

## МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ СОННЫХ АРТЕРИЙ

Т.В. Байдина<sup>1</sup>, М.А. Данилова<sup>1</sup>, Г.Г. Фрейнд<sup>2</sup>, И. С. Мухамедеев<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Кафедра неврологии лечебного факультета им. проф. В.П. Первушина, <sup>2</sup>кафедра патологической анатомии ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера Минздравсоцразвития России\*, <sup>3</sup>Пермская краевая клиническая больница

*Методом иммуноферментного анализа изучена концентрация интерлейкина (ИЛ)-6, ИЛ-10, С-реактивного протеина (С-РП) в сыворотке крови у 61 больного с атеросклеротическим поражением сонных артерий (СА). Результаты сопоставлены с ультразвуковыми характеристиками атеросклеротических бляшек (АСБ) и морфологическими особенностями их биоптатов, полученных при последующем проведении каротидной эндартерэктомии. Установлена повышенная концентрация изучаемых цитокинов и С-РП в сыворотке крови у больных с атеросклеротическим поражением СА, а также определено, что высокая концентрация ИЛ-6 и С-РП ассоциируется с прогрессирующим течением атеросклероза СА и его церебральными осложнениями. Показано, что определение уровня цитокинов и С-РП в сыворотке можно использовать как дополнительный метод диагностики нестабильного характера АСБ.*

**Ключевые слова:** атеросклероз сонных артерий, нестабильная атеросклеротическая бляшка, цитокины, С-реактивный протеин

*The concentration of interleukin (IL)-6, -10 and C-reactive protein (CRP) in serum of 61 patients with atherosclerotic carotid artery (CA) disease was studied by enzyme immunoassay. The findings were compared with the ultrasound characteristics of atherosclerotic plaques and the morphological features of biopsy samples obtained during the carotid endarterectomy. Patients with atherosclerotic lesions of CA had high level of IL-6, IL-10 and CRP in serum that was associated with progressive course of atherosclerosis and its complications. The level of cytokines and CRP in serum is shown to be one of the diagnostic hallmarks of the unstable atherosclerotic plaque.*

**Key words:** atherosclerosis of the carotid arteries, unstable atherosclerotic plaque, cytokines, C-reactive protein

Известно, что клиническое и прогностическое значение каротидного атеросклероза во многом определяется морфологическими особенностями атеросклеротической бляшки (АСБ) [2, 5]. Изучение тонких механизмов морфогенеза атероматозного процесса в последние годы позволило сформировать представления об угрожаемой, нестабильной, осложненной АСБ [4]. В настоящее время интенсивно разрабатываются клинические биохимические, инструментальные способы выявления различных степеней стабильности бляшек [1, 3], а также предикторов их дестабилизации. Эти исследования находятся лишь на начальном этапе поиска, проверки чувствительности и специфичности методов.

Цель работы — определить зависимость атеросклеротического процесса в сонных артериях (СА)

от показателей системного воспаления — интерлейкина (ИЛ)-6, ИЛ-10, С-реактивного протеина (С-РП) — в сыворотке крови, а также установить возможности использования маркеров воспаления для диагностики нестабильной АСБ в СА.

### Пациенты и методы исследования

В исследование были включены 52 мужчины и 9 женщин с атеросклеротическим поражением СА, средний возраст которых составил 62 (58—69 лет) года (основная группа). В группу сравнения вошло 23 пациента (9 мужчин и 14 женщин) без АСБ в СА. Для оценки наличия и выраженности атеросклеротического поражения сосудов шеи всем больным проводили дуплексное сканирование.

Концентрацию ИЛ-6, ИЛ-10 в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) у всех больных. У 17 пациентов с сочетанным атеросклеротическим поражением провели повторное исследование цитокинового статуса через 3 мес после каротидной эндартерэктомии (КЭ). Концентрацию С-РП в сыворотке крови методом ИФА изучали у 53 пациентов основной группы и у всех пациентов группы сравнения.

Всем пациентам с атеросклерозом СА выполнили КЭ с последующим патоморфологическим исследованием АСБ. Провели гистологическое исследование удаленных бляшек. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону. Замороженные срезы окрашивали суданом III. Иммуногистохимическое исследование с использова-

\*Россия, 614990, Пермь, ул. Куйбышева, 39.

Russia, 614990, Perm, Kuibysheva str., 32.

Сведения об авторах:

Байдина Татьяна Витальевна — ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера Минздравсоцразвития России, проф. каф. неврологии лечебного факультета им. проф. В.П. Первушина; Данилова Марина Анатольевна — ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера Минздравсоцразвития России, ассистент каф. неврологии лечебного факультета им. проф. В.П. Первушина; e-mail: skotar13@rambler.ru; Фрейнд Генриетта Герхардовна — ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера Минздравсоцразвития России, зав. каф. патологической анатомии, проф.; Мухамедеев Ильдус Султанович — ГБУЗ ПК ордена «Знак Почета» Пермская краевая клиническая больница, зам. гл. врача по хирургии, зав. отд.-нием сердечно-сосудистой хирургии и центра диабетической стопы.

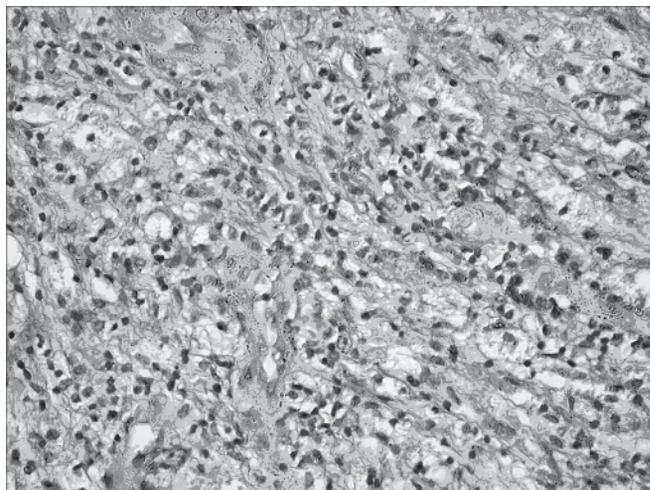


Рис. 1. Нестабильная атеросклеротическая бляшка.

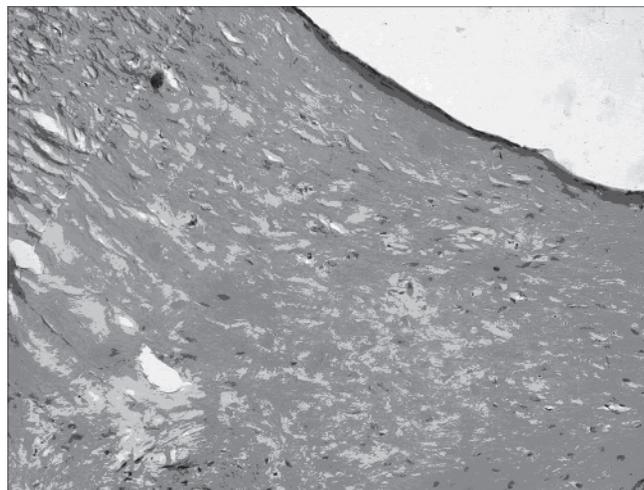


Рис. 2. Стабильная атеросклеротическая бляшка.

нием антител к макрофагам (CD68) («Dako», Дания), Т- и В-лимфоцитам (CD3, CD20).

По особенностям макроскопической картины и результатам гистологического исследования интраоперационного биоптата у 26 пациентов бляшки были расценены как нестабильные, у 35 — как стабильные. Нестабильные АСБ во время проведения КЭ подвергались фрагментации, липидное ядро легко крошилось, фиброзная покрывка имела признаки деструкции с тромботическими наложениями в очагах повреждения. При гистологическом исследовании покрывка нестабильной бляшки была истончена, коллагеновые волокна располагались разрозненно, в виде фрагментов. Отмечали большое количество ксантомных макрофагов, инфильтрацию нейтрофилами, В- и Т-лимфоцитами с преобладанием количества последних, обширные фокусы десквамации эндотелия (рис. 1).

Стабильные бляшки во время оперативных вмешательств удаляли, как правило, единым комплексом. При микроскопическом исследовании они имели плотную фиброзную, без видимых повреждений покрывку с большим количеством плотно расположенных коллагеновых волокон, в центре бляшек определяли очаги кальциноза, в основании бляшек встречали слабовыраженную лимфоцитарную инфильтрацию (рис. 2).

Рассчитали чувствительность методов определения концентрации ИЛ-6, ИЛ-10 и С-РП в сыворотке крови (способность распознать заболевание при его наличии) и специфичность тестов (способность дать отрицательный результат при отсутствии заболевания) в определении характера АСБ в СА.

Таблица 1

**Концентрация маркеров воспаления в сыворотке крови у больных с атеросклеротическим поражением прецеребральных артерий и больных без АСБ в СА**

Маркер воспаления	<i>n</i>	Пациенты с атеросклерозом СА	Пациенты без АСБ в СА	<i>p</i>
ИЛ-6, пг/мл	61	5,1; 2,8—9,4	1,2; 0,5—1,8	0,000
ИЛ-10, пг/мл	61	2,2; 0,5—4,1	0	0,000
С-РП, мг/л	53	4,5; 1,5—8,4	1,2; 0,8—2,0	0,005

Клинические проявления каротидного атеросклероза наблюдали у 24 (39,3%) пациентов основной группы (ишемический инсульт у 19, транзиторные ишемические атаки в анамнезе у 5). Атеротромботический подтип ишемического инсульта был установлен у 16, гемодинамический — у 7 пациентов. У 37 (60,7%) пациентов клинические проявления каротидного атеросклероза отсутствовали.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием методов вариационного и корреляционного анализа. Количественные признаки представлены в виде медианы и интерквартильного размаха. Достоверность различий (*p*) между группами оценивали с помощью непараметрических методов сравнения по качественным (критерий  $\chi^2$ ) и количественным (критерий Манна—Уитни) признакам. Для корреляционного анализа использовали критерий Спирмена (*R*). Различия показателей считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Установили высокую концентрацию ИЛ-6, ИЛ-10 и С-РП у больных с атеросклеротическим поражением СА по сравнению с таковой у пациентов, не имеющих АСБ в каротидном бассейне (табл. 1).

Получены данные о зависимости концентрации ИЛ-6 и С-РП от патоморфологических свойств АСБ (табл. 2).

В ходе исследования установили связь уровня ИЛ-6 и С-РП с осложненным течением каротидного атеросклероза (табл. 3). При этом выявили, что концентрация С-РП у больных с атеротромботическим

Таблица 2

**Маркеры воспаления сыворотки крови в зависимости от патоморфологических характеристик АСБ**

Маркер воспаления	<i>n</i>	Нестабильные АСБ в СА	Стабильные АСБ в СА	<i>p</i>
ИЛ-6, пг/мл	61	8,0; 4,4—11,6	4,3; 1,5—6,5	0,006
ИЛ-10, пг/мл	61	2,8; 1,6—5,0	1,6; 0—3,6	0,152
С-РП, мг/л	53	6,6; 2,3—9,6	2,1; 0,9—6,7	0,010

Таблица 3

Маркеры воспаления в сыворотке крови при клинических проявлениях и бессимптомном течении атеросклероза в СА

Маркер воспаления	n	Клинические проявления атеросклероза	Бессимптомный атеросклероз	p
ИЛ-6, пг/мл	61	8,0; 4,0—4,0	4,6; 2,1—7,7	0,042
ИЛ-10, пг/мл	61	3,3; 0,8—5,0	2,0; 0—3,2	0,200
С-РП, мг/л	53	6,8; 4,9—14,2	2,1; 1,3—6,3	0,002

Таблица 4

Динамика изменения концентрации цитокинов после КЭ

Концентрация цитокинов	n	До удаления АСБ из СА	Через 3 мес после КЭ	p
ИЛ-6, пг/мл	16	5,1; 2,8—9,4	5,2; 2,2—20,0	0,255
ИЛ-10, пг/мл	17	2,2; 0,5—4,1	3,3; 2,1—7,0	0,722

инсультом достоверно выше (9,3; 5,2—19,2 мг/л), чем у остальных пациентов основной группы (2,8; 1,8—6,9 мг/л,  $p = 0,011$ ).

Изучили влияние КЭ на концентрацию ИЛ-6, ИЛ-10 в сыворотке крови. Как показали результаты нашей работы, концентрация маркеров воспаления в сыворотке крови после оперативного лечения существенно не изменилась (табл. 4).

При сопоставлении концентрации ИЛ-6 и уровня С-РП в сыворотке крови у больных установили положительную корреляционную связь между этими показателями ( $R = 0,642$ ;  $p = 0$ ).

Провели анализ возможности использования изучаемых маркеров воспаления в сыворотке крови для диагностики нестабильной бляшки путем сопоставления их высокой/низкой концентрации с данными патоморфологического исследования биоптата бляшки, полученного при КЭ (табл. 5).

## Обсуждение

Об общности атеросклероза и воспаления свидетельствуют единые гуморальные и клеточные реакции, вовлеченные в эти процессы [7]. Участие воспалительных реакций в формировании атеросклеротического повреждения СА подтверждают результаты нашего исследования, показавшие, что у больных с атеросклерозом прецеребральных артерий повышена концентрация ИЛ-6, ИЛ-10 и С-РП в сыворотке крови. Цитокины, помимо того, что участвуют в инициации и прогрессировании атеросклероза, играют определенную роль в дестабилизации АСБ в СА, на что указывает повышенная концентрация цитокинов сыворотки крови у больных с нестабильными АСБ по сравнению с таковой у пациентов со стабильными бляшками. Это согласуется с данными литературы о значении воспаления в превращении стабильной АСБ в нестабильную, полученными *in vitro* и на животных моделях [6]. Таким образом, высокие показатели маркеров воспаления в сыворотке крови могут выступать в роли маркеров ранимых, склонных к разрыву бляшек. Клиническим отражением влияния ИЛ-6 и С-РП на свойства бляшки стала установленная повышенная концентрация этих показателей в сыворотке крови у пациентов с клиническими проявлениями каротидного атеро-

Таблица 5

Чувствительность и специфичность метода определения маркеров воспаления в сыворотке крови

Маркер воспаления	Чувствительность, %	Специфичность, %
ИЛ-6	73	68,5
ИЛ-10	30,7	80,0
С-РП	72,7	58,0

склероза. Определили, что повышенная концентрация С-РП ассоциируется с наличием церебральных осложнений, формирующихся по механизму атеротромбоза.

Результаты нашей работы показывают, что концентрация маркеров воспаления в сыворотке крови после удаления АСБ из СА существенно не изменилась. Это можно объяснить тем, что большинству из осмотренных в динамике пациентов предстояло повторное хирургическое вмешательство по поводу атеросклеротического поражения. Вероятно, именно АСБ в других сосудистых бассейнах поддерживают воспаление и соответственно высокий уровень цитокинов. Полученная связь между концентрацией С-РП и уровнем ИЛ-6 подтверждает системный характер воспаления при каротидном атеросклерозе.

Результаты исследования показали, что метод определения концентрации ИЛ-6 в сыворотке крови обладает достаточной чувствительностью и специфичностью для определения характера АСБ. Определение концентрации С-РП также оказалось высокочувствительным тестом для установления нестабильности АСБ. Методом, редко дающим ложноположительный результат, оказалось изучение концентрации ИЛ-10 в сыворотке крови.

Таким образом, определение концентрации цитокинов и С-РП в сыворотке крови у больных с атеросклерозом СА является объективным доступным дополнительным методом для установления качественных характеристик АСБ в СА, не требующих дорогостоящей аппаратуры.

## ЛИТЕРАТУРА

- Лагода О.В., Четкин А.О. Дуплексное сканирование в диагностике патологии сосудов // Атмосфера. Невр. бол. — 2004. — № 3. — С. 19—24.
- Лоенко В.Б., Сорокина Е.А., Смяловский В.Э., Губенко А.В. Структурные особенности окклюзирующего атеросклероза брахиоцефальных артерий и его взаимосвязь с клиническими проявлениями и характером заболевания // Сиб. мед. журн. — 2010. — Т. 25, № 1. — С. 24—30.
- Титов В.Н. Общность атеросклероза и воспаления: специфичность атеросклероза как воспалительного процесса (гипотеза) // Биохимия. — 2000. — № 4. — С. 3—10.
- Ишемическая болезнь сердца / О.П. Шевченко, О.Д. Мишнев и др. — М., 2005.
- Goldstein J. Multiple complex coronary plaques in patients with acute myocardial infarction // N. Engl. J. Med. — 2000. — Vol. 343, N 13. — P. 915—922.
- Moreno P.R. Atherothrombosis: The Global Approach for a Global Disease. Pathophysiology of Atherothrombosis: Highlights Monograph from an International Expert Meeting on Atherothrombosis. — Milan, 1998.
- Ross R. Atherosclerosis — an inflammatory disease // N. Engl. J. Med. — 1999. — Vol. 340, N 2. — P. 115—126.