

УДК 616.523.+616.9+616.132-004.6

Герпесвирусная (HSV, CMV), хламидийная (*Chlamydophilia pneumoniae*), микоплазменная (*Mycoplasma pneumoniae*) инфекции и атеросклероз брюшного сегмента аорты

Е.Е. Линкевич

Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»,
г. Гомель, Республика Беларусь

Herpetic (HSV, CMV), chlamydial (*Chlamydophilia pneumoniae*), mycoplasma (*Mycoplasma pneumoniae*) infections and abdominal atherosclerosis

E.Ye. Linkevitch

Establishment of education «Gomel State Medical University»
Gomel, Republic of Belarus

Аннотация

Проведен анализ циркуляции локальных маркеров (ДНК и антигенного материала) HSV, CMV, *C.pneumoniae* (CP), *M.pneumoniae* (MP) в эндотелии брюшного сегмента аорты с учетом морфологической характеристики сосудистой стенки. В исследование включены образцы аорты от 89 человек (35,2±9,8 лет). Для населения Гомельского региона возрастного интервала 20–49 лет установлен высокий уровень (94,4%) атеросклеротического поражения брюшного сегмента аорты. В результате постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР) геном HSV был выявлен в 59,5% образцов атеросклеротически измененных сосудов, CMV — в 52,4%, CP — в 45,2%, MP — в 67,9%. Показатели определения геномной ДНК HSV, CMV, CP, MP для умерших от манифестации атеросклероза (n=25) и от случайных причин (n=64) находились на одном уровне (p>0,05), антигенный материал изучаемых патогенов чаще (p<0,05) выявляли в группе лиц, умерших от атеросклероза. Полученные результаты согласуются с инфекционно-воспалительной концепцией атеросклероза.

Ключевые слова

Атеросклероз, воспаление, герпесвирусная инфекция, хламидийная инфекция, микоплазменная инфекция

Summary

There was performed the analysis of local markers distribution (genomic DNA and antigen material) HSV, CMV, *C.pneumoniae* (CP) and *M.pneumoniae* (MP) in the endothelium of the abdominal aorta taking into account morphologic characteristics of the vascular wall. Vessels samples of 89 corpses (35,2±9,8 years old) were included into the investigation. There was revealed a high index of atherosclerotic samples lesions of abdominal aorta for the studied Gomel region population at the age of 20-49 years old (94,4%). As the result of polymerase chain reaction (PCR) analysis of atherosclerotically changed vessels samples HSV genome was revealed in 59,5% of cases, CMV — 52,4%, CP — 45,2%, MP — 67,9%. Revelation indices of genomic DNA HSV, CMV, CP, MP for died of atherosclerosis manifestations (n=25) and from accidental causes (n=64) were approximately at the same level (P>0,05). Antigen material of the studied pathogens was reliably more often revealed in the group of people died of atherosclerosis (P<0,05). The received results correspond with infectious inflammatory conception of atherosclerosis.

Key words

Atherosclerosis, inflammation, herpetic infection, chlamydial and mycoplasmic infections

Атеросклероз (АС), являясь ведущей медико-социальной проблемой здравоохранения, обуславливает высокий уровень заболеваемости и смертности населения. Несмотря на достигнутые в кардиологии за последние годы успехи (такие как уточнение звеньев патогенеза, усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики АС), в проблеме атерогенеза остается много нерешенных вопросов: “омоложение” АС, частое несоответствие между анатомическими данными и клиническими проявлениями заболевания, существование в сосудах определенных зон изначальной мышечно-эластической гиперплазии интимы. Важным этапом исследований последних десятилетий является изучение роли и места воспаления при атерогенезе [1, 2, 3, 4, 5]. В рамках иммунно-воспалительной концепции широко обсуждается этиопатогенетическое значение Herpes simplex virus (HSV), Cytomegalovirus (CMV), Chlamydia pneumoniae (CP), для которых *in vitro* доказана перmissивность культур эндотелиальных и гладкомышечных клеток сосудистого происхождения [6, 7, 8].

Целью настоящего исследования явилось уточнить закономерности распределения локальных маркеров HSV, CMV, CP и Mycoplasma pneumoniae (MP) в эндотелии брюшного сегмента аорты с учетом её морфологической характеристики.

Материал и методы

Материал для исследования (брюшной сегмент аорты) был получен от 89 человек, умерших в возрасте 20–49 лет (в среднем $35,2 \pm 9,8$ года), и классифицирован на две группы с учетом причины смерти. Группа 1 включала образцы аорты 25 чел., умерших от различных проявлений АС (из них 72,0% – от ишемической болезни сердца, 4,0% – от разрыва атеросклеротической аневризмы аорты, 24,0% – от острой недостаточности мозгового кровообращения атеросклеротического генеза). Секционный материал, полученный от 64 практически здоровых при жизни и погибших от случайных причин лиц, составил группу 2. Использован метод ретроспективного анализа протоколов аутопсий (форма № 013/у), медицинских карт амбулаторного больного (форма № 025/у). Количественная оценка АС проводилась визуально-планиметрическим методом в соответствии с программой ВОЗ для эпидемиологических исследова-

ний АС [4]. Геномный материал HSV и CMV в эндотелии определяли методом ПЦР с использованием наборов фирмы «АмплиСенс» (Россия), CP и MP — наборов фирмы «Biosom» (Россия). Антигенные маркеры HSV, CP, MP определяли методом реакции иммунофлуоресценции (РИФЛ) наборами НИИ гриппа РАМН, CMV — наборами ЦМВСлайд фирмы «LAB-Diagnostika».

Результаты исследований обработаны с применением пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Данные представлены в виде средних и относительных величин, стандартной ошибки показателя. Использованы: критерий t Student; критерии z, χ^2 , точный критерий Фишера; тесты Манна-Уитни, Крускала-Уоллиса, Дана; однофакторный дисперсионный анализ и метод множественного сравнения данных с применением поправки Бонферрони; коэффициента корреляции Пирсона и коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Использовалась доверительная вероятность, равная 95,5% ($p=0,05$).

Результаты и обсуждение

При морфометрическом исследовании в 84 (94,4%) из 89 изучаемых образцов брюшного сегмента аорты были обнаружены проявления атеросклеротического процесса на разных стадиях его развития — от липидных пятен и полосок (ЛП) до фиброзных бляшек (ФБ), осложненных поражений (ОП) и кальциноза (К) (рисунок 1).

Высокая частота липоидоза отмечена уже в возрасте 20–24 лет (84,2%), к 35–39 годам показатель достиг 100,0%. ФБ выявлялись во всех возрастных группах. Достоверное увеличение частоты ФБ отмечено к 35–39 годам ($p=0,001$). Осложненные поражения, указывающие на нестабильность атеросклеротического процесса, также регистрировались уже в молодом возрасте, начиная с 28 лет. Кальциноз встречался реже и проявлялся в более поздние сроки — с 35–39 лет. Не установлено достоверных различий между частотой ЛП, ФБ, ОП и К в зависимости от половой принадлежности умерших ($p>0,05$).

Общая усредненная площадь атеросклеротического повреждения изучаемых образцов аорты закономерно увеличивалась с возрастом ($r_s=+0,5$, $p<0,001$). В группе 20–24 лет она составила $14,3 \pm 2,8\%$ (0,56–37,69%) интимальной поверхности сосудистой стенки, в 25–29 лет — $22,9 \pm 3,9\%$ (9,9–38,1%), в 30–34

лет — $30,3 \pm 4,6\%$ (8,9–66,1%), в 35–39 лет — $42,4 \pm 9,3$ (2,4–96,1%), в 40–44 лет — $45,6 \pm 6,6\%$ (2,1–91,8%), в 45–49 лет — $49,8 \pm 5,9\%$ (12,0–95,0%). В результате множественного сравнения данных с применением поправки Бонферрони установлено, что статистически значимое увеличение общей площади АС по отношению к младшей возрастной группе 20–24 лет происходит уже в 35–39 лет ($F=5,9$, $t=3,2$, $p<0,05$), а

показатель соответствует выраженной степени атеросклеротического поражения.

Площадь структурных составляющих атеросклеротического поражения, в частности липоидоза и возвышающихся поражений (ВП), которые являются интегральным показателем тяжести АС и включают ФБ, ОП и К, представлены в таблице 1.

Сравнение протяженности структурных составляющих атеросклеротических поражений

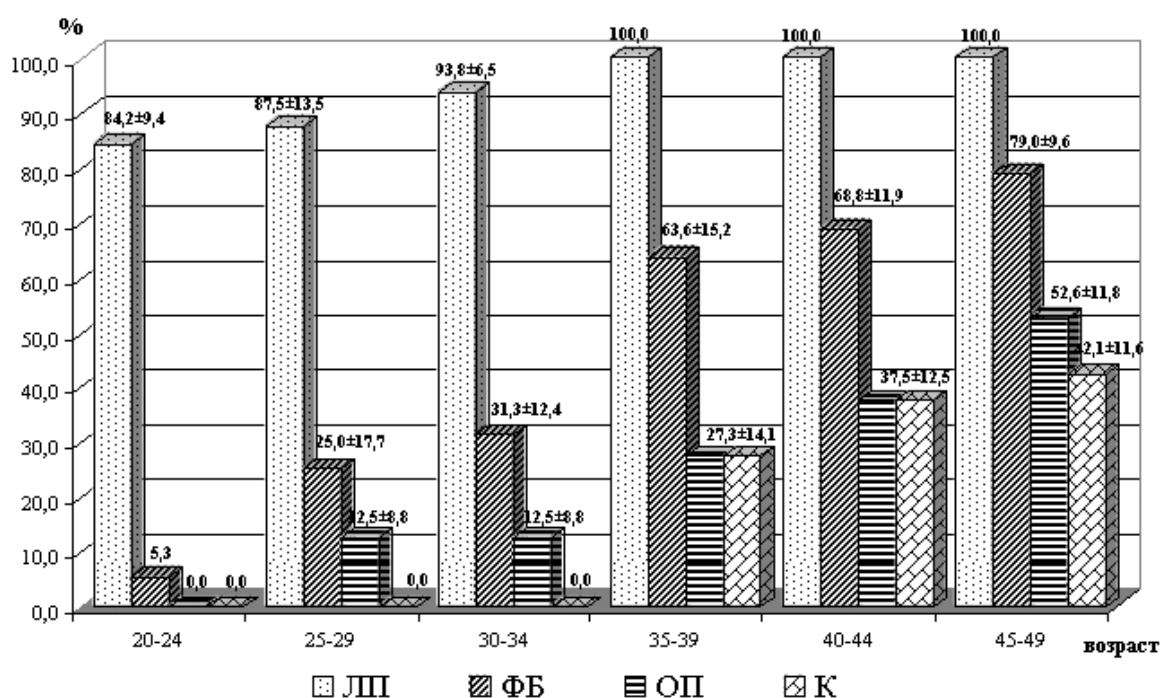


Рис. 1. Частота ЛП, ФБ, ОП и К в брюшном сегменте аорты в зависимости от возраста

Таблица 1
Средняя площадь ЛП и ВП в брюшном сегменте аорты (в % от интимальной поверхности)

Возраст	Число сосудов	ЛП		ВП	
		$X \pm S_x$	95% ДИ среднего	$X \pm S_x$	95% ДИ среднего
20–24	16	$14,3 \pm 2,8$	8,4–20,2	1,4	
25–29	7	$21,7 \pm 3,9$	11,7–31,7	$4,3 \pm 2,8$	
30–34	15	$26,9 \pm 4,2$	18,1–35,7	$10,3 \pm 1,9$	5,0–15,6
35–39	11	$31,4 \pm 7,9$	14,0–48,8	$17,2 \pm 6,3$	2,0–32,4
40–44	16	$22,1 \pm 3,5$	14,7–29,5	$34,2 \pm 7,9$	16,6–51,8
45–49	19	$19,0 \pm 3,2$	12,3–25,7	$39,1 \pm 7,5$	23,3–54,9

Примечание. * – различия средней площади ВП достоверны по отношению к объединенной возрастной группе 20–29 лет, $p<0,05$

показало, что средняя площадь ЛП в возрастной группе 20–24 лет составила $14,3 \pm 2,8\%$ (0,6–37,7%) интимальной поверхности, в 25–29 лет — $21,7 \pm 3,9\%$ (9,9–38,1%), в 30–34 лет — $26,9 \pm 4,2\%$ (8,9–66,1%). Максимальная площадь ЛП зарегистрирована в 35–39 лет — $31,4 \pm 7,9\%$ (2,4–81,3%) интимальной поверхности. В 40–44 года показатель снизился до $22,1 \pm 3,5\%$ (1,0–44,8%), а в 45–49 лет был минимальным — $19,0 \pm 3,2\%$ (2,1–58,9%). Динамику площади ЛП можно объяснить трансформацией начальных атеросклеротических изменений в более поздние стадии развития патологического процесса в ходе его прогрессирования. Так, средняя площадь ВП закономерно увеличивалась с возрастом ($r=+0,5$, $p=0,002$): в группе 20–24 лет составила 1,4% интимальной поверхности, в 25–29 лет — $4,3 \pm 2,8\%$ (1,5–7,1%), в 30–34 лет — $10,3 \pm 1,9\%$ (4,8–16,0%), в 35–39 лет — $17,2 \pm 6,3\%$ (1,2–41,9%), в 40–44 лет — $34,2 \pm 7,9\%$ (2,4–90,8%), в 45–49 лет — $39,1 \pm 7,5\%$ (2,7–92,2%). Значимый рост площади ВП установлен в 40–44 года ($F=5,8$, $t=3,2$, $p<0,05$). Отмечено существенное снижение с возрастом индекса, выражающего отношение площадей ФБ/ОП и являющегося интегральным показателем темпа прогрессирования АС. В 25–29 лет индекс ФБ/ОП составил 71,8; в 30–34 года — 14,5; после 35–39 лет — 1,4. Полученные данные свидетельствуют о тяжелом течении АС у лиц молодого возраста, начиная с 30–39 лет. Не выявлено достоверных различий площади АС в зависимости от половой принадлежности ($p>0,05$).

Сравнительный анализ площади АС с учетом причины смерти позволил установить, что показатели общей площади АС и площади ВП в группе умерших от манифестации АС достоверно ($p<0,001$) превышали таковые в группе практически здоровых при жизни и умерших от случайных причин лиц — соответственно $49,2 \pm 4,7\%$ (8,0–86,8%) и $35,7 \pm 4,7\%$ (3,1–74,7%) интимальной поверхности против $29,8 \pm 3,1\%$ (0,6–96,1%) и $18,8 \pm 5,5\%$ (1,2–92,2%). Не выявлено различий между показателями средней площади ЛП в сравниваемых группах ($p>0,05$). Таким образом, быстрый темп развития патологического процесса характерен для больных сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) атеросклеротического генеза. Для практически здоровых людей также характерно раннее

формирование АС, но более медленное его развитие. По всей видимости, медленный темп развития АС под влиянием различных факторов риска может трансформироваться в быстрый.

В результате ПЦР анализа геномный материал HSV и/или CMV и/или CP и/или MP был выявлен в эндотелии 79 (94,1%) из 84 образцов аорты с морфологическими признаками наличия АС. При этом ДНК HSV была выявлена в 59,5%, CMV — в 52,4%, CP — в 45,2%, MP в 67,9% случаев. ПЦР анализ 5 макроскопически нормальных образцов аорт показал, что все сосуды инфицированы каким-либо из изучаемых возбудителей. При этом в трех случаях имела место ассоциированная инфекция: у мужчины 23 лет — HSV/CMV/CP/MP, у женщины 34 лет — HSV/CMV/CP, у женщины 25 лет — CMV/CP. У двух мужчин 20 и 23 лет регистрировалась только MP-инфекция. Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что колонизация сосудистой стенки тропными к ней возбудителями, возможно, происходит задолго до формирования морфологических проявлений АС.

Установлена тенденция к увеличению находок ДНК патогенов по мере прогрессирования патологического процесса. Так, в зоне ЛП частота обнаружения ДНК HSV, CMV, CP, MP составила соответственно 62,8%, 55,8%, 48,8%, 65,1% случаев, в зоне ФБ — 68,4%, 63,2%, 47,4%, 78,9% (таблица 2).

В то же время достоверных различий между показателями идентификации ДНК в зависимости от стадии АС не установлено. Снижение выявления HSV (45,5%), CMV (36,4%), CP (36,4%) и MP (63,6%) в зоне ОП может быть обусловлено исходно малым количеством материала для лабораторного исследования, что можно объяснить структурно-функциональным “истощением” эндотелия в ходе прогрессирования АС.

Для большинства (80,9%) атеросклеротически измененных образцов сосудистой стенки установлена ассоциированная инфекция. При этом одновременное присутствие двух (39,3%) и трех (32,1%) инфекционных агентов выявлялось чаще ($\chi^2=38,2$, $p<0,001$), чем одного (19,1%) и четырех (9,5%). Выявлена корреляционная взаимосвязь между количеством присутствующих в эндотелии возбудителей и общей площадью атеросклеротического поражения сосудистой стенки ($r_s=+0,2$, $p=0,04$), площадью ВП ($r_s=+0,3$, $p=0,04$). Полученные ре-

зультаты указывают в пользу положения о том, что присутствие нескольких микроорганизмов одновременно может являться важным дополнительным фактором прогрессирования АС.

Чтобы уточнить, изменяется ли уровень экспрессии генома HSV, CMV, CP и MP в эндотелии сосудистой стенки с развитием атеросклеротического процесса, сопоставили результаты ПЦР и РИФЛ (показатели выявления ДНК и антигенного материала) с учетом наличия клинической манифестации АС.

Согласно приведенным в таблице 3 данным не установлено статистически значимых различий между показателями выявления геномного материала HSV, CMV, CP, MP в образцах брюш-

ного сегмента аорты сравниваемых по причине смерти групп.

Антигенный материал изучаемых патогенов чаще ($p < 0,05$) определялся в эндотелии сосудов у группы умерших от манифестации АС. Допустимо заключить, что в эндотелии сосудов, полученных у лиц, умерших от проявлений АС, возбудители находились в метаболически активном состоянии, в то время как у практически здоровых при жизни и умерших от случайных причин лиц — главным образом, в латентной форме существования с ограниченной метаболической активностью, что влияет на биохимические и антигенные характеристики персистирующего микроорганизма.

Таблица 2

Процент выявления ДНК инфекционных агентов в образцах сосудов в зависимости от типа атеросклеротического повреждения

Показатель	Величина показателя в сосудах с						(P_{1-2-3})
	ЛП n=43		ФБ n=20		ОП n=21		
	абс.	$P \pm S_p$	абс.	$P \pm S_p$	абс.	$P \pm S_p$	
ДНК HSV	27	$62,8 \pm 7,4$	13	$68,4 \pm 10,7$	10	$45,5 \pm 10,6$	$>0,05$
ДНК CMV	24	$55,8 \pm 7,6$	12	$63,2 \pm 11,1$	8	$36,4 \pm 10,3$	$>0,05$
ДНК CP	21	$48,8 \pm 7,6$	9	$47,4 \pm 11,5$	8	$36,4 \pm 10,3$	$>0,05$
ДНК MP	28	$65,1 \pm 7,3$	15	$78,9 \pm 9,4$	14	$63,6 \pm 10,3$	$>0,05$

Примечание. Различия показателей достоверны при значении $p < 0,05$.

Таблица 3

Выявление ДНК и антигенного материала HSV, CMV, CP, MP в атеросклеротически измененных сосудах в зависимости от причины смерти

Патоген	Показатель	Частота выявления показателя				p	95% ДИ разности долей
		в группе умерших от манифестации АС n=25		случайных причин n=64			
		абс.	$P \pm S_p$	абс.	$P \pm S_p$		
HSV	ДНК	15	$60,0 \pm 9,8$	37	$57,8 \pm 6,2$	$>0,05$	-0,2-0,3
	Антиген	17	$86,0 \pm 9,3$	26	$40,6 \pm 6,1$	0,04	0,03-0,5
CMV	ДНК	12	$48,0 \pm 9,9$	35	$54,7 \pm 6,2$	$>0,05$	-0,3-0,2
	Антиген	11	$44,0 \pm 10,1$	13	$29,3 \pm 5,0$	0,04	0,03-0,5
CP	ДНК	13	$52,0 \pm 9,9$	28	$43,8 \pm 6,2$	$>0,05$	-0,2-0,3
	Антиген	14	$56,0 \pm 9,9$	18	$28,1 \pm 5,6$	0,03	0,1-0,5
MP	ДНК	19	$76,0 \pm 8,5$	41	$64,1 \pm 5,9$	$>0,05$	-0,1-0,4
	Антиген	18	$72,0 \pm 8,9$	29	$45,3 \pm 6,2$	0,04	0,03-0,5

Примечание. Различия показателей достоверны при значении $p < 0,05$.

Заключение

Полученные результаты подтверждают гипотезу о латентной форме существования инфекционного агента в сосудистой стенке, которая, возможно, устанавливается в раннем возрасте еще задолго до формирования морфологических проявлений АС. Реактивация же латентной инфекции, сопровождаемая включением метаболической активности возбудителя, провоцирует и поддерживает хроническое иммунное воспаление в сосудистой стенке. Нарушение динамического равновесия в системе патоген-противоинфекционный ответ ведет к кумулированию повреждающего действия инфекционного фактора и формированию необратимой эндотелиальной дис-

функции, сопровождающейся нарушением специфической рецепторной активности и структурной целостности эндотелиального монослоя, что создает условия для поступления и накопления липидов в интимае. Следовательно, частоту активаций персистентных инфекций, тропных к клеткам сосудистой стенки, можно рассматривать в качестве одного из дополнительных критериев степени повреждения сосудистой стенки и, таким образом, прогнозировать скорость развития АС. Окончательное решение вопроса этиопатогенеза АС позволит открыть принципиально новые подходы к диагностике, этиотропному лечению и специфической профилактике данной патологии.

Литература

1. Ардаматский Н.А., Абакумова Ю.В., Корсунова Е.Н. Показатели инфекционного процесса при атеросклерозе и других заболеваниях. *Междун мед журн* 2000; 2: 105–12.
2. Вотяков В.И., Амвросьева Т.В. О роли вирусных агентов в индукции атерогенеза с позиций этиопатогенетических аспектов медленных инфекций и ассоциации атеросклероза с вирусами. *Вестн АМН СССР* 1991; 5: 59–4.
3. Жданов В.С., Вихерт А.М., Стернби Н.Г. Эволюция и патология атеросклероза у человека. М.: Триада-Х; 2002.
4. Мрочек А.Г. Будем ли мы лечить атеросклероз антибиотиками? *Здравоохран* 2001; 9: 38–41.
5. Нагорнев В.А., Мальцева С.В. Аутоиммунные и воспалительные механизмы развития атеросклероза. *Арх пат* 2005; 5: 6–15.
6. Рудык Ю.С. Связь бактериальной и вирусной инфекции с ишемической болезнью сердца. *Укр кардиол журн* 2001; 5: 17–28.
7. Sasu S., Verda D.L., Qureshi N. et al. Chlamydia pneumoniae and Chlamydial Heat Shock Protein 60 stimulate proliferation of human vascular smooth muscle cells via Toll-like receptor4 and p44/p42 mitogen-activated protein kinase activation. *Circ Res* 2001; 89: 244–50.
8. Libby P., Simon D.I. Inflammation and thrombosis the clot thickens. *Circulation* 2001; 13: 1718–20.