МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД "ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені І.Я.ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ"

МАРТЬЯНОВА ОЛЬГА ІГОРІВНА

УДК: 616.12-005.4-06:616.127-02:616.89-008.441.13]-092.19

ОСОБЛИВОСТІ ІМУНОПАТОГЕНЕЗУ ІШЕМІЧНОЇ ХВОРОБИ СЕРЦЯ ТА АЛКОГОЛЬНОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ

14.03.04 – патологічна фізіологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Тернопіль – 2015

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького МОЗ України

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор

Лаповець Любов Євгенівна, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, завідувач кафедри клінічної лабораторної діагностики факультету післядипломної освіти.

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор **Бондаренко Юрій Іванович**, Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України", завідувач кафедри патологічної фізіології;

доктор медичних наук, доцент **Рикало Надія Анатоліївна**, Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова МОЗ України, завідувач кафедри патологічної фізіології.

Захист відбудеться 27 квітня 2015 р. о 13 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01 у Державному вищому навчальному закладі "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України" (46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Державного вищого навчального закладу "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України" (46001, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців, 8).

Автореферат розісланий 26 березня 2015 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради І.М. Кліщ

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Відомо, що захворювання серцево-судинної системи є основною причиною смерті в цілому світі. Згідно з оцінками, у 2008 році з цієї причини померло 17,3 млн людей, що становить 30 % від усіх випадків смерті у світі. 12,8 % із цього числа померли від ішемічної хвороби серця. Динаміка смертності від серцево-судинних захворювань протягом останніх років дозволяє прогнозувати її зростання в подальшому (ВООЗ, 2011).

За даними літератури, у хворих на серцево-судинні захворювання виникають порушення функціонування імунної системи, цитокінів, що може підвищити ризик виникнення бактеріальних інфекцій (Chalk K. et al., 2014).

За останні роки зловживання алкоголем стало актуальною соціальною та медичною проблемою не лише в Україні, але й у світі загалом. Про її важливість свідчать публікації Американської асоціації серця та Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ, 2011; Goldberg I.J. et al., 2001). Надмірне вживання алкоголю негативно впливає на здоров'я населення і є одним із найбільших ризиків виникнення захворювань у розвинутих країнах (Wilson G.B. et al., 2011). Епідемічний характер і популяційна поширеність алкоголізації населення, масштаб медико-біологічних та соціально-економічних наслідків дають можливість характеризувати алкоголізм як патологію, що становить реальну загрозу здоров'ю нації, сприяє явищам депопуляції (Сосин И.К., 2002). Шкідливий вплив алкоголю є масштабною проблемою, яка загрожує індивідуальному та соціальному розвитку. Це призводить до 2,5 млн смертей щороку (ВООЗ, 2011). Навіть найменші дози алкоголю впливають на кожну систему організму, а вживання його у надмірній кількості негативно впливає не лише на серцево-судинну, але й на травну, центральну нервову системи, кровотворні органи. Це спричинює розвиток алкогольних вісцеропатій, до яких належить алкогольна кардіоміопатія, алкогольний стеатогепатоз, гепатит, цироз печінки, енцефалопатія, панкреатит, артеріальна гіпертензія та інші захворювання, у тому числі з летальними наслідками (Беленков Ю.П. и др., 2000; Окороков А.Н., 2004; Халтурина Д.А., 2006; Mahmoud S. et al., 2007; Рябенко Д.В., 2010; Kobza R. et al., 2009; Lacovoni A. et al., 2010).

На теперішній час спостерігається поширення алкоголізму серед населення країн Європи. Занепокоєння викликає тенденція до формування залежності від алкоголю у молодих людей, адже більшість із них спробували алкогольні напої вперше у віці 12 років і середня доза при цьому становила більше 60 г алкоголю за один випадок (Рябенко Д.В., 2010; Вышинский К.В. и др., 2011).

Незважаючи на суттєві успіхи сучасної патофізіології та кардіології у з’ясуванні основних ланок патогенезу захворювань серцево-судинної системи, впровадження нових методів їх діагностики, питання виявлення особливостей імунної системи та попередження виникнення можливих ускладнень залишається актуальним. Необхідність подальшого вивчення дисфункції цитокінової

та імунної системи у хворих на серцево-судинні захворювання продиктована незмінним зростанням випадків цих захворювань.

Враховуючи актуальність проблеми зловживання алкоголем та розвитку захворювань серцево-судинної системи, необхідно детально вивчити токсичний вплив етанолу на організм для підвищення ефективності профілактики алкогольної кардіоміопатії та ішемічної хвороби серця.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом наукових досліджень Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького і є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри клінічної лабораторної діагностики та кафедри сімейної медицини факультету післядипломної освіти «Вплив професійних шкідливостей та надмірних доз алкоголю на особливості клінічного перебігу і лабораторні показники крові у хворих на токсичну кардіоміопатію та гострі форми ішемічної хвороби серця» (№ держреєстрації 0101U012664) та «Особливості механізмів розвитку та клінічного перебігу гострих і хронічних форм ішемічної хвороби серця у залежності від факторів ризику» (№ держреєстрації 0110U000124). Тема дисертації затверджена Проблемною комісією «Нормальна і патологічна фізіологія» МОЗ та НАМН України (протокол засідання № 1 від 21 червня 2010 року).

Мета дослідження. Визначити патогенетичний взаємозв'язок активності системи імуноцитокіногензу, а також специфічної і неспецифічної резистентності у хворих на ішемічну хворобу серця та алкогольну кардіоміопатію.

Завдання дослідження.

1. Дослідити вплив надмірних доз алкоголю на фагоцитарну та загальну окисно-відновну активність нейтрофільних гранулоцитів у порівнянні з хворими на ішемічну хворобу серця.
2. Встановити вплив надмірних доз алкоголю на зміну кількості та активності популяцій і субпопуляцій лімфоцитів, враховуючи зміни при ішемічній хворобі серця.
3. З'ясувати особливості змін рівнів цитокінів у хворих на ішемічну хворобу серця та алкогольну кардіоміопатію.
4. Дослідити зв'язок між рівнями цитокінів, показниками неспецифічної та специфічної резистентності у пацієнтів із ішемічною хворобою серця та алкогольною кардіоміопатією.
5. Оцінити рівень середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів у пацієнтів, які вживали понад 30 г етанолу щодненно, і таких, які не зловживали ним, але хворіли ішемічною хворобою серця.

Об'єкт дослідження: ішемічна хвороба серця, алкогольна кардіоміопатія.

Предмет дослідження: показники неспецифічного імунітету, зміни популяцій та субпопуляцій лімфоцитів, середньомолекулярні циркулюючі імунні комплекси, прозапальні цитокіни.

Методи дослідження: клініко-лабораторні (загальний аналіз крові, підрахунок лейкоформули); імунологічні (показники неспецифічного імунітету, кількість популяцій та субпопуляцій лімфоцитів, відсоток активованих В-лімфоцитів, рівень середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові, концентрація цитокінів IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, TNF-α, sTNF-R1 у сироватці крові); статистичні (статистична обробка отриманих даних із використанням методу варіаційної статистики за допомогою програми STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., USA).

Наукова новизна одержаних даних. Уперше проведено комплексне дослідження показників неспецифічного, специфічного імунітету та прозапальних цитокінів у хворих на ішемічну хворобу серця та алкогольну кардіоміопатію.

Уперше встановлено, що в патогенезі виникнення дисфункції імунної системи при алкогольній кардіоміопатії спостерігається зниження поглинальної здатності нейтрофільних гранулоцитів; зниження резервних можливостей окисно-відновних процесів нейтрофільних гранулоцитів, що призводить до зниження кілінгової активності нейтрофілів та порушення антимікробного захисту на тлі тривалої алкогольної інтоксикації.

З’ясовано, що зміни, які виникають в імунній системі при алкогольній кардіоміопатії, характеризуються напруженням Т-клітинної ланки імунітету з тенденцією до розвитку Т-клітинного імунодефіциту за рахунок вірогідного зниження показників Т-лімфоцитів-хелперів $CD4^+$.

Уперше виявлено активацію гуморальної ланки імунітету за рахунок субпопуляції активованих В-лімфоцитів на тлі дещо зниженої загальної кількості В-лімфоцитів, а також збільшення кількості середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів.

Доведено, що для хворих на алкогольну кардіоміопатію характерним є підвищення активності кілерної ланки імунної системи.

Встановлено, що вживання надмірних доз алкоголю призводить до виникнення системного запального процесу, який проявляється суттєвим підвищенням рівня прозапальних цитокінів.

Практичне значення отриманих результатів. Результати роботи є науковим підґрунтям для подальшого уточнення впливу надмірних доз алкоголю на патогенетичні зміни при алкогольній кардіоміопатії. Отримані дані розширили уявлення про патогенетичні механізми виникнення дисфункції цитокінової та імунної системи. Проведені обстеження показали можливість використання імунних досліджень для удосконалення процесів діагностики ішемічної хвороби серця, алкогольної кардіоміопатії та профілактики виникнення можливих ускладнень. Новий підхід дасть можливість діагностувати патогенні прояви дисфункції імунної системи та відкоригувати імунодефіцитний стан, попереджуючи розвиток ускладнень запального характеру.

Отримані дані проведених досліджень дозволяють полегшити діагностику та диференційну

діагностику, дати оцінку перебігу захворювання, використати рекомендації щодо профілактики можливих запальних ускладнень при ішемічній хворобі серця та алкогольній кардіоміопатії.

Результати дослідження використовуються у практичній діяльності кардіологічного відділення Львівської комунальної міської клінічної лікарні швидкої медичної допомоги, впроваджені у навчальний процес кафедр патологічної фізіології, клінічної лабораторної діагностики факультету післядипломної освіти, сімейної медицини факультету післядипломної освіти Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри патологічної фізіології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедри фізіології ім. Я.Д. Кіршенблата Буковинського державного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Автором проведено патентно-інформаційний пошук та опрацьована література по темі. Спільно з науковим керівником аргументовано робочу гіпотезу дослідження, сформульовано мету і завдання, обґрунтовано методичні рішення. Здобувачем самостійно проведено лабораторне обстеження хворих, здійснено математичний аналіз та статистичне опрацювання матеріалу. За консультативної допомоги наукового керівника проведено аналіз окремих отриманих результатів, обґрунтовано патогенетичний механізм розвитку дисфункції імунної та цитокінової системи при ішемічній хворобі серця та алкогольній кардіоміопатії. Автором написано та проілюстровано усі розділи дисертації, сформульовано висновки.

Підбір хворих та забір крові проводився на базі комунального закладу Львівська обласна клінічна психіатрична лікарня і Комунальної міської клінічної лікарні швидкої медичної допомоги м. Львова.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, використано фактичний матеріал досліджень здобувача.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертації оприлюднені на засіданнях Львівського відділення Українського республіканського товариства лікарів-лаборантів (2012-2014 рр.), міжнародній науково-практичній конференції «Медична наука та практика: виклики і сьогодення» (Львів, 2014), III Міжнародному медичному конгресі «Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України» (Київ, 2014).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 9 наукових праць, серед них 6 статей у фахових виданнях, рекомендованих ДАК України для публікації основних результатів дисертаційних досліджень, 1 стаття у зарубіжному науковому виданні, 2 – у матеріалах конференції та конгресу.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 143 сторінках друкованого тексту, з яких 118 сторінок займає основний зміст, і складається зі вступу, огляду літератури, матеріалу та

методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних 175 джерел літератури, з них 81 кирилицею та 94 латиницею, додатків. Текст ілюстровано 18 таблицями і 27 рисунками. Бібліографічний опис літературних джерел та додатки викладені на 25 сторінках.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Для розв'язання поставлених завдань проведено комплексне лабораторне обстеження 30 хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС) та 31 хворого на алкогольну кардіоміопатію (АКМП). Підбір хворих проводили, враховуючи заходи по забезпеченню безпеки для здоров'я пацієнта, дотримання його прав, людської гідності та морально-етичних норм у відповідності до принципів Гельсінської декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину та відповідних Законів України.

Комісією з питань етики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького порушень морально-етичних норм при проведенні дослідження не виявлено (протокол засідання № 8 від 21.10.2013 р.).

Усіх пацієнтів було поділено на 2 групи. До групи хворих на ІХС (І.20.8 згідно МКХ-Х) увійшло 30 пацієнтів, які не зловживали алкоголем. При детальному обстеженні пацієнтів виявлено дисфункцію лівого шлуночка, фракція викиду становила менше 55 %. Вік хворих становив 58,38±2,47 років. До групи хворих на АКМП (І.42.6 згідно МКХ-Х) увійшов 31 пацієнт, що зловживали алкоголем, а саме – горілкою. Діагноз встановлено на основі загальноклінічних (скарги на задишку, серцебиття, набряки нижніх кінцівок, болі в області серця; анамнезу захворювання і життя, алкогольного анамнез – тривалість зловживання алкоголем від 10 років, кількість випитого алкоголю за тиждень у перерахунку на чистий етанол більше 210г), об’єктивних та інструментальних (електрокардіографія, ехокардіографія) методів дослідження. При проведенні обстеження у пацієнтів із АКМП виявлено ремоделювання та дилатацію камер серця, зниження фракції викиду менше 55%. Обстеження пацієнтів з АКМП проводили після нормалізації у них показників гамма-глутамілтранспептидази. Вік хворих становив 58,61±1,98 років.

До групи контролю включено 30 практично здорових осіб чоловічої статі віком 57,65±2,23 років без ознак ІХС та АКМП, які не перебували на диспансерному спостереженні з приводу соматичної патології, не зловживали алкоголем та добровільно здавали кров у відділенні трансфузіології.

Дослідження фагоцитарної активності нейтрофілів проводили з використанням частинок латексу (d = 1-3 мм) та вираховували фагоцитарний індекс (ФІ), фагоцитарне число (ФЧ), абсолютний показник фагоцитарної активності (АПФА), кількість активних фагоцитів (КАФ). Для

характеристики загальної окисно-відновної активності нейтрофілів використовували тест відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест) та підраховували відсоток НСТ-позитивних нейтрофілів та цитохімічний коефіцієнт ($ЦК_{нст}$). Визначення катіонних лізосомальних білків (КЛБ) проводили методом з бромфеноловим синім за М.Г. Шубічем. Бактерицидну активність нейтрофілів (БАН) вираховували за допомогою формули С.А. Гусєвої (1991). Кількісне визначення популяцій та субпопуляцій лімфоцитів проводили з використанням моноклональних антитіл непрямим імунофлюоресцентним методом. Для визначення середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів (ЦІКс) використали метод преципітації в розчині поліетиленгліколю-6000. Визначення рівня інтерлейкінів IL-1β, IL-6, TNF-α, sTNF-R1 у сироватці крові проводили за допомогою набору реактивів фірми BIOSOURCE EUROPE S. A. (Бельгія). Визначення вмісту IL-2 у сироватці крові проводили за допомогою набору ProCon (Російська Федерація). Визначення вмісту IL-8 проводили в сироватці крові за допомогою набору реактивів фірми Вектор-Бест (Російська Федерація). Усі дослідження проведені у клініко-діагностичній лабораторії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (свідоцтво № РЛ 1126/08 від 31.01.2008р.; свідоцтво № РЛ 011/148 від 04.02.2014р).

Статистичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою методів варіаційної статистики, визначаючи середнє арифметичне (M), стандартна похибка середнього (m), враховуючи об'єм вибірки. Кожен з показників за допомогою критерію Шапіро-Уілка тестували на нормальність розподілу. Враховуючи умови дослідження та розподіл даних, вірогідні відмінності між групами оцінювали за допомогою параметричного t-критерію Стьюдента. Відмінність між середніми арифметичними величинами вважали вірогідною при значенні $p<0,05$.

З метою виявлення кореляційних зв'язків та проведення кореляційного аналізу визначали коефіцієнт кореляції $|r|$ між усіма показниками, що досліджувалися. Коефіцієнт кореляції набуває значення в числовому інтервалі від -1 до 1. "Напрямок" зв'язку показує знак коефіцієнта. Додатний коефіцієнт кореляції ($r>0$) свідчить про прямий зв'язок між ознаками. Від'ємний коефіцієнт кореляції ($r<0$) свідчить про зворотній зв'язок.

Оцінку щільності зв'язку проводили за абсолютним значенням лінійного коефіцієнта кореляції Пірсона. У випадку, коли модуль коефіцієнта кореляції був рівний або менший, ніж 0,25, кореляція вважалася слабкою. Якщо величина $|r|$ була більшою, ніж 0,25, але меншою, ніж 0,75, такий кореляційний зв'язок вважався помірним. При значенні $|r|$ більшому або рівному 0,75 кореляційний зв'язок вважався сильним (Реброва О.Ю., 2002).

Статистичну обробку отриманих результатів проведено стандартними методами з використанням ліцензійного пакету статистичних програм STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., USA; серійний номер JGVP401E552528AR-3).

Результати досліджень та їх обговорення. У результаті проведених досліджень виявлено,

що у 81 % хворого на ІХС та у 93,5 % хворих на АКМП кількість лейкоцитів знаходиться в межах 4,1-7,6 Г/л.

У хворих на серцево-судинні захворювання функціональний стан клітин неспецифічного імунітету нейтрофілів часто залежить від форми захворювання та тяжкості перебігу, а раннє виявлення змін хемотаксису нейтрофілів може допомогти точніше оцінити ризик виникнення інфекційних ускладнень (Hoang A.N. et al., 2013). На даний час механізм токсичного впливу алкоголю на неспецифічну ланку імунної системи чітко не визначено. Разом з тим, окремими дослідниками встановлено, що у хворих на ІХС виявляють зміни відносних показників активності кисневозалежних процесів, що провокує клітинну відповідь на стрес та порушення цитокінової регуляції (Lavieri R. et al., 2014).

У результаті проведених досліджень встановлено, що ФІ у хворих на ІХС нижчий на 12,01 % ($p<0,05$) стосовно контрольної групи. У хворих на АКМП індекс фагоцитозу був вищий на 5 % ($p>0,05$) порівняно з практично здоровими особами та в 1,19 раза ($p<0,05$) порівняно з показником у хворих на ІХС. Аналізуючи ФЧ нейтрофілів периферичної крові, нами було встановлено для хворих на ІХС – його зниження на 19 % ($p<0,05$) порівняно з контрольною групою, а для хворих з АКМП – зниження в 1,22 раза ($p<0,05$). Виявлено також, що ФЧ у хворих двох груп вірогідно не відрізнялось ($p>0,05$). АПФА хворих на ІХС був нижчим по відношенню до відповідного показника у контрольній групі на 15,39 % ($p>0,05$), у хворих на АКМП спостерігалося його зниження в 1,15 раза ($p>0,05$). АПФА у хворих двох груп вірогідно не відрізнялись ($p>0,05$). КАФ у хворих на ІХС була нижча на 13,88 % ($p>0,05$), а у хворих на АКМП вища на 11,48 % ($p>0,05$) порівняно з контрольною групою. Показник кількості активних фагоцитів у хворих на АКМП був вищий в 1,29 раза ($p<0,05$), ніж відповідний показник у хворих на ІХС.

У табл. 1 відображено досліджувані показники неспецифічного імунітету у хворих на ІХС та АКМП.

Таблиця 1

Результати дослідження неспецифічного імунітету у групах хворих на ІХС та АКМП

Показник	Контрольна група (n = 30)	Хворі на ІХС (n = 30)	Хворі на АКМП (n = 31)
ФІ, %	62,64±2,27	55,12±2,05*	65,86±0,70#
ФЧ, гранул/НГ	6,68±0,34	5,57±0,33*	5,63±0,22*
АПФА, Г/л	22,81±1,58	19,30±2,20	19,9±1,26
КАФ, Г/л	2,09±0,12	1,80±0,19	2,33±0,10#
НСТ„+”, %	10,67±0,38	25,3±3,43*	8,0±0,82*#
$ЦК_{нст}$, у.о.	12,73±0,22	27,43±3,98*	8,26±0,86*#

КЛБ„+”, %	88,11±4,13	86,75±4,35	87,39±4,16
$ЦК_{клб}$, у.о.	133,87±5,94	124,75±5,69	122,05±5,01
БАН, у.о.	5,74±0,05	4,77±0,39*	4,39±0,26*

Примітки: * – вірогідність відмінності показників стосовно контрольної групи (p<0,05); # – вірогідність відмінності показників стосовно хворих на ІХС (p<0,05).

Привернули нашу увагу також відхилення показників, які характеризують загальну окисно-відновну активність нейтрофілів у тесті відновлення нітросинього тетразолію. У хворих на ІХС відсоток НСТ-позитивних нейтрофілів був вищим на 57,8 % (p<0,05) порівняно з контрольною групою, а хворих на АКМП – нижчим на 25 % (p<0,05). У хворих з ІХС кількість нейтрофілів, які здатні відновлювати нітросиній тетразолій до диформазану, у 3,16 раза перевищили відповідний показник у хворих з АКМП (p<0,05). Виявилось, що $ЦК_{нст}$ пацієнтів з ІХС зріс у 2,15 раза (p<0,05), хворих з АКМП – знизився на 35,1% (p<0,05) порівняно з контрольною групою. Отже, загальні окисно-відновні процеси були значно активнішими у хворих на ІХС, ніж у хворих на АКМП (p<0,05).

Одним із елементів неспецифічної резистентності є катіонні лізосомальні білки нейтрофільних гранулоцитів. У результаті проведених нами досліджень встановлено, що у пацієнтів з ІХС та АКМП відсоток КЛБ-вмісних нейтрофілів вірогідно не відрізнявся порівняно із контрольною групою та межах досліджуваних груп (p>0,05). Вірогідно не відрізнялись показники $ЦК_{клб}$ у групі хворих на ІХС, АКМП та у контрольній групі (p>0,05).

Бактерицидна активність нейтрофілів (БАН) є показником, який поєднує в собі дві головні системи антимікробного захисту – кисневозалежну та кисневонезалежну. У хворих на ІХС бактерицидна активність виявилась нижчою у порівнянні з контрольною групою в 1,2 раза (p<0,05), у хворих на АКМП – в 1,3 раза (p<0,05). Результати БАН у хворих на ІХС та АКМП вірогідно не відрізнялись (p>0,05).

Окрім клітинного неспецифічного імунітету, важливу роль у боротьбі з патогенними агентами відіграє адаптивний імунітет. Зміни активності імунної системи залежать від тяжкості захворювання, інтенсивності запальних процесів у міокарді та ступеня дисфункції лівого шлуночка. Дослідженнями було встановлено прямий кореляційний зв'язок між ступенем імунної недостатності та скоротливими можливостями міокарда (Бекбосынова М.И. и др., 2006).

Для виявлення дисфункції цієї ланки ми провели визначення відносної та абсолютної кількості субпопуляцій лімфоцитів та рівня середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів.

Раніше було висловлено припущення, що Т-клітинна супресія при інфаркті міокарда з розвитком активації цитокінів та підвищенням у крові рівня циркулюючих імунних комплексів,

зумовлює продукцію органоспецифічних антитіл, створюючи умови для розвитку постінфарктної дисфункції лівого шлуночка. Земсков А.М. та ін. (2008) використовують дослідження типових реакцій імунної системи в прогнозі розвитку серцевої недостатності в постінфарктному періоді. У більшості хворих виявлено відхилення від типових змін показників імунологічної реактивності (Земсков А.М. и др., 2008).

У табл. 2 відображені зміни показників Т-клітинної ланки імунітету у хворих на ІХС та АКМП.

Таблиця 2

Зміни досліджуваних показників Т-клітинної ланки імунітету у хворих на ІХС та АКМП

Показник	Контрольна група (n = 30)	Хворі на ІХС (n = 30)	Хворі на АКМП (n = 31)
Лімф., %	36,34±0,90	28,20±1,96*	24,14±1,31*
Лімф., Г/л	2,44±0,12	1,51±0,21*	1,36±0,11*
Т-лімф. $CD3^+$, %	58,81±1,69	56,31±1,19	49,59±1,51*#
Т-лімф. $CD3^+$, Г/л	1,41±0,10	0,84±0,11*	0,67±0,05*
Т-лімф. $CD4^+$, %	37,31±0,91	32,25±1,26*	26,47±1,13*#
Т-лімф. $CD4^+$, Г/л	0,79±0,04	0,49±0,07*	0,36±0,04*
Т-лімф. $CD8^+$, %	16,07±0,43	24,06±0,96*	23,12±0,94*
Т-лімф. $CD8^+$, Г/л	0,25±0,010	0,34±0,004*	0,31±0,02
$CD4^+/CD8^+$	1,48±0,013	1,36±0,04	1,18±0,06*#

Примітки: * – вірогідність відмінності показників стосовно контрольної групи ($p<0,05$); # – вірогідність відмінності показників стосовно хворих на ІХС ($p<0,05$).

У хворих на ІХС та АКМП, порівняно з контрольною групою, встановлено: зниження відносної кількості лімфоцитів відповідно на 22,3 % ($p<0,05$) та 33,5 % ($p<0,05$); абсолютної кількості лімфоцитів – в 1,6 ($p<0,05$) та 1,77 ($p<0,05$) раза; відсотка Т-лімфоцитів $CD3^+$ – на 3,48 % ($p>0,05$) та 15 % ($p<0,05$); абсолютної кількості Т-лімфоцитів $CD3^+$ – на 41,7 % ($p<0,05$) та 53,5 % ($p<0,05$); відсотка Т-хелперів $CD4^+$ – в 1,16 ($p<0,05$) та 1,41 ($p<0,05$) раза; абсолютної кількості Т-хелперів $CD4^+$ – в 1,61 ($p<0,05$) та 2,19 ($p<0,05$) раза. Дослідження клітинного імунітету у хворих двох груп показало, що загальна відносна та абсолютна кількість лімфоцитів вірогідно не відрізнялась. Встановлено, що відсотковий вміст Т-лімфоцитів $CD3^+$ у пацієнтів з АКМП в 1,14 ($p<0,05$) раза нижчий, ніж у хворих на ІХС, абсолютна ж кількість Т-лімфоцитів $CD3^+$ вірогідно не відрізнялась ($p>0,05$). Відсоток Т-лімфоцитів $CD4^+$ порівняно з хворими на ІХС виявився нижчим в 1,22 ($p<0,05$) раза, абсолютна кількість вірогідно не відрізнялась ($p>0,05$).

Зміни протилежного характеру спостерігались при аналізі кількісного вмісту субпопуляцій

Т-лімфоцитів $CD8^+$. У хворих на ІХС та АКМП встановлено підвищення відносної кількості Т-лімфоцитів $CD8^+$ у порівнянні з контрольною групою на 49,71 % ($p<0,05$) та 43,87 % ($p<0,05$), абсолютної – на 36 % ($p<0,05$) та 24 % ($p>0,05$) відповідно. При порівнянні показників субпопуляції Т-лімфоцитів $CD8^+$ двох досліджуваних груп не встановлено вірогідної відмінності ($p>0,05$).

Заслуговує на увагу співвідношення між субпопуляціями Т-лімфоцитів $CD4^+$ та $CD8^+$: у хворих на АКМП цей показник знизився на 17,48 % ($p<0,05$), а в хворих на ІХС не був вірогідним стосовно контролю. Імунорегуляторний індекс – співвідношення між субпопуляціями Т-лімфоцитів $CD4^+$ та $CD8^+$, був нижчим у хворих на АКМП порівняно із хворими на ІХС в 1,15 раза ($p<0,05$).

Однією з важливих популяцій лімфоцитів є В-лімфоцити, які мають здатність диференціюватися у плазматичні клітини та продукувати антитіла.

Зміни показників В-лімфоцитів, NK-клітин та ЦІКс представлені у табл. 3.

Таблиця 3

Показники популяції В-лімфоцитів, NK-клітин та ЦІКс у хворих на ІХС та АКМП

Показник	Контрольна група (n = 30)	Хворі на ІХС (n = 30)	Хворі на АКМП (n = 31)
В-лімф. $CD19^+$, %	20,34±0,81	23,13±0,80*	25,12±0,95*
В-лімф. $CD19^+$, Г/л	0,42±0,030	0,34±0,035	0,34±0,030
В-лімф. $CD23^+$, %	6,0±0,5	15,75±0,97*	20,75±0,94*#
$CD3^+$/ $CD19^+$	2,82±0,15	2,53±0,16	2,07±0,15*#
NK-клітини, %	9,42±0,92	20,56±1,36*	25,34±1,07*#
NK-клітини, Г/л	0,045±0,03	0,33±0,07*	0,34±0,03*
ЦІКс, о.е.	65,28±6,00	89,10±9,42*	102,76±7,02*

Примітки: * – вірогідність відмінності показників стосовно контрольної групи ($p<0,05$); # – вірогідність відмінності стосовно хворих на ІХС ($p<0,05$).

Дослідження популяції В-лімфоцитів $CD19^+$ показало підвищення їх відсотка на 13,72% ($p<0,05$) у хворих на ІХС та на 23,5 % ($p<0,05$) у хворих на АКМП. Показники абсолютної кількості знизились, однак вірогідно не відрізнялась ($p>0,05$). Відносна кількість В-лімфоцитів в обох групах вірогідно не відрізнялась ($p>0,05$). Також вірогідно не відрізнялися й абсолютні величини ($p>0,05$).

Варто зазначити, що кількість активованих В-лімфоцитів значно зросла. У хворих на ІХС активовані В-лімфоцити $CD23^+$ перевищили показники контрольної групи у 2,63 раза ($p<0,05$), у хворих на АКМП – у 3,46 раза ($p<0,05$). Варто зазначити, що тривале зловживання алкоголем у

хворих на АКМП призвело до вірогідного зростання кількості активованих В-лімфоцитів $CD23^+$ в 1,32 раза ($p<0,05$) порівняно з хворими на ІХС, які не зловживали алкоголем. Зниження рівня загальної кількості Т-лімфоцитів та підвищення відносних показників В-лімфоцитів призвело до зміни співвідношення $CD3^+/CD19^+$ та зниження його у хворих на ІХС 13,36 % ($p>0,05$), у хворих на АКМП – на 29,1 % ($p<0,05$) порівняно з нормальними показниками. Даний показник був нижчим у хворих на АКМП в 1,22 раза ($p<0,05$) порівняно з пацієнтами з ІХС.

Результати нашого дослідження гуморальної ланки імунної системи показали, що у хворих на ІХС рівень ЦІКс перевищував рівень ЦІКс контрольної групи на 36,49 % ($p<0,05$). Аналогічні зміни виявлено і у хворих на АКМП – ЦІКс підвищились на 57,39 % ($p<0,05$). Співставлення результатів дослідження рівнів ЦІКс у досліджуваних групах показало, що кількість імунних комплексів у хворих двох груп вірогідно не відрізнялась.

Однією з особливостей змін імунної системи серед обстежуваних пацієнтів була підвищена активність кілерної ланки. Встановлено, що у хворих на ІХС відсоток та абсолютна кількість NK-клітин у 2,18 ($p<0,05$) та 7,33 ($p<0,05$) раза перевищили показники контрольної групи, у хворих на АКМП – у 2,69 ($p<0,05$) та 7,55 ($p<0,05$) раза відповідно. Відсоток NK-клітин $CD56^+$ у пацієнтів з АКМП вірогідно перевищував показники хворих на ІХС в 1,23 раза ($p<0,05$). Абсолютна кількість NK-клітин $CD56^+$ у хворих обох груп вірогідно не відрізнялась ($p>0,05$).

У процесі вивчення патогенезу захворювань серцево-судинної системи виявлено, що при надлишковому утворенні цитокіни здатні перетворюватись з факторів захисту у фактори розвитку патології. Цитокіни, які утворюються на ранніх стадіях патологічного процесу, визначають напрям подальшої імунної відповіді з переважанням тої чи іншої ланки імунної системи (Нікітін Є.В. та ін., 2007; Lavieri R. et al., 2014). При захворюваннях серцево-судинної системи вплив цитокінів проявляється як негативний інотропний ефект, посилення процесу апоптозу кардіоміоцитів, гіпертрофії та ремоделювання міокарда, порушення дилятації артеріол. Інтерлейкіни 1β, 6, 8 (IL-1β, IL-6, IL-8) зумовлюють активацію вільнорадикального окислення, що може призвести до посилення процесів апоптозу (Курилів Г.М., 2009; Макконен К.Ф. и др., 2012).

Прозапальні цитокіни IL-1β, IL-6, TNF-α синтезуються у серці у відповідь на пошкодження міокарда після виникнення ішемії і залежно від тяжкості проявів їх синтез може повернутися до початкового рівня (Симбирцев А.С., 2013).

В усіх пацієнтів обох груп виявлено статистично вірогідне підвищення показників цитокінів: IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, TNF-α, sTNF-R1.

Середнє значення IL-1β хворих на ІХС (22,1±0,67 пг/мл; $p<0,05$) в 1,55 раза, хворих на АКМП (43,36±0,89 пг/мл; $p<0,05$) – у 3,04 раза перевищило середнє значення у контрольній групі (14,28±0,59 пг/мл; $p<0,05$). Рівень IL-1β у хворих на АКМП перевищив середнє значення IL-1β у хворих на ІХС в 1,96 раза ($p<0,05$).

У 2,26 раза вище нормальних величин контрольної групи (7,44±0,36 пг/мл) був показник IL-6 у хворих на ІХС (16,78±0,32 пг/мл; p<0,05), та у 3,14 раза – на АКМП (23,33±0,66 пг/мл; p<0,05). IL-6 у пацієнтів з АКМП був вірогідно вищим в 1,39 раза стосовно показника пацієнтів з ІХС (p<0,05).

IL-8 ідентифікований як потужний хемокін, який залучає в ділянку запалення нейтрофільні гранулоцити, сприяє їх руху через судинну стінку та сприяє хемотаксису усіх типів мігруючих імунних клітин. Варто відзначити вірогідне підвищення концентрації IL-8 у хворих на ІХС (6,95±0,75 пг/мл; p<0,05) порівняно з показниками контрольної групи (2,5±0,15 пг/мл) у 2,78 раза. Виражених змін зазнав показник рівня IL-8 у пацієнтів з АКМП (21,34±2,83 пг/мл, p<0,05) – він перевищував нормальні величини у 6,5 раза. Аналіз зміни рівня IL-8 при АКМП показує, що такий показник вірогідно перевищив рівень IL-8 при ІХС у 3,07 раза (p<0,05).

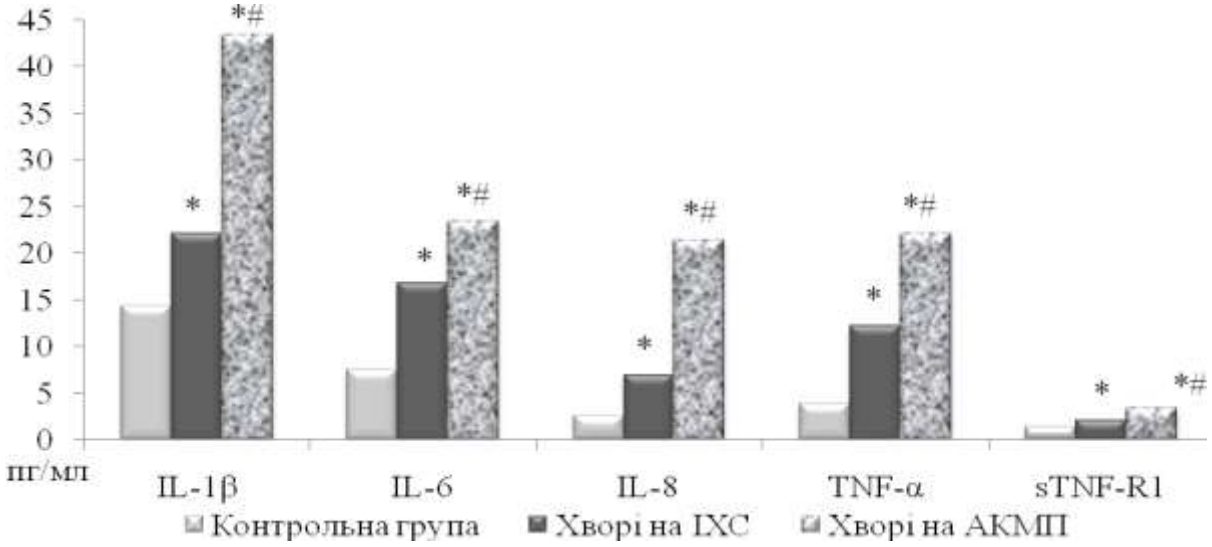

Рис. 1. Показники цитокінів IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α та sTNF-R1 у хворих на ішемічну хворобу серця та алкогольну кардіоміопатію.

Примітки: * – вірогідність відмінності показників стосовно контрольної групи (p<0,05); # – вірогідність відмінності показників стосовно хворих на ІХС (p<0,05).

Зміни спостерігалися і при дослідженні IL-2. Його концентрація у сироватці крові хворих на ІХС (240±16,2 пг/мл; p<0,05) у 24,44 раза перевищила показники контрольної групи (9,82±0,98 пг/мл). Для хворих на АКМП (63,92±8,2 пг/мл; p<0,05) підвищення IL-2 виявилось менш суттєвим – у 6,5 раза стосовно контрольної групи. При цьому середній показник IL-2 у хворих на АКМП був у 3,75 рази (p<0,05) нижчий, ніж такий показник у пацієнтів з ІХС, що свідчить про зниження противірусного захисту у хворих на алкогольну кардіоміопатію.

Також привернули нашу увагу відхилення показників при вивченні TNF-α та розчинного рецептора sTNF-R1. Порівняно з контрольною групою (3,86±0,11 пг/мл) рівень TNF-α хворих на

ІХС (12,23±0,37 пг/мл; p<0,05) підвищився у 3,17 раза, на АКМП (22,05±0,97 пг/мл; p<0,05) – у 5,71 раза. Аналогічні зміни спостерігались при вивченні sTNF-R1. Для хворих на ІХС (2,06±0,046 пг/мл; p<0,05) характерним було підвищення в 1,56 раза стосовно контролю (1,32±0,04 пг/мл), для хворих на АКМП (3,37±0,21 пг/мл; p<0,05) – у 2,55 раза. У пацієнтів з АКМП виявлено вірогідне підвищення середнього показника TNF-α порівняно із хворими на ІХС в 1,8 раза (p<0,05), sTNF-R1 – в 1,64 раза (p<0,05).

Проведений кореляційний аналіз підтвердив взаємозв'язок виявлених нами порушень з боку неспецифічної, специфічної ланок імунної системи та досліджуваних цитокінів. При ІХС між показниками імунної системи виявлено більшу кількість вірогідних кореляційних зв'язків (АПФА – 11; КАФ – 11; НСТ«+» – 12; $CD8^+$ – 13), ніж при АКМП (АПФА – 8; КАФ – 7; НСТ«+» – 6; $CD8^+$ – 8). При цьому серед зв'язків у хворих на ІХС переважали сильні взаємодії між показниками АПФА (54,5 % від загальної кількості), КАФ (63,6 %) та $CD8^+$ (30,7 %) порівняно з хворими на АКМП (АПФА – 50 %; КАФ – 28,6 %; $CD8^+$ – 0 %). Відсоток сильних взаємодій НСТ«+» нейтрофілів (41,6 %) при ІХС виявився нижчим порівняно з хворими на АКМП (66,7 %).

Для пацієнтів з ІХС виявилось характерним те, що АПФА вірогідно корелював із КАФ (r = 0,98), АЧН (r = 0,93), ФЧ (r = 0,91), відсотком НСТ-позитивних НГ (r=0,87), загальною кількістю лейкоцитів (r=0,85) та кількістю лімфоцитів $CD56^+$ (r=0,76) прямим сильним зв'язком (p<0,05). Прямий вірогідний кореляційний зв'язок середньої сили виявлено між АПФА та лімфоцитами $CD19^+$ (r = 0,72), загальною кількістю лімфоцитів (r = 0,66), рівнями субпопуляцій лімфоцитів $CD8^+$ (r = 0,52), $CD3^+$ (r = 0,46), показником TNF-α (r = 0,44) (p<0,05).

Особливістю у хворих на ІХС стало й те, що показник КАФ вірогідно корелював із АПФА (r = 0,98), відсотком НСТ-позитивних нейтрофілів (r = 0,94), АЧН (r = 0,9), ФЧ (r = 0,88), загальною кількістю лейкоцитів (r = 0,85), абсолютною кількістю лімфоцитів $CD56^+$ (r = 0,82) та $CD19^+$ (r = 0,75) прямим сильним зв'язком (p<0,05). Прямий вірогідний кореляційний зв'язок середньої сили встановлено між КАФ та абсолютною кількістю лімфоцитів (r = 0,69), субпопуляціями лімфоцитів $CD8^+$ (r = 0,53), $CD3^+$ (r = 0,48), $CD4^+$ (r = 0,44) (p<0,05).

Також при ІХС встановлено вірогідні прямі сильні кореляційні зв'язки кількості НСТ-позитивних нейтрофілів із КАФ (r = 0,93), АЧН (r = 0,88), АПФА (r = 0,87), загальною кількістю лейкоцитів (r = 0,86) та субпопуляцією лімфоцитів $CD56^+$ (r = 0,79) (p<0,05). Вірогідний прямий зв'язок середньої сили НСТ-позитивних нейтрофілів прослідковується із абсолютною кількістю лімфоцитів $CD19^+$ (r = 0,71), ФЧ (r = 0,71), загальною кількістю лімфоцитів (r = 0,7), лімфоцитами, які експресують на своїй поверхні молекулу $CD8^+$ (r = 0,56), ФІ (r = 0,54), лімфоцитами субпопуляцій $CD3^+$ (r = 0,53) та $CD4^+$ (r = 0,5) (p<0,05).

Важливо відзначити отримані вірогідно сильні прямі кореляційні зв'язки субпопуляції лімфоцитів $CD8^+$ хворих з ІХС та лімфоцитів $CD3^+$ (r = 0,93), $CD4^+$ (r = 0,91), абсолютного числа

лімфоцитів (r = 0,9), В-лімфоцитів $CD19^+$ (r = 0,81) (p<0,05). Т-лімфоцити $CD8^+$ виявили пряму кореляцію середньої сили із загальною кількістю лейкоцитів (r = 0,7), NK-клітинами $CD56^+$ (r = 0,63), відсотком НСТ-позитивних нейтрофілів (r = 0,56), КАФ (r = 0,53), АПФА (r = 0,52), рівнем IL-6 (r = 0,32) (p<0,05).

Провівши кореляційний аналіз отриманих результатів досліджень у пацієнтів з АКМП, виявлено низку вірогідних зв'язків. Встановлено, що у таких хворих переважали кореляційні зв'язки середньої сили, дещо менша кількість – сильних. Встановлено, що у пацієнтів групи АПФА корелює з відносною кількістю лімфоцитів $CD3^+$ (r = 0,76), АЧН (r = 0,76), відсотком НСТ-позитивних клітин (r = 0,81) та КАФ (r = 0,88) сильними прямими зв'язками (p<0,05). Прямі зв'язки середньої сили спостерігаються між АПФА та відносною кількістю NK-клітин $CD56^+$ (r = 0,4), ФЧ (r = 0,45), загальною кількістю лейкоцитів (r = 0,67) (p<0,05). Середньої сили обернений кореляційний зв'язок встановлено між АПФА та TNF-α (p<0,05).

Виявлено, що КАФ у пацієнтів з АКМП корелює сильними прямими вірогідними зв'язками із відносною кількістю НСТ-позитивних нейтрофілів (r = 0,86) та АПФА (r = 0,88) (p<0,05). Усі інші взаємодії КАФ у хворих на АКМП виявились середньої сили. Це кореляційні зв'язки з загальною кількістю лейкоцитів (r = 0,41), АЧН (r = 0,5), відносною кількістю лімфоцитів $CD3^+$ (r = 0,54), ФІ (r = 0,58), ФЧ (r = 0,63) (p<0,05). Відносна кількість нейтрофілів у даній групі, які дають позитивний результат у НСТ-тесті, прямо корелює з АЧН (r = 0,77), $CD3^+$ (r = 0,79), АПФА (r = 0,81), КАФ (r = 0,86), ФІ (r = 0,41) та загальною кількостю лейкоцитів (r = 0,68) (p<0,05).

Лімфоцити $CD8^+$ у хворих на АКМП пов'язані вірогідним прямим кореляційним зв'язком із цитокінами IL-8 (r = 0,27), TNF-α (r = 0,36), співвідношенням між лімфоцитами CD3/CD19 (r = 0,46) та абсолютною кількістю лімфоцитів $CD3^+$ (r = 0,67) (p<0,05). Зворотні вірогідні зв'язки середньої сили у пацієнтів з АКМП спостерігались між лімфоцитами $CD8^+$ та імунорегуляторним індексом (IPI) (r = -0,59), абсолютною кількістю лімфоцитів $CD56^+$ (r = -0,51), відносною кількістю лімфоцитів $CD23^+$ (r = -0,42) та IL-6 (r = -0,28) (p<0,05).

Отже, виявлені кореляційні зв’язки свідчать про наявність більшої зв'язаності процесів неспецифічної та специфічної ланок імунітету у хворих на ІХС порівняно з групою хворих на АКМП.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуального наукового завдання, яке полягає у з'ясуванні впливу надмірних доз алкоголю на фагоцитарну та загальну окисно-відновну активність нейтрофільних гранулоцитів, на зміну кількості та активності популяцій і субпопуляцій лімфоцитів, дослідженні особливостей змін рівнів цитокінів у хворих на алкогольну кардіоміопатію, вивченні зв'язку між рівнями цитокінів, показниками

неспецифічної та специфічної резистентності, визначенні та оцінці рівня середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів у пацієнтів з ішемічною хворобою серця та таких, які вживали надмірні дози алкоголю протягом тривалого часу і хворіли на алкогольну кардіоміопатію.

На основі проведених досліджень можна сформулювати такі висновки:

1. Тривале вживання надмірних доз алкоголю хворими на алкогольну кардіоміопатію призводить до дисфункції фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів, яка проявлялася зростанням відносно здорових осіб фагоцитарного індекса (на 4,64 %; $p>0,05$), кількості активних фагоцитів (на 11,48 %; $p>0,05$) та зниженням фагоцитарного числа (в 1,22 раза; $p<0,05$) і абсолютного показника фагоцитарної активності (в 1,15 раза; $p>0,05$).

2. У хворих на алкогольну кардіоміопатію знижується загальна окисно-відновна активність за рахунок зменшення НСТ-позитивних нейтрофілів (на 25%; $p<0,05$) та цитохімічного коефіцієнта (на 35,1%; $p<0,05$), зменшується кількість позитивних нейтрофілів за катіонними білками, цитохімічний коефіцієнт та бактерицидна активність нейтрофілів в 1,3 раза порівняно із контрольною групою. На відміну від хворих на ішемічну хворобу серця, у пацієнтів з алкогольною кардіоміопатією більш високий рівень фагоцитарного індекса (в 1,19 раза; $p<0,05$), кількість активних фагоцитів (в 1,29 раза; $p<0,05$), знижена кількість НСТ-позитивних нейтрофілів (у 3,16 раза; $p<0,05$), цитохімічний коефіцієнт (у 3,32 раза; $p<0,05$), що робить їх більш схильними до розвитку бактеріальних ускладнень.

3. За умови алкогольної кардіоміопатії знижується загальна кількість Т-лімфоцитів $CD3^+$ та $CD4^+$, у відносних ($CD3^+$– в 1,18 раза; $CD4^+$– в 1,41 раза; $p< 0,05$) та абсолютних величинах ($CD3^+$– у 2,15 раза, $CD4^+$– 2,19 раза; $p<0,05$) порівняно з контрольною групою. При цьому збільшується як відносна, так і абсолютна кількість Т-лімфоцитів $CD8^+$ (на 43,87 %; $p<0,05$) та (на 24 %; $p>0,05$), що порушує співвідношення між субпопуляціями та підтверджує негативний вплив надмірних доз алкоголю на клітинний імунітет. Для хворих на алкогольну кардіоміопатію характерні вищі показники відносної кількості В-лімфоцитів (в 1,24 раза; $p<0,05$) у порівнянні з практично здоровими особами та нижче співвідношення $CD3^+$/ $CD19^+$ (в 1,22 раза; $p<0,05$) порівняно з хворими на ішемічну хворобу серця. Кілерна ланка імунної системи у хворих з алкогольною кардіоміопатією більш активна (кількість NK-клітин $CD56^+$ вища; $p<0,05$), ніж у хворих на ішемічну хворобу серця та в контрольній групі.

4. Надмірне вживання алкоголю викликає дисфункцію цитокінової системи з підвищенням рівнів цитокінів (IL-1β – у 3,04 раза, IL-6 – у 3,14 раза, IL-8 – у 8,54 раза, TNF-α – у 5,71 раза, розчинного рецептора sTNF-R1 – у 2,55 раза; $p<0,05$) у хворих на алкогольну кардіоміопатію порівняно не тільки з контрольною групою, але й хворими на ішемічну хворобу серця (IL-1β – в 1,96 раза, IL-6 – в 1,39 раза, IL-8 – у 3,07 раза, TNF-α – в 1,8 раза, розчинного рецептора sTNF-R1 – в 1,64 раза; $p<0,05$). Разом з тим рівень IL-2 суттєво перевищує (у 24,44 раза)

у хворих з ішемією міокарда, порівняно з контрольною групою ($p<0,05$) та в 3,75 раза ($p<0,05$) порівняно з хворими на алкогольну кардіоміопатію.

5. Збільшення кількості активованих В-лімфоцитів у хворих на алкогольну кардіоміопатію сприяє підвищенню в крові концентрації імуноглобулінів та середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів. Встановлено, що середній рівень їх у таких хворих перевищує середній рівень у практично здорових осіб на 57,39 % ($p<0,05$), а рівень у хворих на ішемічну хворобу серця – в 1,15 раза ($p>0,05$).

6. У розвитку ішемічної хвороби серця та алкогольної кардіоміопатії формується закономірна залежність між показниками неспецифічного, специфічного імунітету та системою цитокінів, про що свідчать виявлені сильні кореляційні залежності (22 зв'язки) у хворих на ішемію міокарда та менша кількість сильних кореляційних взаємодій у хворих на кардіоміопатію (10 зв'язків), що доводить більш сильну патогенетичну роль їх у першому випадку та слабшу у другому.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Цитокіновий профіль у пацієнтів з гострим коронарним синдромом в залежності від кількості вживання алкоголю / Ю. Г. Кияк, Л. Є. Лаповець, Ю. І. Онищук, О. І. Мартьянова, Я. Г. Гутор // Вісник проблем біології та медицини. – 2012. – Вип. 1 (91). – С. 138–140. (*Здобувач проаналізувала літературні джерела, провела обстеження хворих, сформулювала висновки*).

2. Мартьянова О. І. Показники неспецифічного імунітету у хворих на алкогольну кардіоміопатію / О. І. Мартьянова, Л. Є. Лаповець, Н. Є. Лаповець // Вісник проблем біології та медицини. – 2013. – Вип. 1, т. 2 (99). – С. 129–132. (*Здобувач проводила підбір хворих, забір крові на дослідження, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті*).

3. Зміни показників імунної системи у хворих на алкогольну кардіоміопатію / Л. Є. Лаповець, О. І. Мартьянова, Н. О. Телев'як, Г. В. Башта // Вісник проблем біології та медицини. – 2013. – Вип. 4, т. 1 (104). – С. 166–169. (*Здобувач проводила клініко-лабораторне обстеження хворих, статистичну обробку отриманих даних, підготувала статтю до друку*).

4. Цитокіновий профіль у пацієнтів з алкогольною кардіоміопатією / О. І. Мартьянова, Л. Є. Лаповець, Г. В. Башта, О. М. Кадикало // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2013. – Т. 8, № 1. – С. 137–141. (*Здобувач проводила обстеження хворих, обробку та аналіз результатів, підготувала статтю до друку*).

5. Мартьянова О. І. Особливості кореляційних зв'язків між показниками специфічного, неспецифічного імунітету та системою цитокінів у хворих на алкогольну кардіоміопатію / О. І. Мартьянова, Л. Є. Лаповець // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2013. – Т. 8, № 2. –

С.188–194. (*Здобувач проводила підбір хворих, забір крові на дослідження, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті*).

6. Мартьянова О. І. Особливості неспецифічної ланки імунної відповіді у хворих на алкогольну кардіоміопатію / О. І. Мартьянова, Л. Є. Лаповець, М. О. Лесик // Клінічна та експериментальна патологія. – 2013. – Т. XII, № 4 (46). – С. 79–81. (*Здобувачу належить ідея проекту дослідження, розробка етапів дослідження, обстеження хворих, підготовка статті до друку*).

7. Мартьянова О. И. Особенности клеточного и гуморального звена иммунной системы у больных алкогольной кардиомиопатией [Электронный ресурс] / О. И. Мартьянова, Г. В. Башта // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 6. – Режим доступа к журналу : www.science-education.ru/113-11370 (*Здобувач проводила клініко-лабораторне обстеження хворих, аналіз отриманих даних, сформулювала висновки*).

8. Мартьянова О. І. Цитокіновий профіль у хворих на алкогольну кардіоміопатію / О. І. Мартьянова // Медична наука та практика: виклики і сьогодення : міжнародна науково-практична конференція, 25-26 липня 2014 р. : зб. тез наук. робіт. – Львів, 2014. – С. 104–106.

9. Мартьянова О. І. Особливості неспецифічного імунітету у хворих на алкогольну кардіоміопатію / О. І. Мартьянова, Г. В. Башта, Л. Є. Лаповець // Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України : III міжнародний медичний конгрес, 14-16 жовтня 2014 р. : матеріали конгр. – К., 2014. – С. 11. (*Здобувач проводила клініко-лабораторне обстеження хворих, проаналізувала отримані дані, сформулювала висновки*).

АНОТАЦІЯ

Мартьянова О.І. Особливості імунопатогенезу ішемічної хвороби серця та алкогольної кардіоміопатії. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України". Тернопіль, 2015.

Обстежено 61 хворого на ішемічну хворобу серця (ІХС) та алкогольну кардіоміопатію (АКМП). Встановлено, що вживання алкоголю призводить до дисфункції фагоцитарної активності нейтрофілів із зростанням кількості фагоцитуючих клітин та зниженням їх фагоцитарних можливостей, зниження загальної окисно-відновної активності, зменшення кількості КЛБ-позитивних нейтрофілів, бактерицидної активності нейтрофілів порівняно із контрольною групою та хворими на ІХС. Встановлено, що при АКМП виникає зниження кількості Т-лімфоцитів $CD3^+$ та $CD4^+$, збільшення кількості Т-лімфоцитів $CD8^+$, відносної кількості В-лімфоцитів, рівня ЦІКс та нижче співвідношення $CD3^+$/ $CD19^+$ порівняно з хворими на ІХС та групою контролю. У хворих

на АКМП кількість NK-клітин $CD56^+$ є вищою порівняно з ІХС та контролем. Алкоголь у надмірних кількостях викликає дисфункцію цитокінової системи, а саме: підвищення цитокінів IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α, розчинного рецептора sTNF-R1 у хворих на АКМП порівняно не лише із контрольною групою, але й з показниками пацієнтів з ІХС. IL-2 виявився суттєво вищим у хворих, які страждали на ІХС. Взаємозв'язок виявлених порушень зі сторони імунної системи та системи цитокінів підтверджується встановленими кореляційними зв'язками між досліджуваними показниками у хворих на ІХС та АКМП і свідчить про наявність більшої зв'язаності процесів у перших, порівняно з другими.

Ключові слова: ішемічна хвороба серця, алкогольна кардіоміопатія, неспецифічний імунітет, специфічний імунітет, цитокіни.

АННОТАЦИЯ

Мартьянова О.И. Особенности иммунопатогенеза ишемической болезни сердца и алкогольной кардиомиопатии. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. Государственное высшее учебное заведение "Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МЗ Украины", Тернополь, 2015.

Диссертационная работа посвящена изучению особенностей иммунопатогенеза ишемической болезни сердца (ИБС) и алкогольной кардиомиопатии (АКМП). В исследовании приняли участие 61 человек. После отбора пациенты были разделены на две группы: 1 группа – 30 пациентов с ИБС, 2 группа – 31 пациент с АКМП. С целью сравнения результатов обследовано 30 практически здоровых лиц для группы контроля. В работе использованы следующие методы исследования: клинико-лабораторные (общий анализ крови, подсчет лейкоформулы), иммунологические (показатели неспецифического иммунитета, количество и активность популяций и субпопуляций лимфоцитов, уровень среднемолекулярных циркулирующих иммунных комплексов сыворотки крови, концентрация цитокинов IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, TNF-α, sTNF-R1 сыворотки крови), статистические (статистическая обработка цифровых данных методом вариационной статистики).

Установлено, что абсолютное количество лейкоцитов у большинства пациентов находилось в пределах нормы. У больных, употреблявших алкоголь, установлена дисфункция фагоцитарной активности нейтрофилов по сравнению со здоровыми людьми, которая проявлялась достоверным повышением ФИ и КАФ. Но в то же время у таких больных обнаружено достоверное снижение ФЧ и АКФА. То есть, при росте количества фагоцитирующих клеток снижались их возможности фагоцитировать патологические агенты. У больных АКМП наблюдалось достоверное снижение

общей окислительно-восстановительной активности, количества нейтрофилов с КЛБ, бактерицидной активности нейтрофилов относительно контрольной группы и больных ИБС, что способствует более частым бактериальным осложнениям.

Алкоголь у пациентов с АКМП, в сравнении с контрольной группой, способствовал достоверному снижению общего количества Т-лимфоцитов $CD3^+$ и $CD4^+$, но в то же время увеличилось относительное и абсолютное количество Т-лимфоцитов $CD8^+$. Такие изменения подтверждают отрицательное влияние чрезмерного употребления алкоголя на клеточный иммунитет. Относительное количество В-лимфоцитов у больных АКМП достоверно превышало показатели контрольной группы в 1,24 раза, но существенно не отличалось от показателей у больных ИБС. Стоит заметить, что количество активированных В-лимфоцитов значительно возросла. У больных ИБС активированные В-лимфоциты $CD23^+$ превысили показатели контрольной группы в 2,63 раза, у больных АКМП – возросли в 3,46 раза. Ниже, чем у больных ИБС, у пациентов с АКМП оказалось соотношение $CD3^+$/ $CD19^+$ в 1,22 раза. Результаты исследования гуморального звена иммунной системы показали, что увеличение количества активированных В-лимфоцитов у больных АКМП отобразилось на количестве иммуноглобулинов. Уровень среднемолекулярных циркулирующих иммунных комплексов в обеих группах существенно превышал норму: в группе пациентов с АКМП – в 1,57 раза, у больных ИБС – в 1,36 раза.

Особенностью изменений со стороны иммунной системы среди обследуемых пациентов была повышенная активность киллерного звена. Установлено, что у больных ИБС процентное и абсолютное количество NK-клеток в 2,18 и 7,33 раза превысили показатели контрольной группы, у больных АКМП – в 2,69 и 7,55 раза соответственно. Процентное количество NK-клеток у пациентов с АКМП превышало показатели больных ИБС в 1,23 раза, абсолютные показатели достоверно не отличались.

В сыворотке крови пациентов с ИБС и АКМП обнаружено достоверное повышение цитокинов. Среднее значение IL-1β больных с АКМП в 3,04 раза, больных с ИБС – в 1,55 раза превысило среднее значение IL-1β в контрольной группе. Уровень IL-1β у больных АКМП был выше значения у больных ИБС в 1,96 раза. В 2,26 раза выше нормы контрольной группы был показатель IL-6 у больных ИБС и в 3,14 раза – у пациентов с АКМП. IL-6 у пациентов с АКМП оказался достоверно выше в 1,39 раза в сравнении с больными ИБС. Стоит отметить достоверное повышение концентрации IL-8 у пациентов с ИБС в сравнении с контрольной группой в 2,78 раза. Выраженных изменений претерпел показатель уровня IL-8 у больных АКМП – он превышал норму в 6,5 раза, а показатель пациентов с ИБС – в 3,07 раза. В то же время уровень IL-2 в сыворотке крови у больных ИБС оказался достоверно выше (в 24,44 раза) по сравнению с контрольной группой и в 3,75 раза – по сравнению с больными АКМП. Также привлекает к себе

внимание отклонение показателей при изучении TNF-α и sTNF-R1. В сравнении с контрольной группой уровень TNF-α у больных ИБС повысился в 3,17 раза, у больных АКМП – в 5,71 раза. Аналогичные изменения наблюдались при изучении sTNF-R1. Для пациентов с ИБС было характерным повышение в 1,56 раза в сравнении с контрольной группой, для пациентов с АКМП – в 2,55 раза. У больных АКМП установлено достоверное повышение среднего показателя TNF-α в сравнении с больными ИБС в 1,8 раза, sTNF-R1 – в 1,64 раза.

Между показателями неспецифического, специфического иммунитета и системой цитокинов у пациентов с ИБС установлено сильные корреляционные взаимодействия (22 связи) и меньшее количество сильных корреляционных взаимодействий (10 связей) у пациентов с АКМП, что свидетельствует об усилении реакций иммунной системы в первом случае и ослабление их во втором.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, алкогольная кардиомиопатия, неспецифический иммунитет, специфический иммунитет, цитокины.

ANNOTATION

Martyanova O.I. Features Immunopathogenesis of Ischemic Heart Disease and Alcoholic Cardiomyopathy. – Manuscript.

Thesis for the Degree of Candidate of Medical Sciences, specialty 14.03.04 – Pathological Physiology. State Higher Educational Esteblishment "I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine". Ternopil, 2015.

30 patients suffering from ischemic heart disease (IHD) and 31 patients with the diagnosis of alcoholic cardiomyopathy (ACMP) were examined. Established that alcohol consumption by people suffering from ACMP caused dysfunction phagocytic activity of neutrophils manifesting in the increase of phagocytic cells and reduction of phagocytic capacities. General reductive-oxidative activity of patients with the diagnosis of ACMP were reduced, the number of CLP-positive neutrophils was decreased, the CC_{CLP} and bactericidal capacity of neutrophils were lower as compared with the control group and patients suffering from IHD. In the course of ACMP progression the decrease of $CD3^+$ and $CD4^+$ T-lymphocytes was revealed. At that, the number of $CD8^+$ T-lymphocytes was increased. ACMP patients demonstrated higher rates of B-lymphocytes and CIC_{mid} as well as lower ratio of $CD3^+$/ $CD19^+$ as compared with IHD patients and apparently healthy people. The killer immune system components of patients from group II was more active and the number of $CD56^+$ NK-cells was higher as against group I and control group. Alcohol abuse caused the dysfunction of cytokine system: the number of IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α cytokines and soluble receptor sTNF-R1 was higher in ACMP patients as compared with control group and IHD patients. IL-2 was higher in patients suffering from IHD. The interrelation of disorders disclosed in the immune and cytokine systems was confirmed by the correlation relationship

established that alcohol consumption between the examined parameters of IHD and ACMP patients and witness greater coherence processes in group compared to the second group.

Key words: ischemic heart disease, alcoholic cardiomyopathy, nonspecific immunity, specific immunity, cytokines.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АКМП	- алкогольна кардіоміопатія
АПФА	- абсолютний показник фагоцитарної активності
БАН	- бактерицидна активність нейтрофілів
IL-1β	- інтерлейкін 1β
IL-2	- інтерлейкін 2
IL-6	- інтерлейкін 6
IL-8	- інтерлейкін 8
ІХС	- ішемічна хвороба серця
КАФ	- кількість активних фагоцитів
КЛБ	- катіонні лізосомальні білки
НСТ	- нітросиній тетразолій
sTNF-R1	- розчинний рецептор 1 до фактора некрозу пухлин
TNF-α	- фактор некрозу пухлин α
ФІ	- фагоцитарний індекс
ФЧ	- фагоцитарне число
ЦК	- цитохімічний коефіцієнт
ЦІКс	- середньомолекулярні циркулюючі імунні комплекси
о.е.	- одиниці екстинції