

УДК 616.127-005.8-092-097

РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В ПАТОГЕНЕЗЕ ИНФАРКТА МИОКАРДА И ИХ МОДУЛЯЦИИ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

С.С. Белоусов¹, И.И. Новиков²,

¹ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития»,

²Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

Исследовался уровень в крови растворимых молекулярных форм sFas и растворимых форм молекулярных адгезинов ICAM-1, ICAM-3, CD 38 в фазах развивающегося, заживающего и зажившего течения. Установлено, что, начиная с острой фазы, уровень sFas и адгезинов вплоть до конца третьей недели среди больных крупноочаговым, Q-образующим инфарктом остаётся повышенным. В то же время у больных мелкоочаговым, не-Q инфарктом, уровень исследованных иммуно-молекулярных белков либо нормален, либо близок к нормальному уровню. Установлена тесная корреляция между уровнями sFas и sICAM-1. Авторы подчёркивают связь апоптоза миокарда и эндотелиального сосудистого воспаления и дисфункции эндотелия – важную цель терапии инфаркта, профилактики его осложнений и исходов.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, апоптоз, эндотелиальная дисфункция.

The concentration of soluble Fas-antigen and soluble molecules – adhesines (ICAM-1, ICAM-3, CD 38) was investigated in blood of patients with acute myocardial infarction. The concentration of this antigens in acute and subacute phases of infarction was increased in group of patients with Q-infarct. In group of patients with non-Q infarct sFAS and adhesines are increased slightly and in the end of third week its level was normal. Conclusion was made that inhibition of apoptosis and endothelial dysfunction is target of great importance in therapy of myocardial infarction.

Key words: myocardial infarction, apoptosis, endothelial dysfunction, soluble regulatory molecules.

С прогрессом биотехнологии на рубеже XX и XXI веков связаны новые перспективы в развитии кардиологии, более глубокое понимание механизмов патогенеза заболеваний, в числе которых и сердечно-сосудистые заболевания. Среди важных открытий в области кардиологии следует отметить открытие роли молекулярно-иммунологического механизма апоптоза, дисфункцию сосудистого эндотелия, свободно-радикальное окисление, нарушение митохондрий.

В последние годы сотрудниками НГУ им. Н.И. Лобачевского разработан и внедрен в практику научных исследований метод определения растворимых иммунных молекулярных белков, основанный на использовании моноклональных антител, давший возможность определять в сыворотке крови проапоптотический белок sFas и другие факторы иммунологической системы: молекулы адгезии – маркёры эндотелиальной дисфункции и сосудистого воспаления [1]. Основные положения теории апоптоза, роли митохондрий и эндотелиальной дисфунк-

ци были выработаны на основе работ, проводившихся в культуральных исследованиях и в экспериментах на животных. Поэтому важнейшими задачами кардиологии является подтверждение применимости этих положений в условиях реальной клинической практики.

Целью и задачами представляемой работы, которая проводится творческими коллективами кафедр Нижегородской медицинской академии, Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского и рядом МЛПУ города явилось изучение роли молекулярно-иммунологической системы в развитии апоптоза миокарда и эндотелиальной дисфункции при остром инфаркте миокарда в острую фазу болезни и постинфарктном периоде.

Материал и методы исследования

Было обследовано 104 человека больных острым инфарктом миокарда, поступивших в начальной фазе заболевания (в первые сутки) в специализированные кардиотерапевтические отделения ряда больниц города –

МЛПУ №№ 5 и 33 (главные врачи – Н.Н. Сухачёва и проф. П.С. Зубеев).

Среди больных мужчин было 91, женщин – 13. Средний возраст больных – 67 лет. Диагноз инфаркта устанавливался на основании клинических симптомов заболевания, ЭКГ, данных лабораторных исследований маркеров инфаркта – миоглобина, тропонина I, КФК МВ. Исследовались также серийные ЭКГ, ЭхоКГ для оценки кардиодинамики и оценки системного кровообращения.

В течение первых трёх дней после поступления проводился забор крови для определения в сыворотке крови уровня растворимого проапоптотического белка – sFas (CD 95), молекул адгезии sICAM-1 (CD 54), sICAM-3 (CD 50), CD 38.

За время пребывания в стационаре больные получали лечение в соответствии с установленными стандартами, в ходе которого проводился контроль за динамикой перечисленных иммуно-молекулярных показателей в конце острого периода (через 10 дней от начала заболевания) и на 20–24-й день болезни, что соответствовало средней продолжительности фазы заживающего инфаркта и переходу в фазу рубцевания. Методом флуориметрии определялись прооксидантный и антиоксидантный статус, промежуточные и конечные продукты перекисного окисления липидов (диеновые и триеновые конъюгаты, основания Шиффа). Исследовалась динамика в крови ТНФ-альфа, содержание в крови IL 1, IL 10 методом ИФА.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакетов прикладных компьютерных программ Статистика-6 и Статграф. Использовались параметрические и непараметрические методы анализа. Корреляционные связи между групповыми показателями оценивались с помощью регрессионного анализа, показателей корреляции Пирсона, ранговой корреляции Спирмена. Достоверность выводов принималась при показателе достоверности меньше 0,05 для доверительного интервала 95%. Все показатели сравнивались с результатами исследования контрольной группы, состоявшей из 44 здоровых лиц-волонтеров.

Все больные были разнесены на две группы. В первую группу были включены больные с крупноочаговым, Q-образующим инфарктом миокарда, во вторую группу – больные с мелкоочаговым, не Q-инфарктом. В первой группе было 56 больных (54% от общего числа включённых в исследование больных), 48 больных были включены во вторую группу.

Результаты и обсуждение

Уровни растворимых sFas-антигенов и молекул адгезинов у здоровых лиц (контрольная группа) были следующими: sFas – 356±39,1; CD 54 – 64±14,4; CD 50 – 343±61,2; sCD 38 – 228,3±55,5 (все результаты представлены среднегрупповыми значениями $M \pm \sigma$ U/ml).

31 пациент из 56 больных, имевших крупноочаговый инфаркт и включённые в исследование, прошли трёхкратный динамический контроль изучавшихся иммунологических показателей. Данные этих больных внесены в таблицу 1.

ТАБЛИЦА 1.

Динамика sFas, sCD 54, sCD 50, sCD 38 у больных крупноочаговым инфарктом в процессе лечения

Этапы лечения	Дифференцировочные антигены ($M \pm \sigma$ U/ml)			
	sFas (CD 95)	sICAM-1 (CD 54)	sICAM-3 (sCD 50)	CD 38
1	469,7±41,7 n=31	104,6±12,2 n=24	395,4±21,1 n=20	244,83±59,18 n=28
2	418,35±19,48 n=31	99,2±12,5 n=24	365,9±22,6 n=19	205,86±71,8 n=21
3	461,63±659,4 n=31	79,8±63,8 n=24	351,4±8,91 n=20	217,73±54,6 n=15

Примечание: этапы лечения: 1 – среднегрупповой уровень дифференцировочных антигенов при поступлении; 2 – концентрация антигена через 10 дней лечения; 3 – уровень антигена через 20–24 дня лечения. Все показатели этапа 1 статистически достоверно повышены относительно нормы. Показатель sFas и sICAM-1 повышены на всех этапах лечения. Уровень sICAM-3 снижен на 2-м этапе по сравнению с нормой (достоверно).

Оставшиеся 25 пациентов по разным причинам прошли неполное цикловое исследование и поэтому их данные не представляем таблицу внесены не были.

При рассмотрении полученных результатов обращает внимание значительный разброс полученных данных, их дисперсия. Это может объясняться, по нашему мнению, различной величиной объёма некротического поражения у разных больных, различиями генетически определяемыми особенностями регуляторных систем у больных разного пола, возраста, а также теми путями, которыми развивается апоптоз.

ТАБЛИЦА 2.

Динамика дифференцировочных антигенов в процессе лечения больных мелкоочаговым инфарктом

Этапы лечения	Дифференцировочные антигены ($M \pm \sigma$ U/ml)			
	sFas (CD 95)	sICAM-1 (CD 54)	sICAM-3 (CD 50)	CD 38
1	398,6±33,4 n=19	59,9±21,1 n=30	425,5±71,1* n=12	217,15±39,9 n=25
2	402,8±41,0 n=22	61,63±4,3*/** n=22	445,15±70,8** n=12	244,38±23,19 n=18
3	347,7±39,0 n=22	90,75±44,48*/** n=20	363,6±63** n=10	219,84±42,36 n=12

Примечание: этапы лечения: 1 – среднегрупповой уровень дифференцировочных антигенов при поступлении; 2 – концентрация антигена через 10 дней лечения; 3 – уровень антигена через 20–24 дня лечения. * - показатели статистически достоверно отличающиеся от показателей нормы. ** - значения концентраций достоверно отличные от исходных данных.

Все приведённые показатели достоверно статистически отличались от показателей здоровых лиц в сторону повышения и кроме того, как указано в графе «Межгрупповая достоверность», между данными

различных этапов (за исключением концентрации CD 38). Также можно видеть, что повышенные концентрации антигенов сохраняются на протяжении всего срока наблюдения, что может быть связано с продолжающимся процессом апоптоза, эндотелиальной дисфункцией и сосудистым воспалением.

На том же принципе построена таблица 2, содержащая данные о группе больных с мелкоочаговым инфарктом миокарда.

Из таблицы 2 видно, что у больных мелкоочаговым инфарктом миокарда уровень sFas и sICAM-3 только в остром периоде миокарда повышен относительно нормы. Уровни ICAM-1 и CD 38 находятся в пределах нормальных значений, т. е. не выходят за границы $M \pm 1,5\sigma$ (нормы). На этапе лечения 3-й уровень sFas находится в пределах нормы, как и уровень sICAM 3. Уровень sCD 38 статистически значимых изменений не имеет.

Из представленных в таблицах данных можно видеть различие в уровне и динамике sFas – маркера апоптоза и молекулярных адгезинов в группах крупноочагового и мелкоочагового инфаркта. Связь между размером некроза и апоптозом дискутируется кардиологами. Одна группа исследователей [2, 3] отрицает связь между размерами инфаркта и интенсивностью апоптотического процесса. Другие, наоборот, её подтверждают [4, 5, 6, 7, 8]. Наши данные согласуются с выводами последних.

Изменения sFas и sCD 54 коррелируют между собой: групповые показатели при Q-инфаркте между sFas и sCD 54 имеют коэффициент корреляции Пирсона, равный 0,65, что свидетельствует о достаточно тесной связи между этими показателями. Индекс детерминированности (R^{кв}) равнялся 33%, что позволяет предполагать патогенетическую общность, лежащую в основе этих изменений. Корреляция между sFas и CD 38 в группе крупноочагового инфаркта была положительна: R (Спирман) был 0,49 ($p=0,028$). В группе мелкоочагового инфаркта корреляция этих показателей была недостоверна.

Полученные результаты показывают, что при крупноочаговом инфаркте активируются белки-адгезины (CD 54, CD 50, CD 38), связанные с эндотелиальной дисфункцией и воспалением в сосудистой интимае, являющиеся факторами патогенеза инфаркта миокарда, атеросклероза, ИБС и тромбогенезом.

Приведённые результаты показывают, что при возникновении острого ишемического некроза (инфаркта) миокарда возникает иммунная реакция, направленная на отграничение зоны погибшего миокарда, уничтожение погибшей ткани и её восполнение. В этой реакции принимает участие клеточная популяция полиморфноядерных лейкоцитов (вострую фазу процесса), а затем моноцитарно-макрофагальные лейкоциты, которые с помощью молекул химокинов и адгезинов транслоцируются через эндотелиальный барьер, формируя очаг иммунного воспаления в

миокарде и в сосудистой стенке. В периинфарктной зоне (зоне субкритической ишемии) возникает апоптоз кардиомиоцитов, что расширяет область функционального и структурного поражения, приводя к ухудшению глобальной сократимости желудочка, его ремоделированию, сердечной недостаточности и ухудшению прогноза заболевания [9].

Сам процесс апоптоза может (если ориентироваться на повышенный уровень его маркера sFas) продолжаться 3–4 недели, также как и уровень ICAM-1, коррелированный с процессом апоптоза.

Помимо самого частого пути, ведущего к апоптозу – Fas зависимого пути, – есть ещё и другие факторы его инициации. Важное значение в развитии апоптоза, как показали исследования последних лет [10, 11, 12], играет участие в этом процессе митохондрий. При сильном стрессовом воздействии в цитоплазме митохондрий увеличивается концентрация ионизированного кальция. При этом в обеих мембранах митохондрий возникает канал – «пора», размер которой может достигать 2,9 нм. Через эту пору в цитоплазму клетки выходят белки апоптоза – активаторы каспаз, вызывающие деградацию ДНК. При этом отмечается выход фосфатидилсерина на наружную поверхность мембраны, что делает клетку доступной для клеток-фагоцитов, которые завершают гибель клетки. В образовании трансмембранной поры играет важную роль перекисное окисление липидов мембран. Этот путь апоптоза носит название митохондриального пути.

К настоящему времени имеются сообщения об эффективности торможения транслокации лейкоцитов через эндотелиальную мембрану в сосуды и миокард при остром инфаркте, что приводит к уменьшению сосудистого иммунного воспаления и размеров повреждения сердца и площади некроза. При этом были использованы различные пути: ингибция хемокина IL 8, применение антител к лейкоцитам, белкам-адгезинам [13, 14]. Проведение курса подобного лечения предупреждает ремоделирование желудочка и развитие сердечной недостаточности в постинфарктном периоде. Подобные эффекты несут также и некоторые ингибиторы АПФ.

Стратегия терапии инфаркта миокарда, основанная на торможении апоптоза миокарда, восстановлении эндотелиальных функций, может в дальнейшем способствовать (совместно с применяющимися стандартами терапии) повышению эффективности лечения инфаркта миокарда, улучшению его исходов и снижению смертности.

Выводы, которые можно сделать из проведенной работы:

1. Возникновение инфаркта миокарда вызывает с первых дней заболевания активацию апоптоза в инфаркт-связанных зонах миокарда, что может определяться по уровню в крови проапоптотического белка sFas.
2. Рецепторный путь апоптоза по данным теста с sFas наблюдается у больных с крупноочаговым у 74% больных.

Продолжительность апоптоза может составлять до 4 недель, что следует учитывать при определении длительности лечения, имеющей целью ограничение апоптоза.

3. Наряду с усилением синтеза sFas наблюдается повышенный синтез также молекул-адгезинов, что расценивается как показатель эндотелиальной дисфункции и показатель сосудистого иммунного воспаления.

4. Торможение апоптоза в ранние фазы острого инфаркта миокарда, восстановление нарушенных функций эндотелия следует считать стратегической задачей терапии инфаркта миокарда, направленной на сохранение структуры и функции миокарда в постинфарктном периоде, предупреждение ремоделирования желудочка, сердечной недостаточности и улучшение исходов болезни.



ЛИТЕРАТУРА

- 1.** Новиков В.В., Караулов А.В., Барышников А.Ю. Растворимые формы мембранных антигенов клеток иммунной системы. М. 2008. С. 243.
- 2.** Ohtsuka N., Hamada M., Sasaki O. et al. Clinical implication of soluble Fas and Fas ligand in patients with acute myocardial infarction. *Coron. Artery Dis.* 1999. Jun. 10 (4). P. 221–225.
- 3.** Kleinman Ph, Harriet D. Association between of necrosis markers and apoptosis. *Legal medicine.* 2009. suppl 1. P. 311–312.
- 4.** Владимирцева Т.Э., Швед П., Хулук Т.Э. Морфологическая верификация роли апоптоза в гибели кардиомиоцитов при ишемической болезни сердца. URL: <http://www.terra medica.spb/ru/122.2004/Kolesnikova.htm>.
- 5.** Krijken P.A., Nijmijer R, Mejer C. et al. Apoptosis in myocardial ischemia and infarction. 2002. № 55. P. 801–811.
- 6.** Ekhterae D., Hinmon R., Metsasaki K. et al. Infarction induced myocardial apoptosis and ARC activation. *J. Surg., Res.* 2009. Jun. 6. preprint.
- 7.** Zhi-Q Zhao, Morris C., Budde J. et al. Inhibition of myocardial apoptosis reduces infarct size and regional contractile dysfunction during reperfusion. *Cardiovasc. Res.* 2003. № 59 (1). P. 132–142.
- 8.** Блушкина Н.Н. Роль апоптоза в патогенезе заболеваний. URL: <http://www.science-faculty.net.ru/lec/apoptosis.htm>.
- 9.** Best E. Apoptosis: Basic concepts and implication in coronary artery disease. *Arterioscl.Thrombdj vasc Byol.* 1999. № 19. P. 14–22.
- 10.** Гордеева А.В., Лабаз Ю.А. *Vivos Voco.* Природа. 2005. № 6 (1).
- 11.** Nonette-Gaulaine K., Quinerta D., Letelle' Role et implication en anesthesie-re'animation. *Ann Francaises d'anesth., Reanim.* 2007. № 26 (4). P. 319–333.
- 12.** Скулачев В.П. Кислород в живой клетке. Добро и зло. URL: <http://nature.web.ru/db/msg.html?md=115762448=1.html>
- 13.** Boyl E.M., Kovacic J., Herbert C. et al Inhibition of interleukin-8 blocks myocardial reperfusion injury. *Am. Heart J.* 1999. № 137 (6). P. 1145–1152.
- 14.** Romson J.I., Hook B.G, Kunkel S. et al. Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circul.* 1983. Vol. 67. P. 1016–1063.