

Сдвиги в содержании иммуноцитокінов, пролактина, инсулиноподобного фактора роста и закиси азота в сыворотке крови больных при идиопатической дилатационной кардиомиопатии (сообщение 1)

В.С. Григорян

НИЦ и кафедра внутренних болезней № 1 ЕрГМУ им. М. Гераци

Ключевые слова: кардиомиопатия, иммунопатогенез, интерлейкины, нейроэндокринная модуляция, закись азота

Дилатационная кардиомиопатия (ДКМП), по данным Комитета экспертов ВОЗ, является наиболее распространенной формой кардиомиопатии и рассматривается как заболевание неизвестной этиологии [1]. Основным проявлением этого заболевания является хроническая недостаточность кровообращения.

Braundward E. [2], помимо идиопатической дилатационной кардиомиопатии (ИДКМП), также выделяет синдром ДКМП, развивающийся как конечный исход повреждения миокарда в результате действия различных токсических, метаболических и инфекционных факторов.

На Конгрессе Европейского общества кардиологов (Берлин, 1994) Schulheiss Y. [3] представил данные комплексного клинко-иммунологического, иммуноморфологического, вирусологического исследования большой группы больных ДКМП, у которых при световой микроскопии не было обнаружено признаков поражения миокарда и местной воспалительной реакции. В то же время на фоне минимальных поражений миокардиоцитов и стромальных элементов уже на ранних этапах течения заболевания наблюдалась заметная активация фибропластических процессов, которая по мере течения заболевания приводила к развитию интерстициального фиброза, вследствие чего происходила "изоляция", потеря десмопластических свойств кардиомиоцитов, отделенных друг от друга плотными коллагеновыми волокнами. Именно поэтому патогенетически оправданным представляется определение инициальных этапов развития патологического процесса в паренхиматозных и стромальных структурах миокарда, что в дальнейшем позволит разработать новые, патогенетически обоснованные подходы в лечении ИДКМП.

В патогенезе ИДКМП важная роль принадлежит иммунопатологическим расстройствам, особенно в медиаторном звене иммунитета [4-6]. Не исключено, что многие инициальные реакции в миокарде, в том числе и ранняя активация фибропластических процессов, связаны с формированием *in situ* межклеточных коопераций "макрофаг-фибробласт", "лимфоцит-фибробласт", тем более что подобная функциональная связь, опосредующая синтез фибронектина и первичных структур коллагенового белка стромальными фибробластами миокарда, широко дискутируется в литературе [7, 8].

Более того, в отдельных литературных источниках приводятся сведения, касающиеся иммуноцитокинового статуса больных ИДКМП, однако механизмы их направленной активации и/или ингибиции остаются неизученными. Учитывая то обстоятельство, что многие процессы в медиаторном звене иммунитета опосредованы повышенной секрецией в аденогипофизе пролактина и инсулиноподобного фактора роста, не исключено, что при ИДКМП сдвиги именно в данном звене эндокринной системы являются определяющими в механизмах направленной выработки иммуноцитокінов.

В настоящее время оксиду азота (NO) отводится важная роль в механизме ауторегуляции коронарного кровообращения путем поддержания как артериального, так и артериолярного базального тонуса [9-11].

Ныне NO является предметом специального исследования при ряде заболеваний сердечно-сосудистой системы, в том числе и при дилатационной кардиомиопатии [12-15]. В последнем случае, как правило, регистрируется отрицательный инотропный эффект, связанный с местным усиленным синтезом NO в эндо-

тели коронарных сосудов и в самих миокардиоцитах [12, 16]. Предметом широкой дискуссии являются сдвиги в общей цепи "α-аргинин-NO-синтез-NO" *in situ*, связанные с повышенной выработкой иммуноцитоклинов как в органах иммуногенеза, так и в регионах дистрофии и активации репаративных процессов поврежденного миокарда.

В настоящем исследовании приводятся результаты проведенного иммуноферментного и радиоиммунного анализа на предмет определения в сыворотке крови больных ИДКМП иммуноцитоклинов, пролактина, инсулиноподобного фактора роста и закиси азота.

Материал и методы

Объектом комплексных исследований служила сыворотка крови 35 больных в возрасте 25–44 года с диагнозом ИДКМП. Все больные подвергались комплексному клинично-инструментальному обследованию, включая ЭКГ, двухмерную и доплер-эхокардиографию, стресс-эхокардиографию, в отделении диагностики медицинского центра "Эребуни" [8]. Выбор больных для последующего параклинического анализа проводился согласно классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов с учетом характеристики выраженности нарушения кровообращения (НК) – ФК II и ФК III. Диагноз ИДКМП устанавливался согласно критериям ВОЗ [1]. Эхокардиография и электрокардиографическое исследование позволили исключить наличие врожденных и приобретенных пороков сердца, легочного сердца, артериальной гипертензии и других заболеваний, которые могли бы привести к кардиомегалии с развитием НК. Полученная у больных ИДКМП сыворотка крови замораживалась при $t -40^{\circ}$.

Контрольную группу составил практически здоровый контингент – студенты I и II курсов ЕрГМУ и волонтеры в возрасте 25–45 лет, которые также были подвергнуты клинично-лабораторному обследованию.

В сыворотке крови лиц, страдающих ИДКМП, и здорового контингента методами иммуноферментного и радиоиммунологического анализа определяли содержание интерлейкинов (ИЛ-1, -2, -6), γ-интерферона (γ-ИФН), пролактина, инсулиноподобного фактора роста (ИФР-1) и NO. Для определения уровня иммуноцитоклинов использовались соответствующие кит-наборы производства фирмы DRG-International (США–Германия), пролактина – фирмы Syntrop Bioresearch Inc. (Чехословакия), ИФР-1 – фирмы Amersham Pharmacia Biotech UK Limited (США), NO – фирмы Assay Designs. Inc. (США).

Содержание ИЛ-1, -2, -6 и γ-ИФН выражали в *пг/мл*, пролактин – в *нг/мл*, ИФР-1 – в *нмг/мл*, NO – в *ммоль/л*.

Имуноферментный анализ на предмет определения ИЛ-1, -2, -6, γ-ИФН, пролактина и NO проводили на спектрофотометре Stat-Fax 303 в режиме поглощения при длине волны 450 *нм*.

Радиоиммунологические измерения с целью обнаружения ИФР-1 проводили на радиоизотопном счетчике типа "Тамма-1" (Россия–Украина). Полученные результаты подвергались статистическому анализу с использованием критериев Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Как показали результаты иммуноферментного анализа, в сыворотке крови больных ИДКМП определялись сравнительно высокие показатели иммуноцитоклинов провоспалительного спектра действия. Так, содержание моноцитарного цитокина – ИЛ-1 превышало контрольный уровень в 1,7 раза. Наиболее высокие показатели были зарегистрированы при определении в крови больных содержания ИЛ-2, уровень которого превышал исходный в 2 раза. В то же время уровень γ-ИФН понижался по сравнению с таковым у лиц контрольной группы в 2,5 раза. Содержание ИЛ-6 определялось в пределах контрольных величин (табл. 1).

Таким образом, благодаря проведенному иммуноферментному анализу удалось установить, что в медиаторном звене иммунитета больных ИДКМП имеют место разнонаправленные сдвиги – активация синтеза таких провоспалительных цитокинов, каковыми являются ИЛ-1 и ИЛ-2, на фоне заметного подавления синтеза конкретными лимфоцитарными популяциями γ-ИФН, который рассматривается в качестве медиатора адаптогенного спектра действия.

Каковы возможные механизмы, лежащие в основе направленного синтеза и ингибции конкретных иммуноцитоклинов при ИДКМП?

Не исключено, что при указанном заболевании задействованы сдвиги в нейроэндокринной системе, поскольку в настоящее время установлены общие функциональные петли нейроэндокринной и иммунной взаиморегуляции [16, 17]. Именно поэтому последующим этапом наших исследований послужил иммуноферментный анализ на предмет определения уровня пролактина и ИФР-1 в сыворотке крови больных, страдающих ИДКМП.

Целесообразность проведения подобных исследований продиктована тем обстоятельством, что указанным гормонам аденогипофиза отводится важная роль в процессах модуляции иммунной системы, реализуемой, в первую очередь, через избирательную стимуляцию провоспалительных цитокинов [18, 19].

В результате проведенных исследований удалось установить, что уровень пролактина и ИФР-1 при ИДКМП заметно превышает таковой у лиц контроль-

ной группы. Так, содержание пролактина и ИФР-1 в сыворотке крови больных превышало исходный уровень соответственно в 3,0 и 1,5 раза (табл. 2).

На основании проведенных исследований можно заключить, что высокий уровень провоспалительных иммуноцитоклинов ИЛ-1 и ИЛ-2 в сыворотке крови при ИДКМП обусловлен именно процессами гиперсекреции пролактина и ИФР-1, тем более что подобный механизм стимулирующего действия указанных нейроромонов на клетки макрофагального и лимфо-

Таблица 1

Содержание иммуноцитоклинов в сыворотке крови больных, страдающих ИДКМП

Сыворотка крови	Показатели иммуноцитоклинов, пг/мл		
	ИЛ-1	ИЛ-2	γ-ИФН
Контрольная группа	160.0±37.8 n = 10	263.8±25.2 n = 11	74.95±14.0 n = 10
Больные ИДКМП	278.9 ± 16.95 p<0.001 n = 10	611.2±54.5 p<0.001 n = 11	163.9±24.8 p<0.001 n = 10

Следующим этапом наших исследований послужил иммуноферментный анализ на предмет определения в сыворотке крови больных ИДКМП уровня закиси азота. Необходимость проведения подобных исследований продиктована тем обстоятельством, что в настоящее время процессы, связанные с ремоделированием миокарда при ряде заболеваний сердечно-сосудистой системы в условиях нарастающей сердечной недостаточности, ассоциируются с процессами нарушенного синтеза NO in situ, т. е. в кардиоэндоцитах и миокардиоцитах.

Как показали результаты проведенного иммуноферментного анализа, в сыворотке крови больных ИДКМП определялись довольно высокие показатели NO, почти в 2 раза превышающие исходный уровень (табл. 2). Не исключено, что выраженный отрицательный инотропный эффект, наблюдаемый у больных ИДКМП, обусловлен повышенным синтезом NO in situ (а возможно, и во всех компонентах сердечно-сосудистой системы), тем более что подобный механизм в современной литературе широко дискутируется [9–11]. Более того, благодаря проведенным исследованиям удалось установить, что в качестве возможного эндогенного источника, модулирующего процессы местного синтеза NO, выступали конкретные иммуноцитоклины провоспалительного спектра действия – ИЛ-1, ИЛ-2, в то время как в современной литературе приводятся сведения, касающиеся стимулирующей роли не только ИЛ-1 и -2, но и γ-ИФН.

В то же время обнаруженный нами при ИДКМП весьма низкий уровень γ-ИФН свидетельствует, правда косвенно, в пользу отсутствия признаков формиро-

вального ряда в плане избирательного синтеза ими соответственно ИЛ-1 и ИЛ-2 считается установленным [18–20]. Не исключено также, что высокий уровень пролактина, в свою очередь, поддерживается благодаря усиленному синтезу ИЛ-1 и ИЛ-2. Так, доказано также существование прямой двусторонней корреляционной зависимости в пределах функционирования данной конкретной нейроэндокринно-иммунной петли [20, 21].

Таблица 2

Содержание пролактина, ИФР-1 и NO в сыворотке крови больных, страдающих ИДКМП

Сыворотка крови	Определяемые показатели		
	Пролактин, нг/мл	ИФР-1, нмг/мин	NO, ммоль/л
Контрольная группа	12.7±1.3 n=12	227.9±10.3 n=18	218.0±13.0 n=11
Больные ИДКМП	25.9±3.8 p<0.001 n=12	197.2±11.6 p<0.001 n=18	428.0±18.0 p<0.001 n=11

вания адаптивных реакций в медиаторном звене иммунитета, поскольку именно лимфоцитарному интерферону в настоящее время отводится важная роль в становлении антиинфекционного и, в первую очередь, антивирусного иммунитета. Данное обстоятельство имеет немаловажное значение, поскольку вирусная концепция и по сей день является основополагающей в патогенезе ИДКМП [2, 3].

Таким образом, нами было установлено, что у больных ИДКМП структурно-функциональная перестройка миокарда сопровождается процессом усиленного синтеза провоспалительных иммуноцитоклинов ИЛ-1 и ИЛ-2, которые лежат в основе повышения уровня закиси азота, чем, в известной степени, и обусловлен отрицательный инотропный эффект при данном заболевании. Благодаря проведенным исследованиям установлена важная, а возможно, и определяющая роль пролактина и ИФР-1 в механизме направленной активации провоспалительных иммуноцитоклинов – ИЛ-1 и ИЛ-2 у лиц, страдающих ИДКМП.

Полученные нами результаты, безусловно, не являются исчерпывающими, поскольку невыясненными остаются механизмы, лежащие в основе активации фибропластических процессов именно на ранних этапах течения ИДКМП. Поэтому в наших последующих сообщениях будут проанализированы результаты собственных исследований, а также будет предпринята попытка установить корреляционную зависимость между уровнем иммуноцитоклинов, включая и TNF-α, с одной стороны, и содержанием NO и фибронектина, – с другой.

Поступила 09.02.02

Իմունացիտոկինների, պրոլակտինի, IGF-1-ի և NO-ի պարունակության տեղաշարժերը՝ իդիոպատիկ դիլատացիոն կարդիոմիոպատիայով հիվանդների արյան շիճուկում

Վ.Ս. Գրիգորյան

Իմունաֆերմենտային (ELISA) և ռադիոիմունաբանական (RIA) անալիզների եղանակներով ուսումնասիրվել են իմունացիտոկինների (IL I, II, VI, γ -IFR), պրոլակտինի, IGF - 1-ի և NO-ի պարունակության տեղաշարժերը՝ իդիոպատիկ դիլատացիոն կարդիոմիոպատիայով հիվանդների արյան շիճուկում՝ հիվանդության համեմատաբար վաղ փուլերում:

Հաստատված է բորբոքմանը նպաստող IL I և IL II իմունացիտոկինների բարձր մակարդակի առկայությունը, ինչով և ըստ երևույթին պայմանավորվում է վաղ ֆիբրոպլաստիկ պրոցեսների ձևավորումը նշված հիվանդության ժամանակ: Իմունացիտոկինների

ուղղորդված ակտիվացման մեխանիզմում ընդգրկված են նաև էնդոկրինային տեղաշարժերը, որոնք միջնորդված են պրոլակտինի և IGF-1-ի գերարտադրման պրոցեսներով:

Բացառված չէ, որ NO-ի սինթեզի աճը ներկայացնում է իրենից որոշակի իմունա-ցիտոկինների՝ IL I-ի և IL II-ի, ուղղորդված ակտիվացման արդյունք, քանզի հիվանդների արյան շիճուկում γ -IFR-ի մակարդակը զգալիորեն նվազում է, իսկ IL VI-ի ցուցանիշները գտնվում են հսկիչ արժեքների սահմաններում:

Shifts in the contents of immunocytokines, prolactin, IGF-1 and NO in the blood serum of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy

V.S. Grigoryan

The shifts in contents of immunocytokines (IL I, II, VI, γ -IFR), prolactin, IGF-1 and NO in blood serum of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy at comparatively early stages of disease were studied by means of immunoferrmental (ELISA) and radioimmunological (RIA) methods of analysis.

The high level of pro-inflammatory immunocytokines IL I and IL II was established that perhaps conditions the formation of early fibroplastic processes in the mentioned

disease. The endocrine shifts, mediated by the hypersecretion processes of prolactin and IGF-1, are also involved in the mechanism of directed activation of immunocytokines.

It is not excluded that the increased synthesis of NO in situ is a result of the directed activation of concrete immunocytokines IL I and IL II since the level of γ -IFN in patients' blood serum was rather lowered, but indices of IL VI were within control values.

Литература

1. Manolio T., Baughman K., Rodeheffer R. Amer. J. Cardiology, 1992, 69, p. 1458.
2. Braudward E. Heart Disease. Philadelphia, 1996.
3. Schultheiss H. Cardiomyopathies, 1993, p. 215.
4. Keeling P., McKenna W. Eur. Heart J., 1995, 16, p. 395.
5. Satoh M. Eur. Heart J., 1995, 16, p. 219.
6. Kipshidze N. Amer. Cell Cardiology, 1998, 31, 5, p. 2C.
7. Кузник Б., Васильев Н., Цыбиков Н. В кн.: Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма. М., 1989.
8. Сисакян А. С. Автореф. докт. дисс. М., 2001.
9. Harrison V., Corder R., Anggard E., Vane J. J. Cardiovasc. Pharmacol., 1993, 22, p. 57.
10. Levin E. N. Engl. J. Med., 1995, 323, p. 356.
11. Quyyume A., Dakak N. J. Clin. Invest., 1995, 95, p. 1747.
12. Torre-Amoione G., Kapadia S., Lee J. et al. Circulation, 1996, 4, p. 704.
13. De Belder A., Radomski M., Why H. et al. Lancet, 1993, 341, p. 84.
14. Halib F., Springall D., Davies G. et al. Lancet, 1996, 347, p. 1151.
15. Satoh M., Nakamura M., Tamura G. et al. J. Am. Cell Cardiol., 1997, 29 (4), p. 716.
16. Levi-Montalcini R. Science, 1987, 237, p. 1154.
17. Plaut M. Ann. Rev. Immunol., 1987, 5, p. 621.
18. Holstad M., Sandler S. J. Endocrinol., 1999, 163, 2, p. 229.
19. Richards S., Garmen R., Keyes L. et al. J.M. Cell Immunol., 1998, 15, 184, 2, p. 85.
20. Ярилин А., Беляков И. Иммунология, М., 1996, с. 4.
21. Clapp C., Lopez-Gomez F., Nava G. et al. J. Endocrinol., 1998, 158, 1, p. 134.