

# ИММУНОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Н.Э.Закирова, Н.Х.Хафизов, И.М.Карамова, А.Н.Закирова, Р.Г.Оганов\*

Башкирский государственный медицинский университет Росздрава, Уфа

\*Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины Росздрава, Москва

## Иммуновоспалительные реакции при ишемической болезни сердца

Н.Э.Закирова, Н.Х.Хафизов, И.М.Карамова, А.Н.Закирова, Р.Г.Оганов\*

Башкирский государственный медицинский университет Росздрава, Уфа

\*Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины Росздрава, Москва

**Цель.** Оценить роль иммуновоспалительных реакций в развитии стенокардии у больных ишемической болезнью сердца (ИБС).

**Материал и методы.** Обследованы 83 больных ИБС, из них у 30 диагностирована стенокардия II функционального класса (ФК), у 27 – стенокардия III ФК, у 26 – стенокардия IV ФК. 25 здоровых лиц были включены в контрольную группу. Для верификации ИБС использованы велоэргометрия, суточное мониторирование ЭКГ, эхокардиография. Для характеристики иммуновоспалительных реакций иммуноферментным методом определяли уровень С-реактивного белка (С-РБ) и провоспалительных цитокинов: интерлейкин-1 $\beta$ , интерлейкин-6 (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6) и фактор некроза опухоли альфа (ФНО- $\alpha$ ). Также определяли уровень противовоспалительных цитокинов – интерлейкина-4 и интерлейкина-10 (ИЛ-4, ИЛ-10).

**Результаты.** При стенокардии II ФК установлен повышенный уровень противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10 при нормальном уровне С-РБ и провоспалительных цитокинов. Стенокардия III ФК ассоциировалась с умеренным повышением С-РБ и нормальным уровнем ИЛ-4 и ИЛ-10. Стенокардия IV ФК характеризовалась максимальным уровнем провоспалительных цитокинов и С-РБ при минимальном уровне ИЛ-4 и ИЛ-10.

**Заключение.** Выраженность иммуновоспалительных реакций у больных ИБС зависит от тяжести ФК стенокардии. Стенокардия IV ФК сопровождается повышенной экспрессией провоспалительных цитокинов при дефиците ИЛ-4 и ИЛ-10.

**Ключевые слова:** ишемическая болезнь сердца, стенокардия, иммуновоспалительные реакции, цитокины

**РФК 2007; 2:16–19**

## Immuno-inflammatory response in ischemic heart disease

N.E.Zakirova, N.Kh.Khafizova, I.M.Karamova, A.N.Zakirova, R.G.Oganov\*

Bashkir State Medical University of Roszdrav, Ufa

\*State Research centre of preventative medicine of Roszdrav, Moscow

**Aim.** To estimate the role of immuno-inflammatory response in developing of angina pectoris in patients with ischemic heart disease (IHD).

**Material and methods:** The study included 83 patients with IHD and angina pectoris of functional class (FC) II (30 patients), III (27 patients) and IV (26 patients). The control group included 25 healthy persons. Bicycle burden test, daily ECG monitoring and echocardiography were used to verify of IHD. Levels of C-reactive protein (CRP), pro-inflammatory cytokines: interleukin-1 $\beta$ , interleukin-6 (IL-1 $\beta$ , IL-6) and tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) were examined by immunoenzyme method. Levels of anti-inflammatory cytokines were also defined: interleukin-4 and interleukin-10 (IL-4, IL-10).

**Results.** Increased levels of IL-4 and IL-10 with normal CRP and pro-inflammatory cytokine levels were observed in patients with angina of FC-II. Angina of FC-III was associated with a moderate increase in CRP level and normal levels of IL-4 and IL-10. The maximal levels of CRP and pro-inflammatory cytokines as well as minimal levels of anti-inflammatory cytokines were observed in patients with FC-IV angina pectoris.

**Conclusion.** The immuno-inflammatory response depends on angina pectoris severity in patients with IHD. Severe angina pectoris is accompanied by raised expression of pro-inflammatory cytokines and deficiency of anti-inflammatory cytokines.

**Keywords:** ischemic heart disease, angina pectoris, immuno-inflammatory response, cytokines

**Rational Pharmacother. Card. 2007; 2:16–19**

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) – наиболее распространенное заболевание сердечно-сосудистой системы, сопровождающееся высоким риском сосудистых событий и смерти [1].

В последние годы существенное значение в развитии атеросклероза и возникающей на его основе ИБС придается иммуновоспалительным реакциям. К потенциальным провоспалительным факторам относятся окисленные липопротеиды низкой плотности и провоспалительные цитокины [2, 3]. Про- и противовоспалительные цитокины являются посредниками межклеточных взаимодействий и поддерживают местное воспаление в атеросклеротической бляшке, активируя клетки эндотелия и индуцируя экспрессию молекул адгезии, протромботическую активность эндотелия [4]. Реальность воспалительной теории атеросклероза подтверждается обнаружением в крови больных с сер-

дечно-сосудистыми заболеваниями, прежде всего ИБС, повышенного уровня маркеров системного воспалительного ответа, из которых наиболее изучен С-реактивный белок (С-РБ) [5]. Роль таких медиаторов воспаления, как про- и противовоспалительные цитокины, в клинических условиях у больных ИБС остается недостаточно ясной, между тем в эксперименте подтверждено их участие в становлении хронического воспаления [6].

Цель исследования – оценка роли иммуновоспалительных реакций в развитии стенокардии у больных ИБС.

## Материал и методы

В исследование включены 83 больных ИБС со стабильной стенокардией (все мужчины, средний возраст 53,3  $\pm$  4,2 лет); из них у 30 человек диагностирована сте-

нокардия II функционального класса (ФК), у 27 – стенокардия III ФК, у 26 – стенокардия IV ФК. У большинства больных стенокардией II (66,7%), III (77,8%) и IV ФК (84,6%) в анамнезе – перенесенный инфаркт миокарда.

Диагноз ИБС устанавливали на основании клинических, инструментальных, лабораторных данных. Обращали внимание на типичность ангинозного синдрома, специфичность изменений показателей ЭКГ в покое, при суточном мониторировании и при нагрузке на велоэргометре (ВЭМ); на данные эхокардиографии (ЭХОКГ).

Больные с артериальной гипертонией III степени, сложными нарушениями ритма сердца и хронической сердечной недостаточностью III-IV ФК (NYHA), тяжелыми заболеваниями печени, почек, легких, крови, эндокринных органов, требующими коррекции, в исследование не включались. Из исследования исключались также пациенты с активными воспалительными процессами, онкологическими и иммунопатологическими заболеваниями.

Базисная терапия при ИБС включала антиагреганты,  $\beta$ -адреноблокаторы, антагонисты кальция, нитраты, статины, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента. В контрольную группу вошли 25 здоровых мужчин – добровольцев (средний возраст  $49,9 \pm 6,1$  лет), у которых были выполнены ВЭМ – для исключения скрытой коронарной недостаточности, ЭхоКГ – для исключения поражений миокарда и клапанного аппарата, дуплексное сканирование сонных артерий – для исключения атеросклероза некоронарной локализации, исследование липидов крови.

Для верификации ИБС и определения толерантности к физической нагрузке проведена ВЭМ, для регистрации эпизодов ишемии миокарда осуществлялось суточное мониторирование ЭКГ. Исследование внутрисердечной гемодинамики выполнено с помощью ЭхоКГ по методике, рекомендованной Американским обществом эхокардиографистов. Для характеристики иммуновоспалительных реакций изучали содержание С-РБ, уровень провоспалительных (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6,

ФНО- $\alpha$ ) и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинов в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с помощью тест-систем ООО «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург).

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программ Microsoft Excel 7.0 и Statistica for Windows 6.0. Данные представляли в виде среднего значения и стандартной ошибки ( $M \pm m$ ). Корреляционный анализ количественных величин проводили с применением коэффициента корреляции Пирсона. Статистически значимым считали уровень  $p < 0,05$ .

## Результаты

Для определения роли иммуновоспалительных реакций в развитии ИБС изучены показатели С-РБ, про- и противовоспалительных цитокинов у больных ИБС с разными ФК стенокардии (табл. 1).

Установлено, что уровень С-РБ при стенокардии II ФК находился в пределах нормы и значимо возрастал при повышении ФК стенокардии. Показатели С-РБ у больных стенокардией III и IV ФК превышали в 1,8 и 2,6 раза данные здоровых лиц. Максимальные параметры С-РБ выявлены при стенокардии IV ФК, их значения не только значимо отличались от контроля, но и существенно превышали данные больных стенокардией II и III ФК.

Концентрация провоспалительного цитокина ИЛ-6 при стенокардии II ФК имела тенденцию к повышению, а при стенокардии III ФК была увеличена на 35,3% по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). При стенокардии IV ФК наблюдались наибольшие значения ИЛ-6, которые существенно превышали аналогичные показатели у здоровых и больных стенокардией II ФК. При корреляционном анализе, проведенном у больных стенокардией IV ФК, выявлены прямые взаимосвязи между ИЛ-6 и С-РБ ( $r = 0,48$ ;  $p < 0,01$ ).

При оценке уровня провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\beta$  у больных ИБС в зависимости от ФК стенокардии обнаружено, что при стенокардии III и IV ФК его концентрация была выше, чем у здоровых лиц (40,2 против 53,6;  $p < 0,01$ ), а при стенокардии II ФК имелась

Таблица 1. Уровни С-реактивного белка, про- и противовоспалительных цитокинов при ИБС ( $M \pm m$ )

Показатель	Контроль (n=25)	Стабильная стенокардия		
		I-II ФК (n=30)	III ФК (n=27)	IV ФК (n=26)
С-РБ, мг/л	2,2 $\pm$ 0,36	2,4 $\pm$ 0,18	4,1 $\pm$ 0,48 <sup>ab</sup>	5,8 $\pm$ 0,71 <sup>abc</sup>
ИЛ-1 $\beta$ , пг/мл	35,6 $\pm$ 4,14	37,1 $\pm$ 3,93	49,9 $\pm$ 4,02 <sup>a</sup>	54,7 $\pm$ 3,76 <sup>ab</sup>
ИЛ-6, пг/мл	42,5 $\pm$ 3,92	50,4 $\pm$ 0,45	57,5 $\pm$ 4,74 <sup>a</sup>	68,2 $\pm$ 6,81 <sup>ab</sup>
ФНО- $\alpha$ , пг/мл	21,2 $\pm$ 2,89	25,6 $\pm$ 2,11	35,3 $\pm$ 4,86 <sup>a</sup>	50,6 $\pm$ 5,25 <sup>abc</sup>
ИЛ-4, пг/мл	122,6 $\pm$ 11,90	163,3 $\pm$ 12,81 <sup>a</sup>	131,6 $\pm$ 13,22	105,7 $\pm$ 9,56 <sup>b</sup>
ИЛ-10, пг/мл	15,3 $\pm$ 0,88	20,1 $\pm$ 2,04 <sup>a</sup>	16,6 $\pm$ 0,91 <sup>b</sup>	12,1 $\pm$ 1,02 <sup>abc</sup>

Примечание: а – значимость различий с контролем; в – стенокардией II ФК; с – стенокардией III ФК (при  $p < 0,05$ )

только тенденция к возрастанию ( $p > 0,05$ ). Максимальные величины ИЛ-1 $\beta$ , превышающие не только показатели контрольной группы, но и больных стенокардией II ФК (47,4%;  $p < 0,01$ ), наблюдались при стенокардии IV ФК.

Концентрация ФНО- $\alpha$  – провоспалительного цитокина, играющего ключевую роль в процессах воспаления, при стенокардии II ФК не отличалась от контроля, но достигала максимальных значений при стенокардии III-IV ФК. Наиболее высокий уровень ФНО- $\alpha$  обнаружен при стенокардии IV ФК (более чем в 2 раза превышает аналогичные показатели в контрольной группе и у больных стенокардией II ФК).

Таким образом, у больных ИБС установлен факт повышения в крови уровня С-РБ и показателей провоспалительных цитокинов, при этом выраженность экспрессии маркеров воспаления ассоциируется с ФК стенокардии.

Известно, что ИЛ-4 и ИЛ-10 подавляют клеточный иммунный ответ и относятся к противовоспалительным цитокинам. Установлено, что уровень ИЛ-4 у больных стабильной стенокардией (общая группа) не отличался от контроля ( $128,2 \pm 10,73$  против  $122,6 \pm 11,90$ ;  $p > 0,05$ ). Не обнаружено существенных различий с величинами здоровых лиц и больных стенокардией III ФК. В то же время при стенокардии II ФК содержание ИЛ-4 было увеличено на 31,4% по сравнению с контролем ( $p < 0,01$ ).

Интересно отметить, что при стенокардии IV ФК имела тенденция к снижению концентрации ИЛ-4 по сравнению с контрольной группой. Более того, концентрация ИЛ-4 при стенокардии IV ФК была достоверно меньше (на 35,3%), чем при стенокардии II ФК.

Уровень ИЛ-10 при стенокардии II ФК был увеличен по сравнению с контролем (31,4%;  $p < 0,01$ ), а при стенокардии III ФК не отличался от контрольной группы. Тем не менее, уровень ИЛ-10 был на 22,4% меньше, чем у больных стенокардией II ФК ( $p < 0,05$ ). Самые низкие величины ИЛ-10 обнаружены при стенокардии IV ФК.

Следовательно, по мере нарастания ФК стенокардии уровни противовоспалительных цитокинов прогрессивно снижаются с достижением минимальных величин при IV ФК.

## Обсуждение

В последние годы большое значение в патогенезе атеросклероза и ИБС придается иммуновоспалительным реакциям, при этом существенная роль принадлежит активации системы цитокинов с индукцией молекул межклеточной адгезии и хемокинов, белков острой фазы воспаления [2, 7]. Наиболее изучено значение С-РБ в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Показано, что увеличение С-РБ взаимосвязано с тяжестью

атеросклероза коронарных, мозговых и периферических артерий [8], риском повторных ишемических атак у больных стенокардией. В нашем исследовании установлено, что изменение уровня С-РБ связано с ФК стенокардии и наиболее выражено при высоком IV ФК.

Известно, что синтез и секреция С-РБ регулируются провоспалительными цитокинами, в первую очередь ИЛ-6, а также ИЛ-1 и ФНО- $\alpha$  на уровне транскрипции гена С-РБ [10]. ИЛ-6 играет важную роль в системном воспалении как основной медиатор острой фазы, стимулирующий выработку белков острой фазы гепатоцитами. С помощью ИЛ-6 активируются также клетки эндотелия, моноциты и происходят прокоагулянтные реакции [10, 11]. Кроме того, он участвует в иммунорегуляции, действуя на процессы пролиферации и дифференциации В-лимфоцитов. Полученные нами результаты, указывающие на повышение уровня ИЛ-6 у больных стабильной стенокардией по мере нарастания ФК, согласуются с данными литературы, в которых установлена корреляция между показателями С-РБ, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и выраженностью атеросклероза коронарных артерий (по данным коронарографии) [13]. Кроме того, в нескольких проспективных исследованиях [8, 12] показано значение ИЛ-6 в качестве предиктора клинических проявлений атеросклеротического поражения сосудов у здоровых лиц без признаков сердечно-сосудистых заболеваний.

ИЛ-1 $\beta$  является главным медиатором, ответственным за развитие местной воспалительной реакции и острофазового ответа на уровне организма [13]. В литературе имеются сведения, что нарушение коронарного кровотока с ишемией миокарда ведет к повышению его содержания в крови [11]. Вместе с тем имеются сообщения и об отсутствии системной активации ИЛ-1 $\beta$  как при стабильной, так и нестабильной стенокардии [14].

Нами установлено, что выраженность экспрессии ИЛ-1 $\beta$  зависит от ФК стенокардии и наиболее значима при стенокардии IV ФК. Следует полагать, что ИЛ-1 $\beta$  принимает активное участие в развитии атеросклероза, что, по-видимому, обусловлено его влиянием на функцию эндотелия и систему свертывания крови, способностью индуцировать синтез провоспалительных цитокинов и экспрессию адгезивных молекул, стимулировать прокоагулянтную активность и воздействовать на метаболизм липидов [15].

ФНО- $\alpha$  – один из наиболее активных цитокинов, играет ключевую роль в процессе воспаления. Взаимодействие ФНО- $\alpha$  со специфическими рецепторами приводит к активации факторов транскрипции, которые являются регуляторами генов широкого спектра провоспалительных медиаторов: ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, простагландинов, фактора активации тромбоцитов, а также гормонов. Кроме того, ФНО- $\alpha$  принимает участие в регу-

ляции апоптоза клеток [2, 16, 17]. Нами установлено, что у больных ИБС отмечается повышение уровня ФНО- $\alpha$ , сопряженное с ФК стенокардии.

Таким образом, высокий ФК стенокардии ассоциируется с гиперэкспрессией провоспалительных цитокинов, что свидетельствует о наличии уже на этапе стабильной стенокардии персистирующего воспаления, которое, в свою очередь, повышает риск тромботических осложнений и острого коронарного синдрома.

Нами изучены активные медиаторы воспаления, характеризующиеся различной направленностью, при этом ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  относятся к провоспалительным цитокинам, а ИЛ-4 и ИЛ-10 подавляют клеточный иммунный ответ. ИЛ-10, являясь основным противовоспалительным цитокином, выступает как фактор подавления активности макрофагов, угнетает секрецию провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ФНО- $\alpha$ ), уменьшает экспрессию молекул адгезии (ICAM-1) и снижает цитотоксичность [16, 18, 19]. Имеются данные, что ИЛ-10 стимулирует фибринолиз и замедляет свертывание крови. Нами показано, что ИЛ-4 и ИЛ-10 при стенокардии II ФК были статистически значимо увеличены по сравнению с контрольной группой, а при стенокардии IV ФК существенно снижены и достигают минимальных величин.

Таким образом, стенокардия II ФК характеризуется высокими показателями противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10 при нормальных значениях ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ . По мере нарастания ФК стенокардии уровень провоспалительных цитокинов повышается, а концентрация ИЛ-4 и ИЛ-10 снижается. Наиболее значимые изменения цитокинового статуса об-

наружены при стенокардии IV ФК: гиперэкспрессия провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  при дефиците ИЛ-4 и ИЛ-10.

Равновесие, наблюдающееся при стабильном течении стенокардии II ФК, по-видимому, является следствием одного из физиологических механизмов регуляции баланса между про- и противовоспалительными цитокинами и отражает возможность подавления процессов воспаления в атероматозной бляшке за счет блокады секреции провоспалительных цитокинов при повышенной продукции ИЛ-4 и ИЛ-10.

При стенокардии IV ФК механизмы регуляции в цитокиновой сети представляются нарушенными и не срабатывают, развивается дисбаланс между про- и противовоспалительными цитокинами с гиперэкспрессией ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$ , способных оказать кардиодепрессивное действие [20, 21], усилить ишемию миокарда и, таким образом существенно изменить клиническое течение заболевания.

## Заключение

При стабильной стенокардии II ФК выявлены высокие уровни противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4 и ИЛ-10) при нормальных значениях С-РБ и провоспалительных цитокинов. Стенокардия III ФК ассоциируется с умеренным повышением параметров С-РБ и провоспалительных цитокинов на фоне контрольных значений ИЛ-4 и ИЛ-10. Стабильная стенокардия IV ФК характеризуется максимальными концентрациями провоспалительных цитокинов и С-РБ и минимальными – ИЛ-4 и ИЛ-10.

## Литература

- Оганов Р.Г., Масленникова Г.Я. Профилактика сердечно-сосудистых заболеваний – реальный путь улучшения демографической ситуации в России. Кардиология 2007;(1):4-7.
- Насонов Е.Л. Иммунологические маркеры атеросклероза. Тер арх 2002;(5):80-5.
- Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. N Engl J Med 1999;340:115-26.
- Harrison D.G. Endothelial function and oxidants stress. Clin Cardiol 1997;20(11 Suppl 2):II-11-7.
- Насонов Е.Л. Маркеры воспаления и атеросклероз: значение С-реактивного белка. Кардиология 1999;39(2):81-5.
- Hansson G.K. Cell-mediated immunity in atherosclerosis. Curr Opin Lipidol 1997;8(5):301-11.
- Bachetti J., Ferrari R. The dynamic balance between heart function and immune activation. Eur Heart J. 1998;19(5):681-2.
- Ridker P., Hennekens C., Buring J.E., Ribai N. C-reactive protein and other marker of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. N Engl J Med 2000;342:836-43.
- Steel D.M. Whitehead A.S. The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. Immunol Today 1994;15(2):81-8.
- Нагорнев В.А., Зота Е.Г. Цитокины, иммунное воспаление и атерогенез. Усп соврем биол 1996;116:320-31.
- Ребров А.П., Воскобой И.В. Роль воспалительных и инфекционных факторов в развитии атеросклероза. Тер арх 2004;76(1):78-82.
- Volpato S., Guralnik J.M., Ferrucci L. et al. Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: the women's health and aging study. Circulation 2001;103:947-53.
- Симбирцев А.С. Биология семейства интерлейкина-1 человека. Иммунология 1998;(3):9-17.
- Волков В.И., Серик С.А. Провоспалительные цитокины и растворимая молекула межклеточной адгезии при ишемической болезни сердца. Кардиология 2002;42(9):12-6.
- Hasdai D, Scheinowitz M, Leibovitz E, et al. Increased serum concentrations of interleukin-1 beta in patients with coronary artery disease. Heart 1996;76:24-8.
- Ярилин А.А. Основы иммунологии. М.: Медицина, 1999.
- Yokoyama T., Nakano M., Bednereruk J.L. et al. Tumor necrosis factor-alpha provokes a hypertrophic growth response in adult cardiac myocytes. Circulation 1997;95:1247-52.
- Mallat Z., Bernarol S., Durier M. et al. Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis. Circ Res 1999;85:e17-24.
- Pindersky Oslund L.J., Hedrick C.C., Olvera T., et al. Interleukin-10 blocks atherosclerotic events in vitro and in vivo. Atheroscler Thromb Vasc Biol 1999;19:2847-53.
- Закирова А.Н., Мухаметрахимова А.Р., Закирова Н.Э. Состояние систолической функции левого желудочка и активность провоспалительных цитокинов при остром инфаркте миокарда. Журнал Сердечная недостаточность 2005;6(4):162-5.
- Kelly K.A., Smith T.W. Cytokines and contractive function. Circulation 1997;95:778-81.