

УДК 616.1

## ВЛИЯНИЕ ИММУННОГО ВОСПАЛЕНИЯ НА ПРОГРЕССИРОВАНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ИШЕМИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА

Ярлова Е. С., Кастанаян А. А., Иванов И. В.

*ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России» (344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29), aad@aanet.ru*

Статья посвящена изучению влияния изменений цитокинового статуса, иммунорегуляции апоптоза и фиброза на прогрессирование хронической сердечной недостаточности (ХСН) ишемического генеза. В клиническое исследование было включено 78 пациентов с диагнозом ишемическая болезнь сердца и ХСН II–IV ФК. У больных ХСН было установлено повышение концентрации в крови провоспалительных факторов – фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) и интерлейкина-6. Уровень интерлейкина-1 в крови был снижен за счет прироста концентрации его антагониста рИЛ-1 $\beta$ . Рост провоспалительных цитокинов ограничивало повышение противовоспалительного цитокина интерферона- $\gamma$ . Нарастание концентрации растворимых рецепторов 1-го типа к ФНО не сдерживало рост соответствующего провоспалительного цитокина. Повышение уровня трансформирующего фактора роста- $\beta$ 1 способствовало развитию фиброза в стенке сердца и сосудов. С повышением ФК ХСН ассоциировалось нарастание в крови концентрации ФНО- $\alpha$  и трансформирующего фактора роста- $\beta$ 1.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, ишемическая болезнь сердца, цитокины, маркеры фиброза, маркеры апоптоза.

## THE INFLUENCE OF IMMUNE INFLAMMATION IN THE PROGRESSION OF CONGESTIVE ISCHEMIC GENESIS

Yarovova E. S., Kastanayan A. A., Ivanov I. V.

*Rostov state medical university, Rostov-on-Don*

*Rostov-on-Don, Russia (344718, Rostov-on-Don, str. Nakhichevan, 29) aad@aanet.ru*

This article is devoted to studying the effects of changing cytokines status, immunoregulation of apoptosis and fibrosis in the progression of chronic heart failure (CHF) ischemic genesis. In the clinical study was included 78 patients diagnosed with coronary heart disease and CHF II-IV FC. In patients with CHF found improved concentration in blood of proinflammatory factors of tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-6. Interleukin-1 in blood was lowered from its concentration growth antagonist rIL-1 $\beta$ . Growth of proinflammatory cytokines and anti-inflammatory cytokine has limited the increase – interferon- $\gamma$ . Increasing concentrations of soluble receptors type 1 to TNF not restrained the proinflammatory cytokines. Improvement of the transforming growth factor- $\beta$ 1 has contributed to the development of fibrosis in the wall of the heart and vessels. With increased FC CHF increase in blood concentration was proinflammatory proinflammatory TNF- $\alpha$  and the transforming growth factor- $\beta$ 1.

Keywords: chronic heart failure, ischemic heart disease, cytokines, markers of fibrosis, markers of apoptosis markers.

Заболеваемость хронической сердечной недостаточностью (ХСН) в большинстве стран продолжает неуклонно увеличиваться [6]. Согласно исследованию «ЭПОХА», проведенному Обществом специалистов по сердечной недостаточности, в России насчитывается не менее 6 млн больных с ХСН, а ежегодно выявляется около 0,5 млн ее новых случаев [1]. ХСН – прогностически неблагоприятное осложнение заболеваний сердечно-сосудистой системы независимо от ее этиологии и функционального класса. Разработка новых методов профилактики и лечения ХСН представляет собой актуальную медико-социальную проблему.

ХСН – исключительно сложный клинический синдром с многокомпонентным патогенезом. В крови больных ХСН независимо от ее этиологии повышена концентрация провос-

палительных цитокинов, обладающих целым рядом негативных эффектов. Это позволило сформулировать иммуновоспалительную концепцию патогенеза ХСН [2]. На ранних стадиях ХСН кратковременная гиперпродукция провоспалительных цитокинов оказывает позитивный эффект за счет увеличения экспрессии белков теплового шока, повышения регионарного миокардиального кровотока, повышения устойчивости к ишемическим аритмиям [4]. Однако впоследствии их биологический эффект негативен – стимулируется развитие гипертрофии кардиомиоцитов и поражение их мембран, нарушается эндотелий-зависимая ди-латация артериол, усиливается апоптоз кардиомиоцитов, накапливается внеклеточный коллагеновый матрикс миокарда [5], что проявляется ремоделированием миокарда, отеком легких, анорексией и кахексией [4]. Для выявления возможной взаимосвязи между тяжестью течения ХСН и уровнем провоспалительных цитокинов и иммунологических факторов апоптоза и фиброза, а также оценки их прогностического значения необходима системная оценка взаимовлияния между ними на основе многомерного статистического анализа.

**Целью работы** явилось определить влияние изменений цитокинового статуса, иммунорегуляции апоптоза и фиброза на прогрессирование ХСН ишемического генеза.

**Материалы и методы.** В клиническое исследование было включено 78 пациентов, в том числе 65 (83,3 %) мужчин и 13 (16,7 %) женщин, с диагнозом ишемическая болезнь сердца (ИБС): постинфарктный кардиосклероз, стабильная стенокардия напряжения II–IV ФК, недостаточность кровообращения (НК) II–IV ст., II–IV ФК ХСН (по классификации NYHA (New York Heart Association)). Средний возраст больных по группе в целом составил  $60,24 \pm 9,96$  лет. Все больные ранее перенесли острый крупноочаговый инфаркт миокарда (ОИМ); повторный ОИМ наблюдался у 9 (11,5 %) больных.

Диагноз ИБС устанавливали на основании жалоб, данных анамнеза заболевания пациентов, ЭКГ в покое и при нагрузке, данных лабораторных исследований в соответствии с Рекомендациями Европейского общества кардиологов (ESC), ВНОК по диагностике и лечению стабильной стенокардии.

Постановка диагноза ХСН происходила на основе жалоб больного, данных анамнеза их заболевания, теста с 6-минутной ходьбой и инструментального обследования в соответствии с Рекомендациями экспертного комитета Европейского и Российского общества специалистов по СН.

При оценке степени тяжести ХСН по классификации NYHA II ФК выявлен у 33 (42,3 %) больных, III ФК – 30 (38,5 %), IV ФК – у 15 (19,2 %). Все больные имели признаки ХСН на протяжении последних 1,5 – 2,5 лет и поступили в стационар в связи с декомпенсацией. Длительность ХСН у включенных в исследование больных составила в среднем  $3,2 \pm 0,7$  года.

Больные со II ФК ХСН были объединены в 1 группу (n=33), а с III-IV ФК ХСН – во 2 группу (n=45). В 1 группе было 28 мужчин и 5 женщин, во 2 группе – 37 мужчин и 8 женщин.

В плазме крови больных методом иммуноферментного анализа при помощи соответствующих тест-систем (Вектор-Бест, Россия) определяли содержание про- и противовоспалительных цитокинов: интерлейкинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ИЛ-8, раИЛ-1 $\beta$ ,  $\gamma$ -интерферона ( $\gamma$ -ИФ), фактора некроза опухолей- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), маркера апоптоза – растворимые рецепторы 1-го типа к фактору некроза опухоли (sФНО-R1) (Biosource, Belgium) и маркера фиброза – трансформирующий фактор роста- $\beta$ 1 (ТФР- $\beta$ 1) (DRG Instruments, Germany).

В ходе ИФА использовались термошейкер ST3 (Латвия) и аппарат для промывания планшетов Elisa Washer Human (США), оценку полученных результатов проводили на фотометре Multilabel Counter 1420 Victor (Финляндия).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерной программы STATISTICA 7.0 (StatSoft, США).

### Результаты и их обсуждение

Содержание в крови провоспалительных цитокинов у больных клинических групп отражено в табл.1.

**Таблица 1**

#### Содержание в крови провоспалительных цитокинов у больных клинических групп

Цитокин	Группа	M $\pm$ m	Me [25,75]	p
ИЛ-1 $\beta$ , пг/мл	1-я (n=33)	0,73 $\pm$ 0,075	0,71 [0,67-0,79]	1-к p<0,05
	2-я (n=45)	1,35 $\pm$ 0,13	1,34 [1,26-0,43]	2-к p<0,05
	В целом по больным (n=78)	1,04 $\pm$ 0,09	1,02 [0,87-1,17]	б-к p<0,05
	Контрольная (n=32)	1,64 $\pm$ 0,09	1,63 [0,51-0,74]	1-2 p<0,05
ИЛ-6, пг/мл	1-я (n=33)	2,08 $\pm$ 0,22	2,1 [1,86-2,33]	1-к p>0,05
	2-я (n=45)	3,7 $\pm$ 0,49	3,5 [3,1-4,3]	2-к p<0,05
	В целом по больным (n=78)	2,79 $\pm$ 0,35	2,9 [2,5-3,7]	б-к p<0,05
	Контрольная (n=32)	1,66 $\pm$ 0,05	1,7 [1,4-2,0]	1-2 p<0,05
ИЛ-8, пг/мл	1-я (n=33)	3,58 $\pm$ 0,37	3,6 [3,1-3,9]	1-к p<0,001
	2-я (n=45)	7,44 $\pm$ 1,42	7,4 [6,8-8,9]	2-к p<0,001
	В целом по больным (n=78)	5,26 $\pm$ 0,82	5,2 [4,4-6,1]	б-к p<0,001
	Контрольная (n=32)	30,4 $\pm$ 0,73	31,0 [24,8-39,7]	1-2 p<0,05
ФНО- $\alpha$ ,	1-я (n=33)	4,48 $\pm$ 0,83	4,5 [3,4-5,1]	1-к p<0,001
	2-я (n=45)	9,06 $\pm$ 1,46	9,1 [7,9-10,5]	2-к p<0,001

пг/мл	В целом по больным (n=78)	6,52 ± 0,82	6,4 [5,7-6,9]	б-к p<0,001 1-2 p<0,001
	Контрольная (n=32)	0,57±0,02	0,6 [0,3-0,9]	

Из провоспалительных цитокинов у больных ХСН по сравнению с контрольной группой было отмечено многократное повышение содержания в крови ФНО-α, а также ИЛ-6. Содержание в крови ИЛ-1β и ИЛ-8 было сниженным в двух группах обследуемых.

В 1-й группе по сравнению с контрольной группой уровень ФНО-α был выше в 7,86 раз (p<0,001), а во 2-й группе – в 15,9 раз (p<0,001). В целом по больным по сравнению с контрольной группой уровень ФНО-α в крови возрастал в 11,4 раз (p<0,001). Повышение ИЛ-6 в крови у больных ХСН было более сдержанным: в 1-й группе – на 25,3 % (p<0,05), во 2-й группе – в 2,2 раза (p<0,05) и в целом по группе – на 68,1 % (p<0,05).

Гиперпродукция ФНО-α способствует выработке эндотелиальными клетками ИЛ-6, который является одним из наиболее активных цитокинов, участвующих в воспалительной реакции [3]. ИЛ-8 секретируется позднее других провоспалительных цитокинов, в норме его продукцию ограничивает NO [2]. Отсутствие повышения секреции ИЛ-8 у обследованных больных может быть обусловлено недостаточной длительностью активации эндотелия и/или компенсаторным повышением продукции оксида азота. Снижение ИЛ-1β у больных ХСН может быть следствием повышенной продукции его антагониста – раИЛ-1β.

Содержание в крови противовоспалительных цитокинов у больных клинических групп отражено в табл. 2.

**Таблица 2**

**Содержание в крови противовоспалительных цитокинов у больных клинических групп**

Цитокин	Группа	M±m	Me [25,75]	p
раИЛ-1β, пг/мл	1-я (n=33)	1083,37 ± 202,96	1067 [745-1225]	1-к p<0,001 2-к p<0,001 б-к p<0,001 1-2 p>0,05
	2-я (n=45)	1097,26 ± 189,83	1092 [817-1349]	
	В целом по больным (n=78)	1089,4 ± 182,49	1085 [782-1277]	
	Контрольная (n=32)	518,2±2,78	520 [413-695]	
ИФ-γ, пг/мл	1-я (n=33)	66,33 ± 9,29	64 [53-76]	1-к p<0,001 2-к p<0,001 б-к p<0,001 1-2 p>0,05
	2-я (n=45)	69,2 ± 9,25	67 [55-82]	
	В целом по больным (n=78)	67,58 ± 8,58	66 [54-79]	
	Контрольная (n=32)	2,1±0,08	2,3 [1,7-2,6]	

Как и предполагалось ранее, у больных ХСН двух групп практически в 2 раза был повышен уровень рецепторного антагониста интерлейкина-1β. Кроме того, у пациентов с ХСН

в двух группах наблюдалось многократное возрастание концентрации интерферона- $\gamma$  в крови относительно нормальных значений: в 1-й группе – в 31,6 раза ( $p < 0,001$ ), во 2-й группе – в 32,9 раза ( $p < 0,001$ ) и в целом по больным – в 32,2 раза ( $p < 0,001$ ). Таким образом, у пациентов с ХСН рост содержания в крови противовоспалительных цитокинов носил адаптивный характер, поскольку сдерживал секрецию провоспалительных цитокинов.

Растворимые рецепторы 1-го типа к фактору некроза опухоли (sФНО-R1) являются антагонистами ФНО- $\alpha$  и могут ограничить прирост этого провоспалительного фактора. Кроме того, sФНО-R1 относят к маркерам апоптоза. Содержание маркеров апоптоза и фиброза у больных ХСН представлено в табл.3.

Таблица 3

**Маркеры апоптоза и фиброза у больных клинических групп**

Цитокин	Группа	$M \pm m$	Me [25,75]	p
sФНО-R1, нг/мл	1-я (n=33)	$2,86 \pm 0,15$	2,81 [2,45-3,38]	1-к $p < 0,001$ 2-к $p < 0,001$ б-к $p < 0,001$ 1-2 $p < 0,05$
	2-я (n=45)	$3,48 \pm 0,23$	3,42 [3,11-3,73]	
	В целом по больным (n=78)	$3,14 \pm 0,13$	3,11 [2,29-3,89]	
	Контрольная (n=32)	$1,2 \pm 0,04$	1,2 [0,8-1,5]	
ТФР- $\beta$ 1, нг/мл	1-я (n=33)	$30,81 \pm 2,03$	28,5 [21,3-37,3]	1-к $p < 0,001$ 2-к $p < 0,001$ б-к $p < 0,001$ 1-2 $p < 0,05$
	2-я (n=45)	$39,85 \pm 1,46$	39,4 [28,4-48,2]	
	В целом по больным (n=78)	$37,38 \pm 1,84$	37,3 [26,7-44,8]	
	Контрольная (n=32)	$3,65 \pm 0,3$	3,62 [3,42-3,89]	

У больных ХСН по сравнению с контрольной группой уровень sФНО-R1 в 1-й группе был выше в 2,4 раза ( $p < 0,001$ ), во 2-й группе – в 2,9 раза ( $p < 0,001$ ) и в целом по группе – в 2,6 раза ( $p < 0,001$ ). Таким образом, sФНО-R1 могут в определенной мере ограничить повышение концентрации ФНО- $\alpha$  у больных ХСН. Однако, учитывая практически десятикратную гиперпродукцию ФНО- $\alpha$ , этот механизм ограничения является явно недостаточным.

К факторам, контролирующим процесс фиброза в сердечно-сосудистой системе, относят трансформирующий фактор роста- $\beta$ 1 (ТФР- $\beta$ 1). По отношению к контрольной группе повышение ТФР- $\beta$ 1 в 1-й группе происходило в 8,4 раза ( $p < 0,001$ ), во 2-й группе – в 10,9 раза ( $p < 0,001$ ) и в целом по группе – в 10,2 раза ( $p < 0,001$ ). С повышением ФК ХСН содержание маркера фиброза ТФР- $\beta$ 1 повышалось.

Повышение уровня ТФР- $\beta$ 1 как ключевого профибротического цитокина ведет к развитию процессов фиброза в стенке сердца и сосудов [5]. Выраженный фиброз миокарда и

стенок сосудов препятствует их растяжению во время кровенаполнения. С одной стороны, это затрудняет кровенаполнение ЛЖ и ведет к нарастанию диастолической недостаточности, но, с другой стороны, это на какое-то время может предохранять оставшиеся мышечные волокна миокарда от перерастяжения в период диастолы, что позволяет им функционировать с повышенной эффективностью в соответствии с законом Старлинга. Для сосудов ограничение растяжимости, особенно в артериях эластичного типа, ведет к ускорению обратного тока крови и дополнительной нагрузке на сердце.

Итак, у больных ХСН было установлено повышение концентрации в крови таких провоспалительных факторов, как ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6. У пациентов с ХСН уровень ИЛ-1 в крови был снижен за счет прироста концентрации его антагониста рИЛ-1 $\beta$ . Кроме того, рост провоспалительных цитокинов ограничивало повышение противовоспалительного цитокина интерферона- $\gamma$ . В ответ на многократное повышение уровня ФНО- $\alpha$  у обследованных больных концентрация растворимых рецепторов 1-го типа к ФНО была также повышенной, однако, это не сдерживало рост провоспалительного цитокина. ИЛ-8 у больных ХСН не повышался, что можно объяснить продолжительной латенцией его секреции при активации эндотелиальных сосудистых клеток. Наряду с указанными изменениями цитокинового профиля у больных ХСН было выявлено повышение уровня ТФР- $\beta$ 1 как ключевого цитокина, способствующего развитию фиброза в стенке сердца и сосудов. Таким образом, ХСН имеет сложный многокомпонентный патогенез, включающий, кроме прочих механизмов, иммуновоспалительную концепцию.

Среди про- и противовоспалительных цитокинов на прогрессирование ХСН значимо влияли ФНО- $\alpha$ , а также фактор роста ТФР- $\beta$ 1. У больных ХСН сила влияния гиперпродукции ФНО- $\alpha$  на риск прогрессирования ХСН была выраженной, критерий  $\chi^2$  имел высокое значение 10,6 при уровне доверительной вероятности  $p=0,001$ . Соответствующий график логит аппроксимации представлен на рис.1 и свидетельствовал о быстром возрастании риска прогрессирования ХСН при повышении содержания ФНО- $\alpha$  выше 5 пг/мл. При достижении ФНО- $\alpha$  уровня 6 пг/мл риск повышения ФК ХСН превышал 50 % и был равен 56,3 %, при достижении 8 пг/мл – уже 68,6 % и при 10 пг/мл – 78,8 %.

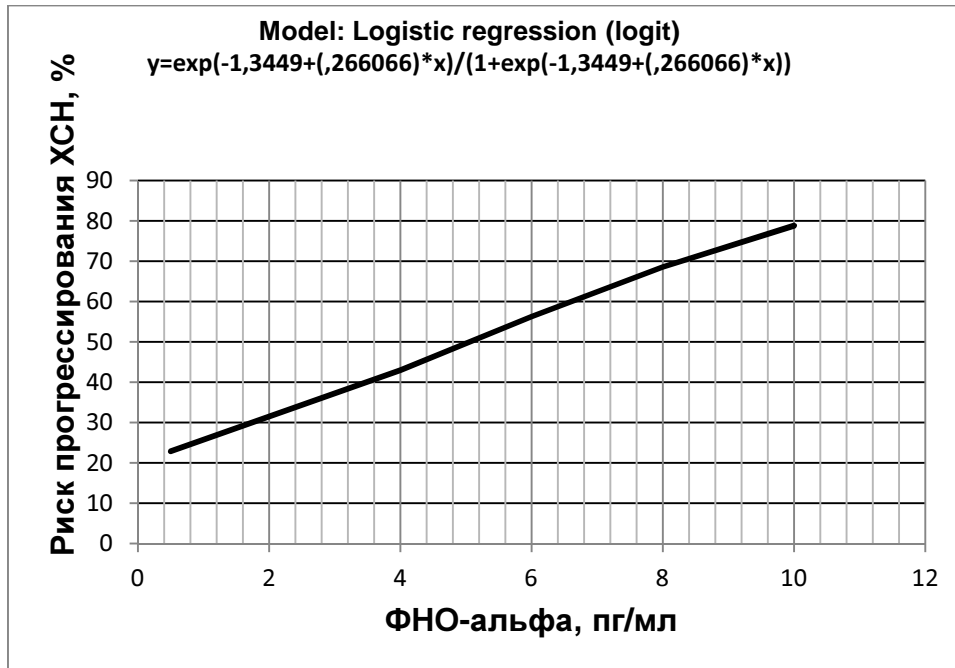


Рис.1. График логит аппроксимации зависимости риска прогрессирования ХСН от уровня в крови ФНО-α у больных ХСН ишемического генеза

Десятикратное превышение концентрации в крови фактора роста ТФР-β1 приводило к резкому возрастанию риска прогрессирования ХСН. Ассоциация между повышенным содержанием ТФР-β1 и прогрессированием ХСН была высокой, поскольку критерий Пирсона имел значение 28,5 при  $p=0,0000001$ . При колебании уровня ТФР-β1 от 30 нг/мл до 40 нг/мл риск прогрессирования ХСН повышался от 1,7 % до 94,1 %.

Таким образом, у больных ХСН ишемического генеза прогрессирование заболевания связано с активацией системы цитокинов с повышением провоспалительных и снижением противовоспалительных иммунорегуляторов. Из иммунологических факторов с повышением ФК ХСН ассоциировалось нарастание в крови концентрации ФНО-α и фактора роста ТФР-β1. Эти факторы можно назвать маркерами прогрессирования ХСН.

### Выводы

1. У больных ХСН ишемического генеза установлено повышение концентрации в крови провоспалительных факторов – ФНО-α и интерлейкина-6. Уровень интерлейкина-1 в крови снижен за счет прироста концентрации его антагониста раИЛ-1β. Повышение уровня трансформирующего фактора роста-β1 способствует развитию фиброза в стенке сердца и сосудов.
2. У больных ХСН ишемического генеза рост провоспалительных цитокинов ограничивает повышение противовоспалительного цитокина интерферона-γ. Нарастание кон-

центрации растворимых рецепторов 1-го типа к ФНО не сдерживает рост соответствующего провоспалительного цитокина.

3. С прогрессированием ХСН ассоциируется нарастание в крови концентрации ФНО- $\alpha$  и трансформирующего фактора роста- $\beta$ 1.

### Список литературы

1. Агеев Ф. Т., Даниелян М. О., Мареев В. Ю., Беленков Ю. Н. Больные с хронической сердечной недостаточностью в российской амбулаторной практике: особенности контингента, диагностики и лечения (по материалам исследования ЭПОХА-О-ХСН) // Сердечная недостаточность (журнал). – 2004. – Т.5. – №3. – С.4-7.
2. Сукманова И. А., Яхонтов Д. А., Поспелова Т. И., Кузинская О. С., Косоухов А. П. Клиническая картина, морфофункциональные параметры и функция эндотелия у пациентов с систолической ХСН разных возрастных групп // Цитокины и воспаление. – 2010. –Т.9. – №. – С.30-34.
3. Bolli R. Mechanism of Myocardial “Stunning” // Circulation. – 1990. –Vol. 82. – P.723-738.
4. Conraads V. M., Bosmans J. M., Vrints C. J. Chronic heart failure: an example of a systemic chronic inflammatory disease resulting in cachexia // Int. J. Cardiol. – 2002. – Vol. 85.– N 1. – P.33-49.
5. Francis G. S. Pathophysiology of chronic heart failure // Am. J. Med. – 2001. – Vol. 110. – Suppl 7A. – P.37-46.
6. Jessup M., Brozena S. Heart failure // N. Engl. J. Med. – 2003. – Vol.348. – P.2007-2018.

### Рецензенты:

Терентьев Владимир Петрович, доктор медицинских наук, профессор, проректор по лечебной работе ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону.

Пакус Игорь Олегович, доктор медицинских наук, профессор, Главный врач ГБУ РО «Областная больница №2», г. Ростов-на-Дону.