

ВИВЧЕННЯ ІНФІКОВАННОСТІ ВПГ ТА ЦМВ ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ

Смілянська М.В., Перемот С.Д., Рудик Ю.С.

Харківський Науково-дослідний інститут мікробіології та імунології ім.І.І.Мечникова;

Інститут терапії АМН України, м.Харків

Вступ. В останні десятиріччя відбувається процес інтенсивного накопичення наукових фактів і спостережень по різноманітним питанням, що стосуються етіології та патогенезу захворювань, в основі яких - процес атеросклерозу [2]. Проблема пошуку етіологічного агента, що спричиняє атеросклероз, одна з найактуальніших проблем сучасної медицини [1, 3, 4].

З огляду на широку розповсюдженість герпетичної інфекції, значна частина населення має антитіла до ЦМВ і ВПГ. Це означає, що виявлення анти-ЦМВ та анти-ВПГ антитіл не може бути єдиним критерієм при постановці діагнозу [5, 6]. Крім того, виявлений титр антитіл часто неузгоджується з клінічними проявами інфекції, а на підставі виявлення специфічних імуноглобулінів класу М і G не завжди можливо достовірно диференціювати стадію захворювання. Так, при визначенні Ig M, що мають низьку специфічність, досить часто можливі хибно-негативні результати, а при реактивації латентного вірусу Ig класу М і G можуть не виявлятися зовсім.

Неузгодженість між параметрами імунної відповіді і проявом інфекції обумовлена особливостями імунної відповіді при герпесвірусах: інфекція перебігає на фоні імунодефіцитного стану людини і в одночас самі віруси сприяють розвитку вторинного імунодефіциту. У зв'язку з цим, саме виявлення вірусних антигенів і вірусних часток стає важливим у діагностиці герпетичних інфекцій [6, 7].

Матеріали та методи. Матеріалом для досліджень були кров, слина та сеча хворих, які знаходилися на стаціонарному лікуванні в кардіологічних відділеннях МСЧ №2 ХЗТД та Інституті терапії АМН України з діагнозом ішемічна хвороба серця (ІХС). Обстежено 74 хворих ІХС, з них 50 чоловіків та 24 жінки,

середній вік обстежених - $53,8 \pm 3,6$ роки. Серед них робітники промислових підприємств становили 20,5 %, службовці - 47,3 %, пенсіонери - 18,7 %, інваліди II групи (серцево-судинні захворювання) - 13,5 %. Серед хворих ІХС перевищували особи, чия діяльність була пов'язана з розумовою працею, спосіб життя характеризувався низькою фізичною активністю та нервово-емоційним перенапруженням.

Клінічними формами ІХС були стабільна стенокардія (СС), нестабільна стенокардія (НСТ) (прогресуюча стенокардія напруження) та гострий інфаркт міокарда (ГІ). Діагноз встановлено на підставі скарг хворого, анамнеза захворювання, клінічних, лабораторних та інструментальних методів дослідження. Функціональний клас стабільної стенокардії визначали відповідно з класифікацією Канадської асоціації кардіологів.

Цитомегаловірус виявляли цитоскопічно в осаді слини та сечі, також проводили пошук АГ ЦМВ у лімфоцитах крові і виявляли ВПГ у крові і сечі за допомогою РНІФ. Лейкоцитарна маса досліджувалася відразу ж після отримання. Крапля суміші лейкоцитів наносилася на предметне скло, висушувалася та двічі фіксувалася 96 %-м етанолом. Зразки слини та сечі центрифугували при 3000 об/хв - 15-20 хвилин, отримували осад, резуспензували його у фізіологічному розчині у співвідношні 1:10 для слини та 1:2 для сечі. Отриману суміш наносили на знежирене предметне скло, висушували на повітрі і фіксували 96 %-м етанолом на протязі 15 хвилин. Мазки фарбували за Романовським і вивчали у світовому мікроскопі (ОКх10, ОБх40) з метою виявлення характерних цитомегалічних клітин (ЦМК). Облік результатів проводили по 4-х хрестовій системі із врахуванням кількості ЦМК у препараті. Виявлення до 5 клітин в препараті оцінювали як присутність поодиноких ЦМК, до 10 клітин - на

(+), до 20 клітин - на (++) , до 50 клітин - на (+++) і виявлення більше 50 клітин оцінювали на (++++).

Для виявлення антигена ЦМВ в слині, сечі і в лімфоцитах крові застосовували реакцію непрямой імуофлюоресценції (РНІФ) з використанням тест-системи "Цитомега тест" (ЗАО "ФІНИСТ" при НІИЭМ ім.Н.Ф.Гамалеї, Москва). Реакцію проводили у відповідності з інструкцією до тест-системи. Результати, отримані під час проведення реакції, оцінювали по формулі:

$$I\Phi = A - B/A$$

де А - відсоток клітин, які не світяться в контрольному препараті;

В - відсоток клітин, які не світяться в дослідному препараті. Реакція вважалася позитивною, якщо індекс флюоресценції (ІФ) складав > 0,2.

Для виявлення АГ ВПГ використовували тест-

систему "Герпес Скан" (НПФ "ЛАБдіагностика", Москва). Результат вважали позитивним при наявності не менше 5 морфологічно незмінених клітин з інтенсивним яскраво зеленим специфічним світінням типової локалізації: від осередків у вигляді "грудочок" у ядрах і світіння цитоплазми навкруги ядра до дифузного світіння всієї клітини.

Результати та обговорення. Як бачимо із представлених у таблиці 1 даних, віруси групи герпеса (ЦМВ і ВПГ) виявляються у 75,6% обстежених пацієнтів з атеросклерозом. Причому, кожний третій випадок представляє собою асоціацію ЦМВ і ВПГ. З усіх випадків виявлення антигенів цитомегаловірус знаходиться у 1,6 раза частіше, ніж ВПГ. У вигляді моноінфекції ЦМВ зустрічається у 27 пацієнтів, що складає 36,4% обстежених, у той час як ВПГ - у 7 чоловік (9,4%).

Таблиця 1

Виявлення АГ ЦМВ і ВПГ у хворих різними формами атеросклерозу

Групи обстежених	Позитивні проби на АГ			Негативні проби
	ЦМВ (%)	ВПГ (%)	ЦМВ+ВПГ (%)	
ГІ (n=28)	5 (17,8% ± 2,8)	1 (3,5% ± 1,5)	14 (50% ± 2)	8 (17,8% ± 1,8)
НСТ (n=22)	12 (54,% ± 1,5)	4 (18,1% ± 2,1)	5 (22,7% ± 2,7)	1 (4,5% ± 2,5)
СС (n=24)	10 (41,6 ± 2,6)	2 (8,3% ± 2,3)	3 12 5% ± 3 5)	9 (37,5% ± 2,5)
Усього (n=74)	27 (36,4% ± 2,5)	7 (9,4% ± 3,4)	22 (29,7% ± 2,7)	18 (24,3% ± 1,3)

При детекції вірусів у різних клінічних групах отримані наступні результати. В групі хворих з ГІ ЦМВ і ВПГ виявляються практично з однаковою частотою: 67,8 % і 53,5 % відповідно. А ось асоціація двох вірусів в цій клінічній групі відмічена більш ніж у половини пацієнтів. Цей факт заслуговує особливої уваги для подальшого вивчення очевидного зв'язку герпесвірусів з ГІ у хворих на атеросклероз. Можна припустити, що саме одночасна присутність в організмі цих двох вірусів може бути фактором ризику виникнення інфаркта міокарда. В групі хворих з нестабільною стенокардією значна питома вага ЦМВ, особливо у вигляді моноінфекції. Ця ж тенденція характерна і

для групи пацієнтів із стабільною стенокардією. Частота зустрічаємості змішаної (ЦМВ + ВПГ) інфекції у 1,8 раза частіше у групі із нестабільною стенокардією у порівнянні з групою стабільної стенокардії. Вірус простого герпеса також у 2 рази частіше виділяється у пацієнтів із НСТ, ніж у пацієнтів з СС. Можливо, що інфікованість герпесвірусами якимсь чином впливає на дестабілізацію стенокардії.

Для встановлення можливого характеру інфекційного процесу або ступеню інфікованості нами був проведений аналіз частоти виділення вірусів із різноманітних клінічних зразків. Результати представлені у таблиці 2.

Таблиця 2

Виявлення АГ ЦМВ і ВПГ у матеріалі, отриманому від хворих різних клінічних груп.

Клінічні групи	МВ			ВПГ		
	слина абс (%)	Сеча Абс (%)	слина+ сеча абс %	кров абс (%)	сеча абс (%)	кров абс (%)
ГІ (n=28)	6 21 4±0 4	3 10 7±1 7	10 35 7±0 7	14 50 ± 1	5 (17,8±1,4)	10 (35,7±0,7)
НСТ (n=22)	5 22 7±2 7	2	10 45 4±2 4	8 36 3±2 3)	2 (9,0 ± 1)	7 (31,8±3,8)
СС (n=24)	5		3 12 5±1 5	3 12 5±1 5)	3 (12,5±1,5)	2 (8,3 ± 1)

Виділення ЦМВ тільки у слині або тільки у сечі ми розглядали як локалізовану форму

інфекційного процесу або інфікованість. Визначення вірусного агента одночасно в слині і

сечі свідчить про генералізацію інфекції, а в лімфоцитах крові - про активацію вірусної інфекції

Як видно із даних таблиці 2 в групі хворих з ГІ антигенемія ЦМВ виявлена у 50% випадків. З урахуванням виявлення ЦМВ в слині та сечі можна припустити, що у 10 пацієнтів цієї групи на момент обстеження було відмічено загострення хронічної ЦМВІ.

У групі з ГІ і НСТ ЦМВ у слині виявляється частіше, ніж у сечі у 2 і 2,5 рази відповідно. Можливо, у цих хворих при активації інфекції спрацьовує ольфакторний або гематогенний шлях розповсюдження вірусів з ураженням ЦНС, що сприяє дестабілізації та розвитку критичних станів. В групі з СС частота виявлення ЦМВ в слині та сечі однакова. Але слід відмітити, що саме в цій групі лише в сечі ЦМВ зустрічається найчастіше. При аналізі історій хвороб саме в групі з СС частіше зустрічалися захворювання нирок. Ми припускаємо, що вони були пов'язані з ЦМВ.

Аналізуючи показники виявлення ВПГ, можна сказати, що в крові у групах з ГІ та НСТ антиген віруса визначається з однаковою частотою, а у сечі ВПГ у 2,5 рази частіше знаходиться у хворих з ГІ. Таким чином, загальні тенденції детекції антигенів ЦМВ і ВПГ в клінічних зразках спостерігаються як в групі пацієнтів із ГІ, так і в групі з НСТ.

Однак, на підставі виявлення лише антигенів, неможливо дати точну характеристику інфекційного процесу. Ізольовано оцінювати АГ і специфічні АТ можна лише для попереднього діагнозу. У зв'язку з цим, для повноти обстеження у кожного пацієнта необхідно досліджувати різні

клінічні зразки з метою виявлення як АГ, так і АТ. А також, слід вивчати сероконверсію специфічних АТ в парних сироватках.

Висновки. Як показали наші дослідження антигени ЦМВ та ВПГ у хворих на ІХС зустрічаються досить часто: 60 % та 40 % випадків відповідно. При цьому, у кожного другого пацієнта з ГІ виявляється асоціація двох вірусів. В цій групі антигенемія ЦМВ складає 50 %, а ВПГ - 36 % випадків. Слід відзначити, що ЦМВ у хворих з стенокардією у вигляді моноінфекції зустрічається в 4 рази частіше ніж ВПГ. Можна припустити, що інфікованість ЦМВ має більший вплив на перебіг ІХС.

Вірусні антигени в різному клінічному матеріалі виявляються з різною частотою. У зв'язку з цим, відсутність віруса в одній пробі не може служити достатнім критерієм відсутності інфікування. Негативний результат при ідентифікації вірусного антигена також може бути пов'язаний з недостатньою чутливістю використаного методу діагностики. Саме через це, по одному лабораторному тесту не можна робити висновок про роль, вплив або взаємозв'язок того чи іншого вірусного агента і ішемічної хвороби серця, її форми і особливостей перебігу. Для цього необхідно проводити повне обстеження, що включає визначення вірусу або його антигену в різних клінічних зразках, виявлення специфічних Іg різноманітних класів (G, M, A) в сироватці крові з встановленням їх сероконверсії. Також, слід враховувати клінічні, анамнестичні і епідеміологічні дані.

ЛІТЕРАТУРА

1. Купчинский Р.А., Крылов А.А. Атеросклероз и хроническая персистирующая вирусная инфекция //Врач.дело.- 1990.-№11.-с.43-46.
2. Состояние здравоохранения в мире // Материалы отчета генерального директора ВОЗ о состоянии здравоохранения в мире. Женева, 1995. с. 35-37
3. Chiu B, Viira E, Tucker W, Fong IW Chlamydia pneumoniae, cytomegalovirus, and herpes simplex virus in atherosclerosis of the carotid artery.// *Circulation*.- 1997, Oct 7.-96(7).-p.2144-2148
4. Hajjar D.F. Viral pathogenesis of atherosclerosis//*Am.J Pathol*, 1991.-V.139.-p.1193-1211.
5. Gratton MT, Moreno-Cabral CE, Stames YA et al. Cytomegalovirus infection is associated with cardiac allograft rejection and atherosclerosis//*JAMA*.-1989.-v.262.-p.3561-3566.
6. Melnick JL, Hu C, Burek J, Adam E, DeBakey ME. Cytomegalovirus DNA in arterial walls of patients with atherosclerosis//*J Med Virol*.-1994.-v.42.- p.170-174.
7. Vallance P, Collier K. Infection, inflammation and infarction: does acute endothelial cell dysfunction provide a link?//*Lancet*.-1997.-v.349.-p.1391-1392.

SUMMARY

STUDY OF INFECTION OF HSV AND CMV OF THE PATIENTS IHD

M.V.Smelaynska, S.D. Peremot, Y.S. Rudik

The HSV and CMV antigens was taped with the using of various laboratory methods in a clinical stuff of the patients with IHD in 40% and 66% cases accordingly. Thus, at more half of patients with an acute myocardial infarction both contagious agents are found. CMV as a monoinfection was founded to the patients with stenocardia in 4 times more often, than HSV.

CMV- and HSV- antigenemia was founded in the patients with acute miocardium infarction in 50% and 36% accordingly.

Generalizing it is possible to assume results, that CMV renders the greater influence on tendency CHD, than HSV.