

## ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОКИНОВОЙ АКТИВНОСТИ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА

Чукаева И.И. <sup>\*1</sup>, Орлова Н.В. <sup>1</sup>, Спирякина Я.Г. <sup>1</sup>, Пухальский А.Л. <sup>2</sup>, Соловьева М.В. <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский факультет высшего последиplomного образования ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, кафедра поликлинической терапии, Москва; <sup>2</sup>Медико-генетический научный центр РАМН, Москва

### Резюме

*Острый инфаркт миокарда является тяжелым сердечно-сосудистым заболеванием. В ряде исследований выявлена зависимость течения инфаркта миокарда не только от объема поражения, но и от процессов воспаления в зоне некроза. В представленном исследовании проводится изучение динамики цитокинов  $INF-\gamma$ ,  $IL-4$ ,  $IL-6$ ,  $IL-8$ ,  $IL-10$ ,  $IL-12$ ,  $TGF-\beta$  у больных инфарктом миокарда с различным течением и исходом заболевания. Выявлено, что динамика цитокинов сходна с динамикой других иницирующих факторов воспаления. При осложненном течении инфаркта миокарда наблюдается более выраженная цитокиновая реакция и задержка нормализации показателей. У больных с летальным исходом инфаркта миокарда отмечена супрессия цитокинов  $IL-6$  и  $INF-\gamma$ . Оценка цитокиновой реакции у больных инфарктом миокарда позволяет прогнозировать течение и исход заболевания.*

**Ключевые слова:** воспаление, острый инфаркт миокарда, прогноз заболевания, динамика цитокинов.

Острый инфаркт миокарда (ОИМ) является одним из наиболее тяжелых сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Основными осложнениями ОИМ являются: сердечная недостаточность, аневризма левого желудочка, тромбоэмболический синдром, разрыв миокарда (наружный, межжелудочковой перегородки, папиллярной мышцы), перикардит, повторный ОИМ [2]. Изучение факторов, определяющих прогноз заболевания, позволяет выбрать правильную тактику ведения пациента — хирургическую или терапевтическую, темп активизации больного, характер реабилитационных мероприятий с учетом риск-показателей.

В настоящее время выделяется ряд факторов, определяющих ближайший прогноз у больных ОИМ: характер болевого синдрома, повышение тропонинов в крови, нарушения ритма сердца, пожилой возраст, дисфункция левого желудочка, ранее перенесенный ОИМ, сахарный диабет 2 типа (СД 2 типа), ранее проведенная процедура реваскуляризации миокарда и др. [1, 8]. Общеизвестен факт влияния на госпитальную летальность размера очага некроза. Исследования последних лет показали, что тяжесть клинического течения и исход ОИМ во многом определяется не только размерами зоны некроза, но и особенностями течения репаративных процессов непосредственно в области инфаркта [5]. Масивность повреждения определяет выраженность воспалительного ответа, в т.ч. количество продуцируемых цитокинов. Локально выделяемые цитокины выполняют несколько общих функций. Это формирование клеточного микроокружения, которое позволяет ограничить очаг воспаления и вызывает миграцию в очаг воспаления из кровеносных сосудов нейтрофилов, моноцитов,

лимфоидных клеток. Баланс цитокинов в очаге воспаления определяется количеством цитокинов воспаления и синтезируемых противовоспалительных цитокинов ( $IL-4$ ,  $IL-13$ ,  $TNF-\alpha$ ), а также иммуносупрессорных цитокинов ( $IL-10$ ,  $TGF-\beta$ ). Нарушение регуляции синтеза и соотношения реактантов воспаления может обуславливать течение и прогноз заболеваний [7].

Целью нашего исследования явилось изучение динамики воспалительных и противовоспалительных цитокинов у больных острым инфарктом миокарда.

### Материал и методы

Нами были обследованы 124 пациента с Q-образующим ОИМ. Обследованные пациенты находились на лечении в отделении кардиореанимации и кардиологическом отделении 13 ГКБ г. Москвы. В исследование включены 60 мужчин и 44 женщины, средний возраст пациентов составил  $63,1 \pm 12,05$  года. Диагноз ОИМ устанавливали на основании критериев, рекомендованных ВОЗ, включающих клинические данные, повышение кардиоспецифических ферментов — тропонина и МВ КФК, изменения ЭКГ с соответствующей динамикой и данных ЭхоКГ. В исследование не включались пациенты с острыми воспалительными, онкологическими и аутоиммунными заболеваниями.

У больных ОИМ имели место следующие осложнения: отек легких, аневризма сердца, рецидив ИМ, эпистенокардитический перикардит, коллапс, рецидивирующие стенокардитические боли, клиническая смерть. У больных с инфарктом миокарда, осложнившимся нарушениями ритма и проводимости, наблюдались частая желудочковая экстрасистолия, частая

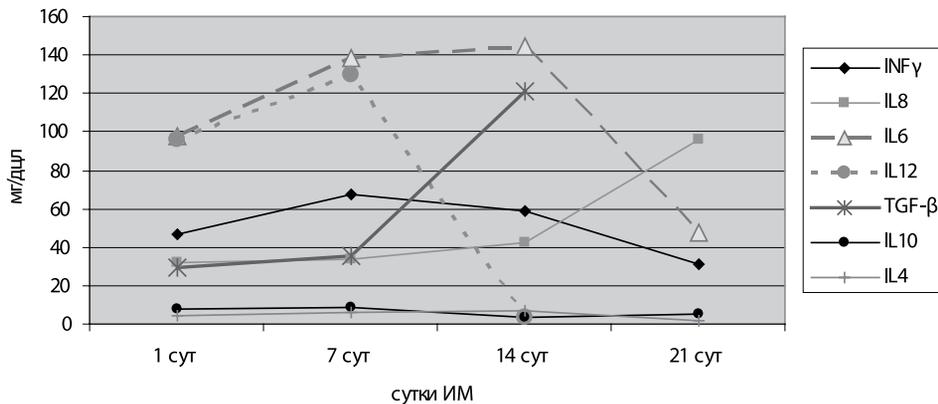


Рис. 1. Динамика цитокинов у больных ОИМ.

предсердная экстрасистолия, нарушения атриовентрикулярной проводимости II-III степени, пароксизм мерцательной аритмии. В госпитальном периоде умерли 11 пациентов. Смерть наступила от следующих причин: острая левожелудочковая недостаточность, кардиогенный шок, разрыв миокарда, фибрилляция желудочков. Диагноз ОИМ подтвержден на аутопсии.

Определение цитокинов (IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TGF-β, INF-γ) проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа. Использовались наборы реактивов для иммуноферментного анализа цитокинов человека фирмы “Протеиновый контур” (Санкт-Петербург). Принцип работы набора: в наборах использовались “сендвич-варианты” твердофазного иммуноферментного анализа. Для реализации этого варианта использованы два моноклональных антитела с различной эпитопной специфичностью к исследуемому интерлейкину. Одно из них иммобилизовано на твердой фазе (внутренняя поверхность лунок), второе конъюгировано с биотином. На первой стадии анализа интерлейкин, содержащийся в калибровочных и исследуемых пробах, связывался с антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок. На второй стадии анализа иммобилизованный интерлейкин взаимодействовал с конъюгатом вторых антител – биотином. Количество связавшегося конъюгата считается прямо пропорциональным количеству интерлейкина в исследуемом образце. На последней стадии анализа в лунки вносили авидин-пероксидазу. Во время инкубации с субстратной смесью происходило окрашивание раствора в лунках. Степень окраски считается прямо пропорциональной количеству связавшихся меченых антител. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочной кривой рассчитывалась концентрация IL в определяемых образцах.

Полученные данные обработаны на персональном компьютере на базе Intel Celeron в программной среде Microsoft Excel с использованием встроенного “Пакета анализа”, который специально предназна-

чен для решения статистических задач. Сравнение средних показателей производили с помощью стандартных методов вариационной статистики медико-биологического профиля.

Исследования выполнены в соответствии с Хельсинской декларацией.

### Результаты

У больных ОИМ с первых суток заболевания наблюдался рост уровня цитокинов IL-6, IL-12, INF-γ с максимальными уровнями для IL-12 и INF-γ на 7 сутки, а для IL-6, TGF-β – на 14 сутки инфаркта миокарда. Для цитокинов IL-6, IL-12, INF-γ снижение уровней происходило к 21 суткам инфаркта миокарда. Нормализации цитокинов IL-8, TGF-β к концу госпитального периода не наступало (рис.1).

Динамика провоспалительных цитокинов соответствует данным развития воспалительного ответа при других инициирующих факторах и подтверждает тесную взаимосвязь компонентов воспалительной реакции [4]. Цитокины непосредственно участвуют в регуляции воспалительной реакции, обладают синергичным и перекрестным взаимодействием [12]. IL-6 служит индуктором синтеза ряда белков острой фазы воспаления (БОФ), в том числе С-реактивного белка (СРБ) и С3-компонента комплемента, поэтому его подъем с первых суток ОИМ подтверждает его регуляторную функцию. Активность IL-8, вызывающего стимуляцию лизосомальных ферментов нейтрофилов и стимуляцию ангиогенеза, определяет его функцию регулировать фагоцитоз непосредственно в зоне некроза с последующими репаративными функциями. Динамика IL-12 и INF-γ синергична и связана со способностью IL-12 усиливать синтез INF-γ, который, в свою очередь, способен также активировать макрофаги в отношении некротизированных тканей [3].

В динамике противовоспалительных цитокинов отмечался подъем IL-4 и IL-10 с первых суток ОИМ с пиком к 7 суткам IL-10 и его последующим резким снижением; повышение IL-4 наблюдалось до 14 суток с последующей резкой нормализацией. В общей картине развития противовоспалительной активности

Таблица 1

Динамика провоспалительных цитокинов у больных инфарктом миокарда с неосложненным и осложненным течением заболевания

Цитокин	INF-γ пг/мл		IL- 6 пг/мл		IL- 8 пг/мл		IL-12 пг/мл	
	течение	течение	течение	течение	течение	течение	течение	течение
сутки ОИМ	неосл. (n-16)	осл. (n-37)	неосл. (n-16)	осл. (n-37)	неосл. (n-16)	осл. (n-37)	неосл. (n-16)	осл. (n-37)
1 сутки	41,91 ±2,39	49,86 ±2,95*	80,95 ±4,48	109,71 ±3,4**	20,28 ±2,42	40,25 ±2,26**	76,96 ±1,09	111,73 ±1,74**
7 сутки	38,42 ±2,4	90,70 ±3**	145,99 ±3,43	131,76 ±3,44**	19,11 ±1,97	46,06 ±1,97**	129,89 ±0,23	128,93 ±1,35
14 сутки	35,84 ±2,93	76,83 ±2,9**	178,49 ±2,25	118,54 ±3,76**	22,62 ±3,87	57,62 ±2,02**	144,1 ±0,56	102,57 ±1,27**
21 сутки	20,5 ±1,1	25,17 ±1,62**	2,5 ±0,12	63,17 ±1,71**	20,84 ±1,7	49,77 ±0,45**	–	–

**Примечание:** \* – достоверность различий между группами осложненного и неосложненного ОИМ (p<0,05); \*\* – достоверность различий между группами осложненного и неосложненного ОИМ (p<0,001).

цитокинов обращает на себя внимание их резкое снижение после достижения максимальных значений. Такая динамика, по-видимому, связана с тем, что на определенном этапе возникает необходимость торможения воспалительных реакций с постепенным переходом к репаративным процессам. В этом случае процесс регулируется противовоспалительными цитокинами. IL-4 блокирует продукцию основных воспалительных цитокинов IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α и ингибирует активацию макрофагов и моноцитов. IL-10, в свою очередь, ингибирует INF-γ, а так же IL-6, IL-12, TNF-α.

Подъем TGF-β достигал максимума к 14 суткам инфаркта миокарда и в госпитальном периоде нормализация показателя не наблюдалась. Очевидно, что такая динамика связана с тем, что TGF-β в большей степени ингибирует не цитокины, а лимфоциты и БОФ: гаптоглобин, церулоплазмин, СРБ, орозомукоид, α2-макроглобулин [6]. Кроме того, его действие сопряжено с репаративной функцией, в случае инфаркта миокарда – с формированием рубца.

Цитокиновая сеть саморегулируется, и изменение продукции каждого из цитокинов неизбежно приводит к нарушению синтеза других участников воспалительного процесса, что в целом ведет к развитию гипер- или гипореактивности воспаления [9]. Следствием такой модификации воспалительного ответа может являться задержка репарации и развитие осложнений.

Нами была прослежена динамика провоспалительных цитокинов у больных инфарктом миокарда с осложненным течением (острая сердечная недостаточность, нарушения ритма и проводимости, рецидивирующее течение) и сопоставлена с динамикой данных показателей у больных с инфарктом миокарда, протекавшим без осложнений в остром периоде. Результаты представлены в табл. 1.

При осложненном ОИМ наблюдались более высокие уровни провоспалительных цитокинов INF-γ, IL-8, IL-6, IL-12, начиная с первых суток инфаркта

миокарда. Одна из причин более высоких уровней провоспалительных цитокинов может быть связана с тем, что осложненное течение инфаркта миокарда во многом обуславливается размерами зоны повреждения [4]. В этом случае количество продуцируемых цитокинов, которое также определяется массивностью повреждения, соответственно будет высоким. Однако это не вполне объясняет задержку нормализации уровней цитокинов в сравнении с динамикой у больных с неосложненным течением ОИМ. По-видимому, у ряда больных, при прочих равных условиях (пол, возраст, локализация инфаркта, наличие сопутствующих соматических заболеваний и др.) само течение воспалительных реакций в постинфарктном периоде может определять вероятность развития осложнений. Ряд исследований свидетельствует о взаимосвязи гиперреактивности воспалительной реакции, оцененной по уровням СРБ и IL-6, с развитием тромбоэмболий, постинфарктной стенокардии, летальным исходам, разрывом сердца, формированием аневризмы [12].

Динамика уровней противовоспалительных цитокинов IL-4, IL-10, TGF-β у больных с неосложненным и осложненным (острая левожелудочковая недостаточность, нарушения ритма и проводимости, рецидивирующее течение) течением инфаркта миокарда представлена в табл. 2.

Динамика противовоспалительных цитокинов при осложненном течении ОИМ также свидетельствовала о повышенной продукции TGF-β, IL-4, IL-10. Уровень IL-4 более выражено нарастал с первых суток ОИМ в сравнении с динамикой у больных с неосложненным инфарктом миокарда. В отличие от благоприятного течения заболевания, пик IL-4 приходился на 14 сутки наблюдения. Однако полученные результаты не были статистически значимыми.

Для IL-10 выявлены статистически значимые отличия на 1, 7 сутки наблюдения. Начиная с 1 суток, отмечается резкий подъем цитокина с пиком на 7

Таблица 2

**Динамика противовоспалительных цитокинов у больных инфарктом миокарда с неосложненным и осложненным течением заболевания**

Цитокины	IL- 4 пг/мл		IL- 10 пг/мл		TGF-β пг/мл		
	течение	неосл. (n-16)	осл. (n-37)	неосл. (n-16)	осл. (n-37)	неосл. (n-16)	осл. (n-37)
сут. ОИМ							
1 сутки		2,00±1,93	5,50±5,41	1,09±1,79	11,82±5,56*	29,68±1,04	28,49±0,66
7 сутки		4,41±1,11	7,77±4,9	1,73±3,44	13,53±4,98*	36,95±0,75	34,41±1,55
14 сутки		3,18±0,44	9,04±5,07	0,50±4,43	6,05±3,14	34,42±0,48	60,98±0,5*
21 сутки		1,07±0,12	1,96±0,22	9,56±5,65	3,4±1,27	—	—

**Примечание:** \* – достоверность различий между группами осложненного и неосложненного ИМ (p<0,05); \*\* – достоверность различий между группами осложненного и неосложненного ИМ (p<0,001).

Таблица 3

**Уровни цитокинов у больных, умерших в остром периоде ИМ, в сравнении с выжившими пациентами и пациентами группы контроля**

Исход ОИМ	Благоприятный (n-113)	Летальный (n-11)
Цитокин		
INF-γ пг/мл	48,72±2,84	27,14±0,01*
IL- 4 пг/мл	4,19±6,58	3,16±0,37
IL- 6 пг/мл	107,12±3,44	13,24±0,5*
IL- 8 пг/мл	32,81±2,6	26,3±0,33
IL-10 пг/мл	8,12±6,84	1,54±0,04

**Примечание:** \* – достоверность различий между группами больных ИМ и группой летального исхода (p<0,001).

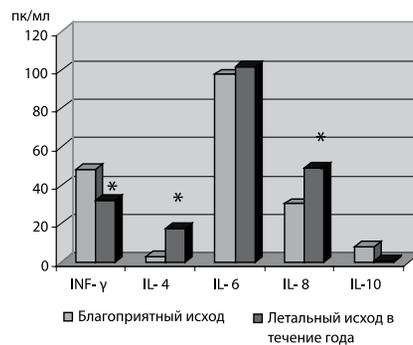
сутки и снижением к 21 дню наблюдения. У больных с благоприятным течением инфаркта миокарда подъем IL-10 определяется лишь на 21 сутки инфаркта миокарда.

Цитокин TGF-β участвует в ограничении воспалительного ответа, регулируя уровень тканевых повреждений. Он также усиливает аккумуляцию и пролиферацию фибробластов и формирование внеклеточного матрикса, что необходимо для правильной регенерации поврежденной ткани. Ростовой фактор TGF-β у больных с осложненным инфарктом миокарда был достоверно выше на 14 сутки в сравнении с больными с благоприятным течением заболевания.

Гиперпродукция противовоспалительных цитокинов у больных ОИМ, возможно, является ответом на повышенную секрецию провоспалительных цитокинов, направленным на торможение развившейся гиперреактивности.

Особого внимания заслуживает воспалительный ответ у пациентов с летальным исходом ОИМ. В табл. 3 представлены уровни цитокинов в 1 сутки инфаркта миокарда у больных, умерших в остром периоде, в сравнении с выжившими пациентами.

Уровень IL-6 и INF-γ в группе больных с летальным исходом ОИМ был достоверно ниже, чем в группе больных с благоприятным исходом. Возможно, нарушение баланса провоспалительных и противовоспалительных цитокинов приводит к изменению и недостаточной миграции нейтрофилов и лимфоид-



**Рис. 2.** Уровни цитокинов в первые сутки ИМ у больных с летальным исходом в течение года после перенесенного ОИМ (\* – p < 0,05).

ных клеток к инфарктной зоне, что влечет за собой нарушение ограничения зоны некроза и неадекватной воспалительной реакции в очаге повреждения. В последнее время появился ряд данных о непосредственном кардиотоксичном влиянии ряда цитокинов TNF-α и IL-1, вызывающих индукцию апоптоза кардиомиоцитов. Выработка TNF-α и IL-1 ингибируется IL-6, следовательно их активность и кардиотоксичный эффект может усиливаться при его дефиците [10, 12].

Подобные исследования были проведены при ишемическом инсульте, где также выявлялась группа больных с пониженным содержанием БОФ и различных классов иммуноглобулинов. Выявленные изменения коррелировали с тяжестью течения заболевания и являлись прогностически неблагоприятным признаком [7].

Пониженное содержание реактантов воспаления у больных ОИМ, возможно, объясняется снижением адаптационных механизмов и защитных функций организма этой группы больных, неспособность к адекватному ответу на повреждающий фактор и является одной из причин, приводящей к неблагоприятному исходу заболевания, поскольку, возможно, недостаточное количество БОФ ведет к нарушению репаративных процессов в зоне некроза.

Анализ уровней цитокинов у больных с летальным исходом от повторного инфаркта миокарда в течение года наблюдения выявил достоверно более высокие уровни IL-4, IL-8 в 1 сутки ОИМ (рис. 2).

Исследование также выявило уменьшение концентрации  $INF-\gamma$  и  $IL-10$  по сравнению с группой больных, перенесших ОИМ и выживших в течение года.

Течение воспалительной реакции при ОИМ оказывает определенное влияние на отдаленный прогноз заболевания. С неблагоприятным отдаленным прогнозом ОИМ в течение года наблюдения коррелировали достоверно более высокие уровни  $IL-4$  и  $IL-8$  и достоверно более низкие значения  $INF-\gamma$  в остром периоде. Имеющиеся работы по зависимости ремоделирования миокарда от течения воспаления в остром периоде инфаркта делают обоснованной попытку поиска прогностически значимых показателей среди факторов воспаления [11].

### Выводы

1. У больных ОИМ с первых суток заболевания отмечался подъем уровня воспалительных показателей. На 1 и 7 сутки ОИМ наблюдалось повышение

уровней  $INF-\gamma$ ,  $IL-6$ ,  $IL-12$ , нормализация показателей отмечалась к 21- 28 суткам заболевания.

2. Осложненное течение ОИМ (НК и рецидивирующее течение) сопровождалось более выраженной активностью воспалительного процесса: достоверно более высокие уровни в 1 сутки инфаркта миокарда —  $INF-\gamma$ ,  $IL-6$ ,  $IL-8$ ,  $IL-10$ ,  $IL-12$ ; на 7 сутки —  $INF-\gamma$ ,  $IL-8$ ,  $IL-10$ , а также выявлялась задержка нормализации цитокинов к 21-28 суткам.

3. У больных с летальным исходом ОИМ отмечена супрессия воспалительных показателей с достоверно более низкими значениями в 1 сутки ОИМ уровней  $INF-\gamma$ ,  $IL-6$ .

4. В результате проведенного исследования выявлена взаимосвязь цитокиновой реакции с течением и прогнозом острого инфаркта миокарда. Определена возможность использования показателей  $IL-6$  и  $INF-\gamma$  в качестве предикторов неблагоприятного исхода инфаркта миокарда.

### Литература

1. Виноградов А.В., Журавлева И.А., Воеводина Н.Ю. / Прогнозирование течения острого инфаркта миокарда по биохимическим маркерам // Кардиология.— 1999.— № 2.— С. 39-40.
2. Люсов В.А. Инфаркт миокарда (вчера, сегодня, завтра) // Российский кардиологический журнал. — 1999. — № 1. — С. 6-15.
3. Оранский П.П., Ханферян Р.А. Уровни цитокинов у больных Q-позитивным инфарктом миокарда в сыворотке крови и культурах мононуклеаров крови// Цитокины и воспаление, -2009- № 2 —С.31-34.
4. Потапнев М.П. Значение иммунорегуляторных цитокинов в формировании реакции воспаления // Здоровоохранение. — 1996. — №11. — С.50-54.
5. Рябов В.В., Марков В.А., Попонина Ю.С. и др. Цитокины и аутологичные мононуклеарные клетки костного мозга в процессах восстановительной регенерации при инфаркте миокарда//Кардиоваскулярная терапия и профилактика — 2007 — №6 — С.79-64.
6. Сергиенко И.В., Семёнова А.Е., Масенко В.П. и др. Влияние реваскуляризации миокарда на динамику сосудистого эндотелиального и трансформирующего факторов роста у больных ишемической болезнью сердца// Кардиология -2009 — №12 -С. 4-10.
7. Скворцова В.И., Константинова Е.В., Шурдумова М.Х. Провоспалительные цитокины у больных с острым ишемическим инсультом и инфарктом миокарда// Неврологический вестник — 2007-Т.XXXIX, вып.1 — С.22-25.
8. Чернецов В.А. Раннее прогнозирование осложнений инфаркта миокарда // Врач.— 2000.— № 2.— С. 25-26.
9. Чопяк В.В. Цитокины и их роль в воспалительных процессах// Медицинские новости. — 1997. — №9. — С.18-19.
10. Limas C.J., Goldenberg I.F., Limas C. Soluble interleukin-2 receptor levels in patients with dilated cardiomyopathy. Correlation with disease severity and cardiac autoantibodies // Circulation. — 1995. — Vol.91. — P.631 — 634.
11. Munford R.S. Statins and the acute phase response // N. Engl.J. Med. — 2001. — Vol. 344. — P.2016 — 2018.
12. Munger M., Johnson B., Amber I.J. et al. Circulating concentrations of proinflammatory cytokines in the mild or moderate heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy // Am. J. Cardiol. — 1996. — Vol.77. — P.723 — 727.

### Abstract

*Acute myocardial infarction is a severe cardiovascular pathology. Recent studies have demonstrated that its clinical course depends not only on the size of necrosis zone, but also on the local inflammation activity. In this study, the dynamics of various cytokines ( $INF-\gamma$ ,  $IL-4$ ,  $IL-6$ ,  $IL-8$ ,  $IL-10$ ,  $IL-12$ , and  $TGF-\beta$ ) in patients with different clinical course and outcome of acute myocardial infarction was investigated. It was shown that cytokine dynamics is similar to the dynamics of other pro-inflammatory factors. Complicated clinical course of myocardial infarction is characterised by manifested cytokine reaction and delayed normalisation of cytokine levels. In fatal myocardial infarction,  $IL-6$  and  $INF-\gamma$  cytokines are suppressed. The evaluation of cytokine reaction in myocardial infarction patients could be used for predicting the clinical course and outcome of the disease.*

**Key words:** Inflammation, acute myocardial infarction, prognosis, cytokine dynamics.

Поступила 30/02 — 2010

© Коллектив авторов, 2010  
(495) 674-49-68

[Чукаева И.И. (\*контактное лицо) — профессор, зав.кафедрой, Орлова Н.В. — д.м.н., доцент кафедры; Спирыкина Я.Г. — к.м.н., ст. лаборант кафедры, Пухальский А.Л. — д.м.н., зав.лабораторией, Соловьева М.В. — к.м.н., доцент кафедры].