

Аутосенсibiliзація до міофібрилярних білків міокарда у хворих з різними клінічними формами ішемічної хвороби серця

В сыворотке крови больных с различными формами клинического течения ишемической болезни сердца (ИБС) определяли содержание аутоантител к миофибрилярным белкам миокарда человека методом непрямой твердофазного иммуноферментного анализа. Установлено, что у больных с острым инфарктом миокарда (ОИМ) наиболее высокая концентрация антител наблюдается к сократительным белкам — миозину и актину, которая в 2 раза превышает таковую у здоровых лиц и в 1,5 раза — у больных нестабильной стенокардией (НС). Содержание этих аутоантител у больных НС возрастает по сравнению с таковым у здоровых в 1,5 раза. У больных с постинфарктным кардиосклерозом (ПК) через 3 мес после ОИМ значения концентрации антител к миозину и актину приближаются к нормальным. Содержание антител к тропомиозину во всех группах больных ИБС достоверных различий с нормой не имеет, лишь у больных ПК их содержание в 1,2 раза больше, чем у больных ОИМ и НС. Обсуждается роль аутосенсibiliзации к сократительным белкам в прогрессировании ИБС и развитии ОИМ.

Вступ

У загальному комплексі патоморфологічних змін при коронарогенних та некоронарогенних захворюваннях серця ураження міокарду займають значне місце [4]. Можливо, що деякі з них є наслідком формування специфічних аутоімунних реакцій клітинного та гуморального типів. Це підтверджують дані про генерацію аутоантитіл до антигенних структур міокарда та наявність лімфоцитів, які взаємодіють із кардіоміоцитами при цих захворюваннях [1, 3]. Однак, незважаючи на очевидну причетність аутоалергічних реакцій до патогенезу уражень міокарда, деякі сторони цього питання майже зовсім невідомі. У цьому плані найбільш обмеженими є знання про характер аутоантигенів, які визивають специфічну сенсibiliзацію.

Метою нашої роботи було вивчення можливої участі у аутосенсibiliзації при ішемічній хворобі серця (ІХС) таких антигенів, як міозин, актин, тропоміозин.

Методика

Було обстежено 80 хворих з різними клінічними формами ІХС. Першу дослідну групу склали 26 хворих з нестабільною стенокардією (НС), другу — 28 чоловік з гострим інфарктом міокарда (ГІМ) та третю групу — 28 хворих з післяінфарктним кардіосклерозом (ПК), обстежені на етапі реабілітації через 3 міс після ГІМ. Контрольну групу склали 16 здорових донорів. Діагноз встановлювався на підставі клінічних спостережень та результатів лабораторно-інструментального дослідження.

Для визначення вмісту аутоантитіл до міофібрилярних білків міокарда застосовували непрямий твердофазний імуноферментний аналіз (ІФА). Як антигени використовували високоочищені тканиноспецифічні скорочувальні

(міозим, актин) та регуляторний (тропоміозин) білки міофібрил серцевого м'яза труп людини, яка загинула внаслідок несподіваної травми. Для виділення та очистки білків застосовували методи білкової хімії та імунохімії.

ІФА здійснювали таким чином. Лунки полістиролових планшетів сенсibiliзували відповідним антигеном (100 мкл/лунку) у 0,01 М фосфатно-буферному розчині (ФБР), рН 7,4, у концентрації 10 мкг/мл. Інкубували планшети при 4 °С протягом 18 год. Потім лунки промивали ФБР з 0,05 %-вим розчином твин-20 (ФБР-Т), до них вносили по 100 мкл сироваток, розведених ФБР-Т у співвідношенні 1:30, та інкубували 2 год при 37 °С. Негативним контрлем був ФБР-Т. Після інкубації тричі планшети промивали, до лунок вносили по 100 мкл кролячих антитіл проти IgG людини, мічених пероксидазою хрину (препарат виготовлений підприємством по виробництву бактерійних препаратів НДІ вакцин та сироваток, Спб.) та інкубували ще 1 год при 37 °С. Після трикратної відмивки до лунок вносили по 100 мкл субстратної суміші (ортофенілендіамін — ОФД — з перекисом водню: 10^{-5} М H_2O_2 , 1 мг/мл ОФД, розчинений у 0,01 М цитратному буфері, рН 4,7). Проби тримали 15 хв при кімнатній температурі, додавали по 50 мкл 45 %-вої H_2SO_4 та реєстрували змінювання забарвлення реакційної суміші при довжині хвилі 492 нм на автоматичному аналізаторі марки «Behring Elisa Processor II» (Німеччина).

Розведення сироваток та мічених пероксидазою хрину антитіл, а також співвідношення компонентів субстратної суміші підбирали у серіях попередніх експериментів. Усі дослідження провадили у паралелях. Кількість антитіл до міофібрилярних білків у досліджених зразках встановлювали по калібрувальній кривій, побудованій для стандартної сироватки з вмістом в ній антитіл класу IgG.

Обробку результатів дослідження провадили методом варіаційної статистики з використанням критерію t Стюдента.

Результати та їх обговорення

Одержані результати свідчать, що у хворих з гострими формами клінічного перебігу ІХС виявляються ознаки аутосенсibiliзації, які проявляються у значному збільшенні концентрації циркулюючих аутоантитіл (Ат) у сироватці крові проти скорочувальних білків міофібрил серцевого м'яза. Як бачимо у таблиці, концентрація Ат до міозину у хворих на НС збільшилася на 50 % ($P < 0,05$), а у хворих на ГІМ — на 110,9 % ($P < 0,05$) порівняно з донорами. Схожий напрямок змін спостерігався при визначенні вмісту Ат до актину. Так, концентрація Ат до актину у хворих на НС перевищувала таку у здорових на 45 % та у хворих на ГІМ — на 107 % ($P < 0,05$). Поряд з цим, при порівнянні між собою вмісту Ат до скорочувальних білків у хворих на ГІМ відзначалося збільшення концентрації Ат до міозину у 1,4 рази та актину у 1,42 рази, ніж у хворих на НС. Концентрація Ат до тропоміозину у сироватці крові хворих на ІХС усіх форм вірогідно не відрізнялася від такої у сироватці здорових людей. Звертає на себе увагу факт вірогідних змін (у 1,2 рази) концентрації Ат до тропоміозину у хворих з гострими формами перебігу ІХ порівняно із стабільною формою перебігу хвороби на етапі реабілітації.

Таким чином, наведені результати свідчать про те, що при коронарогенних захворюваннях серця відбувалася аутосенсibiliзація, яка проявлялася в утворенні аутоантитіл. У такому випадку більшу увагу привертають антитіла до міозину та актину, тобто до скорочувальних білків міофібрил. Слід відзначити, що збільшення вмісту цих антитіл у хворих на НС вказує на можливий вихід міозину та актину з ураженого міокарда у кров і наступний за-

Концентрація антитіл до міофібрилярних білків у сироватці крові здорових та хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС) людей, мкг/мл

Білок (антиген), до якого визначалося антитіло	Здорові донори (контрольна група)	Хворі на ІХС різної клінічної форми					
		Нестабільна стенокардія (1-а дослідна група)		Гострий інфаркт міокарда (2-а дослідна група)		Післяінфарктний кардіосклероз (3-я дослідна група)	
	M±m	M±m	P	M±m	P	M±m	P
Міозин	0,46±0,06	0,69±0,04	P* _{1-к}	0,97±0,1	P* _{2-к} P* ₂₋₁	0,52±0,04	P* ₃₋₁ P* ₃₋₂
Актин	2,75±0,40	3,98±0,49	P* _{1-к}	5,69±0,6	P* _{2-к} P* ₂₋₁	3,14±0,23	P* ₃₋₁ P* ₃₋₂
Тропоміозин	1,08±0,14	0,91±0,09	P* _{1-к}	6,99±0,2	P* _{2-к} P* ₂₋₁	1,28±0,11	P* ₃₋₁ P* ₃₋₂

* Відмінності між відповідними дослідними групами і контрольною групою (К) вірогідні і мають P<0,05.

пуск реакцій гуморального імунітету. Збільшення кількості антитіл з одночасним виходом антигенів може сприяти розвитку реакцій анафілактичного типу. Мабуть, це і передуватиме ГІМ. Підтвердженням такому припущенню є одержані нами раніше дані про значне збільшення вмісту у сироватці крові IgE-антитіл у хворих на НС та ГІМ [2]. Отже, ГІМ можна розглядати як наслідок алергічних реакцій з притаманними їм біологічно активними речовинами, які мають вазоконстрикторні та прозапальні властивості. Обґрунтовуванням цього припущення можуть бути отримані нами результати про нормалізацію концентрації антитіл до міофібрилярних білків у хворих із сприятливим клінічним перебігом післяінфарктного періоду, обстежених через 3 міс після гострого інфаркту міокарда.

E.M.Kornilina, G.V.Dubrovskaya, L.S.Mkhitaryan, A.N.Parkhomenko, E.V.Vyatchenko, N.V.Rodnin

AUTOSENSIBILIZATION TO MYOFIBRILLAR MYOCARDIUM PROTEINS IN PATIENTS WITH DIFFERENT CLINICAL FORMS OF THE ISCHEMIC HEART DISEASE

An indirect ELISA method has been used to study formation of autoantibodies (AA) to myocardial myofibrillar proteins in patients with different clinical IHD forms. Purified myosin (MS), actin (AC) and tropomyosin (TM) of the intact human myocardium acted as antigens. The highest level of AA to MS and AC was found in patients with AMI (acute myocardial infarct): it exceeded twice that of the norm and 1.5 times that in patients with IAP (instable angina pectoris). Moreover the AA level in IAP patients exceeded that of normal 1.5 times. In PC (postinfarctional cardiosclerosis) patients the MS AA and AC AA tend to the norm. The TM AA contents in PC patients is 1.2 times higher than that in AMI and IAP patients, not differing from the norm in all patient groups. The role of autosensibilization to contractile proteins in progress of IHD and development of AMI is discussed.

N.D.Strazhesko Ukrainian Institute of Cardiology,
Ministry of Public Health of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бондаренко А.В. Изучение гиперчувствительности замедленного типа у больных ревматизмом и некоторые белки миокарда человека // Дисс. ... канд. мед. наук. — Волгоград, 1983. — 174 с.
2. Дубровская Г.В., Корнилина Е.М. Показатели иммунологической реактивности организма при ишемической болезни сердца // Иммунология и аллергия: Респ. межвед. сб. Вып. 24. — К.: Здоров'я, 1990. — С. 31—34.
3. Емельянов Н.М. Изучение гуморальных аутоиммунных реакций на некоторые нативные и динатурированные белки миокарда у больных ревматизмом // Дисс. ... канд. мед. наук. — Волгоград, 1983. — 178 с.
4. Насонов Е.Л. Современные иммунологические концепции в кардиологии // Терапевт. архив. — 1986. — № 10. — С. 7—114.

Укр. наук.-дослід. ін-т кардіології
ім. акад. М.Д.Стражеска
М-ва охорони здоров'я України, Київ

Матеріал надійшов
до редакції 20.04.93