

© Павлова Е. А.

УДК 616. 12-008. 46-036. 12-085. 37:612. 017. 1

Павлова Е. А.

ВЛИЯНИЕ ИММУНОКОРЕКЦИИ НА СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОЙ И ГУМОРАЛЬНОЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Харьковский национальный медицинский университет (г. Харьков)

Данная работа является фрагментом НИР «Гематологические механизмы хронизации воспаления», № гос. регистрации 0106U001639.

Вступление. Проблема хронической сердечной недостаточности (ХСН) продолжает оставаться актуальной в связи с неуклонным ростом числа заболевших и в настоящее время занимает ведущие позиции в структуре заболеваемости и смертности населения страны от сердечно-сосудистой патологии [1]. Одной из основных причин ХСН является ишемическая болезнь сердца (ИБС), которая встречается в анамнезе более чем у 70 % больных с ХСН.

ХСН – комплекс циркуляторных и метаболических реакций возникающих вследствие кардиальной дисфункции и являясь сложным многофакторным процессом, результатом воздействия на сердечно-сосудистую систему этиологических факторов и мобилизации комплекса компенсаторных механизмов, сопровождающийся нарушением различных звеньев иммунологической реактивности организма, что и определяет в дальнейшем особенности течения и прогноза ХСН [5-8, 10-17].

Целью настоящей работы явилось изучение закономерностей изменения показателей неспецифической клеточной и гуморальной реактивности у больных с ХСН, до и после стандартной терапии и у аналогичных больных где в дополнение к стандартной терапии проводилась иммунокоррекция.

Объект и методы исследования. Под наблюдением находились 20 больных, возрасте (45 – 65 лет). Из них 10 человек (группа А, контрольная) – больные ИБС, III функциональный класс (ФК) (одышка, сердцебиение, ангинозные боли возникали при обычной физической нагрузке), ХСН – II А ст. (нарушения гемодинамики-умеренные), проводилась стандартная терапия. И 10 наблюдаемых (группа В) – больные ИБС, III ФК (одышка, сердцебиение, ангинозные боли так же возникали при обычной физической нагрузке), ХСН – II А ст. (нарушения гемодинамики-умеренные), которым проводилась профилактическая иммунокоррекция на фоне общепринятой терапии. В качестве иммуномодулятора использовался иммунофан, который вводили по 1 мл 0,005% раствора внутримышечно один раз в сутки в течение 7 дней. Длительность заболевания была около 5-ти лет. При определении ФК стенокардии пользовались критериями Нью-Йоркской ассоциации сердца (NYHA), диагноз устанавливался на

основании жалоб, анамнеза болезни, данных объективного обследования, 6-минутного теста-ходьбы.

Исследование иммунного статуса проводили дважды: до и через 10 дней после лечения. Забор крови из локтевой вены проводили в утренние часы натощак. Определение гемолитической активности комплемента производили по методике Л. С. Резникова [3]. Фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН) периферической крови определяли унифицированным методом В. В. Меньшикова [3, 4] с использованием микробной тест-культуры (*Staphylococcus aureus*, штамм 9198) по количеству опсонизированных и переваренных внутриклеточно частиц тест-культуры. Фагоцитарное число (ФЧ), фагоцитарный индекс (ФИ) и индекс бактерицидности нейтрофилов (ИБН) также определяли унифицированным методом В. В. Меньшикова [3]. Количественное содержание цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6) и С-реактивного белка (СРБ) исследовали иммуноферментным методом с использованием наборов реагентов фирмы «Протеиновый контур» (С. -Пб.). Статистическую обработку полученных данных производили с использованием рангового U-критерия Манна-Уитни и T-критерия Вилкоксона с помощью пакета STATISTICA v. 6. 0 (компания StatSoft, Inc ®) [2, 9].

Результаты исследований и их обсуждение. Анализ результатов исследований, характеризующих состояние неспецифической клеточной иммунологической реактивности, больных с ХСН средней степени тяжести, возникшей на фоне ИБС, до лечения (**табл. 1**) свидетельствует о некотором снижении исходного уровня комплемента – в 1,1 раза, ФЧ и ФИ через 30 минут инкубации – в 1,2 и 1,21 раза соответственно, КФЧ – в 1,1 раза, по сравнению с контролем. ИБН в исследуемой группе и показатели ФЧ и ФИ через 120 минут инкубации практически не отличались от контроля.

После лечения с применением иммуномодулятора достоверно увеличивался уровень комплемента – в 1,3 раза ($p < 0,05$) относительно исходного уровня (52,20 (5,00) против 40,40 (4,63)) и в 1,1 раза, однако не достоверно – относительно контроля (52,20 (5,00) против 48,28 (2,41)), а также ИБН – в 1,3 раза по отношению к исходному уровню ($p < 0,01$) и контролю ($p < 0,05$) (44,22 (4,06) против 34,33 (2,82) и 35,10 (2,02) соответственно). Также достоверно увеличивались в сравнении с исходными

Показатели клеточной неспецифической иммунологической реактивности у больных ХСН средней тяжести после иммунокоррекции проводимой на фоне стандартной терапии (M (m), n = 10)

Показатель	Группа А до лечения	Группа В до лечения	Группа А после лечения	Группа В после лечения
Фагоцитарное число (30)	5,60 (0,20)	4,89 (1,05)	6,60 (0,26)**	5,67 (0,50)
Фагоцитарное число (120)	7,30 (0,62)	7,11 (1,37)	6,60 (0,48)	6,56 (0,63)
КФЧ	0,80 (0,09)	0,70 (0,05)	1,04 (0,09)	0,90 (0,08)*
Фагоцитарный индекс (30)	34,60 (2,20)	29,67 (1,69)	39,10 (1,85)	36,67 (2,08)*
Фагоцитарный индекс (120)	38,40 (2,44)	37,00 (2,45)	45,20 (2,44)	46,33 (2,91)*
ИБН	30,40 (1,61)	34,33 (1,82)	35,10 (2,02)	44,22 (2,06)***
Уровень комплемента, титр/мл	44,97 (2,02)	40,40 (4,63)	48,28 (2,41)	52,20 (2,00)*

Примечание: группа А – ХСН, средняя степень тяжести, обычная терапия, группа В – ХСН, средняя степень тяжести, иммунокоррекция на фоне обычной терапии. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$ – достоверность различий с контролем * $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ - достоверность различий в группах А и В к данным до лечения.

значениями ФИ через 30 и 120 минут инкубации – в 1,24 ($p < 0,05$) и 1,25 ($p < 0,05$) раза соответственно, КФЧ – в 1,4 раза ($p < 0,05$), что может свидетельствовать о возросшей функциональной активности клеток и гуморальных факторов после проведенной иммуномодулирующей терапии.

Таким образом, проведенные исследования показали, что изменения неспецифической клеточной иммунологической реактивности, вероятно, зависят как от стартового состояния иммунной системы до начала лечения, так и от проводимой иммуномодулирующей терапии.

Концентрация ряда провоспалительных цитокинов в крови больных исследуемой группы до лечения была несколько выше контроля: ИЛ-1 β (68,02 (9,05) пг/мл против 50,16 (17,05) пг/мл), ИЛ-6 (46,78 (1,49) пг/мл против 44,54 (9,34) пг/мл), ИЛ-4 (49,90 (3,60) пг/мл против 44,42 (2,66) пг/мл), а концентрация ФНО- α – достоверно (100,0 (5,75) пг/мл против 59,28 (7,55) пг/мл) ($p < 0,01$) (табл. 2). Известно, что цитокины образуются активированными клетками для оказания влияния на предварительно активированные клетки. Средние концентрации провоспалительных цитокинов способствуют индукции синтеза белков острой фазы и в нашем исследовании влияние цитокинов характеризовалось достоверным увеличением концентрации С-реактивного белка (9,27 (0,46) мг/л против 7,21 (0,25) мг/л) ($p < 0,05$) до лечения. Существует представление, что увеличенные концентрации провоспалительных цитокинов без соответствующего возрастания противовоспалительных свидетельствует о наличии системного воспалительного ответа. Примечательно, что степень увеличения уровней провоспалительных

цитокинов соответствует степени тяжести ХСН.

После лечения были выявлены следующие изменения цитокинового профиля. Содержание ИЛ-6 достоверно снизилось – в 1,2 раза ($p < 0,05$) – относительно исходных значений и несколько – в 1,14 раза – по отношению к контролю. Уровень ИЛ-4 достоверно увеличился – в 1,12 раза ($p < 0,05$) – относительно исходных значений и недостоверно – в 1,23 раза – по сравнению с контролем. Концентрация ФНО- α была достоверно ниже – в 1,2 раза ($p < 0,05$) – исходных значений и недостоверно превышала (в 1,2 раза) контроль. Содержание ИЛ-1 несколько снижалось (в 1,1 раза) по отношению к исходным данным и оставалось незначительно выше контроля. Те же тенденции мы наблюдали и по отношению к уровню С – реактивного белка [15, 19]. Наблюдалось достоверное его снижение – в 1,3 раза ($p < 0,05$) – по сравнению с исходными данными, но мало отличалось от контроля.

Таблица 2
Содержание цитокинов и СРБ в сыворотке крови у больных с ХСН средней степени тяжести на фоне обычной терапии с иммунокоррекцией (M (m), n = 10)

Показатель	Группа А до лечения	Группа В до лечения	Группа А после лечения	Группа В после лечения
ФНО- α , пкг/мл	59,28 (7,55)	100,00 (5,75)**	61,02 (13,63)	73,30 (4,56)*
ИЛ-1 β , пкг/мл	50,16 (17,05)	68,02 (9,05)	41,78 (7,12)	64,56 (15,99)
ИЛ-6, пкг/мл	44,54 (9,34)	46,78 (1,49)	45,02 (4,74)	39,32 (1,46)**
ИЛ-4, пкг/мл	44,42 (2,66)	49,90 (2,10)	45,92 (7,92)	56,26 (2,05)*
СРБ, мг/л	7,21 (0,25)	9,27 (0,46)**	7,07 (0,24)	7,25 (0,31)*

Примечание: группа А – ХСН средняя степень тяжести, обычная терапия, группа В – ХСН средняя степень тяжести, иммунокоррекция на фоне обычной терапии. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$ - достоверность различий с контролем. # - $p < 0,05$; ## - $p < 0,01$ – достоверность различий данных до и после лечения в группе В.

Увеличение уровня ИЛ-4 (полифункционального цитокина активно влияющего на процессы восстановления поврежденных тканей) является результатом активации Th2 в зоне повреждения, ответственных за потенцирование пролиферативной и функциональной активности многих клеток участвующих в реализации поздней

клеточно-опосредованной фазы иммунного ответа. Полученные данные свидетельствуют об активации неспецифического гуморального звена иммунологической реактивности имеющей адаптивный характер и направленной на восстановление функционального состояния иммунной системы у больных исследуемой группы под влиянием иммунокоррекции.

Выводы.

1. ХСН средней тяжести сопровождается исходным снижением защитной функции полиморфноядерных лейкоцитов. Применение иммунокоррекции в дополнение к стандартной терапии, сопровождается увеличением функциональной активности полиморфноядерных лейкоцитов, литической активности системы комплемента.

2. Снижение уровня провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-6 и увеличение содержания

ИЛ-4 в крови после применения иммунокоррекции в дополнение к стандартной терапии свидетельствует о восстановлении показателей неспецифической гуморальной реактивности, уменьшении активности процесса и снижении риска развития возможных осложнений.

3. Для восстановления измененных показателей неспецифической клеточной и гуморальной иммунологической реактивности, которые ассоциируется с тяжестью ХСН, возникает необходимость применения иммуномодуляторов в дополнение к стандартной терапии.

Перспективы дальнейших исследований в данном направлении возможны, в частности, в виде изучения показателей специфической клеточной и гуморальной реактивности у больных ХСН средней тяжести до и после иммунокоррекции проводимой в дополнение к стандартной терапии.

Литература

1. Барна О. М. Маркери запалення в стратифікації ризику серцево-судинних захворювань / О. М. Барна // Ліки України. – 2007. – № 115-116. – С. 6-11.
2. Гмурман В. Е. Теория вероятностей и математическая статистика / В. Е. Гмурман. – М.: Высшая школа, 2001. – 479 с.
3. Медицинские лабораторные технологии / под ред. А. И. Карпищенко. – СПб.: Интермедика, 1999. – Т. 2. – 656 с.
4. Олиферук Н. С. Оценка фагоцитарной и бактерицидной активности нейтрофилов, макрофагов и незрелых дендритных клеток / Н. С. Олиферук, А. Н. Ильинская, Б. В. Пинегин // Иммунология. – 2005. – № 1. – С. 10–12.
5. Писарева В. Г. Динамика цитокинов при хронической сердечной недостаточности под влиянием комбинированной терапии / В. Г. Писарева, Н. В. Демихова, О. А. Власенко // Проблемы сучасної медичної науки та освіти. – 2009. – № 2. – С. 19–21.
6. Прилуцкий А. С. Иммунодефицитные состояния в клинической практике. Варианты, клинико-лабораторные признаки, методы оценки / А. С. Прилуцкий // Лікування та діагностика. – 2004. – № 2. – С. 25-32.
7. Скуинь Л. М. Иммунная система и вторичные иммунодефицитные состояния / Л. М. Скуинь // Медицинская помощь. – 2004. – № 3. – С. 25-27.
8. Тодоріко Л. Д. Цитокині – нова система регуляції захисних реакцій організму, їх роль у формуванні запалення / Л. Д. Тодоріко, К. В. Рихлецька // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т. 3, № 1. – С. 91-96.
9. Халафян А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных / А. А. Халафян. – 3-е изд. – М.: ООО Бином-Пресс, 2007. – 512 с.
10. Hudzik B. Serum interleukin-6 concentration reflects the extent of asymptomatic left ventricular dysfunction and predicts progression to heart failure in patients with stable coronary artery disease / B. Hudzik, J. Szkodzinski, W. Romanowski [et al.] // Cytokine. – 2011. – Vol. 54, № 3. – P. 266–271.
11. Kalogeropoulos A. Inflammatory markers and incident heart failure risk in older adults: the Health ABC (Health, Aging, and Body Composition) study / A. Kalogeropoulos, V. Georgiopoulou, B. M. Psaty [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2010. – Vol. 55, № 19. – P. 2129–2137.
12. Martins T. B. Risk factor analysis of plasma cytokines in patient with coronary artery disease by a multiplexed fluorescent immunoassay / T. B. Martins, J. L. Anderson, J. B. Muhlestein [et al.] // Am. J. Clin. Pathol. – 2006. – Vol. 125. – P. 906-913.
13. Memon L. Association of C-reactive protein with the presence and extent of angiographically verified coronary artery disease / L. Memon, V. Spasojevic – Kalimanovska // Tohoku J. Exp. Med. – 2006. – Vol. 209. – P. 197-206.
14. Nakagomi A. Upregulation of monocyte proinflammatory cytokine production by C-reactive protein is significantly related to ongoing myocardial damage and future cardiac events in patients with chronic heart failure / A. Nakagomi, Y. Seino, Y. Endoh [et al.] // J. Card. Fail. – 2010. – Vol. 16, № 7. – P. 562–571.
15. Richter B. Differences in the predictive value of tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) in advanced ischemic and non-ischemic heart failure / B. Richter, K. Rychli, P. J. Hohensinner, [et al.] // Atherosclerosis. – 2010. – Vol. 213, № 2. – P. 545–548.
16. Zhang H. F. Tumor necrosis factor-alpha G-308A gene polymorphism and coronary heart disease susceptibility: an updated meta-analysis / H. F. Zhang, S. L. Xie, J. F. Wang [et al.] // Thromb. Res. – 2011. – Vol. 127, № 5. – P. 400–405.
17. Zourdidaks E., Avanzas P. Markers of inflammation and rapid coronary artery disease progression in patients with stable angina pectoris // Circulation. – 2004. – Vol. 110. – P. 1747-1753.

УДК 616. 12-008. 46-036. 12-085. 37:612. 017. 1

ВПЛИВ ІМУНОКОРЕКЦІЇ НА СТАН НЕСПЕЦИФІЧНОЇ КЛІТИННОЇ ТА ГУМОРАЛЬНОЇ ІМУНОЛОГІЧНОЇ РЕАКТИВНОСТІ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ СЕРЦЕВУ НЕДОСТАТНІСТЬ.

Павлова О. О.

Резюме. Після профілактичної імунотерапії, проведеної в сполученні із базовим лікуванням хронічної серцевої недостатності середньоважкого ступеня, яка виникла на тлі ішемічної хвороби серця, в порівнянні з контролем встановлено: підвищення захисної функції поліморфноядерних лейкоцитів крові,

їх літичної активності та активності системи комплементу і рівня цитокину ІЛ-4; зниження рівнів ІЛ-1, ІЛ-6 і ФНО- α ; що може свідчити про відновлення показників неспецифічної гуморальної реактивності, зменшенні активності процесу і зниженні ризику розвитку можливих ускладнень.

Ключевые слова: хронічна серцева недостатність, ішемічна хвороба серця, профілактична імунокорекція, неспецифічна клітинна і гуморальна реактивність.

УДК 616. 12-008. 46-036. 12-085. 37:612. 017. 1

ВЛИЯНИЕ ИММУНОКОРЕКЦИИ НА СОСТОЯНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ КЛЕТЧНОЙ И ГУМОРАЛЬНОЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Павлова Е. А.

Резюме. После профилактической иммунокоррекции, проведенной в сочетании с базисной терапией, при хронической сердечной недостаточности средней тяжести, возникшей на фоне ишемической болезни сердца, по сравнению с контролем установлено: увеличение защитной функции полиморфноядерных лейкоцитов, опсонизирующей и лизирующей их активности, активности системы комплемента и уровня ИЛ-4; снижение уровней ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО- α ; что может свидетельствовать о восстановлении показателей неспецифической гуморально реактивности, уменьшении активности процесса и снижении риска развития возможных осложнений.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, ишемическая болезнь сердца, профилактическая иммунокоррекция, неспецифическая клеточная и гуморальная реактивность.

UDC 616. 12-008. 46-036. 12-085. 37:612. 017. 1

Influence of the Immunocorrection on the State of Nonspecific Cellular and Humoral Immunological Reactivity Patients with Chronic Heart Failure

Pavlova Ye. A.

Abstract. The problem of chronic heart failure (CHF) continues to be relevant and currently holds a leading position in the structure of morbidity and mortality from cardiovascular disease. CHF – complex circulatory and metabolic reactions arise owing to cardiac dysfunction. Pathogenesis of heart failure is a complex multifactorial process, resulting impact on the cardiovascular system of etiological factors and mobilizing complex compensatory mechanisms involving the violation of various parts of the immunological reactivity of the organism, which further defines the course and prognosis of CHF.

The aim of this work was to study regularities of changes nonspecific cellular and humoral immunological reactivity in patients with chronic heart failure, before and after standard therapy compared to similar patients where, in addition to standard therapy, was carried immunotherapy.

We observed two groups of patients with chronic heart failure, which accompanied by moderate hemodynamic disorders. Cause of heart failure was coronary heart disease. For treatment of one group of the patients we used the standard therapy, and the other carried immunocorrection in addition to standard therapy. As an immunomodulator, we used immunofan.

The study of immunological reactivity was performed twice – before and 10 days after of treatment. Determination of hemolytic complement activity, phagocytic activity of neutrophils in peripheral blood was determined by standardized method. Phagocytic number, phagocytic index and neutrophil bactericidal index was also determined by standardized. Quantitative content of cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-6) and C-reactive protein examined by ELISA using sets of reagents firm “Protein contour” (St. -Petersburg).

Analysis of the results of research which characterize the state nonspecific cellular immunological reactivity in patients with chronic heart failure of moderate severity showed a decrease in the initial protective function of polymorphonuclear leukocytes (phagocytic number, phagocytic index and neutrophil bactericidal index). Use of immunocorrection in addition to standard therapy, accompanied by an increase functional activity of polymorphonuclear leukocytes, the activity of the complement system. Activation nonspecific cellular and humoral reactivity is adaptive in nature and is aimed at restoring the functional state of the immune system in patients of the study group.

At the same time reduction of proinflammatory cytokines TNF- α , IL-1, IL-6 necessary condition for the realization the reparative effects of cytokines in the focus their reasonable concentration, which is possible only after the utilization of antigenic material by neutrophils and macrophages. Increased levels in the blood of IL-4 (antiinflammatory, multifunctional cytokine) actively influences on cell-mediated reactions of late-phase and processes to repair damaged, decrease in the activity of the process during CHF and a whole – reducing the risk of possible complications. To restore altered nonspecific cellular and humoral immunological reactivity, which is associated with the severity of chronic heart failure, there is a necessity of using immunomodulators in addition to standard therapy.

Key words: chronic cardiac insufficiency, ischemic heart disease, preventive immunocorrection, nonspecific cellular and humoral reactivity.

Рецензент – проф. Костенко В. О.

Стаття надійшла 29. 03. 2014 р.