УДК 616.127-005.4:616.124.2:616.12-008.46

УРОВЕНЬ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ И ПЕРЕНЕСЕННЫМ В ПРОШЛОМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА, ОСЛОЖНЕННЫМИ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Мухамбетова Г.Н.[1], Полунина О.С.[1], Воронина Л.П.[1], Полунина Е.А.[1]

[1]ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, e-mail: agma@astranet.ru

Цель нашего исследования – проанализировать в сравнительном аспекте уровень маркеров апоптоза – аннексина А5 и Bcl-2 – у пациентов с ишемической кардиомиопатией (ИКМП) (n=47) и перенесенным в прошлом инфарктом миокарда (ИМ) (n=43), осложненными хронической сердечной недостаточностью (ХСН). Уровень аннексина А5 и Bcl–2 определяли методом иммуферментного анализа в плазме крови. Было установлено, что у пациентов как с перенесенным в прошлом ИМ, так и с ИКМП значение уровня изучаемых маркеров апоптоза статистически значимо отличается от значений группы контроля. При этом у пациентов с ИКМП изменение уровня изучаемых маркеров более выражено, чем у пациентов с перенесенным в прошлом ИМ. Выраженность изменений уровня аннексина А5 и Bcl-2 у пациентов с ХСН различных функциональных классов при ИКМП была больше по сравнению с пациентами с ХСН соответствующих функциональных классов при перенесенном в прошлом ИМ. Также было выявлено наличие взаимосвязей разной силы между рядом клинико-анамнестических данных и уровнем изучаемых маркеров у всех обследуемых пациентов. Полученные результаты исследования свидетельствуют о диагностической и прогностической значимости определения уровня аннексина А5 и Bcl-2 у пациентов с перенесенным в прошлом ИМ и ИКМП.

Ключевые слова: апоптоз, аннексин А5, Bcl-2, перенесенный в прошлом инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, хроническая сердечная недостаточность

THE LEVEL OF APOPTOSIS MARKERS IN PATIENTS WITH ISCHEMIC CARDIOMYOPATHY AND PREVIOUS MYOCARDIAL INFARCTION COMPLICATED BY CONGESTIVE HEART FAILURE

Mukhambetova G.N.[1], Polunina O.S.[1], Voronina L.P.[1], Polunina E.A.[1]

[1]Federal state budget educational institution of higher education «Astrakhan state medical university», Astrakhan, e-mail: agma@astranet.ru

The aim of our study was to analyze in a comparative aspect the level of apoptosis markers - annexin A5 and Bcl–2 in patients with ischemic cardiomyopathy (ICMP) (n=47) and previous myocardial infarction (MI) (n=43) complicated by chronic heart failure (CHF). Annexin A5 and Bcl–2 levels were determined by plasma enzyme immunoassay. It was found that in patients with both previous MI and ICMP, the value of the level of apoptosis markers studied was statistically significantly different from the values of the control group. In addition, in patients with ICMP, the change in the level of the studied markers is more pronounced than in patients with previous MI. The intensity of changes in the level of annexin A5 and Bcl-2 in patients with CHF of different functional classes in ICMP was higher compared with patients with CHF of the corresponding functional classes in patients with previous MI. It was also revealed the presence of relationships of different strengths between a number of clinical and anamnestic data and the level of studied markers in all patients. The results of the study indicate the diagnostic and prognostic significance of determining the level of annexin A5 and Bcl-2 in patients with previous MI and ICMP.

Keywords: apoptosis, annexin A5, Bcl-2, previous myocardial infarction, ischemic cardiomyopathy, chronic heart failure

Процесс апоптоза и регуляторные механизмы передачи сигналов апоптоза как потенциальный патогенетический фактор сердечно-сосудистых заболеваний уже много лет привлекают внимание кардиологов [1–3].

К настоящему времени доказано, что апоптоз учувствует в гибели миокардиальных

клеток и в процессах ремоделирования миокарда. Доказано, что изучение уровня маркеров апоптоза имеет прогностическое и клиническое значение у пациентов с инфарктом миокарда (ИМ), различными формами кардиомиопатий и у пациентов с острой и хронической сердечной недостаточностью (ХСН) [4–6].

При этом большинство исследований посвящены поиску возможности ингибирования апоптотической клеточной смерти и поиску чувствительного апоптотического маркера, обладающего потенциальной пользой в клинической практике. Широко изучаемыми маркерами апоптоза в настоящее время являются: аннексин А5 (или аннексин V) и Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) [7, 8].

Аннексин А5 – белок из семейства аннексинов. Благодаря способности связываться с фосфолипидами используется как маркер для обнаружения апоптотических клеток, поскольку фосфатидилсерин (фосфолипид), который обычно локализуется во внутренних листках цитоплазматических мембран, экспрессируется на поверхности клеток во время апоптоза клетки. В настоящее время биологическая функция аннексина А5 до конца не установлена [9].

Все члены семьи Bcl-2 являются важными регуляторами митохондриального пути апоптоза. Белки Bcl-2 состоят из анти- и проапоптотических членов и играют ключевую роль в регуляции апоптоза в миокарде. Bcl-2 является антиапоптотическим белком [10].

К настоящему времени представлены исследования, которые демонстрируют диагностическое и прогностическое значение изменения уровня аннексина А5 и Bcl-2 у пациентов с артериальной гипертензией (АГ), ИМ, дилятационной кардиомиопатией, ХСН [11, 12]. Исследования, посвященные изучению уровня данных маркеров апоптоза у пациентов с ишемической кардиомиопатией (ИКМП), не представлены.

Цель исследования: **п**роанализировать в сравнительном аспекте уровень маркеров апоптоза – аннексина А5 и Bcl-2 – у пациентов с ИКМП и перенесенным в прошлом ИМ, осложненными хронической сердечной недостаточностью (ХСН).

Материалы и методы исследования. Основную группу обследуемых составили 90 пациентов с хронической ишемической болезнью сердца, которые были разделены на две группы: 43 пациента с перенесенным в прошлом ИМ и 47 пациентов с ИКМП. Характеристика обследуемых пациентов представлена в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика обследуемых групп пациентов

Показатель	Пациенты с перенесенным в прошлом ИМ, n=43	Пациенты с ИКМП, n=47

возраст, *лет*	56,5 [43; 64]	59,5 [51; 63], p_1=0,061
пол, *n (%)*	33 (77) мужчины 10 (23) женщины	38 (81) мужчин χ^2=0,03; df=1; p_1=0,869 9 (19) женщины χ^2=0,15; df=1; p_1=0,701
Длительность симптомов ИБС, *лет*	5,1 [2; 14]	4,9 [2; 13], p_1=0,822
Стенокардия, *n (%)*	38 (88%)	28 (60%) χ^2=1,46; df=1; p_1=0,226
Функциональный класс стенокардии 2, *n (%)* 3, *n (%)*	 10 (23) 28 (65)	 18 (38) χ^2=1,26; df=1; p_1=0,262 10 (21) χ^2=7,26; df=1; p_1=0,007
Длительность симптомов ХСН, *лет*	1,3 [1; 4]	2,8 [1; 6], p_1=0,112
Функциональный класс ХСН *II, n (%)* *III, n (%)* IV, *n (%)*	 21 (49) 17 (39) 5 (12)	 8 (17) χ^{2*}=4,41; df=1; p_1=0,036 32 (68) χ^2=2,21; df=1; p_1=0,137 7 (15) χ^{2*}=0,01; df=1; p_1=0,928
6-минутный тест ходьбы, *м*	273 [61; 434]	169 [38; 368], p_1<0,001
Шкала оценки клинического состояния больного (ШОКС) ХСН, баллы	4,84 [1; 13]	9,19 [4; 15], p_1<0,001
Длительность АГ в анамнезе, *годы*	14,2 [2; 30]	14,1 [3; 25], p_1=0,623
Постоянная форма фибрилляций предсердий (ФП), *n (%)*	19 (44)	25 (53) χ^2=0,25; df=1; p_1=0,616

p_1 – значение уровня статистической значимости различий с группой пациентов с перенесенным в прошлом ИМ, *χ^2с попр. Йетса

Диагнозы перенесенных в прошлом ИМ, ИКМП, ХСН верифицировались согласно современным клиническим рекомендациям и соответствуют шифрам, представленным в МКБ-10. Критериями включения в исследования служили: подтвержденный документально Q-образующий ИМ в анамнезе давностью более 6 месяцев, возраст пациентов не старше 65 лет. Критериями исключения служили: ИМ в анамнезе, который явился осложнением

чрескожного коронарного вмешательства или коронарного шунтирования, наличие хронического заболевания в стадии обострения, злокачественные заболевания. Проведение исследования было одобрено локальным Этическим комитетом (от 17.09.2016 г.).

В качестве группы контроля были обследованы соматически здоровые добровольцы (n=30), сопоставимые по полу и возрасту обследуемым пациентам.

С помощью метода иммуферментного анализа в плазме крови определялся уровень анализируемых маркеров апоптоза по методикам, рекомендованным производителями реактивов Bcl-2 и аннексина А5 с помощью тест-систем фирмы «BenderMedSystems», Австрия.

Для проведения статистического анализа применялась программа STATISTICA версия 11.0. Значение полученных данных представлено в виде медианы (Me) и процентилей [5;95]. Проверка статистических гипотез проводилась с использованием U-критерий Манна–Уитни. Оценка корреляционных связей проводилась с применением коэффициента корреляции Спирмена (r). Для проведения частотного анализа использовали критерий χ^2 Пирсона. Уровень статистической значимости (p, Mann–Whitney test) составил менее 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение. Было установлено, что значение уровня аннексина А5 было статистически значимо выше (p<0,001), чем у лиц контрольной группы, как в группе пациентов с перенесенным в прошлом ИМ, так и в группе пациентов с ИКМП (рис. 1).

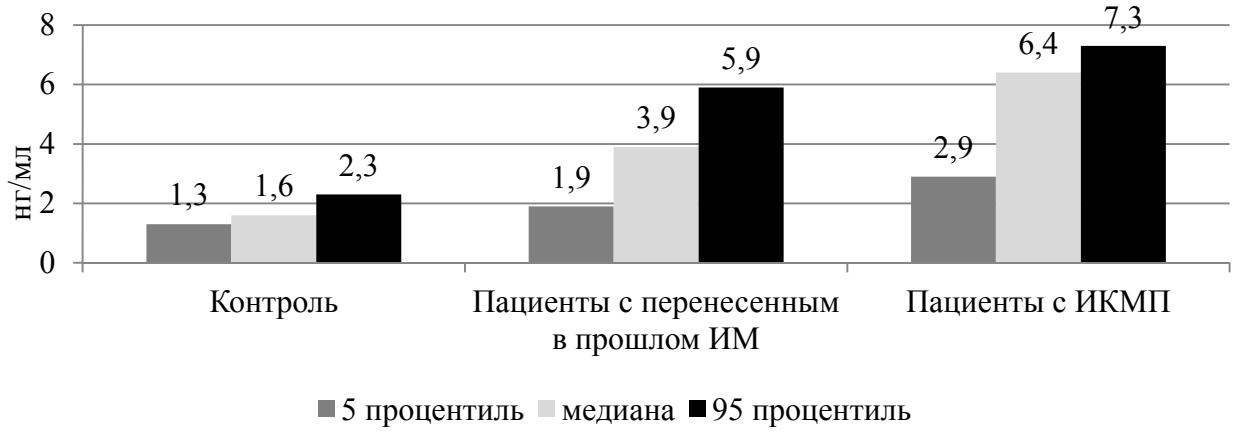

Рис. 1. Значение уровня аннексина А5 у обследуемых

В группе пациентов с ИКМП значение уровня аннексина А5 было статистически значимо выше (p=0,001), чем в группе пациентов с перенесенным в прошлом ИМ. Медиана уровня аннексина А5 у пациентов с перенесенным в прошлом ИМ была в 2,4 раза выше, чем в группе контроля, а у пациентов с ИКМП в 4 раза превышала значения медианы в группе контроля.

Значение уровня Bcl-2 было статистически значимо ниже (p<0,001) в группе пациентов с перенесенным в прошлом ИМ и в группе пациентов с ИКМП по сравнению с группой контроля (рис. 2).

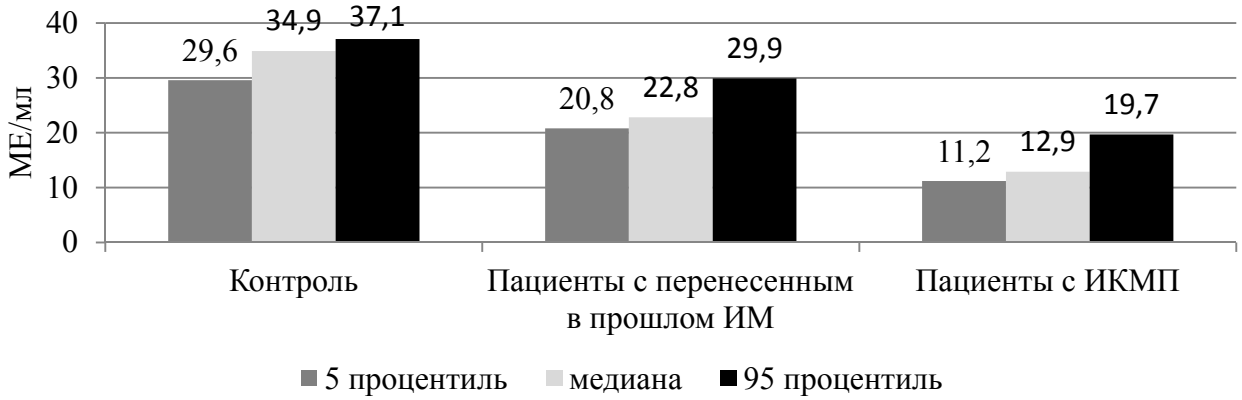

Рис. 2. Значение уровня Bcl-2 у обследуемых

В группе пациентов с ИКМП значение уровня Bcl-2 было статистически значимо ниже (p<0,001), чем у пациентов с перенесенным в прошлом ИМ. Медиана уровня Bcl-2 у пациентов с перенесенным в прошлом ИМ была в 1,5 раза ниже, чем в группе контроля, а у пациентов с ИКМ – в 2,7 раза ниже значения медианы в группе контроля.

Так как симптомы ХСН являются одними из основных клинических проявлений при ХИБС, особый интерес вызывает выявление взаимосвязи выраженности ХСН и уровня маркеров апоптоза. По результатам анализа изменения значения уровня аннексина А5 и Bcl-2 в зависимости от функционального класса ХСН было установлено, что как у пациентов с перенесенным в прошлом ИМ, так и у пациентов с ИКМП уровень аннексина А5 был статистически значимо выше, а уровень Bcl-2 статистически значимо ниже у всех обследуемых пациентов со II, III, IV функциональным классом ХСН по сравнению с группой контроля. При этом, как видно из данных, представленных в таблице 2, среди пациентов с перенесенными в прошлом ИМ и ИКМП уровень аннексина А5 был статистически значимо выше, а уровень Bcl-2 статистически значимо ниже у пациентов с более высоким функциональным классом ХСН (табл. 2).

Таблица 2

Уровень аннексина А5 и Bcl-2в исследуемых группах пациентов в зависимости от функционального класса ХСН

Функциональный класс ХСН	II	III	IV
Аннексина А5, нг/мл			
Пациенты с перенесенным в прошлом ИМ	2,6 [1,9; 4,42]	4,6 [2,74; 5,3] p_1=0,02	5,5 [4,9; 5,92] p_1<0,001;p_3<0,001

Пациенты с ИКМП	3,9 [2,9; 5,9] p_3=0,002	5,7 [3,38; 6,4] p_1=0,03;p_3=0,011	6,8 [4,4; 7,34] p_1<0,001;p_2=0,02; p_3=0,029
Bcl-2, Ме/мл			
Пациенты с перенесенным в прошлом ИМ	25,1 [23,7; 29,9]	23,6 [21,4; 25,3] p_1=0,042	21,6 [20,8; 24,7] p_1=0,002; p_2=0,041
Пациенты с ИКМП	17,6 [15,4; 19,7] p_3<0,001	14,7 [12,8; 16,9] p_1=0,004; p_3<0,001	12,9 [11,2; 15,1] p_1<0,001; p_2=0,045; p_3<0,001

При этом уровень аннексина А5 в группе пациентов с ИКМП со II, III, IV функциональным классом ХСН был статистически значимо выше, а уровень Bcl-2 – статистически значимо ниже по сравнению с группой пациентов с перенесенным в прошлом ИМ с соответствующим функциональным классом ХСН.

Также мы предприняли попытку оценить при помощи корреляционного анализа наличие взаимосвязей между уровнем изучаемых маркеров апоптоза и некоторыми клинико-функциональными показателями в исследуемых группах пациентов с перенесенными в прошлом ИМ и ИКМП. Как видно из данных, представленных в таблице 3, статистически значимые положительные корреляционные связи очень слабой силы были выявлены между уровнем аннексина А5 и длительностью АГ. Взаимосвязи между уровнем аннексина А5 и длительностью ИБС, функциональным классом стенокардиии ХСН, результатами теста 6-минутный ходьбы, значением ШОКС, а также наличием постоянной формы ФП были статистически значимы, положительные, средней силы.

Таблица 3

Корреляционные связи между уровнем аннексина А5 и клинико-анамнестическими данными у пациентов с перенесенными в прошлом ИМ и ИКМП

Показатель	Пациенты с перенесенным в прошлом ИМ, n=43	Пациенты с ИКМП, n=47
Длительность ИБС, годы	r=0,3; p=0,021	r=0,6; p=0,001
Функциональный класс стенокардии	r=0,64; p<0,001	r=0,5; p<0,001
Функциональный класс ХСН	r=0,6; p<0,001	r=0,8;p<0,001
6-минутный тест ходьбы, м	r=0,6; p<0,001	r=0,8; p<0,001
ШОКС, баллы	r=0,63; p<0,001	r=0,8; p<0,001

Длительность АГ в анамнезе, годы	r=0,22; p=0,041	r=0,24; p=0,025
Наличие постоянной формы ФП	r=0,64;p<0,001	r=0,77; p<0,001

По результатам корреляционного анализа между уровнем Bcl-2 и длительностью АГ корреляционные связи были статистически не значимы. Между уровнем Bcl-2 и длительностью ИБС, функциональным классом стенокардии и ХСН, результатами теста 6-минутный ходьбы, значением ШОКС, а также наличием постоянной формы ФП выявленные взаимосвязи были статистически значимы, отрицательные, средней силы (табл. 4).

Таблица 4

Корреляционные связи между уровнем Bcl-2 и клинико-анамнестическими данными у пациентов с перенесенными в прошлом ИМ и ИКМП

Показатель	Пациенты с перенесенным в прошлом ИМ, n=43	Пациенты с ИКМП, n=47
Длительность ИБС, годы	r=–0,3; p=0,021	r=–0,54; p=0,01
Функциональный класс стенокардии	r=–0,4; p=0,02	r=–0,64; p=0,003
Функциональный класс ХСН	r=–0,5; p=0,001	r=–0,69; p<0,01
6-минутный тест ходьбы, м	r=–0,5; p=0,001	r=–0,6; p<0,001
ШОКС, баллы	r=–0,5; p=0,001	r=–0,72; p<0,001
Длительность АГ в анамнезе, годы	r=–0,14; p=0,256	r=–0,15; p=0,217
Наличие постоянной формы ФП	r=–0,58; p<0,001	r=–0,7;p<0,03

Заключение. У пациентов как с перенесенным в прошлом ИМ, так и с ИКМП значение уровня аннексина А5 и Bcl-2 статистически значимо отличается от значений группы контроля. При этом у пациентов с ИКМП изменение уровня изучаемых маркеров более выражено, чем у пациентов с перенесенным в прошлом ИМ. Выраженность изменений уровня аннексина А5 и Bcl-2 у пациентов с ХСН различных функциональных классов при ИКМП была больше по сравнению с пациентами с ХСН соответствующих функциональных классов при перенесенном в прошлом ИМ. Также было выявлено наличие взаимосвязей разной силы между рядом клинико-анамнестических данных и уровнем изучаемых маркеров у всех обследуемых пациентов.

Полученные результаты исследования свидетельствуют о диагностической и прогностической значимости определения уровня аннексина А5 и Bcl-2 у пациентов с перенесенными в прошлом ИМ и ИКМП.

Список литературы

1. Лунев Д.А., Заклякова Л.В., Овсянникова Е.Г., Сарсенгалиева А.К. Роль Апоптоза в поддержании гомеостаза живых систем // Астраханский медицинский журнал. 2010. Т. 5. № 1. С. 11-20.
2. Teringova E., Tousek P. Apoptosis in ischemic heart disease. J. Transl. Med. 2017. vol. 15. no 1. P. 87. DOI: 10.1186/s12967-017-1191-y.
3. Wang Y., Liu X., Zhang D., Chen J., Liu S., Berk M. The effects of apoptosis vulnerability markers on the myocardium in depression after myocardial infarction. BMC Med. 2013. vol. 11. P. 32. DOI: 10.1186/1741-7015-11-32.
4. Березикова Е.Н., Пустоветова М.Г., Шилов С.Н., Ефремов А.В., Сафронов И.Д., Самсонова Е.Н., Тепляков А.Т., Тулеутаева Р.Е., Торим Ю.Ю. Влияние апоптоза на течение хронической сердечной недостаточности // Патология кровообращения и кардиохирургия. 2012. Т. 16. № 4. С. 55-58.
5. Тепляков А.Т., Гракова Е.В., Березикова Е.Н., Шилов С.Н., Копьева К.В., Калюжин В.В. Ранние маркеры прогрессирования сердечной недостаточности и апоптоза: роль в прогнозировании риска развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у больных, перенесших инфаркт миокарда // Бюллетень сибирской медицины. 2016. Т. 15. № 1 С. 38-47. DOI:10.20538/1682-0363-2016-1-37–46.
6. de Jong R.C.M., Pluijmert N.J., de Vries M.R., Pettersson K., AtsmaD.E., Jukema J.W., Quax P.H.A. Annexin A5 reduces infarct size and improves cardiac function aftermyocardial ischemia-reperfusion injury by suppression of the cardiacinflammatory response. Sci. Rep. 2018. vol. 8. no 1. P. 6753. DOI: 10.1038/s41598-018-25143-y.
7. Liu W., Ru L., Su C., Qi S., Qi X. Serum Levels of Inflammatory Cytokines and Expression of BCL2 and BAX mRNA in Peripheral Blood Mononuclear Cells and in Patients with Chronic Heart Failure. Med. Sci. Monit. 2019. vol. 25. P. 2633-2639. DOI: 10.12659/MSM.912457.
8. Васина Л.В. Аннексин А5 и антитела к аннексину А5 при остром коронарном синдроме с подъемом и без подъема сегмента ST // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2009. Т. 8. № 2 (30). С. 22-25.
9. Opferman J.T., Kothari A. Anti-apoptotic BCL-2 family members in development. Cell. Death Differ. 2018. vol. 25. no 1. P. 37-45. DOI: 10.1038/cdd.2017.170.
10. Wang Y., Li M., Xu L., Liu J., Wang D., Li Q., Wang L., Li P., Chen S., Liu T. Expression of Bcl-2 and microRNAs in cardiac tissues of patients with dilated cardiomyopathy. Mol. Med. Rep. 2017. vol. 15. no 1. P. 359-365. DOI: 10.3892/mmr.2016.5977.
11. Schurgers L.J., Burgmaier M., Ueland T., Schutters K., Aakhus S., Hofstra L., Gullestad L.,

Aukrust P., Hellmich M., Narula J., Reutelingsperger C.P. Circulating annexin A5 predicts mortality in patients with heart failure. J. Intern Med. 2016. vol. 279. no 1. P. 89-97. DOI: 10.1111/joim.12396.