Маркеры воспаления в процессе развития атеросклероза

А.П. Шаврин*, Я.Б. Ховаева, В.А. Черешнев, Б.В. Головской
ГОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия имени академика Е.А.Вагнера. Пермь, Россия

Inflammation markers in atherosclerosis development

A.P. Shavrin*, Ya.B. Khovaeva, V.A. Chereshnev, B.V. Golovskoy
Academician E.A. Vagner Perm State Medical Academy. Perm, Russia

Цель. Изучить показатели воспалительного процесса на разных стадиях развития атеросклероза.
Материал и методы. У 174 человек в возрасте 21–70 лет выполнено ультразвуковое сканирование брахеоцефальных сосудов на аппарате АЛОКА 5000, для визуализации атеросклеротических бляшек и определения толщины комплекса интима-медиа (КИМ). Методом иммуноферментного анализа (ИФА) в плазме крови определяли количественное содержание С-реактивного белка (СРБ) тест-системой SeroELISA фирмы "Diagnostic Systems Laboratories" (США), и цитокинов с помощью отечественных тест-систем (ООО "Цитокин", СПб): фактор некроза опухолей (ФНОα), интерлейкин-1 (ИЛ-1), ИЛ-4 и ИЛ-8.
Результаты. Содержание СРБ и провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-8, ФНОα зависит от стадии атеросклеротического процесса, степени увеличения толщины КИМ. Увеличение концентрации СРБ до уровня, характеризующего системную воспалительную реакцию, отмечено у лиц с субклиническим течением атеросклероза и у пациентов с постинфарктным кардиосклерозом.
Заключение. Существует взаимосвязь между толщиной сосудистой стенки и выраженностью латентного воспалительного процесса, причем качественные изменения в интенсивности воспалительного процесса имеют место на начальных этапах формирования атеросклероза.

Ключевые слова: атеросклероз, воспаление, цитокины.

Aim. To study different inflammation markers at various stages of atherosclerosis progression.
Material and methods. In 174 21–70-year-old people, brachial artery ultrasound (Aloka 5000) was performed to visualize atherosclerotic plaques and assess intima-media thickness (IMT). Immuno-enzyme analysis was used to measure plasma levels of C-reactive protein, CRP (SeroELISA test system, Diagnostic Systems Laboratories, USA), and cytokines – tumor necrosis factor alpha (THF-alpha), interleukins 1, 4 and 8 (IL-1, 2, and 8) (Russian test systems, Cytokine company, St. Petersburg).
Results. The levels of CRP, IL-1, IL-8 and TNF-alpha were dependent on atherosclerotic process stage and IMT. CRP levels typical for systemic inflammatory reaction were observed in individuals with subclinical atherosclerosis and patients with post-infarction cardiosclerosis.
Conclusion. There was an association between IMT and latent inflammation activity. Qualitative changes in inflammation intensity were observed even at early stages of atherosclerosis development.

Key words: Atherosclerosis, inflammation, cytokines.

Причины развития атеросклеротического процесса до настоящего времени остаются не выясненными. В частности, роль холестерина (ХС) в развитии заболевания не получила полного подтверждения, т. к. атеросклеротический процесс развивается у лиц с нормальным содержанием ХС и даже при низких его концентрациях [5,8]. Такими факторами риска (ФР) как артериальная гипертензия (АГ), курение, сахарный диабет (СД), ожирение (Ож), гиподинамия и отягощенная наследственность только в 50% можно объяснить развитие атеросклероза [9]. В последние годы обращают внимание на роль латентного воспалительного процесса в патологии сосудов и в частности атеросклероза [1,2]. Латентный воспалительный процесс в организме определяют по показателям С-реактивного белка (СРБ), а также цитокинов, белковых молекул – медиаторов межклеточных коммуникаций при воспалении [2].

Целью исследования являются показатели воспалительного процесса на разных стадиях развития атеросклероза.

© Коллектив авторов, 2009
Тел./факс: (342) 236–86–21
e-mail: andreas-67@mail.ru

[Шаврин А.П. (*контактное лицо) – доцент кафедры терапии и семейной медицины ФПК и ППС; Ховаева Я.Б. – заведующая этой же кафедрой, Черешнев В.А. – академик РАН и РАМН, председатель УрОРАН, Головской Б.В. – профессор кафедры терапии и семейной медицины ФПК и ППС].

Материал и методы

Обследованы 174 человека в возрасте 25–60 лет. Все обследованные были разделены на 4 группы. I группу сравнения (ГС) составили практически здоровые лица без ФР; в эту группу вошли 23 человека, 8 мужчин и 15 женщин, средний возраст 43,8±2,1 года. Во II группу включены практически здоровые лица с наличием ФР: курение, дислипидемия (ДЛП), избыточная масса тела (МТ), отягощенная наследственность по сердечно-сосудистым заболеваниям (ССЗ), но без признаков атеросклеротических изменений в сосудах: (n=104), из них 47 мужчин и 57 женщин, средний возраст – 44,1±0,6 года. III группу составили 29 человек с ФР, у которых при дуплексном ультразвуковом исследовании (ДУЗИ) были обнаружены атеросклеротические бляшки (АБ) в брахеоцефальных сосудах; из них – 15 мужчин и 14 женщин, средний возраст – 51,3±1,7 года. IV группа – 18 пациентов, у которых в анамнезе указание на перенесенный инфаркт миокарда (ИМ): 14 мужчин и 4 женщины, средний возраст – 51,2±2,3 года.

Критериями включения служили практически здоровые мужчины и женщины в возрасте 25–60 лет, а так же пациенты с постинфарктным кардиосклерозом.

Критерии исключения: АГ любой этиологии, наличие острых и обострение хронических заболеваний органов и систем, сердечная недостаточность (СН) любого функционального класса (ФК), СД 1 и 2 типов (СД-2), беременность.

Для оценки состояния здоровья на момент обследования была использована анкета “САМПО” [4]. ДУЗИ брахеоцефальных сосудов проводили на аппарате АЛОКА 5000, для визуализации АБ и определения толщины комплекса интима-медиа (КИМ).

Методом иммуноферментного анализа (ИФА) в плазме крови определяли количественное содержание СРБ, используя тест-системы SeroELISA фирмы “Diagnostic Systems Laboratories” (США). Количественное определение цитокинов в сыворотке крови методом ИФА осуществляли с помощью отечественных тест-систем, разработанных в ГНЦ НИИ особо чистых биопрепаратов. Эти тест-системы основаны на сэндвич-методе твердофазного ИФА с применением пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента. Количественно результаты оценивали методом построения калибровочной кривой, на которой отражена зависимость оптической плотности от концентрации цитокина (пг/мл). Чувствительность метода – 5–30 пг/мл. Определяли фактор некроза опухолей (ФНОα), интерлейкин-1 (ИЛ-1), ИЛ-4 и ИЛ-8.

При статистической обработке полученных данных использовали программный пакет “Статистика” версия 5.1, с определением числовых характеристик переменных – средней арифметической (M), средней ошибки выборки (m), и достоверности различий (p). Для анализа различий применяли парный критерий Стьюдента (t), и непараметрические методы – критерий Вилкоксона и Манна-Уитни. Различия средних величин считали достоверными при уровне значимости $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

При исследовании СРБ были обнаружены различия в его количестве в изучаемых группах (рисунок 1). Количество СРБ растет по мере увеличения толщины КИМ. Минимальный уровень СРБ имел место в I группе – 0,56±0,1 мкг/мл. Во II концентрация СРБ составила 3,5±0,3 мкг/мл ($p=0,01$); у лиц III группы с АБ в брахеоцефальных сосудах уровень СРБ был достоверно выше, чем в I и II группах, 22,4±1,6 мкг/мл ($p=0,01–0,001$). Пациенты IV группы имели максимальные значения СРБ – 33,2±2,03 мкг/мл, что было больше, чем в I, II и III группах ($p=0,01–0,001$).

Поскольку СРБ является высокочувствительным лабораторным признаком воспалительного процесса [1,2,6], то повышенные его значения у лиц с начальным атеросклеротическим поражением сосудов следует рассматривать как показатель хронического латентного воспаления. Синтез СРБ регулируется провоспалительными цитокинами – ИЛ-8, ИЛ-1 и ФНОα. Поэтому уровень цитокинов будет характеризовать воспалительную реакцию [1,3,10]. При исследовании провоспалительных цитокинов выявили повышение количества ИЛ-1, ИЛ-8, ФНОα по мере увеличения толщины КИМ (таблица 1). Значимое увеличение ИЛ-1 отмечено у практически здоровых лиц, имеющих только ФР (II группа). У пациентов с АБ и с постинфарктным кардиосклерозом (ПИКС) содержание ИЛ-1 было также повышено по сравнению с I группой ($p<0,05$). Поскольку ИЛ-1 является индуцибельным белком, синтез которого начинается в ответ на повреждение тканей, и необходим для развития воспаления [6,7], то повышение его содержания в крови при увеличении толщины КИМ отражает определенную зависимость толщины сосудистой стенки от воспалительного процесса.

На развитие воспалительного процесса при увеличении толщины КИМ указывают провоспалительные цитокины ИЛ-8 и ФНОα, которые в этом исследовании, повышаются по мере увеличения толщины КИМ. Уровень ИЛ-8, основного хемоаттрактанта лейкоцитов [1,3] у лиц с ФР выше, чем в ГС ($p<0,05$). А при наличии начальных атеросклеротических процессов в сосудах и у пациентов с клинически проявившимся атеросклерозом его количество достигает значений, характерных для системной воспалительной реакции [6].

Таблица 1

Цитокиновый профиль и толщина КИМ в исследуемых группах (M+m)

Показатель	Группа I	Группа II	Группа III	Группа IV
КИМ, мм	0,6±0,02	0,75±0,01*[1]	0,98±0,02*[1]	1,2±0,01*[1,2,3]
ИЛ-1, пг/мл	7,9±0,9	37,9±3,7*[1]	41,02±2,1*[1]	18,2±1,5*[1]
ИЛ-4, пг/мл	9,7±2,8	8,1±1,2	4,8±2,6	0,9±0,1*[1,2]
ИЛ-8, пг/мл	3,4±1,3	41,1±3,3*[1]	137,8±17,3*[1,2]	171,6±10,8*[1,2]
ФНОα, пг/мл	3,1±0,1	4,5±0,2	14,7±1,9*[1,2]	18,6±2,1*[1,2]

Примечание: * – $p<0,05$ по t-критерию Стьюдента.

Концентрация ФНОα также повышается по мере увеличения толщины КИМ, достигая степени достоверности у лиц с атеросклеротическими изменениями в сосудах, по сравнению с I и II группами ($p<0,05$). Повышение уровня ФНОα рассматривается многими авторами как фактор повреждения эндотелия сосудов. Показано наличие связи между титром ФНОα и зависимой от оксида азота (NO) релаксацией плечевой артерии [11,12]. ФНОα способствует повышению генерации свободных радикалов и может стать причиной интенсификации процессов апоптоза эндотелия сосудов и инактивации NO. Все это оказывает повреждающее действие на эндотелий сосудов [7,12]. Кроме регуляции воспалительной реакции ИЛ-1, ИЛ-8 и ФНОα стимулируют пролиферацию эндотелиоцитов, привлекают в очаг воспаления клетки крови, усиливают синтез коллагена фибробластами [1,6], что при развитии воспаления в сосудах приводит к изменению структуры стенки сосудов, и может играть патогенетическую роль в формировании атеросклероза.

Противовоспалительный механизм действия ИЛ-4 заключается в подавлении им продукции ФНОα и стимуляции образования антител. В настоящем исследовании выявлено уменьшение количества ИЛ-4 по мере увеличения толщины КИМ, что, вероятно, указывает на снижение его противовоспалительной активности у лиц с наличием АБ.

Корреляционный анализ между изучаемыми маркерами воспаления и показателями состояния сосудистой стенки подтверждает связь воспаления с толщиной КИМ. В группе практически здоровых лиц с ФР толщина КИМ связана с содержанием ИЛ-1 ($r=0,38$, $p<0,05$). У лиц с наличием АБ и толщиной КИМ ассоциировано содержание СРБ ($r=0,36$, $p<0,05$), ИЛ-8 ($r=0,50$, $p<0,05$) и ФНОα ($r=0,51$, $p<0,05$). У пациентов с ПИКС толщина КИМ также имеет корреляционную связь с уровнями СРБ ($r=0,47$, $p<0,05$), провоспалительных цитокинов ИЛ-1 ($r=0,41$, $p<0,05$) и ФНОα ($r=0,47$, $p<0,05$).

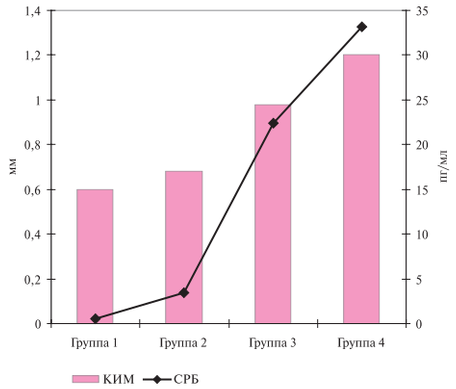

Рис. 1 Содержание СРБ и толщина КИМ в исследуемых группах.

Заключение

Обнаружено наличие взаимосвязи между толщиной сосудистой стенки и выраженностью латентного воспалительного процесса, причем качественные изменения в интенсивности воспалительного процесса отмечаются на начальных этапах формирования атеросклероза.

Содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-8 достоверно повышается у лиц с ФР даже при незначительном увеличении толщины КИМ. У лиц с явным атеросклеротическим процессом повышение уровня СРБ и провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-8, ФНОα указывает на наличие воспалительного процесса в сосудах, о чем свидетельствует прямая корреляционная связь между толщиной КИМ и маркерами воспаления. Учитывая, что провоспалительные цитокины могут изменять функцию эндотелия сосудов [12], увеличение их концентрации в крови может стать одной из причин формирования атеросклероза.

Таким образом, можно предположить, что формирование атеросклеротического процесса наряду с другими патогенетическими факторами, тесно связано с наличием латентного воспалительного процесса и его активностью.

Литература

1. Назаров П.Г. Реактанты острой фазы воспаления. СПб: Наука 2001; 423 с.
2. Насонов Е.Л. Маркеры воспаления и атеросклероза: значение С-реактивного белка. Кардиология 1999; 2: 81–5.
3. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма. Цитокины и воспаление 2002; 1(1): 9–16.
4. Головской Б.В., Ховаева Я.Б., Тарасов В.А. и др. Система авторизированного медицинского профилактического обследования (САМПО). Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ. № 2001611516. Москва Роспатент 2001.
5. Торховская Т.И. Фортинская Е.С, Гороховская Г.Н. и др. Гиполипопротеинемия и вторичная роль атеросклероза в развитии ишемической болезни сердца у больных с полицитемией. Кардиология 2005; 1: 18–21.
6. Черешнев В.А., Гусев Е.Ю. Иммунология воспаления: роль цитокинов. Мед иммун 2001; 3(3): 361–8.
7. De Keulenaer GW, Alexander RW, Ushio-Fukai M, et al. Tumor necrosis factor alpha activates a p22phox-based NADH oxidase in vascular smooth muscle. Biochem J 1998; 329(1): 653–7.
8. Fong IW, Chiu B, Viira E, et al. Rabbit model for Chlamydia pneumoniae infection. J Clin Microb 1997; 35(1): 48–52.
9. Gupta S, Camm AJ. Is there an infective aetiology to atherosclerosis? Drugs Aging 1998; 13: 1–7.
10. Curfs JHAJ, Meis JFGM, Hoogkamp-Korstanje JAA. A primer on cytokines: saurces, receptors, effects and inducers. Clin Microbiol Rev 1997; 10(10): 742–80.
11. Katz SD, Rao R, Berman J, et al. Pathophysiologicsl correlates of increased serum tumor necrosis factor in patients with congestive heart failure. Relation to nitric oxide-dependent vasodilation in the forearm circulation. Circulation 1994; 90(1): 12–6.
12. Vanderheyden M, Kersschot F, Paulus WJ. Pro-inflammatory cytokines and endothelium-dependent vasodilation in the forearm. Serial assessment in patients with congestive heart failure. Eur Heart J 1998; 19(5): 747–52.

Поступила 07/11–2008