

Е.И. Соколов¹, Т.И. Гришина², С.Р. Штин^{1,3*}ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова», ¹кафедра факультетской терапии и профболезней, ²кафедра клинической иммунологии и аллергологии³МУЗ «Городская клиническая больница № 70», блок кардиологической реанимации, г. Москва

ИНТЕГРАЛЬНЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОГО СТАТУСА И МАРКЁРОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ИБС

Резюме

Авторами проведена комплексная оценка показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета, маркёров неспецифического воспаления и их взаимосвязи с толщиной комплекса интима-медиа СА и влияния изменений данных параметров на характер течения ИБС. В исследование включено 44 больных хроническими формами ИБС и 35 здоровых лиц. У больных ИБС отмечаются изменения преимущественно врождённого иммунитета, проявляющиеся в активации NK-лимфоцитов (CD16, CD 56), CD4+, CD25+, с регуляторной активностью в отношении синтеза про- и противовоспалительных цитокинов, а также увеличение уровня антифосфолипидных антител, СРБ и ТКИМ СА; степень изменения указанных звеньев иммунитета отражает тяжесть течения ИБС.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, клеточное звено иммунитета, гуморальное звено иммунитета, антифосфолипидные антитела, неспецифическое воспаление.

Abstract

We carried out a comprehensive evaluation of cellular and humoral immunity, nonspecific inflammation markers and their relationship to the thickness of the intima-media of the carotid arteries and the impact of changes in these parameters on the nature of coronary artery disease. The study included 44 patients with chronic forms of coronary artery disease and 35 healthy individuals. In patients with ischemic heart disease has changed mainly of innate immunity, such as the activation of NK-cells (CD16, CD 56), CD 4+CD25+, with regulatory activity in respect of the synthesis of pro- and — inflammatory and anti-inflammatory cytokines, as well as an increase in the level of antiphospholipid antibodies, CRP and the thickness of the complex of intima-media of the carotid arteries, the degree of change in the links of the immunity reflects the severity of the disease.

Key words: ischemic artery disease, cellular immunity, humoral immunity, antiphospholipid antibodies, nonspecific inflammation.

ИБС — ишемическая болезнь сердца, ЛПНП — липопротеины низкой плотности, ЛПОНП — липопротеины очень низкой плотности, ИМ — инфаркт миокарда, СРБ — С-реактивный белок, ХС — холестерин, ТКИМ — толщина комплекса интима-медиа, ФК — функциональный класс, ЦИК — циркулирующие иммунные комплексы, СА — длинные тире сонные артерии.

В современной отечественной и зарубежной литературе представлено значительное число исследований, указывающих на участие иммунологических механизмов в патогенезе заболеваний сердечно-сосудистой системы, в том числе и в патогенезе ИБС, морфологическим субстратом которой в большинстве случаев является атеросклеротическое поражение коронарных артерий [1, 4]. Одним из важнейших механизмов формирования атеросклероза коронарных сосудов является иммунновоспалительный процесс, который развивается непосредственно в сосудистой стенке при указанной патологии [2, 4]. Выявлено, что кровь больных с ИБС, как и атеросклеротическая бляшка даже на самых ранних этапах развития процесса, имеет все признаки выраженной иммунной активности, характеризующиеся прежде всего наличием активированных Т-лимфоцитов и макрофа-

гов [7, 14]. Есть данные, что при повреждении клетки эндотелия приобретают способность продуцировать цитокины, среди которых наибольшее значение представляют интерлейкин-1-подобные субстанции и тромбоцитарный фактор роста [9, 10]. Локальная продукция этих цитокинов способствует адгезии нейтрофилов и моноцитов к эндотелию, стимулирует пролиферацию гладкомышечных клеток и, в результате, способствует прогрессированию воспалительного процесса и атеросклеротического поражения в стенке сосудов [11]. Такие провоспалительные цитокины, как ИЛ-1, ФНО- α , играют ведущую роль в активации и привлечении лейкоцитов к эндотелию, способствуют увеличению связывания эндотелия с ЛПНП и ЛПОНП, изменяют свойства эндотелия, направленные на поддержание гомеостаза, что в конечном итоге приводит к формированию тромбо-

*Контакты. E-mail: shtin.sabina@yandex.ru. Телефон: (495) 303-93-07

тического статуса при ИБС [9, 14]. Как локальное, так и системное воспаление, характерное для атеросклероза, обладают всеми признаками аутоиммунного процесса и могут инициироваться модифицированными ЛПНП и ЛПОНП, которые приобретают способность индуцировать аутоиммунный ответ [11, 13]. По данным современной зарубежной и отечественной литературы, у больных ИБС и стенозом сосудов сердца, верифицированным селективной коронароангиографией, в отличие от здоровых без коронарного атеросклероза, в крови выявлен значительно повышенный уровень ЦИК и иммуноглобулинов преимущественно класса G, а также увеличение числа CD4+CD25+ Т-лимфоцитов [3, 7, 8, 13, 15]. В последние годы установлено, что эндотелиальные клетки обладают способностью экспрессировать антигены гистосовместимости II класса на своей поверхности и проявлять антигенпрезентирующие свойства [2, 12]. Выявлено, что антифосфолипидные антитела связываются эндотелием сосудов в присутствии β_2 -гликопротеина стимулируют высвобождение фактора Виллебранда, потенцируют активность тканевого фактора клетками эндотелия, инициируют процесс тромбообразования и гемокоагуляции [8]. Повышенный титр антител к фосфолипидам клеточных мембран у мужчин молодого возраста часто сопровождается повышенным риском развития тромбоза вен, ИМ [13]. Наличие антикардиолипидных антител и антител к β_2 -гликопротеину-1 ассоциируется с нестабильной стенокардией. Описаны случаи антифосфолипидные антитела — положительных пациентов с установленным диагнозом ИМ, но с отсутствием поражения коронарных сосудов при селективной коронароангиографии [14, 15]. В исследованиях последних лет показано, что при развитии атеросклеротического поражения повышенные титры антител к окисленным ЛПНП (oxLDL) могут выступать в качестве защиты от прогрессирования атеросклероза, снижая уровень oxLDL [6].

Установлено, что при ИБС СРБ отражает активность синтеза ИЛ-6, способствующего вместе с другими провоспалительными цитокинами прогрессированию атеросклероза [5, 10]. Отмечено, что повышение СРБ у больных с высоким уровнем общих ХС и ХС ЛПНП резко увеличивает риск возникновения осложнений ИБС атаки [6]. По данным многочисленных исследований, увеличение ТКИМ ассоциируется с увеличением числа сердечно-сосудистых осложнений [2, 6, 10]. Таким образом, изучению атеросклероза, лежащего в основе ИБС, с позиций иммунного воспаления посвящено достаточно много исследований, однако данный вопрос остаётся открытым и полностью не изученным [11, 14, 15]. Определение изменений в клеточном и гуморальном звеньях иммунитета организма у больных с атеросклерозом, при развитии клинически выраженных форм ИБС, несомненно, важно как для уточнения участия иммунных механизмов в патогенезе, так и для выяснения возможностей использования иммунологических маркёров для диагностики, определения характера течения заболеваний, прогнозирования исхода ИБС, возможностей применения иммуотропной терапии с целью повышения

эффективности стандартно применяемых схем противоишемической терапии.

Цель работы; состояли в изучении взаимосвязи между показателями врождённого и приобретённого иммунитета в плазме крови, СРБ и ТКИМ СА с целью прогнозирования характера течения ИБС в зависимости от выявленных изменений указанных параметров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе проводимого исследования было обследовано 44 мужчины, больных различными формами ИБС, в возрасте от 35 до 75 лет, средний возраст которых составил $56,82 \pm 2,58$ года. В исследование были включены больные без сопутствующих заболеваний (артериальной гипертензии высокой степени (более 170/100 мм рт. ст.), хронических заболеваний печени и почек, сахарного диабета, ожирения), не страдающие психическими расстройствами, неврологическими заболеваниями, злокачественными новообразованиями, не получавшие иммуотропную терапию последние 6 месяцев. Диагноз ИБС выставляли на основании данных клинической картины, анамнеза, результатов физикального и инструментального обследований. В прошлом (не менее 1 года до исследования) ИМ перенесли 20 человек из 44 обследуемых; у 3 из них в анамнезе было 2 и более ИМ. К моменту обследования у всех имелась стабильная стенокардия напряжения: 1–2 ФК — 29 человек, 3–4 ФК — 15. Длительность заболевания ИБС колебалась от 1 года до 20 лет.

Группа лиц, не имеющих ИБС (контрольная), состояла из 35 мужчин, сопоставимых по возрасту с группой больных ИБС, — добровольцев в возрасте 35–75 лет (средний возраст — $52,22 \pm 2,11$ года) с исключённым диагнозом ИБС. Всем больным производился забор крови для исследования показателей иммунного статуса, маркёров воспаления — СРБ, был оценен уровень антифосфолипидных антител, включающих антитела к кардиолипину, антител к окисленным ЛПНП. У всех больных через 1 год были оценены конечные точки, такие как прогрессирование ФК стенокардии, развития первичного и повторного ИМ, сердечной недостаточности, нарушений ритма сердца, повторных госпитализаций по поводу тех или иных обострений ИБС. Исследование показателей иммунного статуса производилось на иммунохимическом анализаторе «Architect 1000» (Abbott, США) с помощью иммуоферментного анализа. Ультразвуковое исследование сонных артерий проводили на аппарате «Sonos 2000» фирмы Hewlett-Packard (США) в В-режиме с применением датчика 7,5 МГц. С обеих сторон определяли среднее значение максимальной ТКИМ задней стенки СА.

Данные клинико-инструментальных и лабораторных исследований обрабатывались на персональном компьютере Sony Valio PC Intel Centrino с использованием пакета статистических программ Microsoft Office Excel

2007. Определялись средние величины (M), среднее квадратическое отклонение (σ), ошибка средней (m), значение вероятности различий по критериям Стьюдента (t) и Вилкоксона (T). Корреляционный анализ проводился с определением коэффициента корреляции (r), его ошибки (mr), достоверности (p). За статистически значимый принимался уровень достоверности при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе показателей иммунного статуса наиболее достоверные изменения зарегистрированы среди следующих популяций Т-лимфоцитов: CD 4+CD25+, CD16 и CD56 естественных киллеров, а также CD+19В-лимфоцитов. Изменения показателей клеточного звена иммунитета отражены в *табл. 1*.

Таблица 1. Сравнение показателей клеточного звена иммунитета у больных ИБС и группы контроля ($M \pm m$)

Популяции лимфоцитов	Группа больных ИБС	Группа контроля
CD3, %	62,1 $\pm$ 2,30	60,5 $\pm$ 1,81
CD4, %	55,28 $\pm$ 1,03*	42,12 $\pm$ 0,87
CD8, %	28,19 $\pm$ 0,92	27,28 $\pm$ 0,88
CD56, %	21,56 $\pm$ 1,09*	16,11 $\pm$ 0,46
CD 4+CD25+, %	9,31 $\pm$ 0,28*	6,13 $\pm$ 0,22
CD19, %	14,42 $\pm$ 1,74*	9,06 $\pm$ 1,02
CD 16, %	20,44 $\pm$ 1,53*	16,49 $\pm$ 0,86

* — достоверность различия результатов по отношению к группе контроля ($p < 0,05$).

Выявлено, что количество CD3+, CD4+ и CD8+-лимфоцитов было практически одинаковым в группе больных ИБС и группе контроля (CD3+ — 50–78%, CD4+ — 31–46%, CD8+ — 26–40%). Отмечается статистически значимое повышение уровня CD4+ CD25+-лимфоцитов до 9,31 $\pm$ 0,28% по сравнению с группой контроля (6,13 $\pm$ 0,22%), CD16+ — 21,56 $\pm$ 1,09% по сравнению с 16,11 $\pm$ 0,46% у здоровых лиц, CD19+ — 14,42 $\pm$ 1,74% и CD16+ — 20,44 $\pm$ 1,53% ($p < 0,05$). Сопутствующее увеличение CD16-лимфоцитов, проявляющих в основном цитотоксическую функцию и слабую секрецию цитокинов, и CD56-NK-клеток, являющихся пролиферативной стадией развития CD16, свидетельствует об активации важнейшего компонента врожденного иммунитета. Появление их в значительном количестве отражает их основную функцию-цитотоксическую активность в отношении измененных и поврежденных клеток [11, 13, 14]. При проведении исследования выявлена взаимосвязь между частотой обострений ИБС и выраженностью изменений клеточного звена иммунитета, у пациентов с наиболее тяжелым течением ИБС наблюдались более высокие показатели CD4+CD25+-лимфоцитов, CD56+ и CD 16+-лимфоцитов.

Хорошо известно повреждающее воздействие циркулирующих иммунных комплексов на эндотелиальную выстилку сосудов [12]. При этом иммунные комплексы, образованные IgG, вызывают внутрисосудистую агрегацию эритроцитов и тромбоцитов, способствуют атеротромбозу [6]. В *табл. 2* представлены показатели гумо-

рального звена иммунитета. При изучении гуморального звена иммунитета отмечено статистически достоверное различие ($p < 0,05$) между уровнем IgG в группе больных ИБС и группе контроля — 21,14 $\pm$ 1,63 и 15,12 $\pm$ 1,48%, соответственно. Наибольшее количество IgG и ЦИК наблюдалось у пациентов с более тяжелым течением ИБС и наименее благоприятным прогнозом.

Таблица 2. Показатели гуморального звена иммунитета у больных ИБС и группы контроля ($M \pm m$)

Показатели гуморального звена иммунитета, %	Группа больных ИБС (n = 30)	Группа контроля (n = 30)
Ig M, %	1,95 $\pm$ 0,09	1,89 $\pm$ 0,07
IgG, %	21,14 $\pm$ 1,63*	15,12 $\pm$ 1,48
IgE, %	104,23 $\pm$ 2,54	98,76 $\pm$ 1,89
ЦИК, %	68,61 $\pm$ 2,79*	31,11 $\pm$ 1,02

* — достоверность различия результатов по отношению к группе контроля ($p < 0,05$)

По уровню IgG и ЦИК все обследованные нами больные ИБС были разделены на две подгруппы: с нормальными значениями данных параметров и с повышением указанных показателей выше нормы. В 1-й подгруппе отмечалось наиболее благоприятное течение ИБС в ходе годичного наблюдения: по поводу прогрессирования стенокардии число госпитализированных из 29 больных составило 4, ИМ не развился ни у одного больного; во 2-й подгруппе — у 3 человек развился ИМ той или иной локализации, 5 человек неоднократно госпитализировались по поводу прогрессирования стенокардии, 3 пациента — без ухудшения в течение 1 года наблюдения. Таким образом, выраженность изменений показателей гуморального звена иммунитета коррелировала с тяжестью течения ИБС.

В процессе исследования был оценен уровень антител к кардиолипину, антител к β_2 -гликопротеину-1 и антител к окисленным гликопротеидам низкой плотности (o-LDL). Полученные результаты представлены в *табл. 3*. За референсные значения уровня антител принимались следующие значения: к β_2 -гликопротеину-1 — 150–300 мкг/мл, антител к oLDL — 0–10 МЕ/мл, антител к кардиолипину (aCL IgG) менее 20 U/l. Выявлено, что у больных ИБС уровни антифосфолипидных антител, в том числе и антител к кардиолипину и к окисленным ЛПНП достоверно превышали референсные значения указанных маркеров ($p < 0,05$). Уровень антител к β_2 -гликопротеину-1, антител к кардиолипину возрастал с увеличением ФК стенокардии. У пациентов с 1–2 ФК стенокардии уровень антител к β_2 -гликопротеину-1 был повышен в 24%, антител к кардиолипину — 79% случаев. В то время как у пациентов с 3–4 ФК стенокардии уровень антител к β_2 -гликопротеину-1 повышался в 87%, уровень антител к кардиолипину — в 100% случаев. Выявлено, что антитела к oLDL достоверно значимо в группе больных ИБС превышали референсные значения и составляли 15,31 $\pm$ 0,14 МЕ/мл ($p < 0,05$). При этом отмечено, что у пациентов с 1–2 ФК стенокардии этот показатель достоверно превышал таковой у пациентов с 3–4 ФК стенокардии и составил соответственно: 23,34 $\pm$ 0,21 и 10,86 $\pm$ 1,21

Таблица 3. Показатели уровня антител к фосфолипидам и окисленным ЛПНП у больных ИБС ($M \pm m$)

Подгруппы больных	Анти- β_2 -глико-протеин АТ, мкг/мл	ACL IgG, U/l	Антитела к О-LDL, МЕ/мл
Все больные ИБС	295 $\pm$ 1,65°	43,43 $\pm$ 0,34°	15,31 $\pm$ 0,14°
Стенокардия 1–2 ФК (1-я подгруппа)	250,79 $\pm$ 2,40*	33,25 $\pm$ 0,29*	23,34 $\pm$ 0,21*
Стенокардия 3–4 ФК (2-я подгруппа)	374,47 $\pm$ 3,50*	61,72 $\pm$ 0,45*	40,86 $\pm$ 1,21*

* — достоверность различия результатов у пациентов 1-й подгруппы по отношению к 2-й подгруппе ($p < 0,05$); ° — достоверность различия результатов по отношению к референсным значениям.

МЕ/мл, что может свидетельствовать о защитной роли антител к окисленным ЛПНП в прогрессировании атеросклероза. Также был оценён уровень СРБ у 30 больных ИБС в сравнении с группой контроля (30 человек): уровень СРБ в группе лиц больных ИБС составил $78,96 \pm 0,90$ нмоль/л, что более чем в 2 раза превысило значение СРБ в группе контроля — $31,67 \pm 9,82$ нмоль/л (норма = 8–75,3 нмоль/л) ($p < 0,01$). Пациенты в зависимости от уровня СРБ были также разделены на две подгруппы: 1-я подгруппа — СРБ до 75 нмоль/л, т.е. нормальное значение СРБ в плазме; 2-я подгруппа — СРБ более 75 нмоль/л — выше предельно допустимых значений. В 1-ю подгруппу вошли 16, во 2-ю — 14 пациентов. В ходе анализа выявленных изменений показано, что у пациентов с содружественным увеличением всех 3 показателей: СРБ, ЦИК, IgG (11 человек) — в течение 1 года у 5 пациентов развился ИМ, у 2 из них осложнённого течения, у остальных были неоднократные госпитализации по поводу прогрессирования класса стенокардии. У пациентов с нормальными значениями всех 3 указанных показателей в течение 1 года наблюдения инфаркты не зарегистрированы, отмечалось относительно стабильное течение ИБС, у больных ИБС со значимым увеличением только СРБ (3 больных) — у 1 развился мелкоочаговый неосложнённый ИМ, у 1 — 2 госпитализации по поводу прогрессирования стенокардии и у 1 — относительно стабильное течение ИБС. При оценке ТКМ СА у 30 больных ИБС в группе контроля средняя ТКМ составила $0,68 \pm 0,04$ мм. Средний показатель ТКМ в обследуемой группе больных ИБС составил $1,21 \pm 0,06$ мм, практически в 2 раза превысив данный показатель в группе здоровых лиц ($p < 0,05$). Выявлена положительная корреляционная связь между уровнем СРБ и ТКМ ($r = 0,46$, $p < 0,05$), IgG, ЦИК и ТКМ ($r = 0,61$, $p < 0,05$), а также СРБ, ТКМ и CD 4+CD25+-лимфоцитами ($r = 0,91$, $p < 0,05$).

Выводы

У больных ИБС отмечаются изменения преимущественно врождённого иммунитета, проявляющиеся в активации NK-лимфоцитов (CD16, CD56), CD 4+CD25+,

степень изменения указанных звеньев иммунитета коррелирует с тяжестью течения ИБС. СРБ и ТКМ СА является одним из прогностических маркёров характера течения ИБС, развития осложнений. Показатели уровня антител к фосфолипидам, в том числе к кардиолипину, антител к β_2 -гликопротеину-1 у пациентов со стенокардией 1–2 ФК являются одними из основных маркёров повреждения коронарных артерий, а у пациентов 3–4 ФК отражают помимо этого тяжесть течения ИБС. Больным ИБС рекомендуется интегральная оценка показателей врождённого и приобретённого иммунитета, СРБ и ТКМ СА с целью наиболее достоверного прогнозирования характера течения ИБС, развития осложнений.

А

Список литературы

1. Аронов Д.М. Лечение и профилактика атеросклероза. М.: Триада Х. 2000. 412 с.
2. Климов А.Н., Нагорнев В.А., Денисенко А.Д. Изучение иммунологических механизмов развития атеросклероза и новые методы его диагностики и лечения // Мед. акад. ж. 2005. Т. 5. В. 2. С. 18–32.
3. Климов А.Н., Нагорнев В.А., Денисенко А.Д., Константинов В.О. Аутоиммунная теория патогенеза атеросклероза и новые пути его лечения // Вестник РАМН 2003. В. 12. С. 29–34.
4. Нагорнев В.А., Восканьяни А.Н. Атерогенез как иммуновоспалительный процесс // Вестник РАМН 2004. В. 7. С. 3–11.
5. Черный В.И., Нестеренко А.Н. Нарушения иммунитета при критических состояниях. Особенности диагностики // Внутренняя медицина. 2007. № 3.
6. Ярилин А.А. Иммунология. М.: Геотар-Медиа. 2010. 752 с.
7. Agrawal A., Cha Molstad H., Samols D., Kushner I. Overexpressed nuclear factor B can participate in endogenous C-reactive protein induction, and enhances the effect of C/EBP β and signal transducer and activator of transcription 3 // Immunology. 2003. Vol. 108. P. 539–547.
8. Aukrust P., Otterdal K., Yndestad A., Sandberg W.J., Smith C., Ueland T., Øie E., Damås J.K., Gullestad L., Halvorsen B. The complex role of T-cell-based immunity in atherosclerosis // Curr. Atheroscler. Rep. 2008. Vol. 10. P. 236–243.
9. Biasucci L.M., Liuzzo G., Fantuzzi G. et al. Increasing levels of Interleukin-1Ra and Interleukin-6 during the first two days of hospitalisation in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events // Circulation. 1999. Vol. 99. P. 2079–2084.
10. Cheng X., Yu X., Ding Y.J., Fu Q.Q., Xie J.J., Tang T.T. et al. The Th17/Treg imbalance in patients with acute coronary syndrome // Clin. Immunol. 2008. Vol. 127. P. 89–97.
11. Erlinger T., Platz E., Rifai N., Helzlsouer K. C-reactive protein and the risk of incident colorectal cancer. C-reactive protein and the risk of incident colorectal cancer // JAMA. 2004. Vol. 291, № 5. P. 585–590.
12. Gotsman I., Gupta R., Lichtman A.H. The influence of the regulatory T lymphocytes on atherosclerosis // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2007. Vol. 27. P. 2493–2495.
13. Hansson G.K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease // N. Engl. J. Med. 2005. Vol. 352. P. 1685–1695.
14. Hansson G.K., Libby P. The immune response in atherosclerosis: A double-edged sword // Nat. Rev. Immunol. 2006. Vol. 6. P. 508–519.
15. Khreiss T., Jo'zsef L., Potempa L., Filep J. Conformational Rearrangement in C-Reactive Protein Is Required for Proinflammatory Actions on Human Endothelial Cells // Circulation. 2004. Vol. 109. P. 2016–2022.