

Т.І. Гавриленко
О.М. Ломаковський
О.А. Підгайна
М.І. Лутай

ДУ «ННЦ «Інститут кардіології
ім. М.Д. Стражеска»
НАМН України», Київ

Ключові слова: стабільна
ІХС, вроджений та адаптивний
імунітет, фактори ризику.

ЗВ'ЯЗОК ОСНОВНИХ ФАКТОРІВ РИЗИКУ АТЕРОСКЛЕРОЗУ З ІМУННИМ ЗАПАЛЕННЯМ, КЛІТИННИМ ТА ГУМОРАЛЬНИМ ІМУНІТЕТОМ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ІХС ЗІ СТАБІЛЬНОЮ СТЕНОКАРДІЄЮ

Вступ. Серцево-судинні фактори ризику (ФР) мають різні асоціації із запальними біомаркерами. Проте значна кількість маркерів запалення не пояснюється традиційними ФР. **Мета дослідження** — виявити можливий зв'язок основних ФР атеросклерозу зі станом клітинних і гуморальних показників набутого та вродженого імунітету для розуміння механізмів впливу ФР на розвиток атеросклерозу. **Об'єкт і методи дослідження.** Обстежено 135 пацієнтів зі стабільною ішемічною хворобою серця (ІХС) з наявністю 1–2 ФР (1-ша група) та 92 пацієнти з наявністю ≥ 3 ФР (2-га група). Матеріал імунологічного дослідження — периферична венозна кров. Для визначення показників клітинного та гуморального вродженого й адаптивного імунітету в сироватці крові та супернатантах мононуклеарних клітин використовували імуноферментний аналіз. **Результати дослідження.** У пацієнтів з ІХС з ≥ 3 ФР порівняно з 1–2 ФР сумарне ураження коронарних артерій серця на рік життя становило 1,90 (1,16–2,68) проти 1,37 (0,80–2,57) ум. од. ($p=0,08$) ($R=0,13$; $p=0,10$), рівень СРБ у крові 5,0 (3,9–8,9) проти 3,2 (1,2–4,6) мг/л ($p=0,004$) ($R=0,13$; $p=0,11$), ІЛ-6 в мононуклеарах — 2658 (2013–4432) проти 2058 (1320–3500) пг/мл ($p=0,022$) ($R=0,17$; $p=0,035$), ІЛ-8 у мононуклеарах — 2010 (1314–3320) проти 1411 (920–2646) пг/мл ($p=0,009$) ($R=0,21$; $p=0,010$), дієнові кон'югати у крові — 3,0 (2,1–4,5) проти 2,5 (1,6–3,8) ум. од. ($p=0,042$) ($R=0,15$; $p=0,054$), перекисне окиснення апоВ-білків — 0,83 (0,60–1,25) проти 0,72 (0,53–1,00) ум. од. ($p=0,014$) ($R=0,16$; $p=0,020$), ендотелійзалежна вазодилатація при манжетковій пробі — 4,2 (2,6–6,1) проти 7,5 (3,9–8,8)% ($p=0,09$) ($R=-0,40$; $p=0,089$), sICAM — 640 (478–790) проти 473 (365–650) нг/мл ($p=0,0009$) ($R=0,30$; $p=0,001$). Фактори ризику зумовлюють комплексний сумарний вплив на такі складові клітинного імунітету, як CD4 ($R=0,36$; $F=7,4$; $p=0,01$), sCD40L ($R=0,42$; $F=2,4$; $p=0,028$); на такі складові гуморального імунітету, як антитіла до компонентів стінки артерій ($R=0,43$; $F=4,1$; $p=0,005$), ЦІК ($R=0,43$; $F=2,9$; $p=0,008$), ХІК ($R=0,41$; $F=3,5$; $p=0,02$), ІgG ($R=0,47$; $F=3,5$; $p=0,01$); на такі прозапальні фактори, як ІЛ-6 ($R=0,35$; $F=4,3$; $p=0,007$), ІЛ-8 ($R=0,48$; $F=3,3$; $p=0,004$), sICAM ($R=0,73$; $F=7,8$; $p=0,0003$) та СРБ ($R=0,52$; $F=3,5$; $p=0,003$). **Висновки.** Традиційні ФР зумовлюють несприятливий потенціуючий сумарний вплив на прозапальний цитокіновий статус, клітинний та гуморальний імунітет, систему фагоцитів у пацієнтів зі стабільною ІХС з найбільшим внеском у ці зміни гіпертонічної хвороби. Наявність ≥ 3 ФР атеросклерозу у пацієнтів зі стабільною ІХС супроводжується слабким прямим, але статистично значущим зв'язком з активністю прозапальних цитокінів ІЛ-6 та -8, а також СРБ, перекисного окиснення ліпідів і апоВ-білків, з тенденцією до більшої вираженості коронарного атеросклерозу порівняно з наявністю 1–2 ФР. Наявність ≥ 3 ФР атеросклерозу порівняно з 1–2 ФР не погіршує функціонального стану ендотелію у пацієнтів зі стабільною ІХС.

ВСТУП

Оскільки точна причина і патогенез атеросклерозу до кінця не вивчені, клінічна оцінка серцево-судинного ризику традиційно ґрунтується на факто-

рах ризику (ФР). Такий підхід не відповідає дійсності, оскільки більшість серцево-судинних подій відбуваються у хворих усього з одним або декількома традиційними ФР, в той час як у окремих осіб з високим

ризиком ніколи не розвиваються клінічні події [16]. Вважається, що запальні шляхи спричиняють атерогенез і, можливо, пов'язують звичайні ФР з атеросклерозом та його ускладненнями [14]. Виразність субклінічного атеросклерозу незначно збільшується у пацієнтів із підвищеними С-реактивним білком (СРБ) і гомоцистеїну, але ця асоціація не є незалежною від традиційних серцево-судинних ФР [15]. Ожиріння, резистентність до інсуліну і цукровий діабет 2-го типу пов'язані з прозапальними чинниками транскрипції ядерного фактора (NF)- κ B, що свідчить про потенційний зв'язок між хронічним запаленням низької інтенсивності та метаболічним порушенням регуляції [19]. Індекс маси тіла, вік і стать вважаються важливими прогностичними факторами підвищення в сироватці крові циркулюючих запальних біомаркерів, особливо ICAM-1 і СРБ [8]. У пацієнтів із ішемічною хворобою серця (ІХС) висока частота фізичної активності була незалежно пов'язана з нижчими рівнями СРБ, інтерлейкіну (ІЛ)-6 і глюкози [13]. У фізично неактивних учасників дослідження зі збільшеною окружністю талії характерні підвищені рівні запальних маркерів. Тим не менше, кілька маркерів запалення були пов'язані з підвищеним ризиком ІХС незалежно від окружності талії та рівня фізичної активності [20]. Порівняно з особами, які ніколи не палили, зв'язок між курінням і запаленням був сильнішим у курців. Триваліший час з моменту відмови від тютюнопаління у колишніх курців був незалежно пов'язаний із нижчим запаленням [17]. Встановлено, що дотримання дієти пов'язано з нижчим рівнем системного запалення, що може свідчити про захисну роль високоякісного харчування [9]. Дієта з високим вмістом жирів значно підвищує рівень ліпідів і маркерів запалення у крові (фактора некрозу пухлини (ФНП)- α , ІЛ-6, моноцитарного хемотактичного протеїну (MCP-1) і підвищує інфільтрацію макрофагів у судинну стінку [10]. Серцево-судинні ФР мають різні асоціації з запальними біомаркерами. Проте значна кількість маркерів запалення не пояснюється традиційними ФР [12].

Мета дослідження — виявити можливий зв'язок основних ФР атеросклерозу зі станом клітинних та гуморальних показників набутого і вродженого імунітету для розуміння механізмів впливу ФР на розвиток атеросклерозу.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Пацієнтів з ІХС зі стабільною стенокардією, які увійшли в дослідження, розподілили на дві групи: до 1-ї групи (n=135) увійшли пацієнти з наявністю 1–2 ФР, до 2-ї групи (n=92) — пацієнти з наявністю ≥ 3 ФР. У 2-й та 1-й групах ФР становили: гіпертонічна хвороба — 82 проти 57% (p=0,001), цукровий діабет — 19 проти 2% (p=0,028), надмірна маса тіла — 65 проти 27% (p=0,0001), тютюнопаління — 48 проти 27% (p=0,011), гіперхолестеринемія — 78 проти 27% (p=0,0001), гіпертригліцеридемія — 70 проти 15% (p=0,0001), гіподинамія — 67 проти 12% (p=0,024). Пацієнти 2-ї та 1-ї груп не відрізнялися між собою щодо наявності супутньої патології — 25 проти 20% (p=0,52), застосування блокато-

рів β -адренорецепторів — 70 проти 61% (p=0,34), антагоністів кальцію — 16 проти 9% (p=0,45), застосування інгібіторів ангіотензинперетворювально-го ферменту — 43 проти 36% (p=0,41), статинів — 27 проти 33 (p=0,54), антитромбоцитарних препаратів — 53 проти 61% (p=0,35).

Матеріал імунологічного дослідження — периферична венозна кров, яку брали натще.

Для кількісного визначення високочутливого білка гострої фази (СРБ), MCP-1, розчинних клітинних молекул адгезії (sICAM, sVCAM), цитокінів — ФНП- α , ІЛ-2, -4, -6, -8, -10; інтерферону (ІФН)- γ в сироватці крові та супернатантах мононуклеарних клітин користувалися твердофазним імуоферментним методом.

Поглиняльну активність нейтрофілів та моноцитів оцінювали за реакцією фагоцитозу з частинками полістиролового латексу за методом Т.І. Івчик [6]. Для оцінки функціонально-метаболічної активності нейтрофілів і моноцитів використовували НСТ-тест (НСТ спонтанний) [6]. Для кількісного визначення антитіл до тканин артеріальної стінки та міокарда (Ат до аорти пошкодженої, Ат до міокарда пошкодженого) використовували реакцію поглинання комплементу за методикою Н.І. Кондрашової [2]. Для кількісного визначення розчинного CD40 ligand (sCD40L) і антитіл до окиснених ліпопротеїнів низької щільності (Ат оЛПНЩ) у сироватці крові використовували відповідно тест-системи для імуоферментного аналізу «Bender MedSys» (Австрія) і «Biomedica Gruppe» (Австрія). Рівень у сироватці крові IgG, IgM, IgA визначали за методом радіальної імунодифузії за Г. Манчині, 1963). У сироватці крові визначали рівень імуноглобуліну Е (IgE) імуоферментним методом з використанням наборів «ХЕМА» (Росія). Визначення кількісного вмісту циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) та холестеринвмісних імунних комплексів (ХІК) проводили за методом М. Дігеон та співавторів [11]. Проліферативну неспецифічну активність лімфоцитів щодо міогенфітогемаглютеніну та специфічну сенсibiliзацію лімфоцитів до антигенів судинної стінки оцінювали в реакції бласттрансформації (РБТЛ)[5]. Імуофенотипування клітин крові включало визначення кількості клітин, які створюють основні популяції та субпопуляції лімфоцитів методом лазерної проточної цитофлюориметрії у прямому імуофлюоресцентному тесті [1, 3, 4]. Досліджували експресію антигенів:

- CD3+ (загальна кількість Т-лімфоцитів);
- CD4+ (Т-лімфоцити хелпери);
- CD8+ (Т-лімфоцити супресори/цитотоксичні клітини);
- CD16+ (природні кілери, НК-клітини);
- CD19+ (В-лімфоцити);
- CD95+ (білки групи рецепторів фактора росту);
- CD40+ (рецептор костимуляції В-лімфоцитів);
- CD154+ (ліганд CD40 на Т-лімфоцитах).

Ендотелін-1 визначали в сироватці крові методом імуоферментного аналізу за допомогою тест-системи фірми «Diagnostic Automation» (Канада).

Вміст холестерину у складі імунних комплексів визначали спектрофотометричним методом з використанням набору реактивів для визначення холестеролу («BioSystems», Іспанія) [7]. Вміст холестерину, тригліцеридів та холестерину ліпопротеїнів високої щільності визначали з використанням біохімічного аналізатора «Експрес-550» («Ciba-Corning», Велика Британія) за допомогою відповідних тест-наборів.

Спектрофотометричним методом на апараті СФ-46 визначали в сироватці крові та атерогенних ліпопротеїнах рівні проміжних та кінцевих продуктів переокисного окиснення ліпідів (ПОЛ) — дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА). Активність ферментів антиоксидантного захисту — каталази і супероксиддисмутази (СОД) оцінювали з використанням спектрофотометричного та флюорометричного методів відповідно.

Активність системи оксиду азоту визначали спектрофотометричним методом на біохімічному аналізаторі «Express plus» за концентрацією в сироватці крові його стабільного метаболіту цитруліну (NOS-залежний синтез) за методикою F.D. Snell, C.T. Snell [21] та нітратів/нітритів із використанням набору «Total NO» (R&D System) [18].

Фактор Віллебранда (ФВ) визначали за методом ферментов'язаного флуоресцентного дослідження (метод ELFA) на аналізаторі «VIDAS» (Франція).

Центральні тенденції та розкиданість кількісних ознак представлені медіаною (Me) та інтерквартильним інтервалом (значення 25-го та 75-го процентиля). Відмінність між групами вважали статистично значущою при рівні значущості $p < 0,05$. Для порівняння двох незалежних груп за кількісною ознакою використовували U-критерій Манна — Уїтні для перевірки гіпотези про рівність середніх рангів. При оцінці якісних ознак у групах порівняння зіставляли відносні частоти (відсотки, пропорції, долі). Для аналізу зв'язку двох кількісних та якісних ознак використовували метод рангової кореляції Спірмена із зазначенням коефіцієнта кореляції R та точного значення p . Для оцінки впливу найкращої комбінації декількох незалежних факторів і ступеня зв'язку кожної незалежної змінної використовували багатфакторний регресійний аналіз — логістичну регресію та множинну покрокову лінійну регресію (у разі слабого відхилення показників від нормального розподілу).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Клінічна характеристика пацієнтів за хронічною ІХС з ≥ 3 ФР порівняно з пацієнтами із 1–2 ФР свідчила, що вік пацієнтів становив відповідно 54 (48–62) проти 58 (50–63) років ($p=0,046$), давність клі-

нічних проявів ІХС — 3 (1–6) проти 4 (1–8) років ($p=0,16$), початок клінічних проявів ІХС до 45 років виявлено у 35 проти 30% хворих ($p=0,56$), вік пацієнтів при перших клінічних проявах ІХС — 49 (43–55) проти 52 (44–59) років ($p=0,06$), III–IV функціональний клас — у 54 проти 61% хворих ($p=0,53$), толерантність до фізичного навантаження — 75 (63–125) проти 75 (63–88) Вт ($p=0,48$), подвійний добуток на порозі навантаження — 202 (145–243) проти 178 (158–219) ум. од. ($p=0,51$), клінічні прояви динамічного коронарного стенозу — у 14 проти 26% хворих ($p=0,15$), наявність післяінфарктного кардіосклерозу — у 51 проти 50% хворих ($p=0,91$), наявність хронічної серцевої недостатності (ХСН) IIa стадії та вище — у 7 проти 5% ($p=0,71$), наявність спадковості на ІХС — у 35 проти 28% хворих ($p=0,56$), сумарне ураження коронарних артерій серця (за Ю.С. Петросян, Д.Г. Іоселіані) — 92 (55–144) проти 88 (44–124) балів ($p=0,32$), індекс СУАС/вік — 1,90 (1,16–2,68) проти 1,37 (0,80–2,57) ум. од. ($p=0,08$) ($R=0,13$; $p=0,10$), кількісне ураження коронарного русла за G.G. Gensini — 48 (20–86) проти 44 (20–82) балів ($p=0,89$), індекс Gensini/вік — 0,86 (0,46–1,65) проти 0,81 (0,32–1,48) ум. од. ($p=0,59$), наявність багатосудинного коронарного ураження — у 77 проти 72% хворих ($p=1,00$). Таким чином, наявність ≥ 3 ФР атеросклерозу у пацієнтів із хронічною ІХС порівняно з наявністю 1–2 ФР пов'язана з тенденцією до більшої вираженості коронарного атеросклерозу, не пов'язаної з клінічними проявами ІХС та її ускладненнями (ІМ та ХСН).

Порівняння показників Т-клітинного імунітету у пацієнтів із хронічною ІХС з 1–2 ФР та ≥ 3 ФР представлено в табл. 1.

Так, у 2-й та 1-й групах рівень загальної кількості Т-лімфоцитів (CD3) відповідно становив 68 (63–73) проти 68 (62–73)% ($p=0,51$), Т-хелперів (CD4) — 41 (34–45) проти 39 (33–45)% ($p=0,60$), Т-супресорів (CD8) — 26 (23–30) проти 27 (22–30)% ($p=0,83$), нормальних кілерів (CD16) — 11,3 (9,3–14,5) проти 11,8 (9,2–15,8)% ($p=0,25$). Імунорегуляторний індекс Тх/Тс становив відповідно 1,5 (1,2–1,9) проти 1,4 (1,1–1,9) ум. од. ($p=0,69$), активність баластної трансформації лімфоцитів із неспецифічним антигеном ФГА — 40 (37–48) проти 45 (3–51)% ($p=0,027$), а в реакції зі специфічним антигеном судинної стінки — 6,5 (3,0–9,0) проти 5,0 (3,0–8,0)% ($p=0,25$). Рівень факторів стимуляції Т-клітинного імунітету у 2-й та 1-й групі був відповідно таким: ІФН- γ в мононуклеарних клітинах — 8,1 (2,9–15,0) проти 7,0 (2,9–15,0) пг/мл ($p=0,36$), в сироватці крові — 11,0 (10,5–12,3) проти 10,5 (9,6–12,3) пг/мл (0,28); ІЛ-2 в моно-

Таблиця 1

Клітинна ланка специфічного імунітету у пацієнтів зі стабільною ІХС з 1–2 ФР (1-ша група) та ≥ 3 ФР (2-га група) — частка відхилення від контролю

Група	Т-Лц	РБТЛ не специф. антиген	ІФН- γ сиров. крові	ІФН- γ в МН	ІЛ-2 сиров. крові	ІЛ-2 в МН	sCD40L	CD40L
1-ша	+6	+1	+900v	+169v	+1400v	+659v	+127v	+16
2-га	+6	-11*	+900v	+212v	+2950v	+632v	+309v*	+12

У таблицях: Т-Лц — Т-лімфоцити; МН — мононуклеарні клітини; Нф — нейтрофіли; Мц — моноцити. У табл. 1–6: *різниця, достовірна між групами ($p < 0,05$); v — різниця, достовірна з контролем ($p < 0,05$). *Різниця, достовірна між групами ($p < 0,05$); v — різниця, достовірна з контролем ($p < 0,05$).

Гуморальна ланка специфічного імунітету у пацієнтів із хронічною ІХС з 1–2 ФР (1-ша група) та ≥ 3 ФР (2-га група) – відсоток відхилення від контролю

Група	XIK	IgG	IgA	Ат до пошкод. міокарда	Ат до склероз. аорти	Ат до оЛПНЩ	IgE	ІЛ-10 у МН
1-ша	+43	+12	+33	+900v	+900v	+156v	+77	+30
2-га	+50v	+8	+10	+900v	+900v	+59	+18	+64

нуклеарних клітинах — 16,1 (14,3–20,4) проти 16,7 (12,6–20,4) пг/мл ($p=0,88$), ІЛ-2 у сироватці крові — 12,2 (3,3–18,8) проти 6,0 (1,7–16,67) пг/мл ($p=0,42$). Рівень розчинних костимулюючих молекул sCD40L становив відповідно 4,5 (2,7–7,0) проти 2,5 (1,9–4,5) нг/мл ($p=0,016$), рівень CD40L на Т-лімфоцити — 8,2 (6,6–9,8) проти 8,5 (6,6–11,3)% ($p=0,40$). Кількість лімфоцитів із негативною активацією не відрізнялася за групами — 11,2 (7,9–15,8) проти 10,4 (7,4–18,2)% ($p=0,96$).

Згідно з регресійним аналізом, ФР спричиняють комплексний сумарний вплив на такі складові клітинного імунітету, як CD4 ($R=0,36$; $F=7,4$; $p=0,01$), sCD40L ($R=0,42$; $F=2,4$; $p=0,028$). Відповідно до регресійної моделі, найбільший прямих внесок у зміну клітинного імунітету робить гіпертригліцеридемія ($B=0,30$; $p=0,003$), гіпертонічна хвороба ($B=0,24$; $p=0,01$) та спадкова схильність до ІХС ($B=-0,24$; $p=0,044$).

За кількісним аналізом наявність ≥ 3 ФР атеросклерозу порівняно з наявністю 1–2 ФР не сприяє більшій активації Т-клітинної ланки набутого імунітету у пацієнтів із хронічною ІХС.

У дослідженні гуморальної ланки імунної відповіді у групі пацієнтів із ІХС із ≥ 3 ФР порівняно з 1–2 ФР встановлено, що рівень у крові XIK зівставив відповідно 21 (17–24) проти 20 (13–24) мг/мл ($p=0,44$), високий рівень загальних ЦІК — у 35 проти 23% пацієнтів ($p=0,058$), загальний рівень IgG — 10,8 (10,0–12,0) проти 11,2 (9,2–12,0) г/л ($p=0,58$), IgA — 2,3 (2,0–3,5) проти 2,8 (1,5–4,7) г/л ($p=0,94$), IgM — 1,1 (0,8–1,7) проти 1,2 (0,8–1,7) г/л ($p=0,44$), IgE — 52 (25–172) проти 78 (37–163) МЕ/мл ($p=0,53$), рівень специфічних антитіл (Ат) до міокарда пошкодженого — 10 (10–20) проти 10 (10–20) ум. од. ($p=0,59$), до аорти пошкодженої — 10 (0–10) проти 10 (0–20) ум. од. ($p=0,66$), антитіл до окиснених ЛПНЩ — 226 (130–447) проти 366 (175–670) мU/мл ($p=0,07$). У 2-й та 1-й групах кількість у крові В-клітин становила відповідно 9,7 (7,5–12,7) проти 10,0 (7,3–12,5)% ($p=0,83$), кількість активованих В-клітин за показником CD40 була 8,2 (6,6–9,8) проти 8,5 (6,6–11,3)% ($p=0,40$), рівень адгезивних молекул до В-клітин (CD11a) — 44 (29–63) проти 48 (36–60)% ($p=0,50$). Рівень у сироватці крові факторів, що стимулюють гуморальну імунну відповідь, у групі ІХС зі стабільною стенокардією із ≥ 3 ФР порівняно з 1–2 ФР був для ІЛ-4 — 9,1 (6,0–18,0) проти 15,5 (3,8–39,5) пг/мл ($p=0,71$), для ІЛ-10 — 0,8 (0,5–9,0) проти 7,9 (0,6–10,0) пг/мл ($p=0,22$), для ІЛ-10 в мононуклеарних клітинах — 235 (36–715) проти 151 (18–716) пг/мл ($p=0,40$). Відсоток відхилення показників гуморальної ланки специфічної імунної відповіді двох груп від контролю — у табл. 2.

Комплексний прямих сумарний вплив традиційних ФР зумовлюють на рівні антитіл до компонентів стінки артерій ($R=0,43$; $F=4,1$; $p=0,005$), ЦІК ($R=0,43$; $F=2,9$; $p=0,008$), XIK ($R=0,41$; $F=3,5$; $p=0,02$), IgG ($R=0,47$; $F=3,5$; $p=0,01$). Найбільший вплив на зміну гуморального імунітету справляє наявність гіпертонічної хвороби. Наявність ФР не здійснює комплексного сумарного впливу на рівень антитіл до окиснених ліпопротеїнів ($R=0,18$; $F=0,4$; $p=0,90$).

Таким чином, наявність традиційних ФР спричиняє несприятливий комплексний (сумарний) вплив на такі складові гуморального імунітету, як антитіла до компонентів стінки артерій, ЦІК, XIK, IgG. Найбільший внесок робить гіпертонічна хвороба. Наявність ≥ 3 ФР атеросклерозу порівняно з наявністю 1–2 ФР не сприяє більшій активації гуморальної ланки набутого імунітету у пацієнтів із хронічною ІХС.

Вивчення показників системи фагоцитів не виявило різниці між пацієнтами з ІХС з 1–2 ФР та пацієнтами з ≥ 3 ФР (табл. 3).

Таблиця 3

Функціональна активність фагоцитів у пацієнтів із хронічною ІХС з 1–2 ФР (1-ша група) та ≥ 3 ФР (2-га група) – відсоток відхилення від контролю

Група	сНСТ Нф	ФР Нф	сНСТ Мц	ФР Мц
1-ша	+78v	-48v	+8	-48
2-га	+53v	-52v	-8	-40

Між пацієнтами з ІХС з ≥ 3 ФР порівняно з пацієнтами із 1–2 ФР кисеньзалежний метаболізм нейтрофілів за спонтанним НСТ-тестом був відповідно 49 (41–67) проти 57 (46–65)% ($p=0,30$), функціональний резерв нейтрофілів — 14 (3–30) проти 15 (5–23)% ($p=0,94$), метаболізм моноцитів за спонтанним НСТ-тестом — 11 (9–16) проти 13 (10–16)% ($p=0,34$), функціональний резерв моноцитів — 29 (10–53) проти 25 (7–50)% ($p=0,40$), частка фагоцитозу для моноцитів — 35 (29–39) проти 34 (30–39)% ($p=0,56$), частка фагоцитозу для нейтрофілів — 49 (42–57) проти 49 (44–58)% ($p=0,81$), кількість нейтрофілів із негативною активацією — 47 (39–54) проти 46 (33–53)% ($p=0,65$).

Згідно з регресійною моделлю, на моноцити здійснюють суттєво значимий одночасний вплив такі ФР, як цукровий діабет, надмірна маса тіла, тютюнопаління та гіперхолестеринемія ($R=0,43$; $F=3,4$; $p=0,008$) з переважачим внеском цукрового діабету ($B=0,33$; $p=0,003$) та надмірної маси тіла ($B=-0,24$; $p=0,036$). ФР не здійснювали сумарного впливу на кисеньзалежний метаболізм моноцитів та нейтрофілів ($p>0,05$).

Таким чином, поєднання цукрового діабету та недостатньої маси тіла підвищує функціональну активність моноцитів. Наявність ≥ 3 ФР атеросклерозу порівняно з наявністю 1–2 ФР не сприяє більшій активації системи фагоцитів у пацієнтів із ІХС.

Визначення показників імунного запалення свідчить про відмінність їх рівнів у крові у осіб із ІХС з 1–2 ФР та пацієнтами з ≥ 3 ФР (табл. 4).

Таблиця 4

Цитокиновий профіль у пацієнтів із хронічною ІХС з 1–2 ФР (1-ша група) та ≥ 3 ФР (2-га група) – відсоток відхилення від контролю

Група	СРБ	ФНП- α в МН	ІЛ-6 у МН	ІЛ-8 у МН	МСР-1
1-ша	+190v	+262v	+172v	+41	+481v
2-га	+355v*	+373v	+252v*	+101v*	+315v

Так, між пацієнтами з ІХС з ≥ 3 ФР порівняно з пацієнтами із 1–2 ФР рівень СРБ відповідно становив 5,0 (3,9–8,9) проти 3,2 (1,2–4,6) мг/л ($p=0,004$) ($R=0,13$; $p=0,11$), ФНП- α в мононуклеарних клітинах — 246 (97–490) проти 192 (78–520) пг/мл ($p=0,50$), ІЛ-6 в мононуклеарних клітинах — 2658 (2013–4432) проти 2058 (1320–3500) пг/мл ($p=0,022$) ($R=0,17$; $p=0,035$), ІЛ-6 в сироватці крові — 7,8 (4,6–19,3) проти 6,7 (4,7–18,6) пг/мл ($p=0,90$), ІЛ-8 в мононуклеарних клітинах — 2010 (1314–3320) проти 1411 (920–2646) пг/мл ($p=0,009$) ($R=0,21$; $p=0,010$), ІЛ-8 у сироватці крові — 12 (11–14) проти 12 (9–13) пг/мл ($p=0,47$), рівень МСР-1 — 307 (152–518) проти 430 (200–545) пг/мл ($p=0,27$).

Традиційні ФР зумовлюють прямий комплексний (сумарний) вплив на прозапальні цитокини, зокрема на ІЛ-6 ($R=0,35$; $F=4,3$; $p=0,007$), ІЛ-10 ($R=0,49$; $F=3,8$; $p=0,001$), ІЛ-8 ($R=0,48$; $F=3,3$; $p=0,004$), sICAM ($R=0,73$; $F=7,8$; $p=0,0003$) та СРБ ($R=0,52$; $F=3,5$; $p=0,003$). Згідно з регресійною моделлю, найбільший вплив на протизапальні цитокини спричиняють гіпертонічна хвороба ($B=0,41$; $p=0,001$) та надмірна маса тіла ($B=0,38$; $p=0,009$).

Таким чином, традиційні ФР спричиняють прямий потенціюючий сумарний вплив на утворення прозапальних цитокинів (ІЛ-6, -8, -10, sICAM) та СРБ у пацієнтів із ІХС з найбільшим внеском гіпертонічної хвороби та надмірної маси тіла. У осіб із хронічною ІХС наявність ≥ 3 ФР атеросклерозу порівняно з наявністю 1–2 ФР супроводжується слабкою, але достовірно вищою активністю імунного запалення (за даними СРБ, ІЛ-6 та -8).

Виявлено деякі відмінності між групами в рівні перекисної модифікації атерогенних ліпопротеїнів та білків (табл. 5): у групі з ≥ 3 ФР порівняно з пацієнтами із 1–2 ФР ступінь перекисної модифікації ліпопротеїнів був 5,7 (2,9–7,3) проти 5,4 (3,3–8,7) ум. од. ($p=0,40$), вільнорадикальне окиснення білків — 4,5

(3,0–6,1) проти 4,5 (2,9–6,2) ум. од. ($p=0,95$), перекисне окиснення апоВ-білків — 0,83 (0,60–1,25) проти 0,72 (0,53–1,00) ум. од. ($p=0,014$) ($R=0,16$; $p=0,020$).

Значення показників ПОЛ та антиоксидантного захисту у пацієнтів з ≥ 3 ФР порівняно з пацієнтами із 1–2 ФР були такими: МДА — 9,4 (6,2–11,7) проти 9,4 (7,8–12,5) мкмоль/мл ($p=0,23$), ДК — 3,0 (2,1–4,5) проти 2,5 (1,6–3,8) ум. од. ($p=0,042$) ($R=0,15$; $p=0,054$), каталаза — 7,4 (6,0–9,4) проти 7,4 (6,0–9,9) мкат/мл ($p=0,73$), СОД — 2500 (1500–3333) проти 2115 (1389–3500) U/l ($p=0,71$), кількість аутоантитіл до окиснених ЛПНЩ — 226 (130–447) проти 366 (175–670) mU/ml ($p=0,07$), кількість аутоантитіл до окиснених ЛПНЩ у складі ЦІК — 40 (22–84) проти 66 (19–164) mU/ml ($p=0,40$). Таким чином, у пацієнтів із хронічною ІХС наявність ≥ 3 ФР атеросклерозу порівняно з наявністю 1–2 ФР супроводжується слабкою, але достовірно вищою активністю ПОЛ та апоВ-білків.

Проведено зіставлення даних для оцінки зв'язку функціонального стану ендотелію з ФР атеросклерозу. Функціональний стан ендотелію у пацієнтів із ІХС з 1–2 ФР та пацієнтами з ≥ 3 ФР представлено в табл. 6.

Порівняльний аналіз показників функціонального стану ендотелію між пацієнтами з ІХС з ≥ 3 ФР порівняно з пацієнтами із 1–2 ФР виявив такі значення показників: стабільний метаболіт оксиду азоту крові NO_2 — 1,01 (0,77–1,62) проти 0,98 (0,67–1,48) мг/мл ($p=0,17$), цитрулін — 80 (61–97) проти 70 (57–93) мкмоль/л ($p=0,26$), фактор Віллебранда — 93 (57–120) проти 89 (6–120)% ($p=0,96$), ендотеліязалежна вазодилатація при манжетковій пробі — 4,2 (2,6–6,1) проти 7,5 (3,9–8,8)% ($p=0,09$) ($R=-0,40$; $p=0,089$), sICAM — 640 (478–790) проти 473 (365–650) нг/мл ($p=0,0009$) ($R=0,30$; $p=0,001$), sVCAM — 798 (480–1015) проти 637 (179–912) нг/мл ($p=0,23$).

ВИСНОВКИ

1. Традиційні ФР спричиняють несприятливий потенціюючий сумарний вплив на прозапальний цитокиновий статус, клітинний та гуморальний імунітет, систему фагоцитів у пацієнтів зі стабільною ІХС з найбільшим внеском у ці зміни гіпертонічної хвороби.

2. Наявність ≥ 3 ФР атеросклерозу у пацієнтів зі стабільною ІХС супроводжується слабким прямим, але статистично значущим зв'язком з активністю прозапальних цитокинів ІЛ-6 та -8, а також

Таблиця 5

Стан перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту у хворих на хронічну ІХС з 1–2 ФР (1 група) та трьома і більше ФР (2 група) (відсоток відхилення від контролю)

Група	СПМЛП	ВРОБ	ПОАпоБ	МДА	ДК	Каталаза	СОД
1-ша	+157v	+5	+20	+22	+67v	-40v	+11
2-га	+171v	+5	+38v*	+22	+100v*	-40v	+31

Таблиця 6

Функція ендотелію у пацієнтів із хронічною ІХС з 1–2 ФР (1-ша група) та ≥ 3 ФР (2-га група) – відсоток відхилення від контролю

Група	Ендотелін-1	NO_2	Цитрулін	Фактор Віллебранда	ЕЗВД	sICAM	sVCAM
1-ша	+61v	-73v	+21	+37	-25v	-12	+21
2-га	+88v	-72v	+38v	+43	-58v	+19*	+52

СРБ, ПОЛ і окисненими апоВ-білками, з тенденцією до більш вираженого коронарного атеросклерозу порівняно з наявністю 1–2 ФР.

3. Наявність ≥ 3 ФР атеросклерозу порівняно з 1–2 ФР не погіршує функціонального стану ендотелію у пацієнтів зі стабільною ІХС.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. **Бешешко В.Г., Чумак А.А., Базыка Д.А., Беляева Н.В.** (1993) Моноклональные антитела в радиационной иммунологии: Метод. реком. Киев, 19 с.

2. **Кондрашова Н.И.** (1974) Реакция потребления комплемента в новой постановке для выявления противотканевых антител. Лаб. дело, 9: 552–554.

3. **Пинегин Б.В., Ярилин А.А., Симонова А.В. и др.** (2001) Применение проточной цитометрии для оценки функциональной активности иммунной системы человека: Пособие для врачей-лаборантов. Москва, 53 с.

4. **Стандартизация методов иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга человека** (рекомендации рабочей группы СПб РО РААКИ) (1999) Мед. иммунология, 5(1): 21–43.

5. **Стефани Д.Ф., Вельтищев Ю.Е.** (1996) Клиническая иммунология и иммунопатология детского возраста. Медицина, Москва, 372 с.

6. **Унифицированные иммунологические методы обследования больных на стационарном и амбулаторном этапах лечения: Метод. рекомендации** (1988) Киевский НИИ фтизиатрии и пульмонологии. Киев, 18 с.

7. **Уразгильдеева С.А., Шаталина Л.В., Денисенко А.Д. и др.** (1997) Взаимосвязь между уровнем холестеринасодержащих иммунных комплексов и чувствительностью липопротеидов к перекисному окислению у больных ишемической болезнью сердца. Кардиология, 10: 17–20.

8. **Al-Isa A.N., Thalib L., Akanji A.O.** (2010) Circulating markers of inflammation and endothelial dysfunction in Arab adolescent subjects: Reference ranges and associations with age, gender, body mass and insulin sensitivity. Atherosclerosis, 208(2): 543–549.

9. **Alves J.D., Wirfält E., Drake I. et al.** (2015) A high quality diet is associated with reduced systemic inflammation in middle-aged individuals. Atherosclerosis, 238(1): 38–44.

10. **Chen Y.X., Wang X.Q., Mai J.T. et al.** (2013) C-reactive protein promotes vascular endothelial dysfunction partly via activating adipose tissue inflammation in hyperlipidemic rabbits. Intern. J. Cardiol., 168(3): 2397–2403.

11. **Digeon M., Caser M., Riza J.** (1977) Detection of immune complexes in human sera by simplified assays with polyethylene glycol. Immunol. Methods, 226: 497–509.

12. **Fontes J.D., Yamamoto J.F., Larson K.** (2013) Clinical correlates of change in inflammatory biomarkers: The Framingham Heart Study. Atherosclerosis, 228(1): 217–223.

13. **Jarvie J.L., Whooley M.A., Regan M.C. et al.** (2014) Effect of Physical Activity Level on Biomarkers of Inflammation and Insulin Resistance Over 5 Years in Outpatients With Coronary Heart Disease (from the Heart and Soul Study). Am. J. Cardiol., 114(8): 1192–1197.

14. **Libby P.** (2017) Interleukin-1 Beta as a Target for Atherosclerosis Therapy. Biological Basis of CANTOS and Beyond. J. Am. Coll. Cardiol., 70(18): 2278–2289. DOI: 10.1016/j.jacc.2017.09.028.

15. **Lin T., Liu J.-C., Chang L.-Y., Shen C.-W.** (2010) Association of C-reactive protein and homocysteine with subclinical coronary plaque subtype and stenosis using low-dose MDCT coronary angiography. Atherosclerosis, 212(2): 501–506.

16. **Mayr M., Zampetaki A., Willeit P. et al.** (2013) MicroRNAs within the continuum of postgenomics biomarker discovery. Arterioscler Thromb. Vasc. Biol., 33: 206–214.

17. **McEvoy J.W., Nasir K., DeFilippis A.P. et al.** (2015) Relationship of Cigarette Smoking With Inflammation and Subclinical Vascular Disease: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis/Significance. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 35(4): 1002–1010.

18. **Muhl H., Kunz D., Pfeilschifter J.** (1994) Expression nitric oxide synthase in rat glomerular mesangial cells mediated by cyclic AMP. Br. J. Pharmacol., 112: 1–8.

19. **Palomer X., Salvadó L., Barroso E., Vázquez-Carrera M.** (2013) An overview of the crosstalk between inflammatory processes and metabolic dysregulation during diabetic cardiomyopathy. Intern. J. Cardiol., 168(4): 3160–3172.

20. **Rana J.S., Arsenault B.J., Després J.-P. et al.** (2011) Inflammatory biomarkers, physical activity, waist circumference, and risk of future coronary heart disease in healthy men and women. Eur. Heart J., 32(3): 336–344.

21. **Snell F.D., Snell C.T.** (1984) Colorimetric methods of analysis. Van Nostrand, New York, p. 560.

СВЯЗЬ ОСНОВНЫХ ФАКТОРОВ РИСКА АТЕРОСКЛЕРОЗА С ИММУННЫМ ВОСПАЛЕНИЕМ, КЛЕТОЧНЫМ И ГУМОРАЛЬНЫМ ИММУНИТЕТОМ У ПАЦИЕНТОВ С ИБС СО СТАБИЛЬНОЙ СТЕНОКАРДИЕЙ

Т.И. Гавриленко, А.Н. Ломаковский, Е.А. Подгайна, М.И. Лутай

ГУ «ННЦ «Институт кардиологии им. Н.Д. Стражеско» НАМН Украины», Киев

Резюме. Введение. Сердечно-сосудистые факторы риска (ФР) имеют разные ассоциации с воспалительными биомаркерами. Однако значительное количество маркеров воспаления не объясняется традиционными ФР. **Цель исследования** — выявить возможную связь основных ФР атеросклероза с состоянием клеточных и гуморальных показателей приобретенного и врожденного иммунитета для понимания механизмов влияния ФР на развитие атеросклероза.

Объект и методы исследования. Обследовано 135 пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца (ИБС) с наличием 1–2 факторов риска (1-я группа) и 92 пациентов с наличием ≥ 3 ФР (2-я группа). Материал иммунологического исследования — периферическая венозная кровь. Для определения показателей клеточного и гуморального врожденного и адаптивного иммунитета в сыворотке крови и супернатантах мононуклеарных клеток использовали иммуноферментный анализ. **Результаты исследования.** У пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) с ≥ 3 ФР по сравнению с 1–2 ФР суммарное поражение коронарных артерий сердца на год жизни составило 1,90 (1,16–2,68) против 1,37 (0,80–2,57) усл. ед. ($p=0,08$) ($R=0,13$; $p=0,10$), уровень СРБ в крови 5,0 (3,9–8,9) против 3,2 (1,2–4,6) мг/л ($p=0,004$) ($R=0,13$; $p=0,11$), ИЛ-6 в мононуклеарах — 2658 (2013–4432) против 2058 (1320–3500) пг/мл ($p=0,022$) ($R=0,17$; $p=0,035$), ИЛ-8 в мононуклеарах — 2010 (1314–3320) против 1411 (920–2646) пг/мл ($p=0,009$) ($R=0,21$; $p=0,010$), диеновые конъюгаты в крови — 3,0 (2,1–4,5) против 2,5 (1,6–3,8) усл. ед. ($p=0,042$) ($R=0,15$; $p=0,054$), перекисное окисление апоВ-белков — 0,83 (0,60–1,25) против 0,72 (0,53–1,00) усл. ед. ($p=0,014$) ($R=0,16$; $p=0,020$), эндотелийзависимая вазодилата-

ция – 4,2 (2,6–6,1) против 7,5 (3,9–8,8)% ($p=0,09$) ($R=-0,40$; $p=0,089$), sICAM – 640 (478–790) против 473 (365–650) нг/мл ($p=0,0009$) ($R=0,30$; $p=0,001$). ФР оказывают комплексное суммарное влияние на такие составляющие клеточного иммунитета, как CD4 ($R=0,36$; $F=7,4$; $p=0,01$), sCD40L ($R=0,42$; $F=2,4$; $p=0,028$); на такие составляющие гуморального иммунитета, как антитела к компонентам стенки артерий ($R=0,43$; $F=4,1$; $p=0,005$), ЦИК ($R=0,43$; $F=2,9$; $p=0,008$), ХИК ($R=0,41$; $F=3,5$; $p=0,02$), IgG ($R=0,47$; $F=3,5$; $p=0,01$); на такие провоспалительные факторы, как ИЛ-6 ($R=0,35$; $F=4,3$; $p=0,007$), ИЛ-8 ($R=0,48$; $F=3,3$; $p=0,004$), sICAM ($R=0,73$; $F=7,8$; $p=0,0003$) и СРБ ($R=0,52$; $F=3,5$; $p=0,003$). **Выводы.** Традиционные ФР оказывают неблагоприятное потенцирующее суммарное влияние на провоспалительный цитокиновый статус, клеточный и гуморальный иммунитет, систему фагоцитов у пациентов со стабильной ИБС с наибольшим вкладом в эти изменения гипертонической болезни. Наличие ≥ 3 ФР атеросклероза у пациентов со стабильной ИБС сопровождается слабой прямой, но статистически значимой связью с активностью провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и -8, а также СРБ, перекисного окисления липидов и апоВ-белков, с тенденцией к большей выраженности коронарного атеросклероза по сравнению с наличием 1–2 ФР. Наличие ≥ 3 ФР атеросклероза по сравнению с 1–2 ФР не ухудшает функциональное состояние эндотелия у пациентов со стабильной ИБС.

Ключевые слова: стабильная ИБС, врожденный и адаптивный иммунитет, факторы риска.

RELATIONSHIP OF THE MAIN RISK FACTORS OF ATHEROSCLEROSIS WITH IMMUNE INFLAMMATION, CELLULAR AND HUMORAL IMMUNITIS IN CHD PATIENTS WITH STABLE STENOCARDIA

T.I. Gavrilenko, A.N. Lomakovsky,
O.A. Pidgaina, M.I. Lutay

State Institution «National scientific center «Institute of Cardiology named after academician M.D. Strazhesko» National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv

Abstract. Introduction. Cardiovascular risk factors (RF) have various associations with inflammatory biomarkers. However, a significant number of markers of inflammation are not explained by traditional RF. **The aim of the study** was to identify a possible relationship between the main RF for atherosclerosis and the state of cellular and humoral parameters of acquired and innate immunity in order to understand the mechanisms of influence of RF on the development of atherosclerosis. **Object and research methods.** We examined 135 patients with stable coronary heart disease

(CHD) with 1–2 RF (first group) and 92 patients with three or more RF (second group). The material for the immunological study was peripheral venous blood. To determine the parameters of cellular and humoral innate and adaptive immunity in blood serum and supernatants of mononuclear cells, enzyme immunoassay was used. **Research results.** In patients with CHD with three or more FR compared with 1–2 FR, the total lesion of the coronary arteries of the heart per year of life was 1.90 (1.16–2.68) against 1.37 (0.80–2.57) cu ($p=0.08$) ($R=0.13$; $p=0.10$), blood CRP level 5.0 (3.9–8.9) vs 3.2 (1.2–4.6) mg/l ($p=0.004$) ($R=0.13$; $p=0.11$), IL-6 in mononuclear cells – 2658 (2013–4432) against 2058 (1320–3500) pg/ml ($p=0.022$) ($R=0.17$; $p=0.035$), IL-8 in mononuclear cells – 2010 (1314–3320) against 1411 (920–2646) pg/ml ($p=0.009$) ($R=0.21$; $p=0.010$), diene conjugates in the blood – 3.0 (2.1–4.5) against 2.5 (1.6–3.8) cu ($p=0.042$) ($R=0.15$; $p=0.054$), peroxidation of apoB proteins – 0.83 (0.60–1.25) against 0.72 (0.53–1.00) cu ($p=0.014$) ($R=0.16$; $p=0.020$), endothelium-dependent vasodilation in the cuff test – 4.2 (2.6–6.1) vs 7.5 (3.9–8.8)% ($p=0.09$) ($R=-0,40$; $p=0,089$), sICAM – 640 (478–790) vs 473 (365–650) ng/ml ($p=0.0009$) ($R=0.30$); $p=0.001$). RF have a complex total effect on such components of cellular immunity as CD4 ($R=0.36$; $F=7.4$; $p=0.01$), sCD40L ($R=0.42$; $F=2.4$; $p=0.028$); for such components of humoral immunity as antibodies to the components of the arterial wall ($R=0.43$; $F=4.1$; $p=0.005$), circulating immune complexes ($R=0.43$; $F=2.9$; $p=0.008$), cholesterol-containing immune complexes ($R=0.41$; $F=3.5$; $p=0.02$), IgG ($R=0.47$; $F=3.5$; $p=0.01$); for pro-inflammatory factors such as IL-6 ($R=0.35$; $F=4.3$; $p=0.007$), IL-8 ($R=0.48$; $F=3.3$; $p=0.004$), sICAM ($R=0.73$; $F=7.8$; $p=0.0003$) and CRP ($R=0.52$; $F=3.5$; $p=0.003$). **Conclusions.** Traditional RF have an unfavorable potentiating total effect on the pro-inflammatory cytokine status, cellular and humoral immunity, and the phagocyte system in patients with stable CHD with the greatest contribution to these changes in hypertension. The presence of three or more RF for atherosclerosis in patients with stable CHD is accompanied by a weak direct, but statistically significant relationship with the activity of the proinflammatory cytokines IL-6, IL-8 and CRP, lipid peroxidation and apoB proteins, with a tendency to a greater severity of coronary atherosclerosis compared with the presence of 1–2 RF. The presence of three or more RF for atherosclerosis in comparison with 1–2 RF does not worsen the functional state of the endothelium in patients with stable CHD.

Key words: stable coronary artery disease, innate and adaptive immunity, risk factors.

Адреса для листування:

Ломаковський Олександр Миколайович
03151, Київ, вул. Народного ополчення, 5
ДУ «ННЦ «Інститут кардіології