

УДК 616.12-089-022:57.022

В конце XX века в результате бурного развития технического прогресса человек столкнулся с многочисленными неблагоприятными факторами окружающей среды, нарушающими гомеостаз: изменяется количественное и качественное единство макроорганизма и его микробного населения, наблюдается проникновение условно патогенных микроорганизмов через гистогематические барьеры в кровеносное русло, что способствует формированию в нем вторичных очагов инфекции.

В Новосибирском НИИ патологии кровообращения, под руководством академиков Е.Н. Мешалкина и Е.Е. Литасовой в течение ряда лет разрабатывается проблема биоценологических изменений в организме больных пороками сердца и ИБС на фоне хронического сепсиса.

Предлагаемый обзор результатов поиска инфекционных агентов в сердечно-сосудистой системе с использованием новых молекулярно-биологических технологий углубляет значение проблемы инфицированного сердца и ставит перед кардиохирургами и кардиологами новые задачи в разработке стратегии и тактики лечения и послеоперационной реабилитации таких больных.

Успехи в изучении роли инфекционных агентов в возникновении патологии кровообращения (ПК) в значительной степени связаны с использованием современного метода обнаружения их в биологических образцах — полимеразной цепной реакции (ПЦР). ПЦР была впервые описана в середине 80-х гг. (K. Mullis) и основана на циклической ДНК-амплификации *in vitro*. Для ПЦР используют два олигонуклеотида (праймера), комплементарных к определенному участку фрагмента ДНК, и термостабильную ДНК-полимеразу.

Роль инфекции в развитии сердечно-сосудистой патологии

Е.Е. Литасова, Л.Н. Яснова, Г.А. Цветовская, С.П. Мироненко, В.А. Белявская, Л.Е. Слайковская

НИИ патологии кровообращения МЗ РФ, Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» МЗ РФ, Новосибирск

За последнее десятилетие появилось много модификаций ПЦР, направленных на увеличение специфичности и чувствительности метода. Наиболее существенными среди них можно назвать RT-ПЦР и метод гнездовой ПЦР (нПЦР). RT-ПЦР позволяет амплифицировать ДНК, полученную в реакции с ферментом обратной транскриптазой на РНК матрице, что позволяет выявлять в биологических образцах РНК содержащие вирусы, а также изучать экспрессию генов, участвующих в патологических процессах. В нПЦР для усиления специфичности и чувствительности используется несколько пар праймеров: каждая последующая пара использует в качестве матрицы ДНК фрагмент, полученный в реакции амплификации с предыдущей парой праймеров.

В настоящее время ПЦР широко внедряется в клиническую практику для диагностики заболеваний и для быстрой оценки эффективности разрабатываемых схем лечения и профилактики ПК.

Установление диагноза различных вирусных ПК остается по-прежнему трудным и в основном зависит от клинической и гистологической оценки. Часто

культуральные и серологические исследования дают негативные результаты, в то время как клиничко-гистологические наблюдения свидетельствуют о вирусной этиологии. В этом случае применение ПЦР становится основной подтверждающей диагностикой.

Одними из первых американские исследователи Martin et al. [36] сделали попытку оценить полезность использования ПЦР для быстрого диагностирования активных миокардитов у детей. Для анализа были взяты 38 миокардиальных тканевых образцов от 34 пациентов с подозрением на острые вирусные миокардиты и 17 — от контрольных пациентов с миокардитами не вирусного происхождения. Миокардиальные образцы были получены во время вентрикулярной биопсии (13 образцов), от эксплантированных сердец (18 образцов) при трансплантации и при аутопсии (24 образца). Образцы были обследованы с помощью ПЦР на наличие энтеровирусов (ЭВ), вирусов простого герпеса (ВПГ), аденовирусов (АВ), цитомегаловирусов (ЦМВ). Вирусы были выявлены в 26 из 38 миокардиальных образцов (68%) от пациентов с вирусными миокардитами, в то время как в контрольной

группе результаты были отрицательными. Параллельные исследования крови на вирусы также показали отрицательные результаты от вирус-положительных образцов. Из 26 положительных образцов 15 содержали АВ, 8 — ЭВ, 2 — ВПГ, 1 — ЦМВ. 4 пациента имели положительные культуральные результаты, совпадавшие с данными ПЦР. Расхождения в гистопатологии наблюдались у 13 из 26 ПЦР-положительных образцов, обычно ассоциированных с АВ. Авторы подтверждают, что ПЦР является чувствительным, быстрым диагностическим методом, и обращают внимание на преобладание АВ в данной серии исследований, в то время как в других многочисленных исследованиях основным кардиопатологическим агентом считается ЭВ. Полученные данные показывают необходимость использования ПЦР в исследованиях миокардитов при подозрении на их вирусную этиологию. Ниже будут приведены литературные данные по изучению роли различных вирусных агентов различных семейств в возникновении и развитии ПК.

Вирусы семейства *Herpes viridae*

Цитомегаловирусы (ЦМВ)

ЦМВ является широко распространенным патогенным агентом для человека у 50–90% практически здоровых людей [7]. Этот вирус вызывает как врожденную, так и приобретенную формы заболеваний сердечно-сосудистой системы. Его геном содержит двуцепочечную молекулу ДНК, состоящую из 240 тыс. пар нуклеотидов. Чаще всего инфекции протекают бессимптомно; они могут быть ассоциированы с весьма широким кругом заболеваний, в особенности у иммунодефицитных индивидов. ЦМВ может способствовать росту осложнений после хирургического вмешательства, вызванных экзогенной ин-

фекцией или эндогенной вирусной реактивацией [24]. Возникновение клинической картины ЦМВ инфекции происходит либо вследствие реактивации латентной формы вируса, либо при первичном инфицировании, которое становится возможным, например, при переливании крови от серопозитивных доноров.

Использование серонегативной (не содержащей антител к ЦМВ) крови значительно снизило бы вероятность заражения, однако при таком подходе вследствие широкого распространения антител к ЦМВ среди доноров значительно сократился бы банк крови, пригодной для переливания.

Значительный рост интереса к ЦМВ наблюдается в последние годы в связи с проблемами СПИДа (ВИЧ-инфекции) и трансплантации органов и тканей человеку, поскольку ЦМВ обычно сопровождает иммунодефицитные состояния и наряду с другими герпесвирусами является главной причиной летальности таких пациентов. Лечение онкогематологических больных цитостатиками в настоящее время привело к повышению удельного веса оппортунистических инфекций вообще и латентного ЦМВ на фоне иммуносупрессии [6].

Внутриутробная инфекция плода, ведущая к развитию весьма серьезных патологических изменений органов и систем, может стать последствием инфицирования ЦМВ женщин во время беременности [54].

При выборе праймеров для ПЦР диагностики ЦМВ необходимо учитывать, что некоторые геномные области ЦМВ имеют гомологии с клеточным геномом и геномами других герпесвирусов, в основном с герпес вирусом 6-го типа [19].

Группа ЦМВ была первой группой вирусов, обнаруженной в ПЦР экспериментах при исследовании развития клинического синдрома отторжения после трансплантации сердца [32].

В этих экспериментах было выявлено, что наличие аденовирусов менее значимо при отторжении трансплантата, в то время как вирусы семейства герпеса, в частности ЦМВ и ВПГ, наряду с энтеровирусами являются важными этиологическими агентами.

Аналогичные результаты были получены при изучении причин послеоперационных осложнений, часто приводящих к летальному исходу у пациентов с пересаженным сердцем. Было обнаружено, что главной причиной является наличие патогенных вирусов, в том числе ЦМВ [45]. С помощью ПЦР вирусные геномы были обнаружены более чем у 50% обследованных детей с пересаженным сердцем: в 16 образцах из 41 амплифицировались геномы ЦМВ, в 14 биоптатах — АВ, в 6 — ЭВ, в 3 — парвовирусы, в 2 — ВПГ. У 13 из 21 пациентов с обнаруженными вирусными геномами гистологические результаты показали мультифокальную стадию отторжения (по классификации Международного Общества трансплантации сердца и легких — 3А и выше). Авторы рекомендуют использовать ПЦР для выявления вирусной инфекции, особенно у пациентов с поздней и хронической формой отторжения трансплантата. ПЦР на ЦМВ необходимо также использовать для анализа состояния реципиентов до трансплантации для прогнозирования и лечения возможной вирусной инфекции, приводящей к отторжению пересаженного сердца.

В настоящее время ЦМВ общепризнанно является одним из основных кардиотропных вирусов. После первичной инфекции ЦМВ персистирует во многих органах. Он не только вызывает заболевание после своей реактивации на фоне иммуносупрессии пациента, но также индуцирует долговременную латентную хроническую инфекцию, в том числе и в миокарде.

Schunian N. [46] были получены биоптаты эндомикарда от 27 пациентов с активным миокардитом (МК), 35 — с миокардитом во время лечения, 41 — с пролеченным МК и 25 — с хроническим МК (по критерию Даллас). У 52 пациентов была дилатационная кардиомиопатия (ДКМ). Для контроля были взяты биопсии эндомикарда у 25 здоровых доноров. При исследовании использовали ПЦР на ЦМВ и гибридизацию *in situ*. ЦМВ ДНК была выявлена у 14% пациентов с различными стадиями МК и 22% — с ДКМ. Хотя в двух образцах от здоровых доноров оказался положительный результат ПЦР, однако при гибридизации *in situ* у пациентов с МК ЦМВ присутствовал во всех образцах в миоцитах и других типах клеток, в то время как в контрольной группе — только в клетках интерстиция. В работе Adachi N. [13] описан случай фатального исхода МК у ребенка с острой лимфобластической лейкемией (ALL), наблюдавшегося в состоянии 5-недельной ремиссии, после которой обнаружили сердечную недостаточность, диспнию с гипоксемией, что, как выяснилось, было вызвано ЦМВ. В результате наступила фатальная желудочковая фибрилляция и смерть. Микроскопическое исследование образцов соединительной ткани, взятых при вскрытии, показало значительное разрушение и дезинтеграцию мышечных волокон, ассоциированных с включениями вирионов ЦМВ. ПЦР показала наличие специфического для ЦМВ ампликона (ДНК фрагмента) длиной 305 пар олигонуклеотидов в тканях сердца и легких.

В работе Speir E. [48] исследовали взаимодействие человеческого ЦМВ с геном р53 (регулятор пролиферации и апоптоза) и возможную роль вируса в возникновении коронарного рестеноза. Это заболевание встречается у 25–50% пациентов. Через 1–6 месяцев

после коронарной ангиопластики у них возникает рестеноз в результате усиленной пролиферации индуцированных повреждением клеток гладких мышц коронарных сосудов. Причины этого оставались неизвестными вплоть до того, как были получены результаты взаимосвязи ЦМВ и индуцируемой ЦМВ аномалии в функции белка р53 в процессах рестеноза. Около 40 рестенозированных участков, полученных при атерэктомии, показали повышенные уровни р53 в мышечных клетках пролиферирующих сосудов. Секвенирование выявило, что р53 не является мутантным. Обнаружена строгая корреляция между иммунопозитивностью и наличием ДНК ЦМВ. Более того, белок IE 84 ЦМВ ко-иммунопреципитировал с р53, и наблюдалось снижение транскрипционной активности р53 в присутствии этого белка. Авторы делают вывод, что ЦМВ может быть причиной образования рестенозов, что, вероятно, опосредовано ингибирующим супрессорным эффектом белка р53.

Valenza M. [52] отмечает, что более чем в 50% случаев ЦМВ является причиной инфекции и заболевания после трансплантации сердца, особенно у пациентов, получающих цитостатики. В 1988–1993 гг. было исследовано 115 трансплантатов от пациентов, проживших после операции 30 и более дней, чтобы определить эффективность комбинированной противовирусной и иммуноглобулиновой терапии. Пациенты группы А (29 чел.) получали орально ацикловир в течение 3 месяцев. Группа В (86 чел.) — внутривенно ганцикловир в течение двух недель после орального ацикловира. Пациенты обеих групп получали 6 раз внутривенно 5% сыворотку в течение 2 месяцев. Всем пациентам проводилась терапия ОКТ-3 в течение 1–14 дней и тройным препаратом иммуносупрессоров. ЦМВ инфекция наблюдалась в резуль-

тате лечения у 10% пациентов (болезни легких, гастроэнтериты, лейкопения с лихорадкой) и была подтверждена как культуральными методами по наличию типичных микроскопических включений, так и с помощью ПЦР. В целом отмечается, что профилактическое комбинированное лечение приводит к снижению ЦМВ инфекции у 90% пациентов с пересаженным сердцем, пролеченных цитостатиками. Отмечается, что для серонегативных пациентов необходима более сильная тройная профилактическая терапия в случае, если они получали сердце от серонегативных доноров.

Toyoda M. [50] использовал в своей работе ПЦР для мониторинга эффективности противовирусной терапии пациентов с пересаженным сердцем с ЦМВ инфекцией. Было проанализировано 236 образцов от 95 пациентов с начальной стадией ЦМВ инфекции реципиентов аллографов (до 3 лет наблюдения), а также от 25 пациентов с пересаженной почкой. Кроме того, дополнительно проводили культуральные высевы крови и выявление антител к ЦМВ. Результаты показали, что по чувствительности ПЦР превосходила другие методы, хотя в культуре крови выявляемость вируса была достаточно высокая. ЦМВ был обнаружен у 17 из 95 реципиентов с пересаженным сердцем и у 9 пациентов с пересаженной почкой. Клинические симптомы у больных наблюдались при достижении более 500 копий ДНК ЦМВ /мкг, хотя у некоторых обследованных симптомы заболевания обнаруживались уже при 50–100 копиях. Через 1–2 недели после антивирусной терапии уровень ЦМВ ДНК снижался до 50–100 копий, что сопровождалось исчезновением клинических симптомов. У пациентов, не получавших антивирусной терапии, высокий уровень ЦМВ–ДНК (более 500 копий) держался до 5 недель.

Авторы делают выводы: 1) обнаружение ЦМВ методом ПЦР является воспроизводимым, чувствительным и высоко специфическим, особенно для активно реплицирующегося вируса; 2) с помощью количественной ПЦР можно оценивать эффективность антивирусной терапии; 3) при дифференцировании ЦМВ инфекции от других инфекций, вызывающих отторжение трансплантатов, пороговым является уровень ЦМВ, равный 500 копий/мкг ДНК.

Вирусы группы герпеса

К этой группе вирусов относят вирус Эпштейна-Барра (ВЭБ) и вирусы простого герпеса (ВПГ) нескольких типов.

Герпес — одна из наиболее распространенных в мире инфекций, которую относят к так называемым оппортунистическим инфекциям. Ее тяжесть связана с наличием вторичного иммунодефицита (ВИД), который обуславливает высокий риск генерализации ВПГ в организме человека [4]. Нарушение иммунного контроля в организме хозяина происходит под действием ВПГ вследствие отсутствия или значительного снижения экспрессии генов главного комплекса гистосовместимости (HLA) 1 и 2 классов; это является одним из механизмов, способствующих пожизненному персистированию вируса и обеспечивающих невозможность его элиминации. В процессе персистенции изменяется биология возбудителя, что отражает эволюционные механизмы, реализующиеся в конкретной системе паразит — хозяин: от одного и того же больного выделяют различные генотипические варианты ВПГ. Вирус персистирует в нейронах паранебральных ганглиев, в которых обнаруживаются вирусные транскрипты преданных генов. Эти данные привели к пересмотру стратегии лечения аутоиммунных заболеваний на основе скрининга действия им-

мунотропных препаратов. Отмечено [11], что от 15 до 70% взрослого населения имеют антитела к ВПГ. Для активации вируса герпеса, в частности вируса Эпштейна-Барра, необходимо изменение цитокинового статуса хозяина, угнетение продукции ИЛ-2 и др. Аналогичные изменения характерны и при стрессовых состояниях, инфекционном эндокардите, при хирургической травме [8, 12]. Вирусы группы герпеса человека широко изучаются у реципиентов, готовящихся к пересадке сердца, при изучении патогенеза атеросклероза. Наиболее широко распространены ВЭБ и ВПГ-8. Последний был локализован в эндотелиальных и веретеновидных клетках коронарных сосудов [23, 30, 55].

В работе Герберт М. [23] описан случай фатального исхода ЭВБ-миокардита у ребенка. Серологическое изучение выявило острую вирусную инфекцию. Геном вируса был выделен методом ПЦР в аутопсийных образцах сердца и печени. В то же время не было обнаружено вирусной РНК в ткани сердца, а культуральные высевы были отрицательными. Мононуклеары инфильтрата миокарда представляли собой Т-клетки. Анализ лейкоцитарного антигена HLA-DR с использованием замороженной ткани сердца выявил антигены локусов гена DR4 и DR13. Ген DR4 ассоциирован с аутоиммунными нарушениями при идиопатической ДКМ.

Энтеровирусы

Группа энтеровирусов (ЭВ) принадлежит к большому семейству пикорнавирусов. Сюда относятся вирусы полиомиелита, Коксаки А и В, риновирусы и др.. Вирионы формируются в цитоплазме инфицированных клеток хозяина.

Энтеровирусы, как выяснилось после работ ряда авторов, являются основными кардиотропными вирусами [31, 44, 51].

Первые работы по выявлению и идентификации вирусных агентов проводились с использованием эндомикардиальных биоптатов и аутопсий пациентов с ДКМ, после пересадки сердца. Был выявлен участие ЭВ в отторжении трансплантатов у пациентов с ДКМ.

В работе Мартино [37] была подтверждена значительная роль энтеровирусного инфицирования в патогенезе ДКМ. Многолетние наблюдения за пациентами с вирусными миокардитами выявили прогрессию к ДКМ в значительном числе случаев. В экспериментах с использованием *in situ* гибридизации и ПЦР ЭВ РНК была обнаружена в миокарде у пациентов на всех стадиях развития патологических процессов: острый миокардит, хроническая стадия, ДКМ. Дополнительные исследования на мышинной модели индуцированных вирусом заболеваний сердца позволили изучить патогенетические механизмы. На течение патологических процессов оказывает влияние вирусная цитотоксичность, персистенция вирусной РНК в миокарде, иммунокомпрометированность организма и наличие ишемии (спазм коронарных сосудов).

Ассоциированность энтеровирусной инфекции, особенно персистирующей, с патогенезом хронических сердечных патологий показана в работах Андреолетти Л. с соавт. [14, 15]. В этих работах для подтверждения наличия ЭВ РНК использовали RT-ПЦР с последующей дот-блот гибридизацией. ЭВ РНК была выявлена в эндомикардиальной ткани биоптатов, отобранных во время операции трансплантации сердца от 15 пациентов с ДКМ и от 10 — с ишемической кардиомиопатией (ИКМ). Образцы от 18 (72%) из 25 пациентов были положительны на ЭВ РНК, в то время как ни в одном из контрольных образцов от 25 органов здоровых доноров и 15 пациентов с

активным миокардиальным инфарктом, у которых были взяты биоптаты, ЭВ РНК обнаружена не была. Соотношения для ЭВ РНК в двух группах пациентов, требующих трансплантации, значительно не различались (66,7 против 80%).

Для подтверждения связи между репликацией ЭВ и повреждением миокарда при хронической инфекции сердца были проведены эксперименты на двух линиях мышей с разной степенью иммунокомпетентности, которых инфицировали кардиотропным вирусом Коксаки В (KB3 М-1). На 31-й день после заражения исследовали бляшкообразование в культуре ткани, провели RT-ПЦР и иммуногистохимическое исследование для обнаружения вируса и его компонентов в миокарде, сопоставляя с гистопатологическими изменениями в миокарде, выраженными дилатацией обоих желудочков. Хроническое миокардиальное поражение выражалось в обширной области фиброза и интерстициальном воспалительном инфильтрате, которые сопровождали цитомегалию у 53% атимированных и у 9% тимуссодержащих мышей. Репликация вирусов была обнаружена в миокардиальных клетках — в срезах, обработанных антисывороткой к VP1 капсидному белку. Применение ПЦР и гибридизации выявило большое количество положительных цепей РНК, свидетельствующее о репликации вируса. При отсутствии хронических миокардиальных повреждений количества репликативных (негативных) и позитивных (геномных) РНК цепей были примерно равны, что свидетельствует о роли репликации вируса в патогенезе хронической мышинной кардиомиопатии, индуцированной KB-3. Авторы делают вывод, что персистенция ЭВ РНК не всегда приводит к развитию ДКМ, что, вероятно, обусловлено наличием дефектов в репликационном процессе вируса.

Результаты серологического и молекулярно-генетического исследования ЭВ инфекции у пациентов с конечной стадией ДКМ [38] подтвердили, что IgM, определяемые в сыворотке крови больных острыми вирусными миокардитами, специфичны для ЭВ Коксаки типа 3В, что позволяет его относить к основным кардиотропным вирусам. Возникновение ЭВ инфекции часто индуцируется при трансплантации. Так, в работе Галама с соавт. [21] описан случай с пациентом, у которого после пересадки костного мозга развились перикардит и кардиологические нарушения и который погиб при явлениях сердечной недостаточности, осложненных пневмонией. ЭВ был выявлен только в ПЦР в плевральной жидкости еще при жизни больного. После его смерти в легких, печени и селезенке была обнаружена KB-3 РНК, что указывает на генерализацию энтеровирусной инфекции.

При изучении механизма прогрессирования МК в ДКМ было сделано предположение о возможных цитокиновых повреждениях миоцитов при вирусной инфекции, лежащих в основе патогенеза МК [42–44]. Постановка РТ-ПЦР выявила экспрессию цитокиновых генов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО) при наличии энтеровирусной геномной РНК в ткани эндомикардиальных биоптатов от пациентов с МК и ДКМ и у 15 пациентов без кардиальной патологии. У пациентов с МК биопсия проводилась дважды с интервалом от 1 месяца до 18 лет после начала болезни. Использовали также RT-ПЦР для определения геномной ЭВ РНК. Через месяц после начала болезни продукты амплификации генов цитокинов наблюдали у 100% обследованных, а ЭВ РНК — у 67%. В биоптатах, полученных после 8 лет болезни, продукты амплификации определялись лишь у 4 пациентов с МК, при этом у них диагностировали МК,

переходящую в ДКМ, с повреждениями миокарда.

При изучении индуцированного вирусом миокардита при детском эндокардиальном фиброэластозе было установлено, что это первая стадия тяжелого, редкого заболевания, часто приводящего к ППС и дающего высокую летальность [39]. Оно развивается в основном при участии энтеровирусов типа tumps. В работе были использованы образцы миокарда от 29 пациентов с установленным с помощью биопсии эндокардиальным фиброэластозом. Был произведен анализ на присутствие вирусов группы ЭВ, АВ, ЦМВ, tumps-, парво-, гриппа и ВПГ. Ставили ПЦР и РТ-ПЦР в случае РНК геномов. В 90% был амплифицирован вирусный геном, в 70% это был геном ЭВ; только 3 из 21 образца были положительны по tumps-вирусу по сайтам гена нуклеокапсида и гена, ассоциированного с полимеразным белком. Последнее указывает на персистенцию ЭВ в миокарде и может быть связано с селекцией мутантного вируса. Эти результаты подтверждают гипотезу о вирусной природе миокардита, вызывающего у детей эндокардиальный фиброэластоз, и об участии помимо ЭВ вируса tumps.

Вирусы группы гепатита

В последнее время накапливается все больше данных об ассоциированности инфекций вирусами гепатита В (ВГВ) и С (ВГС) с патологиями кровообращения. Вирусы гепатита широко распространены в человеческой популяции: со времени открытия «австралийского антигена» в мире насчитывается 300–400 млн. хронических носителей ВГВ, летальные исходы заболевания достигают 250 тыс. в год [9]. Для выявления вируса используют РТ-ПЦР в сочетании с методом молеку-

лярной гибридизации, что позволяет определить не только наличие геномной НК и ее концентрацию, но и фазу репликации ВГВ, что важно для разработки схем лечения. Определены пути передачи вируса — через кровь и ее продукты, слюну, грудное молоко, мочу, желчь, пот, слезы, вагинальный секрет, синовиальную и цереброспинальную жидкости. Во внешней среде ВГС и ВГВ стабильны, передаются через бытовые предметы. Известны случаи перинатальной передачи ВГВ. Фактором естественной передачи ВГВ является его ДНК [2]. ВГВ имеет мутантные формы, у которых могут отсутствовать некоторые его антигены, в частности HBsAg. Мутанты вируса чаще вызывают развитие молниеносного и тяжелого хронического гепатита В. Такие мутанты трудно контролировать по появлению специфических антител. Невозможно осуществлять и контроль эффективности лечения противовирусными препаратами [10]. При одном и том же типе вируса могут развиваться разные клинические варианты заболевания и его исходы [3].

Мацумори А. [34] использовал ПЦР в сочетании с серологическим определением антител для изучения роли гепатита С в течение хронического миокардита. Определяли наличие, тип и количество негативных репликативных и геномных цепей РНК гепатита С в сыворотке и сердечных тканевых биоптатах. Антитела к ВГС присутствовали в сыворотке у 6 из 36 пациентов (16,7 %) с ДКМ и у одного из 40 (2,5 %) с ИБС, что является статистически достоверным ($p < 0,05$). В случае острого миокардита РНК ВГС присутствовала в сыворотке 4 из 6 пациентов, причем все четверо были серопозитивны к вирусу ГС II типа. В сыворотке было обнаружено 800–2000 копий геномной РНК/мл. Геномные цепи РНК ВГС были обнаружены в биопсийном материале эндоми-

окарда у трех пациентов, а репликативные — у одного. Авторы считают, что у обследованных пациентов ВГС является значимым агентом в патогенезе ДКМ, так как противовирусная терапия дала положительный результат. Эти авторы [35] выявили большую частоту встречаемости в биопсийном материале при ДКМ ВГС РНК, чем ЭВ РНК.

В работе Manna P. [33] была установлена триггерная роль ВГС в патогенезе лейкоклассического васкулита (в случае пурпуры). У этих пациентов также присутствовали антитела к ядрам клеток, антикардиолипидные антитела, антитела к пластинкам, анти-нейтрофильные цитоплазматические антитела. При иммунофлуоресцентном изучении в образцах биопсии кожи из области пурпуры был подтвержден типичный лейкоклассический васкулит с мелкими тромбозами капилляров, периваскулярными отложениями Ig M и фибриногена. Вероятно, ВГС способен индуцировать аутоиммунное состояние, влияя на продукцию в клетке криоглобулинов и вовлекая в патологический процесс белки печени.

Несмотря на то что молекулярно-биологические исследования убедительно выявили связь между энтеровирусной инфекцией и ДКМ, частота выявления РНК ЭВ колеблется и остается недостаточно высокой, что предполагает необходимость дальнейшего изучения, особенно для подтверждения вовлеченности ВГС в развитие ДКМ.

Окабе М. с соавторами [41] провели геномный анализ ВГС у 3 пациентов с активным хроническим миокардитом с терминальным исходом. У всех пациентов показатели функции печени были в норме до тех пор, пока не развилась острая сердечная недостаточность. Блоки тканей печени, легких, сердца и почек были проанализированы

на наличие ВГС. Образцы ткани почек были проанализированы для исключения возможности попадания вируса из крови. RT-ПЦР с последующей полу-нестед ПЦР выявили РНК ВГС в тканях всех исследованных органов. Нуклеотидной мишенью для ПЦР был фрагмент из 178 пар олигонуклеотидов высококонсервативной области. Обе цепи РНК были обнаружены в ткани печени и сердца у всех 3 пациентов. В тканях почек репликативных цепей РНК обнаружено не было, лишь только в одном случае была обнаружена геномная цепь РНК. Полученные данные свидетельствуют, что ВГС реплицируется в миокарде и может приводить к тяжелым миокардитам с фатальным исходом.

Применение метода ПЦР сулит большие возможности при выявлении и бактериальных агентов, вовлеченных в патологию кровообращения, особенно при поиске трудно культивируемых бактериальных форм. Описаны случаи выделения *Trypanosoma cruzi* в тканях сердца и *Tr. whippellii* [40], микоплазм при острой гипертрофической МК (Nissen M., 1995). С помощью ПЦР выявлены случаи инвазивной передачи золотистого стафилококка непосредственно от человека к человеку путем трансмиссии, что приводило к первичной бактериемии и эндокардиту. Результаты были подтверждены также фаготипированием, сходными антибиотикограммами и идентичными данными полиморфизма гена коагулазной активности. Это первые документально подтвержденные случаи стафилококковой трансмиссии у пациентов, выявленной еще до периода лекарственной терапии у этих пациентов [27, 28]. Методом ПЦР при «культурально-отрицательном» эндокардите аортального клапана был выявлен редко встречающийся микроб рода *Bartonella* (*Rochalimaea*). Этот возбудитель был выявлен и из

крови пациентов, и при гистохимическом окрашивании ткани клапана. Это второй случай эндокардита, вызванный *Bartonella*, и четвертое сообщение в доступной литературе [47].

В работе Wolf Y.G. [53] описан случай инфицирования аортального протеза бациллой Кальметта-Герена (БЦЖ). Протез был поставлен при реконструкции брюшной аорты после резекции аневризмы через 2 года после вакцинирования БЦЖ. Во время операции патологического изменения стенки аорты не было обнаружено. Инфицирование протеза произошло через год после операции установки протеза. Ретроспективная проверка формалиновых препаратов стенки аорты и тромба, взятых во время операции, показала с помощью ПЦР присутствие в них микобактериальной ДНК. Наблюдение за состоянием пациента вели в течение 18 месяцев, проводилась медикаментозная терапия под контролем томографии. Через 20 месяцев у больного развилась аортально-кишечная фистула, что вызвало замену протеза и установление обходного сосудистого русла.

Хламидии

Хламидии становятся все более очевидным и распространенным бактериальным агентом, вызывающим патологии кровообращения. *Chlamidia pneumoniae* ассоциирована с атеросклеротической кардиоваскулярной болезнью и часто выявляется как при прямом определении в атеросклеротических бляшках, так и при серологическом определении. Все получен-

ные результаты подтверждают связь *Cl.pneum.* и атеросклероза. Однако в сообщении Jackson L.A. [25] остается спорным вопрос о специфичности *Cl.pneum.* для атеросклеротической ткани. Методом ПЦР и иммунохимически было исследовано 38 аутопсий кардиоваскулярной и других тканей на присутствие *Cl.pneum.* Для того чтобы выявить этот микроб в макрофагах, было обследовано 33 биопсийных образца гранулем. *Cl.pneum.* была обнаружена в 34% тканей коронарных артерий, в 13% тканей легких, в 10% тканей печени и 5% тканей селезенки. Повышенная частота встречаемости *Cl.pneum.* в атеросклеротических тканях косвенно подтверждает гипотезу о роли этого микроба в патогенезе атеросклероза. При аортальном клапанном стенозе, для патогенеза которого большое значение имеют воспалительный и иммунный механизмы, выявляли *Cl.pneum.* [26]. Все хламидийные виды способны инфицировать сердце: на это указывают данные серолого-иммунологических исследований, которые подтверждают связь между хронической хламидийной инфекцией и коронарной артериальной болезнью. Образцы аортальных клапанов при различной степени макроскопически выявленного заболевания были получены от 35 пациентов: у 17 из них производилась замена аортального клапана при неревматическом аортальном стенозе, у 18 — при аутопсии. Присутствие *Cl.pneum.* в аортальном клапане изучалось с помощью иммунохимического анализа, ПЦР, сканирующей элек-

тронной микроскопии (СЭМ). В результате было обнаружено, что в иммунохимически окрашенных срезах со специфическими антителами для *Cl.pneum.* выявлялись эти возбудители у 53% пациентов с хирургическим вмешательством на аортальном клапане (группа А) и у 80% умерших с явной макроскопической картиной патологии аортального клапана (группа В). У контрольных пациентов, *Cl.pneum.* обнаружена в 12% случаев. Сделан вывод, что *Cl.pneum.* часто присутствует при неревматических аортальных клапанных стенозах. Высокая частота хламидийной инфекции, обнаруженная на ранних стадиях дегенеративного аортального стеноза, подтверждает, что этот патоген может играть значимую роль в развитии данной патологии.

Как видно из вышеизложенного, в настоящее время метод ПЦР остается непревзойденным по своей точности, чувствительности, скорости, а особенно при выявлении инфекций сердечно-сосудистой системы. Универсальные и специфические требования, предъявляемые к молекулярно-генетическим методам при типировании возбудителей инфекций, состоят в комплексности, т.е. типировании по нескольким маркерам, в типировании измененных форм возбудителей, в сочетании индикации, типирования и определения чувствительности к лекарственным препаратам, что особенно актуально при изучении эпидемиологических аспектов бактериально-вирусных инфекций сердечно-сосудистой системы человека.

Литература

1. Авакян А.А., Быковский А.Ф. Атлас анатомии и онтогенеза вирусов человека и животных. М: Медицина, 1970.
2. Асратян А.А. Маркеры вирусных гепатитов А, В и С в образцах слюны больных острой формой гепатитов // ЖМЭИ. 1997; 6:43-47.
3. Бондаренко А.Л. Прогнозирование хронического вирусного гепатита // Рос. мед. журн. 1998;1:15-17.
4. Брызжикова Т.С., Юрлова Т.И. Герпетическая инфекция // Клини.мед. 1997;7:7-9.
5. Веденеева Г.Н. Состояние и последующее развитие новорожденных детей от матерей с ЦМВ-инфекцией // Рос. вестн. перинат. и педиатрии. 1997;3:25-30.
6. Ерина Т.А. ЦМВ — инфекция у ребенка, больного острым лейкозом // Педиатрия. 1998;1:100-101.
7. Жибурт Е.Б. О механизмах активации ЦМВ-инфекции // Тер.арх. 1997; 11:40-41.
8. Жибурт Е.Б. Вирус Эпштейн-Барр у больных инфекционным эндокардитом // Там же. 1997; 4:42-43.
9. Каганов Б.С. Вирусный гепатит В: достижения и проблемы // Росс. педиатр. журн. 1998;1: 50-61.
10. Скворцов С.В. Использование ПЦР при вирусных гепатитах В и С в практике клинико-диагностических лабораторий // Клини. лаб. диагн. 1998; 1:42-44.
11. Скрипкин Ю.К., Яцуха М.В. Генитальный герпес // Росс. мед. журн.1998; 1:32-34.
12. Хахалин Л.Н. Успехи и проблемы современной терапии герпесвирусных инфекций. Тер арх. 1997; 11: 81-87.
13. Adachi N., Kiwaki K., Tsuchiya H. et al. Fatal cytomegalovirus myocarditis in a seronegative ALL patient // Acta Paediatr. Jpn. 1995;37:211-216.
14. Andreoletti L., Wattre P., Decoene C. et al. Detection of enterovirus-specific RNA sequences in explanted myocardium biopsy specimens from patients with dilated or ischemic cardiomyopathy // Clin. Infect. Dis. 1995;21:1315-1317.
15. Andreoletti L., Hober D., Decoene C. et al. Detection of enteroviral RNA by polymerase chain reaction in endomyocardial tissue of patients with chronic cardiac diseases // J. Med. Virol. 1996; 48:53-59.
16. Andreoletti L., Hober D., Becquart P. et al. Experimental CVB3-induced chronic myocarditis in two murine strains: evidence of interrelationships between virus replication and myocardial damage in persistent cardiac infection // J. Med. Virol. 1997; 52:206-214.
17. Asano Y., Yoshikawa T. Enterovirus infections in children // Curr. Opin. Pediatr. 1995; 22:24-31.
18. van Belkum A., Kluijtmans J., van Leeuwen W. Investigation into the repeated recovery of coagulase - negative staphylococci from blood taken at the end of cardiopulmonary by-pass // J. Hosp. Infect. 1995; 31:285-293.
19. Chee M. Progress in Cytomegalovirus Research // Ed.M.P.Landini. 1991; p.25-40.
20. Fernando S., Booth J., Boriskin Y. et al. Association of cytomegalovirus infection with post-transplantation cardiac rejection as studied using the polymerase chain reaction // J. Med. Virol. 1994;13:396-404.
21. Galama J.M., de Leeuw N., Wittebol S. et al. Prolonged enteroviral infection in a patient who developed pericarditis and heart failure after bone marrow transplantation // Clin. Infect. Dis. 1996;22:1004-1008.
22. Giacca M., Severini G.M., Mestroni L. et al. Low frequency of detection by nested polymerase chain reaction of enterovirus ribonucleic acid in endomyocardial tissue of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy // J. Am. Coll. Cardiol. 1994; 24:1033-1040.
23. Herbert M.M., Yu C., Towbin J.A et al. Fatal Epstein-Barr virus myocarditis in a child with repetitive myocarditis // Pediatr. Pathol. Lab. Med. 1995;90:805-812.
24. Ho M. Cytomegalovirus: Biology and infection. 2nd Ed.- Plenum, New York, 1991.
25. Jackson L.A., Campbell L.A., Schmidt R.A. et al. Specificity of detection of Chlamydia pneumonia in cardiovascular atheroma: evaluation of the innocent bystander hypothesis // Am. J. Pathol. 1997; 150:1785-1790.
26. Juvonen J., Laurila A., Juvonen T. et al. Detection of Chlamydia pneumonia in human nonrheumatic stenotic aortic valves // J. Am. Coll. Cardiol. 1997;29:1054-1059.
27. Ignaszewski A.P., Byrne S.K., Chui L.W. et al. Molecular analysis provides evidence for human to human transmission of Staphylococcus aureus endocarditis in non-drug abusers // Can. J. Cardiol. 1995;11:123-128.
28. Kane T.D., Johnson S.R., Alexander J.W. et al. Detection of intestinal bacterial translocation using PCR // J. Surg. Res. 1996;90:59-63.
29. Keeling P.J., Tracy S. Link between enteroviruses and dilated cardiomyopathy: serological and molecular data // Br. Heart. J. 1994, 72:S25-29.
30. Kyaw-Tanner M.T., Esmore D., Burrows S.R. et al. Epstein-Barr virus-specific cytotoxic T cell response in cardiac transplants recipients // Transplantation. 1994; 57:1611-1617.

31. Leparc I., Aymard M., Fuchs F. Acute, chronic and persistent enterovirus and poliovirus infections: detection of viral genome by seminested PCR amplification in culture-negative samples // *Mol. Cell. Probes.* 1994;8:487-95.
32. Lowry R.W., Adam E., Hu C. et al. What are the implications of cardiac infection with cytomegalovirus before heart transplantation? // *J.Heart.Lung.Transplant.* 1994;13:122-128.
33. Mannà R., Todaro L., Latteri M. et al. Leucocytoclastic vasculitis associated with hepatitis C virus antibodies // *Br. J. Rheumatol.* 1997; 36:124-125.
34. Matsumori A., Matoba Y., Sasayama S. Dilated cardiomyopathy associated with hepatitis C virus infection // *Circulation.* 1995; 92:2519-25
35. Matsumori A., Sasayama S. Newer aspects of pathogenesis of heart failure: hepatitis C virus infection in myocarditis and cardiomyopathy // *J. Card. Fail.* 1996, 2:S187-94.
36. Martin A.B., Webber S., Fricker F.J. et al. Acute myocarditis. Rapid diagnosis by PCR in children // *Circulation.* 1994:330-339.
37. Martino T.A., Liu P., Sole M. Viral infection and the pathogenesis of dilated cardiomyopathy // *Circ. Res.* 1994; 74:182-188.
38. Muir P., Nicholson F., Illavia S. et al. Serological and molecular evidence of enterovirus infection in patients with end-stage dilated cardiomyopathy // *Heart.* 1996; 76:243-249.
39. Ni J., Bowles N.E., Kim Y.H., Demmler G. et al. Viral infection of the myocardium in endocardial fibroelastosis. Molecular evidence for the role of mumps virus as an etiologic agent // *Circulation.* 1997; 13:133-139.
40. Nissen M., McEniery J., Delbridge G. et al. Acute hypertrophic cardiomyopathy possibly associated with *Mycoplasma pneumonia* infection // *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1995 14:74-76.
41. Okabe M., Fukuda K., Arakawa K. et al. Chronic variant of myocarditis associated with hepatitis C virus infection // *Circulation.* 1997;96:22-24.
42. Satoh M., Tamura G., Segawa I. Enteroviral RNA in endomyocardial biopsy tissues of myocarditis and dilated cardiomyopathy // *Pathol. Int.* 1994;44:345-351.
43. Satoh M., Tamura G., Segawa I. et al. Enteroviral RNA in dilated cardiomyopathy // *Eur. Heart. J.* 1994;15:934-939.
44. Satoh M., Tamura G., Segawa I. et al. Expression of cytokine genes and presence of enteroviral genomic RNA in endomyocardial biopsy tissues of myocarditis and dilated cardiomyopathy // *Virchows Arch.* 1996; 427:503-539.
45. Schowengerdt K.O., Ni J., Denfield S.W. et al. Diagnosis, surveillance, and epidemiological evaluation of viral infections in pediatric cardiac transplant recipients with the use of the polymerase chain reaction // *J. Heart Lung. Transplant.* 1996; 15:111-123.
46. Schunian U., Crombach M., Maser S. et al. Cytomegalovirus-associated heart muscle disease // *Eur. Heart J.* 1995; 16:46-49.
47. Spach D.H., Kanter A.S., Daniels N.A. et al. Bartonella (Rochalimaea) species as a cause of apparent «culture-negative» endocarditis // *Clin. Infect. Dis.* 1995; 20:1044-1047.
48. Speir E., Huang E.S., Modali R. et al. Epstein SE Interaction of human cytomegalovirus with p53: possible role in coronary restenosis // *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 1995; 99:78-81.
49. Stack W.A., Mulcahy H.E., Fenelon L., et al. Cytomegalovirus myocarditis following liver transplantation // *Postgrad. Med. J.*, 1994; 70:658-660.
50. Toyoda M., Carlos J.B., Galera O.A. et al. Correlation of cytomegalovirus DNA levels with response to antiviral therapy in cardiac and renal allograft recipients // *Transplantation.* 63(7):957-63 1997 Apr 15
51. Ueno H., Yokota Y., Shiotani H. et al. Significance of detection of enterovirus RNA in myocardial tissues by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Int J Cardiol* 1995; 51:157-164.
52. Valenza M., Czer L.S., Pan S.H. et al. Combined antiviral and immuno-globulin therapy as prophylaxis against cytomegalovirus infection after heart transplantation // *J. Heart. Lung. Transplant.* 1995;14:659-665.
53. Wolf Y.G., Wolf D.G., Higginbottom P.A. et al. Infection of a ruptured aortic aneurysm and an aortic graft with bacille Calmette-Gueren after intravesical administration for bladder cancer // *J. Vasc. Surg.* 1995; 22:80-84.
54. Wright H.T. Jr. Cytomegaloviruses. The Herpesviruses.-New York&London: Acad Press, 1973. P.354-388.
55. Ye D., Nichols T.C., Dehmer G.J. et al. Absence of human herpesvirus 8 genomes in coronary atherosclerosis in immunocompetent patients // *Am. J. Cardiol.* 1997;1:13-18.