

Т. В. Амвросьева<sup>1</sup>, З. Ф. Богуш<sup>1</sup>, Н. В. Поклонская<sup>1</sup>, Т. Г. Вайханская<sup>2</sup>

## ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ДИЛАТАЦИОННОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ

<sup>1</sup>ГУ «Республиканский научно-практический центр  
эпидемиологии и микробиологии», г. Минск, Беларусь

<sup>2</sup>ГУ «Республиканский научно-практический центр  
«Кардиология», г. Минск, Беларусь

*Работа посвящена изучению ассоциативной связи кардиотропных вирусных патогенов, среди которых выбраны энтеровирусы, вирус Эпштейна-Барр, вирус ветряной оспы, парвовирус В19, аденовирусы, вирусы простого герпеса, вирус герпеса человека 6 типа и цитомегаловирус, с дилатационной кардиомиопатией (ДКМП). По результатам проведенных исследований уровень выявления маркеров детектируемых вирусных агентов у пациентов с данной патологией составил 31,0%. При этом нуклеиновые кислоты ассоциированных с ДКМП вирусных патогенов определялись в тканях сердца у 72,7% пациентов. У 11,0 % пациентов имело место наличие активной вирусной инфекции. Среди широкого ряда вирусов-ассоциантов наиболее часто определялись энтеровирусы, вирус герпеса человека 6 типа и парвовирус В19. Полученные данные обосновывают необходимость вирусологического обследования пациентов с ДКМП для выявления возможных этиопатогенетических факторов заболевания с последующей целенаправленной коррекцией проводимой терапии.*

**Ключевые слова:** ДКМП, ДКМП-ассоциированные вирусные агенты.

**T. V. Amvrosieva<sup>1</sup>, Z. F. Bohush<sup>1</sup>, N. V. Poklonskaya<sup>1</sup>, T. G. Vaikhanskaya<sup>2</sup>**

### VIRAL INFECTIONS IN PATIENTS WITH DILATED CARDIOMYOPATHY

*In this article, we study the relationship between dilated cardiomyopathy (DCM) and the occurrence of cardiotropic viruses, such as enteroviruses, Epstein–Barr virus, varicella-zoster virus, parvovirus B19, adenoviruses, herpes simplex virus, human herpesvirus 6, cytomegalovirus. According to our data markers of detected viral agents were identified in 31.0% of patients. Nucleic acids of these pathogens were detected in 72.7% of heart tissue samples from patients with DCM. Active viral infection was reported in 11.0% of patients. Among the pathogens associated with DCM, the most frequently detected were enteroviruses, human herpesvirus 6, and parvovirus B19. These data justify the need for identification of DCM-associated patient-specific viruses in order to adjust the treatment strategy accordingly.*

**Key words:** DCM, DCM-associated viruses.

В течение уже более 50 лет вирусные инфекции сердца связывают с развитием ДКМП. Эта тяжелая хроническая патология сердца может возникать как осложнение после перенесенного острого или хронического вирусного миокардита вследствие персистенции вируса в клетках миокарда или хронических иммунных процессов, изначально вызванных вирусной инфекцией. Среди кардиотропных вирусных агентов значительную роль отводят энтеровирусам (ЭВ), в первую очередь – вирусам группы Коксаки В. Доминирующая роль ЭВ в развитии миокардитов была подтверждена многочисленными результатами клинических исследований зарубежных ученых и собственно нашими исследованиями [1,2]. С применением молекулярно-биологических методов диагностики для обнаружения вирусов *in situ* в тканях сердца было установлено, что частота энтеровирусной инфекции сердца у пациентов с миокардитами и ДКМП может составлять 30-50% [3,4]. Также было показано, что аденовирусы (АдВ) вносят существенный вклад в развитие этой патологии как в детском возрасте, так и у взрослых [3,5]. Роль энтеровирусной и аденовирусной инфекции в патогенезе ДКМП подтверждает и тот факт, что у позитивных пациентов наблюдалось значительное улучшение симптомов сердечной недостаточности и функции левого желудочка после применения противовирусной терапии интерфероном-β. В данном случае применение интерферона-β способствовало элиминации ЭВ и АдВ геномов [6]. Значительную роль среди кардиотропных вирусов играет цитомегаловирус (ЦМВ), ДНК которого обнаруживалась в 15% образцов эндомиокардиальных биопсий пациентов с ДКМП [7]. В последние годы получены данные о том, что в развитии миокардитов и ДКМП определенный вклад вносит парвовирус В19 (ПВ В19) [8]. Позднее спектр кардиотропных вирусов был значительно расширен и пополнен

вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ), вирусами простого герпеса 1 и 2 типов (ВПГ), Варицелла-Зостер вирусом (ВЗВ), вирусами герпеса человека 6 типа (ВГЧ 6 т) и 8 типа, вирусом гепатита С и вирусом иммунодефицита человека. Так, по данным ПЦР-исследований эндомиокардиальных биоптатов, 245 пациентов с «идиопатической» ДКМП, проведенных в Германии, генетический материал широкого ряда вирусов был выявлен у 67,4% пациентов. В 27,3% случаев наблюдались пациенты с многочисленными инфекциями [9].

Исходя из вышеизложенного, настоящая работа посвящена выявлению у пациентов с ДКМП маркеров вирусных инфекций, вызываемых ВПГ, ВЗВ, ЦМВ, ВГЧ 6 т, ПВ В19, АдВ, ЭВ и ВЭБ – как предполагаемых этиопатогенетических факторов развития данной патологии.

#### Материалы и методы

В исследованиях использовали клинический материал 116 пациентов с клиническим диагнозом ДКМП, находящихся на стационарном лечении в РНПЦ «Кардиология» в период с января 2011 г. по октябрь 2012 г.: сыворотки крови от 109 пациентов, а также образцы тканей сердца от 22 пациентов, в том числе материал биопсии (n=21) и материал аутопсии (n=1). В качестве контроля исследовали клинический материал от пациентов (n=27) без клинических признаков кардиопатологии. При подборе пациентов в группу контроля учитывался средний возраст и процентное соотношение по половому признаку в соответствии с опытной группой пациентов.

Выявление IgM методом иммуноферментного анализа. Образцы цельной крови инкубировали 1 ч при температуре 37°C, затем центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 мин, после чего отбирали сыворотку. Детекцию IgM в сыворотках крови осуществляли с использованием коммерческой тест-

## Оригинальные научные публикации

системы «Тест-система диагностическая для выявления антител класса М к энтеровирусам методом иммуноферментного анализа» производства ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии», Беларусь.

**Выделение нуклеиновых кислот из сывороток крови и тканей сердца.** Для выделения вирусных нуклеиновых кислот из сывороток крови применяли коммерческие наборы «РНК-CORБ» производства «АмплиСенс», Россия и «TRI-zol» производства «Qiagen», Германия. Выделение вирусных нуклеиновых кислот из тканей сердца проводили с помощью лизирующего реагента «TRI-zol» производства «Qiagen», Германия. Фрагменты биоптатов предварительно гомогенизировали.

**Детекция вирусных нуклеиновых кислот.** Реакцию обратной транскрипции для получения энтеровирусной кДНК осуществляли с использованием набора для обратной транскрипции «RevertAid» производства «Fermentas», Литва и «РЕВЕРТА-L» производства «АмплиСенс», Россия. Амплификацию вирусных нуклеиновых кислот проводили с использованием коммерческих тест-систем производства «АмплиСенс», Россия. Для диагностики ЭВ, ВЗВ и ПВ В19 использовали ПЦР тест-системы с учетом результатов в реальном времени. АдВ, ВПГ, ЦМВ, ВГЧ 6 т., ВЭБ детектировали с помощью ПЦР тест-систем с электрофоретическим учетом результатов.

Статистическую обработку проводили с помощью пакетов статистических программ «Statistica 6,0 for Windows», EXCEL. Данные считались статистически достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$  по скорректированному критерию  $\chi^2$  и по точному одностороннему методу Фишера, применяемых в статистике при анализе качественных признаков.

### Результаты и обсуждение

**Результаты вирусологического обследования пациентов.** Группа пациентов с ДКМП (n=116) была обследована в отношении 8 возбудителей вирусных инфекций, ассоциируемых с развитием данной патологии: ВПГ, ЦМВ, ВЭБ, ВГЧ 6 т, ВЗВ, ПВ В19, АдВ и ЭВ. Клинический материал (сыворотки крови, эндомикардиальные биоптаты) анализировался на наличие генетических маркеров всего вышеуказанного спектра кардиотропных вирусов, а в отношении ЭВ, как наиболее признанных вирус-ассоциантов ДКМП, проводились исследования сывороток крови по выявлению ранних маркеров инфекции – антиэнтеровирусных IgM. По результатам исследований у 36 из 116 обследованных были выявлены генетические и/или серологические маркеры ряда инфекционных патогенов, что составило 31,0%.

**Результаты детекции вирусных нуклеиновых кислот в тканях сердца пациентов с ДКМП.** Наибольшую ценность в диагностике вирусных инфекций у кардиологических пациентов представляет выявление вирусного агента или его компонентов непосредственно в клетках сердца, что может свидетельствовать о его патогенной роли в развитии заболевания. Проведенные нами исследования показали, что в миокарде 72,7% обследованных (у 16 из 22) присутствовал генетический материал одного или нескольких вирусных патогенов. При этом положи-

тельные результаты были получены в отношении 6 из 8 детектируемых возбудителей, среди которых (таблица 1) доминировали ВГЧ 6 т и ПВ В19 (31,8% в отношении каждого вируса - у 7 из 22 обследованных). Следующую позицию в рейтинге выявленных вирусных агентов заняли ЭВ, которые присутствовали в тканях сердца 5 пациентов из группы обследованных, что составило 22,7%. Далее следовали ВЭБ (18,2% - 4/22), ВЗВ и АдВ (4,5% - 1/22). Генетический материал ВПГ 1 и 2 типов и ЦМВ в исследованных образцах не был обнаружен.

У 10 из 16 положительных пациентов была зарегистрирована моноинфекция (62,5% - 10/16). У остальных пациентов (37,5% - 6/16) имело место смешанное инфицирование тканей сердца двумя и более вирусными патогенами (рисунок 1).

В качестве возбудителей моноинфекции (рисунок 2) выступили ЭВ (у 3 пациентов из 19 обследованных – 13,6%), ВГЧ 6 т (у 3 из 19 – 13,6%), ВЭБ (2/19 – 9,1%) и ПВ В19 (2/19 – 9,1%). Смешанное инфицирование регистрировалось у 6 пациентов с ДКМП и было представлено следующими комбинациями кардиотропных вирусов: ВЗВ+ВГЧ 6 т + АдВ + ПВ В19, ВГЧ 6 т + ПВ В19, ВЭБ+ ВГЧ 6 т, ВЭБ + ПВ В19, ВГЧ 6 т + ПВ В19 + ЭВ и ПВ В19 + ЭВ.

**Результаты молекулярно-генетических и серологических исследований сывороток крови.** По результатам проведенных исследований сывороток крови пациентов с ДКМП (n=109) общий уровень выявления генетических и/или серологических маркеров детектируемых возбудителей составил 20,2% (таблица 2). Генодиагностические исследования сывороток крови показали присутствие нуклеиновых кислот практически всего исследуемого спектра кардиотропных вирусов, за исключением ЭВ и ВГЧ 6 т. Среди обнаруженных вирусных патогенов доминировали ВЭБ (3,7%), ПВ В19 и АдВ (по 2,8% в отношении каждого из возбудителей). В 0,9% случаев детектировались ДНК ВПГ и ВЗВ. Уровень выявления антиэнтеровирусных IgM составил 11,0%.

Среди положительных (n=22) генетические маркеры были зарегистрированы у 45,5% пациентов с ДКМП (n=10). Наличие антиэнтеровирусных Ig M обнаруживалось также у 45,5% обследованных (n=2) наряду с генетическим вирусным материалом выявлялись и Ig M к ЭВ. При этом, как и в случае исследования образцов тканей сердца, преобладало моноинфицирование (81,8% - у 18 пациентов из 22 положительных). Случаи смешанного инфицирования в данной группе пациентов отмечались лишь у 4 человек, что составило 18,2%, и были представлены вариантами: ВПГ 1 и 2 типов + ПВ В19, ВЭБ + Ig M к ЭВ, АдВ + Ig M к ЭВ и ВЭБ + АдВ (рисунок 3).

Как известно, обнаружение вирусспецифического генетического материала в сыворотке крови указывает на наличие в организме пациента активной вирусной инфекции. По результатам настоящих исследований общий уровень регистрации активной инфекции, вызванной кардиотропными вирусами, составил 11,0% (у 12 из 109 обследованных). Указанные уровни выявления вирусных нуклеиновых кислот в обследованной группе пациентов

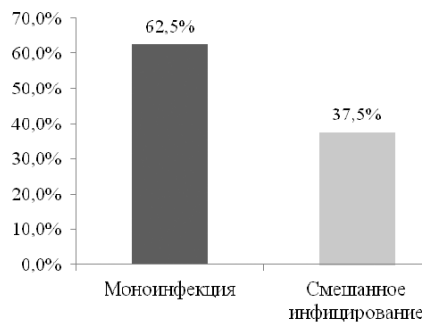


Рисунок 1 – Уровни моноинфекции и смешанного инфицирования в группе положительных пациентов с ДКМП

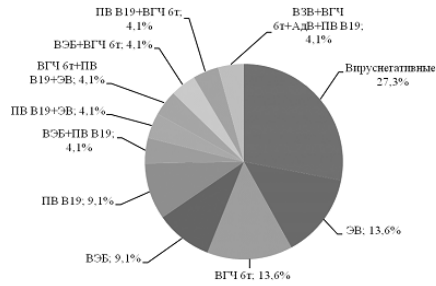


Рисунок 2 – Структура генодиагностики пациентов с обнаружением вирусов in situ в тканях сердца

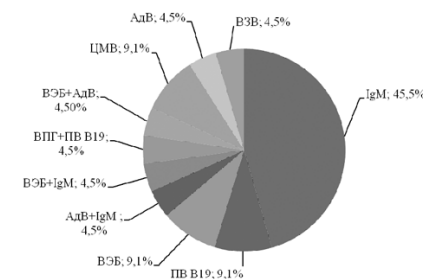


Рисунок 3 – Структура исследований сывороток крови положительных пациентов с ДКМП



Таблица 1 – Уровни выявления генетического материала кардиотропных вирусов в тканях сердца пациентов ДКМП

Вид материала	Кол-во положительных пациентов/ уровни выявления НК, %								Всего положительных пациентов/ уровень выявления НК, %
	ВПГ	ВЗВ	ЦМВ	ВЭБ	ВГЧ 6 т	ПВ В19	АДВ	ЭВ	
Ткани сердца (n=22)	0	1/4,5	0	4/18,2	7/31,8	7/31,8	1/4,5	5/22,7	16/72,7

Таблица 2 – Уровни выявления генетических и серологических маркеров кардиотропных вирусных агентов в сыворотках крови пациентов с ДКМП

Вид материала	Кол-во положительных пациентов/ уровни выявления, %									Всего положительных пациентов/ уровень выявления НК и IgM, %
	НК									
	ВПГ	ВЗВ	ЦМВ	ВЭБ	ВГЧ 6 т	ПВ-В19	АДВ	ЭВ	ЭВ	
Сыворотка крови (n=109)	1/0,9	1/0,9	2/1,8	4/3,7	0	3/2,8	3/2,8	0	12/11,0	22/20,2
Группа контроля (n=27)	0	0	0	0	0	0	0	0	1/3,7	1/3,7

с ДКМП, при сравнении их с таковыми в контрольной группе, не имели статистически достоверных различий ( $p > 0,05$  по скорректированному критерию  $\chi^2$  и по точному одностороннему методу Фишера). Статистически недостоверными оказались и различия в уровнях выявления Ig M у пациентов контрольной и опытной групп ( $p > 0,05$ ). Однако в целом разница результатов комплексного вирусологического обследования сывороток крови пациентов с клиническим диагнозом ДКМП (всего 109 человека, из них позитивных - 22) и группы контроля (всего 27 человека, из них позитивных - 1) была статистически достоверна ( $p = 0,04$  по скорректированному критерию  $\chi^2$  и  $p = 0,029$  по точному одностороннему методу Фишера).

В заключение хотелось бы отметить, что накопившиеся к настоящему времени многочисленные литературные данные свидетельствуют о том, что некоторые инфекции, перенесенные пациентами до или во время заболевания ДКМП, могут влиять на частоту развития этой патологии в популяции [1,2]. Полученные нами и представленные выше результаты также свидетельствуют о высоком уровне выявления у пациентов с ДКМП маркеров ряда вирусных инфекций. Присутствие вирусных геномов в тканях сердца у 72,7% пациентов с ДКМП и регистрация активной вирусной инфекции у 11,0% пациентов с данной патологией является хорошей доказательной базой в пользу предполагаемой роли кардиотропных вирусов как возможных

предикторов в развитии ДКМП. Полученные в настоящем исследовании данные обосновывают практическую необходимость, при наличии анамнестических и клинических показаний, осуществления вирусологического обследования пациентов с ДКМП с целью выявления возможных вирусных факторов риска заболевания и последующей целенаправленной коррекции проводимой терапии с включением в нее соответствующих антивирусных средств.

### Литература

1. *The causes of dilated cardiomyopathy: a clinicopathologic review of 673 consecutive patients / E.K. Kasper [et al.] // J Am Coll Cardiol. – 1994. – Vol. 23. – P. 586–590.*
2. *Serological and molecular evidence of enteroviral infection in patients with myocarditis and dilated cardiomyopathy / N.V. Paklonskaya [et al.] // 1st FEMS Congr. Eur. Microbiol: abstr. – Lubliana, 2003. – P. 483.*
3. *Acute myocarditis. Rapid diagnosis by PCR in children / A.B. Martin [et al.] // Circulation. – 1994. – Vol. 90. – P. 330–339.*
4. *Clinical and prognostic significance of detection of enteroviral RNA in the myocardium of patients with myocarditis or dilated cardiomyopathy / H.J. Why [et al.] // Circulation. – 1994. – Vol. 89. – P. 2582–2589.*
5. *Detection of adenoviral genome in the myocardium of adult patients with idiopathic left ventricular dysfunction / M. Pauschinger [et al.] // Circulation. – 1999. – Vol. 99. – P. 1348–1354.*
6. *Interferon- $\beta$  treatment eliminates cardiotropic viruses and improves left ventricular function in patients with myocardial persistence of viral genomes and left ventricular dysfunction / U. Kühl [et al.] // Circulation. – 2003. – Vol. 107. – P. 2793–2798.*
7. *Cytomegalovirus associated inflammatory heart muscle disease / B. Maisch [et al.] // Scand J Infect Dis. – 1993. – Vol. 88. – P. 135–148.*
8. *Association of parvovirus B19 genome in children with myocarditis and cardiac allograft rejection: diagnosis using the polymerase chain reaction / K.O. Schowengerdt [et al.] // Circulation. – 1997. – Vol. 96. – P. 3549–3554.*
9. *High Prevalence of Viral Genomes and Multiple Viral Infections in the Myocardium of Adults With "Idiopathic" Left Ventricular Dysfunction / U. Kühl [et al.] // Circulation. – 2005. – Vol. 111. – P. 887–893.*

Поступила 18.12.2012 г.