

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ У БОЛЬНЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ

Терещенко С. Н.¹, Скворцов А. А.¹, Щедрина А. Ю.², Нарусов О. Ю.¹, Зыков К. А.¹, Сафиуллина А. А.¹, Сычев А. В.¹, Жиров И. В.¹

Цель. Оценить диагностическую значимость биомаркеров при выявлении воспалительной кардиомиопатии (ВКМП).

Материал и методы. В исследование включено 35 больных с предполагаемой воспалительной кардиомиопатией, хронической сердечной недостаточностью I-III функционального класса (ФК), сниженной систолической функцией левого желудочка (ФВ ЛЖ <40%). Всем пациентам наряду с клиническим обследованием проводились эндомикардиальная биопсия (ЭМБ). При изучении биоптатов использовались гистологический и иммуногистохимический методы с использованием моноклональных антител к моноцитам/макрофагам, к Т-лимфоцитам (CD 45RO, CD3+, CD4+, CD8+, CD68+). Диагноз ВКМП устанавливался, если в миокарде имелись воспалительные инфильтраты, связанные с дегенерацией или некрозом миоцитов неишемического генеза, а количество лейкоцитов было 14 и более (включая до 4 моноцитов) в 1 мм² биоптата, не менее 7 из них должны были относиться к CD3+ Т-лимфоцитам. На основании результатов пациенты были разделены на группы ВКМП и невоспалительной дилатационной кардиомиопатии (нвДКМП). У всех больных определялся уровень следующих биомаркеров: иммуноглобулины классов А, М, G, высокочувствительный С-реактивный белок (вСРБ), матриксная металлопротеиназа-9 (ММП-9), трансформирующий фактор роста β (ТФРβ), фактор некроза опухоли α, (ФНОα), С3 и С4 компоненты комплемента, эозинофильный катионный протеин (ЭКП).

Результаты. При сравнении групп ВКМП и нвДКМП по показателям гуморального иммунитета было выявлено, что значения вСРБ, С3 и С4 компонентов комплемента, ММП-9, ТФР β были значимо выше в группе с ВКМП. При ROC анализе выявлено, что только вСРБ, С3 и С4 компонентов комплемента и ММП-9 имеют диагностическое значение. Определены уровни указанных биомаркеров выше которых они имеют оптимальное соотношение чувствительности и специфичности: 1,13 мг/мл, 1,2 г/л, 0,256 г/л 680 нг/мл, соответственно. При использовании комбинации биомаркеров вСРБ с С3, С4 компонентами комплемента чувствительность составила 61%, специфичность 94%, при совместном применении ММП-9 и С3, С4 компонентов комплемента — 66% и 94%, соответственно.

Заключение. Комбинации вСРБ, и ММП-9 с С3, С4 компонентами комплемента целесообразно использовать для диагностики ВКМП.

Российский кардиологический журнал 2017, 2 (142): 22–29

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-2-22-29>

Ключевые слова: воспалительная кардиомиопатия, миокардит, дилатационная кардиомиопатия, биомаркеры, диагностика.

¹ФГБУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс Минздрава России, Москва; ²Российский геронтологический научно-клинический центр, структурное подразделение ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия.

Терещенко С. Н. — д.м.н., профессор, заместитель генерального директора, руководитель отдела заболеваний миокарда и сердечной недостаточности, Скворцов А. А. — д.м.н., в.н.с. отдела заболеваний миокарда и сердечной недостаточности, научный секретарь, Щедрина А. Ю. — к.м.н., зав. отделением терапии, научный сотрудник лаборатории гериатрии, Нарусов О. Ю.* — к.м.н., с.н.с., отдела заболеваний миокарда и сердечной недостаточности, Зыков К. А. — д.м.н., профессор РАН, руководитель лаборатории иммунопатологии сердечно-сосудистых заболеваний, Сафиуллина А. А. — к.м.н., м.н.с. отдела заболеваний миокарда и сердечной недостаточности, Сычев А. В. — к.м.н., н.с. отдела заболеваний миокарда и сердечной недостаточности, Жиров И. В. — д.м.н., в.н.с. отдела заболеваний миокарда и сердечной недостаточности.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
dnarusov@yandex.ru

ВКМП — воспалительная кардиомиопатия, вСРБ — высокочувствительный С-реактивный белок, ДКМП — дилатационная кардиомиопатия, ИЛ-4 — интерлейкин-4, ИЛ-6 — интерлейкин-6, КАГ — коронароангиография, КДО ЛЖ — конечно-диастолический объем левого желудочка, КСО ЛЖ — конечно-систолический объем левого желудочка, ЛЖ — левый желудочек, ММП — матриксные металлопротеиназы, ММП-9 — матриксная металлопротеиназа-9, нвДКМП — невоспалительная дилатационная кардиомиопатия, СРБ — С-реактивный белок, ТФРβ — трансформирующий фактор роста β, ФК — функциональный класс, ФНОα — фактор некроза опухоли α, ХСН — хроническая сердечная недостаточность, ЭКП — эозинофильный катионный протеин, ЭМБ — эндомикардиальная биопсия, ЭхоКГ — эхокардиография.

Рукопись получена 09.01.2017

Рецензия получена 11.01.2017

Принята к публикации 18.01.2017

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF IMMUNITY MARKERS IN INFLAMMATORY CARDIOMYOPATHY PATIENTS

Tereschenko S. N.¹, Skvortsov A. A.¹, Schedrina A. Yu.², Narusov O. Yu.¹, Zykov K. A.¹, Safiullina A. A.¹, Sychev A. V.¹, Zhiron I. V.¹

Aim. To evaluate diagnostic significance of biomarkers for inflammatory cardiomyopathy (ICM).

Material and methods. Totally, 35 patients included with suspected inflammatory cardiomyopathy, chronic heart failure of I-III functional class (FC), decreased systolic function of the left ventricle (EF LV <40%). All patients, together with routine assessments, underwent endomyocardial biopsy (EMB). Studying biopsates, the methods were used of histology and immunohistochemistry with monoclonal antibodies to monocytes/macrophages, to T-lymphocytes (CD 45RO, CD3+, CD4+, CD8+, CD68+). Diagnosis of ICM was set if in myocardium there were inflammatory infiltrates related to degeneration or necrosis of myocytes of non-ischemic origin, and number of leucocytes was 14 or more (including up to 4 monocytes) in 1 mm² of specimen, and at least 7 of them should be CD3+ T-lymphocytes. According to the results, patients were selected to the groups of ICM and non-inflammatory dilation cardiomyopathy (niDCM). In all patients we evaluated the

following biomarkers: immunoglobulines A, M, G, high-sensitive C-reactive protein (hsCRP), matrix metalloprotease-9 (MMP9), transforming growth factor β (TGFβ), tumor necrosis factor α, (TNFα), C3 and C4 components of complement, eosinophilic catione protein (ECP).

Results. While comparing groups ICM and niDCM by the parameters of humoral immunity, it was revealed that levels of hsCRP, C3 and C4 complement, MMP9, TGFβ were significantly higher in ICM group. In ROC analysis it was found that only hsCRP, C3 and C4 complement and MMP9 have diagnostic significance. The levels of the biomarkers mentioned, were assessed with a threshold definition for optimum sensitivity and specificity: 1,13 mg/mL, 1,2 g/L, 0,256 g/L, 680 ng/mL, respectively. Using combined biomarkers hsCRP with C3, C4 complement sensitivity reached 61%, specificity 94%; in MMP9 with C3, C4 complement — 66% and 94%, respectively.

Conclusion. Combination of hsCRP and MMP9 with C3, C4 components of complement is worthy to use in diagnostics of ICM.

Key words: inflammatory cardiomyopathy, myocarditis, dilation cardiomyopathy, biomarkers, diagnostics.

Дилатационная кардиомиопатия (ДКМП) на протяжении многих лет вызывает особый интерес у клиницистов и исследователей, что обусловлено не только высокой смертностью, но и отсутствием единых подходов к диагностике и лечению больных с этой тяжелой патологией. Заболевание вносит значительный вклад в структуру хронической сердечной недостаточности (ХСН) и является ведущей причиной направления пациентов на трансплантацию сердца [1-3]. Этиология ДКМП разнообразна, но особое место занимают воспалительные заболевания миокарда. По данным различных авторов до 30% случаев миокардитов сопровождаются развитием ДКМП и сердечной недостаточности [4]. У 9-16% взрослых и 46% детей с ДКМП при эндомикардиальной биопсии (ЭМБ) выявляется миокардит [5-7]. В 1995г в новую классификацию кардиомиопатий был введен термин “воспалительная кардиомиопатия” (ВКМП) [8], а в 1999г комитетами экспертов были разработаны и опубликованы диагностические критерии этого заболевания [9]. В соответствии с позицией рабочей группы по болезням миокарда и перикарда Европейского общества кардиологов ВКМП определяется как миокардит, ассоциированный с сердечной дисфункцией, а миокардит, в свою очередь — как воспалительное заболевание миокарда, диагностированное в соответствии с установленными гистологическими, иммунологическими и иммуногистохимическими критериями [4]. Таким образом, как следует из определения, для постановки диагноза ВКМП, или воспалительной ДКМП (вДКМП) недостаточно выявить дисфункцию миокарда и исключить такие ее причины, как ишемия и артериальная гипертензия, но необходимо провести ЭМБ. С клинической точки зрения, выявление воспаления в миокарде имеет большое значение, так как его наличие не только определяет прогноз пациента [10], но и в ряде случаев служит показанием для назначения специфической терапии [11]. Несмотря на то, что ЭМБ является “золотым стандартом” в диагностике ВКМП [9], её выполнение до сих пор не стало обычной практикой, что обусловлено как высокой стоимостью и сложностью метода, так и возможными осложнениями, в первую очередь, тампонадой сердца [2]. В связи с этим на ЭМБ следует направлять пациентов только с обоснованным подозрением на миокардит, а диагностика воспалительной кардиомиопатии должна включать весь комплекс методов, начиная со сбора анамнеза, оценки клинического состояния, заканчивая эхокардиографией (ЭхоКГ) и коронароангиогра-

¹Russian Cardiological Research-and-Production Complex of the Ministry of Health, Moscow; ²Russian Herontology Scientific and Clinical Center, organizational unit of N.I. Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU), Moscow, Russia.

фией (КАГ). Однако специфичность изменений, определяемых при этих исследованиях, для миокардита не велика.

Как известно, в основе развития ВКМП лежит хроническое воспаление в миокарде. Поэтому выявление периферических биомаркеров, свидетельствующих об активности воспалительного процесса в миокарде, является одним из направлений усовершенствования неинвазивной диагностики. Согласно литературным данным, при миокардите отмечается повышение уровней таких воспалительных биомаркеров, как интерлейкин-4 (ИЛ-4) [12], С-реактивный белок (СРБ), интерлейкин-6 (ИЛ-6), фактор некроза опухоли α (ФНО α), антитела к миокарду [13-16]. Однако, мнения экспертов относительно их применения расходятся.

Целью нашего исследования явилась оценка диагностической значимости иммунологических биомаркеров периферической крови при выявлении воспалительной кардиомиопатии.

Материал и методы

Исследование было выполнено в соответствии со стандартами Надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации. Протокол исследования был одобрен комитетом по вопросам этики при ФГБУ “РКНПК” МЗ РФ. До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие.

В работу включено 35 больных (20 мужчин (57%) и 15 женщины (43%)) с предполагаемой воспалительной кардиомиопатией, хронической сердечной недостаточностью I-III функционального класса (ФК), сниженной систолической функцией левого желудочка (ЛЖ) (фракция выброса (ФВ) ЛЖ <40%) и конечно-диастолическим размером ЛЖ более 6 см. У всех пациентов в анамнезе отмечалась связь развития заболевания с перенесенной острой респираторной вирусной инфекцией, включение пациента в исследование проводилось не ранее, чем через 6 месяцев от развития симптомов сердечной недостаточности. Основными критериями исключения являлись наличие воспалительных заболеваний (острых или обострения хронических), ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии, врожденных и приобретенных пороков сердца, коллагенозов, злокачественных новообразований, заболеваний печени (уровень АЛТ и АСТ в три раза выше границы нормальных значений) и почек (креатинин >260

Таблица 1
Клинико-демографическая характеристика пациентов, включенных в исследование, M±sd; Me [25%;75%]

Показатель	Значения, n=35
Пол: мужчины	n=20 (57,1%)
женщины	n=15 (42,9%)
Возраст, лет	41,3±11,4
Длительность заболевания, лет	2,0 [1,0;4,0]
КДО ЛЖ, мл	219,5±65,5
КСО ЛЖ, мл	144,8±54,5
ФВ ЛЖ, %	33,0±5,9

Сокращения: КДО ЛЖ — конечно-диастолический объем левого желудочка, КСО ЛЖ — конечно-систолический объем левого желудочка, ФВ ЛЖ — фракция выброса левого желудочка.

мкмоль/л). Краткие клинико-демографические данные пациентов отражены в таблице 1.

Больным проводилось полное обследование с использованием общепринятых методик, включая ЭхоКГ и КАГ. При отсутствии гемодинамически значимых стенозов в коронарных артериях выполнялась ЭМБ феморальным доступом. В среднем производился забор 4–5 биоптатов из правого желудочка, преимущественно из межжелудочковой перегородки. Биоптаты исследовались с использованием гистологического, иммуногистохимического и молекулярно-генетического методов. При иммуногистохимическом исследовании препарата применялись коммерческие мышечные моноклональные антитела к моноцитам/макрофагам, к Т-лимфоцитам (CD 45RO, CD3+, CD4+, CD8+, CD68+; компания “La Roche”, США). Активность воспалительного процесса в миокарде и полуколичественная степень выраженности фиброза определялись в соответствии с критериями, предложенными Рабочей группой по болезням миокарда и перикарда Европейского общества кардиологов [4]. Диагноз миокардита устанавливался, если в миокарде имелись воспалительные инфильтраты, связанные с дегенерацией или некрозом миоцитов неишемического генеза, а количество лейкоцитов было 14 и более (включая до 4 моноцитов) в 1 мм² биоптата, не менее 7 из них должны были относиться к CD3+ Т-лимфоцитам.

У всех больных оценивались концентрации биомаркеров в крови, которые могут отражать активность воспаления.

Определение уровня высокочувствительного С-реактивного белка (вчСРБ), компонентов компонента С3 и С4, концентрации иммуноглобулинов А, М и G проводилось в сыворотке крови методом нефелометрии на анализаторе “Беринг Нефелометр” модели BN ProSpec производства Dade-Behring Marburg GmbH, Германия с использованием реактивов фирмы Dade-Behring.

Уровень иммуноглобулинов Е определяли с использованием хемилюминесцентного анализатора Immulite

1000, эозинофильного катионного протеина — при помощи хемилюминесцентного анализатора Elecsys 1000 Total. Титр антител к миокарду оценивали методом непрямой иммунофлюоресценции на коммерческих наборах фирмы “IMMCO Diagnostics” (Канада).

Исследование концентраций трансформирующего фактора роста β (ТФРβ), ФНОα проводилось твердофазным иммуноферментным анализом (ИФА) с использованием соответствующих наборов eBioscience: “Human TGFβ1 Platinum ELISA”, каталожный номер BMS 249/4CE и BMS249/4TENCE, чувствительность 8,6 пг/мл; “Human TNFα High Sensitivity ELISA”, каталожный номер BMS223HS, чувствительность 0,13 пг/мл.

Определение уровня матриксной металлопротеиназы 9 (ММП-9), выполнялось методом ИФА с использованием тест систем компании eBioscience, Австрия.

Статистическая обработка данных проводилась в программе SPSS18. Оценка распределения количественных признаков проводилась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Параметрические показатели представлены в виде M±sd, где M — среднее, sd — стандартное отклонение. Для параметрического сравнения групп применялся t-критерий Стьюдента, для корреляционного анализа — коэффициент корреляции Пирсона. Непараметрические данные представлены в виде Me [LQ;UQ], где Me — медиана значения, интерквартильный интервал [LQ;UQ] с указанием 25-го и 75-го перцентилей их распределения. Для непараметрической оценки достоверности различий между группами использовался непараметрический метод анализа по Манну-Уитни, для корреляционного анализа непараметрических данных — коэффициент Спирмена. Для определения совместного распределения двух переменных составлялись таблицы сопряженности. Для выявления связи между ними применялся критерий Фишера. Проводился ROC анализ с определением чувствительности и специфичности. Определялось отношение шансов. За минимальный уровень значимости принято p<0,05.

Результаты

В зависимости от результатов ЭМБ пациенты были разделены на 2 группы: с подтвержденной ВКМП (n=18) и невоспалительной ДКМП (нвДКМП) (n=17). Группы не различались по основным клинико-демографическим характеристикам, за исключением длительности заболевания, которая была больше у больных нвДКМП (табл. 2).

При сравнении групп было выявлено, что у пациентов с ВКМП концентрации ряда биомаркеров были значимо выше, чем у больных с отсутствием признаков активного воспалительного процесса в миокарде:

вчСРБ, соответственно — 3,48 [1,1;6,14] и 0,6 [0,4;0,9] мг/л, ($p=0,0003$); С3 компонент комплемента — 1,4±0,27 и 1,1±0,19 г/л, ($p=0,01$); С4 компонент комплемента — 0,29 [0,24;0,35] и 0,22 [0,19;0,25] г/л, ($p=0,01$); ММП-9 — 917 [642;1235] и 440 [317;680] нг/мл, ($p=0,007$); ТФРβ — 13434 [9577;52401] и 9567 [6962;9983] пг/мл, ($p=0,01$).

Анализируя взаимосвязи воспалительных биомаркеров и показателей, определяемых при ЭМБ, было обнаружено, что в группе ВКМП имеется положительная корреляция между ММП-9 и общим количеством инфильтрирующих 1 мм² миокарда клеток ($r=0,56$, $p=0,04$), а также с CD68+/мм² миокарда ($r=0,5$, $p=0,04$). Важно отметить, что по мере увеличения степени фиброза миокарда у пациентов отмечалось и увеличение активности ММП-9: при 1 степени фиброза значение ММП-9 составило 440 [317;982] нг/мл, при 2 степени — 910 [681;1334] нг/мл, при 3 степени 1014 [646;1949] нг/мл. Значимые различия по уровню ММП-9 были выявлены между 1 и 2 степенью ($p=0,04$), а также между 1 и 3 степенью ($p=0,04$) фиброза миокарда, при этом значимых различий между 2 и 3 степенью не зарегистрировано, ($p=0,8$).

Для биомаркеров, концентрации которых были значимо повышены у больных ВКМП, проводился

ROC анализ с определением их чувствительности и специфичности.

При ROC анализе значений вчСРБ площадь под кривой составила 0,8±0,06 ($p<0,0001$). При концентрации вчСРБ >1,13 мг/л чувствительность по отношению к активности воспалительного процесса в миокарде составила 61,1%, специфичность —

Таблица 2

Сравнение групп ВКМП и ДКМП по основным клинико-демографическим показателям, M±sd; Me [25%;75%]

Показатель	ВКМП n=18	нвДКМП n=17	P
Пол: мужчины женщины	n=10 (55,6%) n=8 (44,4%)	n=12 (70,6%) n=5 (47,4%)	0,3
Длительность заболевания, лет	1,0 [0,5;2,0]	2,8 [1,0;4,6]	0,001
Возраст, лет	42,9±9,5	38,7±12,9	0,27
ФК ХСН	2,1±0,7	2,2±0,6	0,7
КДО ЛЖ, мл	223±64,3	219,9±65	0,9
КСО ЛЖ, мл	144±58	145±52,6	0,6
ФВ ЛЖ, %	34,4±7,6	33,3±5,1	0,3

Сокращения: ФК ХСН — функциональный класс хронической сердечной недостаточности, КДО ЛЖ — конечно-диастолический объем левого желудочка, КСО ЛЖ — конечно-систолический объем левого желудочка, ФВ ЛЖ — фракция выброса левого желудочка.

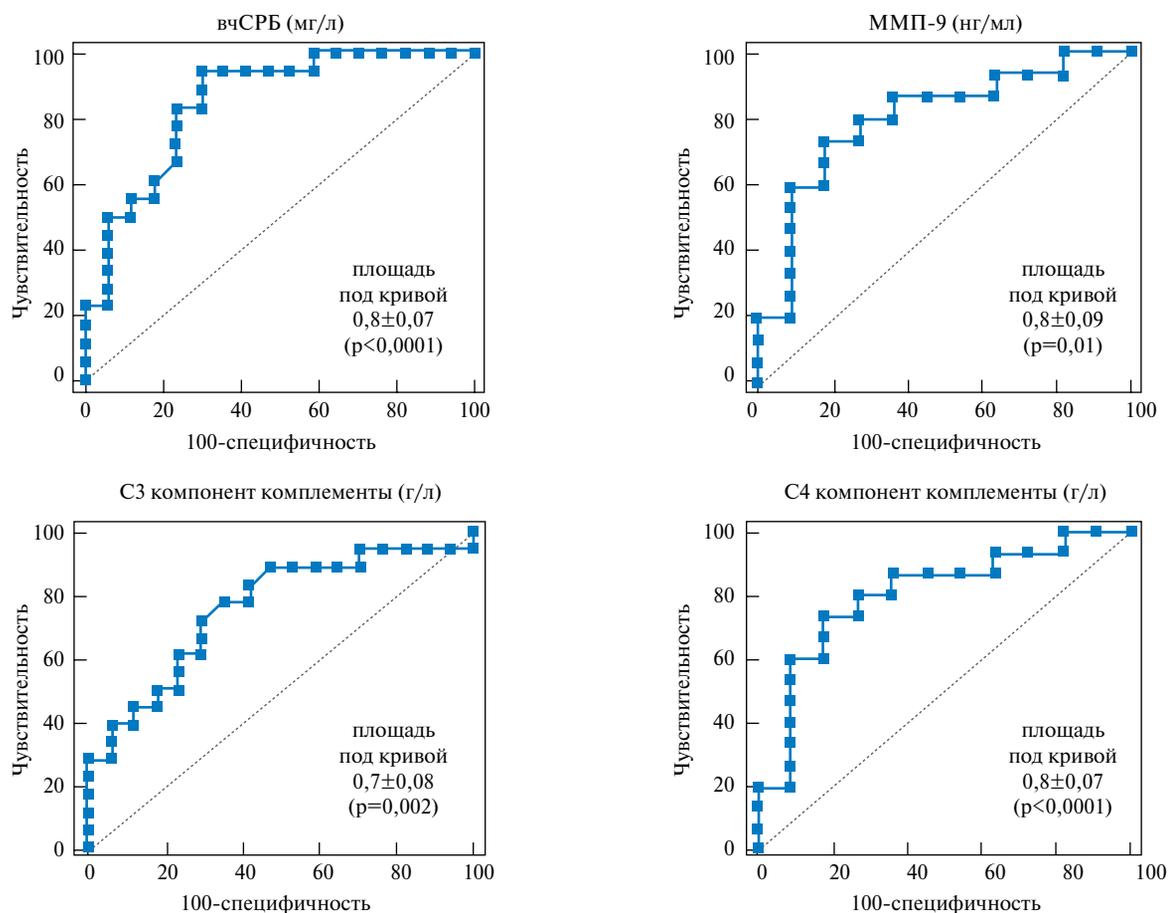


Рис. 1. ROC анализ вчСРБ, С3 компонента комплемента, С4 компонента комплемента, ММП-9.

Сокращения: ММП-9 — матриксная металлопротеиназа-9, вчСРБ — высокочувствительный С-реактивный белок.

82,35%, положительное предиктивное значение — 78,6%, отрицательное предиктивное значение — 66,7% (рис. 1).

При проведении ROC анализа значений С3 компонента комплемента площадь под кривой находилась в пределах $0,7 \pm 0,08$ ($p=0,002$), что указывало на диагностическую значимость данного биомаркера. При оптимальном уровне этого показателя $>1,2$ г/л чувствительность по отношению к активности воспалительного процесса в миокарде составила 72,2%, специфичность — 70,6%, положительное предиктивное значение — 72,2%, отрицательное предиктивное значение — 70,6%, (рис. 1).

При уровне С4 компонента комплемента $>0,256$ г/л площадь под кривой также была достаточной — $0,8 \pm 0,07$ ($p<0,0001$). Чувствительность С4 компонента комплемента по отношению к активности воспалительного процесса в миокарде была 66,7%, спе-

цифичность — 81,25%, положительное предиктивное значение — 80%, отрицательное предиктивное значение — 68,4% (рис. 1).

По данным ROC анализа значений ММП-9 площадь под кривой была достаточно велика — $0,8 \pm 0,09$ ($p=0,001$). При уровне ММП-9 >680 нг/мл определены лучшие показатели чувствительности (73,3%) и специфичности (81,8%) из всех анализируемых нами биомаркеров. Положительное предиктивное значение — 84,6%, отрицательное предиктивное значение — 69,2% (рис. 1).

При проведении ROC анализа для значений ФНО α , и ТФР β и ЭКП площадь под кривой оказалась низкой — соответственно, $0,6 \pm 0,13$, $0,56 \pm 0,1$ и $0,4 \pm 0,11$ ($p>0,05$), что свидетельствует об отсутствии диагностической значимости этих маркеров при ВКМП.

Шанс выявить признаки активного воспалительного процесса в миокарде при анализе концентраций исследуемых диагностически значимых маркеров ВКМП является наиболее высоким при определении концентрации ММП-9 >680 нг/мл и составляет 12,3 (95% ДИ 1,65-92,7) (табл. 3).

С целью увеличения специфичности нами была проанализирована возможность использования комбинаций указанных биомаркеров. Согласно полученным данным (табл. 4), у пациентов с синдромом ДКМП сочетанное применение таких биомаркеров, как вчСРБ $>1,13$ мг/л, С3 компонент комплемента $>1,2$ мг/л и С4 компонент комплемента $>0,256$ г/л

Таблица 3

Отношение шансов наличия активного воспалительного процесса в миокарде при различных значениях биомаркеров

Маркер	ОШ	p	95% ДИ
вчСРБ $>1,13$ (мг/л)	7,3	0,01	1,4-37,3
С3 компонент комплемента $>1,2$ г/л	6,24	0,02	1,3-28,6
С4 компонент комплемента $>0,256$ г/л	6,5	0,02	1,3-30,5
ММП-9 >680 нг/мл	12,3	0,01	1,65-92,7

Сокращения: ОШ — отношение шансов, ДИ — доверительный интервал, ММП-9 — матриксная металлопротеиназа-9.

Таблица 4

Чувствительность и специфичность комбинации вчСРБ, С3 и С4 компонента комплемента при диагностике ВКМП

Комбинация биомаркеров	ВКМП	нвДКМП	Всего
вчСРБ $>1,13$ мг/л С3 компонент комплемента $>1,2$ г/л С4 компонент комплемента $>0,256$ г/л	11 (истинно-положительные)	1 (ложно-положительные)	12
вчСРБ $\leq 1,13$ мг/л и/или С3 компонент комплемента $\leq 1,2$ г/л и/или С4 компонент комплемента $\leq 0,256$ г/л	7 (ложно-отрицательные)	16 (истинно-отрицательные)	23
Всего	18	17	35

Сокращения: вчСРБ — высокочувствительный С-реактивный белок, ВКМП — воспалительная кардиомиопатия, нвВКМП — невоспалительная ДКМП.

Таблица 5

Чувствительность и специфичность комбинации ММП-9, С3 и С4 компонента комплемента при диагностике ВКМП

Маркер	ВКМП	нвДКМП	Всего
ММП-9 >680 нг/мл С3 компонент комплемента $>1,2$ г/л С4 компонент комплемента $>0,256$ г/л	12 (истинно-положительные)	1 (ложно-положительные)	13
ММП-9 ≤ 680 нг/л и/или С3 компонент комплемента $\leq 1,2$ г/л и/или С4 компонент комплемента $\leq 0,256$ г/л	6 (ложно-отрицательные)	16 (истинно-отрицательные)	22
Всего	18	17	35

Сокращения: ММП-9 — матриксная металлопротеиназа 9, ВКМП — воспалительная кардиомиопатия, нвДКМП — невоспалительная ДКМП.

позволяет оптимизировать отношение чувствительность/специфичность по сравнению с однофакторным ROC анализом, доводя специфичность до 94% при чувствительности 61% в диагностике активного воспалительного процесса в миокарде. При этом положительное предиктивное значение составило 92%, а отрицательное предиктивное значение — 69%.

При дальнейшем анализе было установлено, что введение в комбинацию с С3 и С4 компонентами комплемента ММП-9 вместо vчСРБ, повышает чувствительность до 66% при сохранении высокой специфичности — 94% по отношению к наличию активности воспалительного процесса в миокарде у пациентов с ДКМП. При этом положительное предиктивное значение составляет 92%, отрицательное предиктивное значение — 72%. (табл. 5). Таким образом, выявление комбинации биомаркеров с пороговыми значениями ММП-9 >680 нг/мл, С3 компонента комплемента >1,2 г/л и С4 компонента комплемента >0,256 г/л в 92% случаев будет свидетельствовать о наличии воспаления в миокарде у больных с синдромом ДКМП при условии отсутствия острых и обострения хронических воспалительных заболеваний. При концентрации одного из биомаркеров ниже указанных пороговых значений вероятность отсутствия миокардиального воспаления составляет 72%.

Обсуждение

Наше исследование было направлено на выявление биомаркеров, их оптимальных комбинаций и отрезных значений, которые в дальнейшем могли бы использоваться в качестве инструмента неинвазивной диагностики ВКМП. С этой целью у больных с подозрением на ВКМП нами был проанализирован целый спектр показателей, которые могут отражать активность воспаления, в сопоставлении с данными ЭМБ.

Концентрации vчСРБ, превышающие принятые референсные значения, были зарегистрированы лишь у 10 (28,6%) пациентов (55% с ВКМП и 0% с нвДКМП), С3 компонента комплемента — у 0 (0%), С4 компонента комплемента — у 1 (2,8%), что может быть обусловлено хроническим характером воспалительного процесса в миокарде. Тем не менее, при сравнении подгрупп ВКМП и нвДКМП было выявлено, что концентрации vчСРБ, ММП-9, С3 компонента комплемента, С4 компонента комплемента, ТФРβ были значимо выше в группе пациентов с наличием признаков активного воспалительного процесса в миокарде.

Ранее работы Sampietro (2005), Kaneko, et al. (1999) показали, что у большинства пациентов с идиопатической ДКМП отмечается повышение концентрации СРБ. Было продемонстрировано, что повышение концентрации этого белка ассоциировано с высоким риском смерти у больных ДКМП [17, 18].

СРБ связывается с Fc рецептором, действуя как опсонин к определенным патогенам. Взаимодействие СРБ и Fc рецепторов приводит к образованию провоспалительных цитокинов, которые способны оказывать цитотоксический эффект [19]. Высокие уровни СРБ повышают экспрессию синтазы оксида азота у пациентов с ДКМП, что способствует снижению функциональной активности левого желудочка [20, 21]. Известно, что высокий уровень СРБ отмечается у пациентов с острым миокардитом [22]. Однако в литературе не встречаются данные относительно уровня СРБ, который позволил бы предположить у пациента с синдромом ДКМП наличие воспалительного процесса в миокарде. В наше исследование были включены пациенты с ДКМП, у которых наблюдалась связь между развитием заболевания и перенесенной вирусной инфекцией, причем длительность заболевания составила не менее 6 месяцев. Эти критерии включения позволили нам предполагать наличие хронического воспалительного процесса в миокарде у этих больных. Необходимо отметить, что при выборе оптимальных уровней диагностически значимых биомаркеров основной задачей для нас явилась необходимость с большой уверенностью доказать наличие ВКМП и минимизировать количество ложноположительных результатов, в связи с чем в качестве приоритетного показателя была выбрана специфичность, а не чувствительность методики.

Согласно данным проведенного ROC анализа, vчСРБ является диагностически значимым биомаркером ВКМП (рис. 1). При уровне vчСРБ >1,13 мг/л чувствительность по отношению к активности воспалительного процесса в миокарде составила 61,1%, специфичность — 82,35%, а отношение шансов наличия ВКМП при vчСРБ >1,13 мг/мл — 7,3.

Концентрации С3 и С4 компонента комплемента в нашем исследовании также были достоверно выше у пациентов с ВКМП. Значимый эффект системы комплемента в развитии аутоиммунного миокардита осуществляется за счет рецепторов CR1 и CR2, находящихся на внешней мембране CD44+CD62L+ субпопуляций Т клеток, которые способствуют пролиферации аутореактивных к миокарду Т клеток и продукции соответствующих цитокинов [12, 23]. Компоненты системы комплемента способны блокировать внеклеточную фазу жизненного цикла вируса [17]. Их концентрация в плазме крови определяется как скоростью их синтеза, так и катаболизмом. При этом процесс синтеза может превалировать над потреблением комплемента, отражая развитие острофазового ответа, а уровень этих компонентов остается в пределах нормальных значений [24]. При проведении ROC анализа нами была доказана диагностическая значимость С3 и С4 компонентов комплемента при ВКМП (рис. 1). При уровне С3

компонента комплемента $>1,2$ г/л чувствительность по отношению к ВКМП составила 72,2%, а специфичность — 70,6%. Такими же высокими эти параметры были и для С4 компонента комплемента: при уровне маркера $>0,256$ г/л чувствительность составила 66,7%, а специфичность 81,25%.

Соответственно, возник вопрос, что может дать сочетанное определение значений СРБ, С3 и С4 у больных для диагностики ВКМП по сравнению с определением отдельно взятых маркеров. Нам удалось показать, что при наличии у больного значений этих 3-х маркеров выше отрезных (вчСРБ $>1,13$ мг/л, С3 компонента комплемента $>1,2$ г/л и С4 компонента комплемента $>0,256$ г/л) специфичность по отношению к наличию у пациента ВКМП достигает 94% при чувствительности 61%, положительном предиктивном значении 92%, и отрицательном — 69% (табл. 4).

У больных ВКМП наряду с воспалением в миокарде происходит прогрессирующее развитие процессов ремоделирования сердца, активное участие в котором принимают матриксные металлопротеиназы (ММП). Более того, ММП участвуют и в развитии воспалительных реакций. Долгое время считалось, что роль ММП ограничивается лишь разрушением структурных компонентов внеклеточного матрикса. Последние исследования доказывают, что это не единственная их функция: они участвуют в миграции клеток и способны расщеплять ряд биологически активных веществ, таких как цитокины, хемокины, факторы роста. Было показано, что ММП способствуют распаду интерлейкина- 1β и интерферона γ , при этом активируя ФНО α [25].

При ДКМП отмечается повышение активности матриксных металлопротеиназ-2 и 9, которые относятся к группе желатиназ и расщепляют желатин, а также коллаген IV типа базальной мембраны [26]. Установлено, что концентрация ММП-9 значимо выше у пациентов с кардиомиопатией, развившейся вследствие болезни Шагаса, так же, как и при воспалительном поражении суставов, что может указывать на ее провоспалительные свойства [27]. Интересен тот факт, что между уровнем ММП-9 и частотой отторжения аллотрансплантата сердца существует непосредственная связь. При этом, показатели

ММП-9 были напрямую связаны и с экспрессией ФНО α , ИЛ-6, ТФР β , а также с количеством CD3+ и CD68+ в миокарде [28]. Таким образом, нельзя исключить, что наряду с ремоделирующим эффектом, ММП-9 обладает провоспалительными свойствами.

В ходе проведения ROC анализа нами было установлено, что ММП-9 является диагностически значимым маркером ВКМП (рис. 1). При оптимальном уровне ММП-9 >680 нг/мл, чувствительность составила 73,3%, специфичность 81,8%. Учитывая, что отношение шансов выявления ВКМП при уровне ММП-9 >680 нг/мл является наивысшим из всех определенных в нашей работе диагностически значимых биомаркеров и составляет 12,3, мы ввели этот показатель в комбинацию с С3 и С4 компонента комплемента (табл. 5). Это позволило нам достичь оптимального соотношения чувствительность/специфичность среди всех проанализированных маркеров и их комбинаций в нашем исследовании: чувствительность — 66%, специфичность — 94%, положительное предиктивное значение — 92%, отрицательное предиктивное значение — 72% (табл. 5).

Заключение

В результате исследования определен ряд диагностически значимых биомаркеров при ВКМП. Ими явились: вчСРБ, С3 и С4 компоненты комплемента и ММП-9. Совместное использование вчСРБ, С3 и С4 компонентов комплемента приводит к улучшению соотношения их чувствительности и специфичности при постановке диагноза ВКМП и позволяет с большой долей вероятности (92%) говорить о наличии заболевания при концентрациях, превышающих определенные пороговые значения. Введение ММП-9 вместо вчСРБ в комбинацию с С3 и С4 компонентами комплемента сопровождается повышением чувствительности при сохранении высокой специфичности.

Таким образом, на основании результатов нашей работы можно рекомендовать применение обеих комбинаций биомаркеров для диагностики ВКМП, однако предпочтение следует отдать сочетанию С3 и С4 компонентов комплемента с ММП-9 как имеющего более высокую чувствительность.

Литература

- Cleland JG, Swedberg K, Follath F, et al. The EuroHeart Failure survey programme — a survey on the quality of care among patients with heart failure in Europe. *Eur Heart J* 2003; 24: 442-63. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0195-668X\(02\)00700-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0195-668X(02)00700-5)
- Tereschenko SN, Alaeva EN, Narusov OYu, et al. Prevalence and diagnosis of dilated cardiomyopathy according to Russian register. *Kardiologiya* 2012, 7: 67-72. Russian (Терещенко С.Н., Алаева Е.Н., Нарусов О.Ю. и др. Распространенность и диагностика дилатационной кардиомиопатии по данным Российского регистра. *Кардиология* 2012, 7: 67-72).
- Kaye M. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Ninth Official Report. *J Heart Lung Transplant* 1992; 11: 599-606.
- Caforio AL, Pankuweit S, Arbustini E, et al. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J* 2013; 34: 2636-48. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehd210>
- Mason JW, O'Connell JB, Herskowitz A, et al. A clinical trial of immunosuppressive therapy for myocarditis: The Myocarditis Treatment Trial Investigators. *N Engl J Med* 1995; 333: 269-75. DOI: 10.1056/NEJM199508033330501
- Felker GM, Hu W, Hare JW, et al. The spectrum of dilated cardiomyopathy. The Johns Hopkins experience in 1278 patients. *Medicine* 1999; 78: 270-83.
- Towbin JA, Lowe AM, Colan SD, et al. Incidence, causes, and outcomes of dilated cardiomyopathy in children. *JAMA* 2006; 296: 1867-76. DOI: 10.1001/jama.296.15.1867
- Richardson P, McKenna W, Bristow M, et al. Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and

- Classification of cardiomyopathies. *Circulation* 1996; 93: 841-2. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.93.5.841>
9. Maisch B, Beltman, Factor S, et al. World Heart Federation consensus conferences' definition of inflammatory cardiomyopathy (myocarditis): report from two expert committees on histology and viral cardiomyopathy. *Heartbeat* 1999; 4: 3-4.
 10. Caforio AL, Calabrese F, Angelini A, et al. A prospective study of biopsy-proven myocarditis: Prognostic relevance of clinical and aetiopathogenetic features at diagnosis. *Eur Heart J* 2007; 28: 1326-33. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehm076>
 11. Schultheiss HP, Kuhl U, Cooper LT. The management of myocarditis. *Eur Heart J* 2011; 32: 2616-25. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehr165>
 12. Paleev NP, Paleev FN. Immunopathology of myocarditis. *Kreativnaia Kardiologiya* 2007; 1-2: 46-55. Russian. (Палеев Н.П., Палеев Ф.Н. Иммунопатология миокардитов. Креативная кардиология. 2007; 1-2: 46-55).
 13. Satoh M, Nakamura M, Akatsu T, et al. C-reactive protein co-expresses with tumor necrosis factor-alpha in the myocardium in human dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail* 2005; 7: 748-54. DOI: 10.1016/j.ejheart.2004.10.018
 14. Ishikawa C, Tsutamoto T, Fujii M, et al. Prediction of mortality by high-sensitivity C-reactive protein and brain natriuretic peptide in patients with dilated cardiomyopathy. *Circ J* 2006; 70: 857-63. DOI: <http://doi.org/10.1253/circj.70.857>
 15. Maisch B, Pankuweit S. Standard and etiology-directed evidence-based therapies in myocarditis: state of the art and future perspectives. Springer Science+Business Media New York 2012.
 16. Rubis P. The diagnostic work up of genetic and inflammatory dilated cardiomyopathy. *E-journal of Cardiology Practice*. <http://www.escardio.org/Journals/E-Journal-of-Cardiology-Practice/Volume-13/The-diagnostic-work-up-of-genetic-and-inflammatory-dilated-cardiomyopathy> (07 Apr 2015).
 17. Sampietro TD, Neglia A, Bionda B, et al. Inflammatory markers and serum lipids in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am. J. Cardiol.* 96; 2005; pp.1718-1720. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjcard.2005.07.093>
 18. Kaneko K, Kanda T, Yamauchi Y, et al. C-reactive protein in dilated cardiomyopathy. *Cardiology* 1999; 91: 215-9. DOI: 10.1159/000006913
 19. Du Clos TW. Function of C-reactive protein. *Ann Med*, 2000, May; 32(4): 274-8.
 20. Webb DJ, Muirhead GJ, Wulff M, et al. Sildenafil citrate potentiates the hypotensive effects of nitric oxide donor drugs in male patients with stable angina. *J Am Coll Cardiol*, 2000; 36: 25-31. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097\(00\)00705-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097(00)00705-1)
 21. Fung HL, Chong S, et al. Mechanisms for the pharmacologic interaction of organic nitrates with thiols: existence of an extracellular pathway for the reversal of nitrate vascular tolerance by N-acetylcysteine. 1988; *J Pharmacol Exp Ther* 245: 524-30.
 22. Guo JG. Detection of cardiac troponin and high-sensitivity C reactive protein in children with viral myocarditis. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2008 Jun; 28(6): 1076-7.
 23. Kaya Z, Afanasyeva M, Wang Y, et al. Contribution of the innate immune system to autoimmune myocarditis: a role for complement. *Nat Immunol* 2001; 2(8): 739-45. doi:10.1038/90686
 24. Nasonov EL, Samsonov MYu, Aleksandrova LZ, et al. Activation of the complement system in dilated cardiomyopathy. *Ter Arkh* 1989; 61: 4: 59-63. Russian (Е.Л. Насонов, М.Ю. Самсонов, Л.З. Александрова и др. Активация системы комплемента при дилатационной кардиомиопатии. Тер. архив 1989; 61: 4: 59-63).
 25. Westermann D, Sawatis K, Schultheiss H-P, et al. Immunomodulation and matrix metalloproteinases in viral myocarditis. *Journal of molecular and cellular cardiology* March 2010; 48, 3: 468-73. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.08.019>
 26. Spinale FG, Coker ML, Heung LJ, et al. A matrix metalloproteinase induction/activation system exists in the human left ventricular myocardium and is upregulated in heart failure. *Circulation* 2000, 102 (16): 1944-9. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.102.16.1944>
 27. Fares RC, Gomes Jde A, Garzoni LR, et al. Matrix Metalloproteinases 2 and 9 Are Differentially Expressed in Patients with Indeterminate and Cardiac Clinical Forms of Chagas Disease. *Infect Immun*. Oct 2013; 81(10): 3600-8. doi: 10.1128/IAI.00153-13
 28. Vanhoutte D, van Almen GC, van Aelst LN, et al. Matricellular proteins and matrix metalloproteinases mark the inflammatory and fibrotic response in human cardiac allograft rejection. *Eur heart J*. 2013 Jul; 34(25): 1930-41. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehs375>

X ЮБИЛЕЙНАЯ МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ КАРДИОЛОГИЯ 2017 15-16 июня 2017 года, город Москва

Основные научно-практические направления

- Актуальные вопросы первичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, включая эпидемиологические аспекты
 - Ведение пациентов высокого и очень высокого сердечно-сосудистого риска
 - Артериальная гипертензия: новые подходы
 - Пути повышения эффективности гиполипидемической терапии
 - Проблема приверженности кардиологических пациентов к приему препаратов
 - Ожирение и сахарный диабет
 - Эффективные подходы к предотвращению мозговых инсультов
 - Вторичная профилактика ИБС и цереброваскулярной патологии
 - Лечить пациента, а не болезнь: вопросы коморбидности заболеваний
 - Профилактика и сохранение здоровья детей и подростков
 - Актуальные вопросы борьбы с курением и другими зависимостями
 - Психическая дезадаптация, тревожные и депрессивные состояния в терапевтической практике
 - Реабилитация больных кардиологического и терапевтического профиля

- Роль центров здоровья, отделений/кабинетов медицинской профилактики и их взаимодействия с терапевтической службой в оказании помощи лицам высокого риска и больным с сердечно-сосудистыми заболеваниями
 - Спортивная медицина: новые подходы и технологии
 - Социальные аспекты сердечно-сосудистых заболеваний
 - Сердечно-сосудистые заболевания и здоровье женщин
 - Сердечно-сосудистая система и проблемы старения

Научная программа Конференции включает пленарные заседания, научные симпозиумы, сателлитные симпозиумы, телеконференции, мастер-классы и стендовые доклады. Конференция будет проходить одновременно в нескольких залах.

Адрес Оргкомитета: ФГБУ ГНИЦ профилактической медицины Минздрава России; 101000, г. Москва, Петроверигский пер., 10; каб. 247. Тел./факс +7 (499) 553-69-32; e-mail: cardioprevent@gnicpm.ru. Ответственный секретарь Конференции — Аушева Аза Камбулатовна; тел.: +7 499 553 68 71; ausheva@gnicpm.ru.