технологии /Под ред. А.И.Карпищенко.-С-Пб.: Интермедика,1999.-Т.2.-656 с.
6. Ольбинская Л. Патогенез хронической сердечной недостаточности / Л. Ольбинская // Врач. – 2002. – № 12. – С. 11–15.
7. Перепеч Н. Б. Применение пробы с 6-минутной ходьбой для оценки состояния больных с хронической сердечной недостаточностью / Н. Б. Перепеч, А. Э. Кутузова, А. О. Недошивин // Клиническая медицина. – 2000. – № 12. – С. 31–33.
8. Порядин Г. В. Активационные маркеры лимфоцитов как показатели дизрегуляции иммунной системы при воспалении / Г. В. Порядин, Ж. М. Салмаси, А. Н. Казимирский // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2006. – № 1. – С. 2–7.
9. Прилуцкий А. С. Иммунодефицитные состояния в клинической практике. Варианты, клинико-лабораторные признаки, методы оценки// Лікування та діагностика. - 2004. - № 2. - С. 25-32.
10. Роль иммуновоспалительных механизмов в развитии хронической сердечной недостаточности / М. Н. Кочуева, А. С. Шалимова, Г. И. Кочуев, А. П. Браславская // Експериментальна і клінічна медицина. – 2010. – № 3. – С. 88–92.
11. Тополян А.А., Балдуева И.А. и др. Стандартизация методов иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга человека// Клин.лаб.диагностика.-2001.-№8.-С.38-45.
12. Хроническая сердечная недостаточность, обусловленная ишемической болезнью сердца / Н. Т. Ватутин, Н. В. Калинкина, А. Н. Шевелек, В. В. Адаричев // Серцева недостатність. – 2010. – № 2. – С. 95–106.
13. Халафян А.А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. - М.: ООО «Бином-Пресс», 2007. — 512 с.
14. Ярилин А. А. Естественные регуляторные Т-клетки / А. А. Ярилин // Российский медицинский журнал. – 2007. – № 1. – С. 43–48.
15. Characterization of cells of the B lineage in the human adult greater omentum / L. Boursier, S. Attard Montalto, S. Raju [et al.] // Immunology. – 2006. – Vol. 119, N 1. – P. 90–97
16. Dunkelberger J. R. Role and mechanism of action of complement in regulating T cell immunity / J. R. Dunkelberger, W. C. Song // Mol. Immunol. – 2010. – Vol. 47, N 13. – P. 2176–2186.
17. Similar CD19 dysregulation in two autoantibody-associated autoimmune diseases suggests a shared mechanism of B-Cell tolerance Loss / A. D. Culton, M. W. Nicholas, D. O. Bunch [et al.] // J. Clin. Immunol. – 2007. – Vol. 27, N 1. – P. 53–68.
18. T and B lymphocyte subpopulations and activation/differentiation markers in patients with selective IgA deficiency / J. Litzman, M. Vlkova, Z. Pikulova [et al.] // Clin. Exp. Immunol. – 2006. – Vol. 147, N 2. – P. 249–254..
19. Zourdidaks E., Avanzas P. Marcers of inflammation and rapid coronary artery disease progression in patients with stable angina pectoris// Circulation. - 2004.-V. 110.- P. 1747-1753.

Е.А. Павлова

**Влияние иммунокорекции на состояние специфической клеточной и гуморальной иммунологической реактивности больных** **с хронической сердечной недостаточностью**

Харьковский национальный медицинский университет

После иммунокоррекции, проведенной в сочетании с базисной терапией, при хронической сердечной недостаточности средней тяжести, возникшей на фоне ишемической болезни сердца, по сравнению с контролем установлено: увеличение интегрального СD3+-клеточного пула в основном за счет СD4+ -клеток; увеличение абсолютного числа лимфоцитов, что видимо, связано с функциональной перестройкой Т-клеточного звена иммунитета и как следствие к уменьшению продукции IgМ, увеличению образования IgА, IgG, циркулирующих иммунных комплексов, что коррелирует с тяжестью заболевания, свидетельствуя об уменьшении активности процесса.

**Ключевые слова:** хроническая сердечная недостаточность, ишемическая болезнь сердца, иммунокоррекция, специфический клеточный и гуморальный иммунитет.

О.О. Павлова

**Вплив імунокорекції на стан** **специфічної клітинної та гуморальної імунологічної реактивності хворих на хронічну серцеву недостатність.**

Харківський національний медичний університет

Після імунокорекції, проведенної в сполученні із базовим лікуванням хронічної серцевої недостатності середньої важкості, яка виникла на тлі ішемічної хвороби серця, в порівнянні з контролем встановлено: збільшення інтегрального СD3+-Т-клітинного пулу за рахунок СD4+-лімфоцитів; збільшення абсолютного числа лімфоцитів, що мабуть, пов'язано з функціональною перебудовою Т-клітинної ланки імунітету, і як наслідок зменшенню продукції IgМ, а також збільшення продукції IgА та IgG, циркулюючих імунних комплексів, що корелює з важкістю захворювання та свідчить про зменшення активності процесу.

**Ключевые слова:** хронічна серцева недостатність, ішемічна хвороба серця, імунокорекція, специфічний клитинний і гуморальний імунітет.

Ye.A. Pavlova

**Iinfluence of the immunocorrection on the state of specific cellular and humoral immunological reactivity in patients with chronic heart failure**

Kharkov National Medical University

Аfte immunocorrection which is carried out in the combination with the basic therapy of chronic heart failure of moderate severity arised during ischemic heart disease in comparison with control, it is established: increasing the integral CD3+- cell pool, mainly due CD4+- cells; increase in the absolute number of lymphocytes, which is apparently associated with a functional reorganization of the T-cell immunity and as a result a decrease in production of IgM, increased formation of IgG, IgA, and circulating immune complexes, which correlates with disease severity, suggesting a decrease in activity of the process.**Key words:** chronic cardiac insufficiency, ischemic heart disease, preventive immunocorrection, specific cellular and humoral immunity.

**Key words:** chronic heart failure, coronary heart disease, immunotherapy, specific cellular and humoral immunity.