

Особенности взаимосвязи толщины комплекса интима-медиа сонных артерий с инфекционными, иммунными и метаболическими факторами у практически здоровых лиц, не имеющих факторов риска

А.П. Шаврин*, Б.В. Головской, Я.Б. Ховаева

Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А.Вагнера Росздрава. Пермь, Россия

Associations between intima-media thickness of carotid arteries, infectious, immune, and metabolic parameters in healthy people with no risk factors

A.P. Shavrin*, B.V. Golovskoy, Ya.B. Khovaeva

Academician E.A. Vagner Perm State Medical Academy. Perm, Russia

Цель. Провести комплексное исследование взаимосвязи показателей метаболизма, инфицированности, состояния иммунной системы с артериальной стенкой у лиц без факторов риска (ФР) сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ).

Материал и методы. Из 400 обследованных практически здоровых лиц в возрасте 18-65 лет у 25 человек отсутствовали ФР ССЗ. При УЗИ сосудов измеряли толщину комплекса интима-медиа (ТКИМ). Лабораторные исследования включали изучение липидного спектра, уровня глюкозы, определение в плазме крови С-реактивного белка (СРБ), провоспалительных цитокинов, специфических антител IgG к CMV, HCV-1, Cl.pneumoniae, H.pylori и β-стрептококку. Состояние иммунной системы оценивали по показателям врожденного и приобретенного иммунитета.

Результаты. Выявлена высокая степень связи ТКИМ с инфекционными вирусными факторами (CMV и HCV-1). Взаимодействие инфекционных факторов со стенкой артерии происходит в сочетании с липидами крови и показателями врожденного и приобретенного иммунитета. Участие иммунитета в регуляции гомеостаза сосудистой стенки, вероятно, позволяет контролировать процесс репликации вирусов и препятствовать развитию воспаления в сосудах, о чем свидетельствуют низкие уровни СРБ, провоспалительных цитокинов, и отсутствие взаимосвязи между толщиной стенки артерий и показателями воспаления.

Заключение. У здоровых лиц без ФР сосудистая стенка находится в тесном взаимодействии с инфекционными вирусными факторами, с показателями врожденного и приобретенного иммунитета, липидами крови и глюкозы. Однако эти взаимодействия сбалансированы, и поэтому отсутствуют условия для развития внутрисосудистого воспалительного процесса.

Ключевые слова: сосудистая стенка, практически здоровые лица, латентные вирусные инфекции, иммунная система, атеросклероз.

Aim. To present the results of the complex assessment of the associations between arterial wall structure and metabolic, infectious, and immune parameters in people free from cardiovascular risk factors (RFs).

Material and methods. Among 400 examined healthy participants, aged 18-65 years, 25 did not have any cardiovascular RFs. Vascular ultrasound, with intima-media thickness (IMT) measurement, was performed using ALOKA 5000 device. Laboratory parameters included lipid profile, glucose, plasma C-reactive protein (CRP), pro-inflammatory cytokines, and specific IgG antibodies to CMV, HCV-1, Cl. pneumoniae, H. pylori, and β-streptococcus. Immune status was assessed by innate and acquired immune parameters.

Results. A strong association between IMT and viral infectious factors (CMV and HCV-1) was observed. The interaction between infectious factors and arterial wall also involves blood lipids (triglycerides, low- and high-density lipoprotein cholesterol, total cholesterol) and innate and acquired immune factors. Immune factors

© Коллектив авторов, 2010

e-mail: ashavrin1@mail.ru, fuvpgma@mail.ru

Тел./факс: (3422) 36-86-21

[Шаврин А.П. (*контактное лицо) — доцент кафедры терапии и семейной медицины ФПК и ППС, Головской Б.В. — профессор этой кафедры, Ховаева Я.Б. — заведующая этой кафедрой].

regulate vascular wall hemostasis, possibly controlling viral replication and preventing vascular inflammation. This hypothesis is confirmed by low levels of CRP and pro-inflammatory cytokines, as well as by no association between arterial wall thickness and inflammation markers.

Conclusion. In healthy subjects without RFs, vascular wall is interacting with viral infectious factors, innate and acquired immune parameters, blood lipids and glucose. All these interactions are balanced and, therefore, do not result in intravascular inflammation.

Key words: Vascular wall, healthy people, latent viral infections, immune system, atherosclerosis.

В настоящее время атеросклероз рассматривают как поэтапный процесс, в котором выделяют долипидные изменения сосудистой стенки, стадию липидоза, формирование атеросклеротических бляшек (АБ) и стадию клинически выраженного атеросклероза [1]. Изменения сосудов на стадии сформировавшейся АБ в литературе описаны достаточно широко. Имеются единичные сообщения о долипидных изменениях в стенке сосудов, в частности, обнаружены мышечно-эластическая гиперплазия интимы у детей, которую связывают с проникновением белков и свободнорадикальным окислением [2,3]. В связи с этим представляется важным вопрос об иницирующих факторах, которые могут вызывать долипидные изменения в сосудах. В последние два десятилетия в литературе представлены данные о присутствии разных вирусов и микробов в сосудах больных атеросклерозом, в т.ч. и в АБ [4]. Результаты этих исследований объясняют инфекционную природу атеросклероза. Известно, что внутриклеточные инфекционные факторы — вирусные и бактериальные, с высокой тропностью к эндотелию сосудов, персистируют в организме человека начиная с детского возраста [5]. У микробов и вирусов неодинакова клиническая манифестация инфицирования. Бактерии довольно быстро вызывают общие проявления воспалительной реакции, проявляющиеся гиперемией, отеком, повышением температуры тела, которые являются, по сути, защитными. Инфицирование вирусами чаще всего не сопровождается развитием явного воспаления, оно чаще имеет скрытый характер. Если бактерии депонируются в лизосомах, то вирусы встраиваются в нуклеотиды [6], и для их репликации и генерализации требуются время и соответствующие условия, в основном связанные с иммунной неполноценностью. Особенности начала инфекционного процесса и различия клинических проявлений вирусного и бактериального поражения имеют теоретическое и практическое значение, в т.ч. для понимания атерогенеза. Поэтому важно выявить взаимосвязи между показателями состояния сосудистой стенки и наиболее вероятными факторами развития патологии сосудов у лиц без атеросклеротического процесса в сосудах.

Целью настоящей работы является провести комплексное исследование взаимосвязей показателей метаболизма, инфицированности организма, состояния иммунной системы с артериальной стен-

кой у лиц без факторов риска (ФР) сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ).

Материал и методы

Обследованы 400 человек в возрасте 18–65 лет (средний возраст $45,9 \pm 1,2$). Из них, у 25 практически здоровых лиц (11 мужчин и 14 женщин) отсутствовали основные ФР: дислипидемия (ДЛП), курение, отягощенная наследственность, избыточная масса тела (ИЗМТ), артериальная гипертензия (АГ). Средний возраст в группе (гр.) здоровых лиц составил $43,9 \pm 1,7$ лет.

Всем участникам проводилось стандартное общеклиническое обследование с определением антропометрических показателей и величины артериального давления (АД). Лабораторные исследования включали определение липидного спектра, уровня гликемии. Общий холестерин (ОХС), триглицериды (ТГ) и холестерин липопротеинов высокой плотности (ХС ЛВП) определяли энзиматическим методом на автоанализаторе “Техникон”. ХС липопротеинов очень низкой плотности (ЛОНП) и ХС липопротеинов низкой плотности (ЛНП) рассчитывали по формулам [7].

Наличие и степень выраженности воспаления оценивали по количеству С-реактивного белка (СРБ), про- и противовоспалительных цитокинов: интерлейкин-1 (ИЛ-1), ИЛ-8, ИЛ-4, интерферон-гамма (ИФγ), фактор некроза опухоли альфа (ФНОα), концентрацию которых определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА). Исследовали состояние иммунной системы по показателям врожденного иммунитета — фагоцитарное число (ФЧ) и индекс активности фагоцитов (ИАФ), и приобретенного иммунитета иммунологическими методами с определением количества иммунных клеток. Фактор инфицированности организма исследовали с помощью ИФА, для которого использовались реактивы фирмы “Diagnostic Systems Laboratories” (США). Выявляли инфицированность вирусом простого герпеса 1 типа (HSV-1), цитомегаловирусом (CMV), хламидией пневмонии (С.pneumoniae), хеликибактером пилори (Hр) и β-гемолитическим стрептококком группы А (стрептококк-β). Состояние сосудистой стенки брахиоцефальных артерий оценивали по данным дуплексного сканирования, которое проводили на аппарате “АЛОКА 5000”.

Для выяснения особенностей взаимосвязи изучаемых показателей был использован факторный и кластерный анализы. При кластерном анализе массив данных был подвергнут стандартизации согласно рекомендациям разработчиков программы Statistica-6.2. Применен метод одиночной связи, определяющий первичный кластер, к которому последовательно присоединяется наиболее близкий показатель по принципу “ближайшего соседа”. Критерий объединения — величина евклидова расстояния (d) [8,9]. Проводилась традиционная статистическая

Процент сероположительных лиц и количество антител к инфекциям у лиц без ФР

Показатель	Возраст		p=
	< 40 лет	> 40 лет	
HCV-1, IgG (%)	62,0	73,0	0,61
CMV, IgG (%), (EU/мл)	75,0	83,3	0,78
	92,3±19,1	101,1±12,3	0,45
Helicobacter pylori, (%), (титр)	51	59	0,82
	26,1±8,1	32,1±7,3	0,71
C.trachomatis IgA (%), IgG (%)	0	0	-
C.pneumoniae, IgG (%)	0	0	-
АСЛО (%), (титр)	42	51	0,76
	88,8±27,1	145,4±21,0	0,54

обработка — рассчитывались средние показатели, ранговый критерий Краскела-Уоллиса, корреляционные отношения по Пирсону для количественных, и по Спирмену для порядковых признаков. Для анализа учитывались данные при уровне значимости $p < 0,05$. Для статистических расчетов была использована программа Statistica-6.2.

Результаты и обсуждение

При ультразвуковом сканировании сосудов атеросклеротических изменений в брахецефальных сосудах и аорте не выявлено. Толщина комплекса интима-медиа (ТКИМ) общей сонной артерии (ОСА) в среднем составила $0,58 \pm 0,04$ мм. Функциональное состояние сосудистой стенки было без изменений, поскольку индекс резистентности сосудов (IR) оставался в пределах нормы — $0,84 \pm 0,10$ ед.

Серологическое исследование обнаружило 67 % серопозитивных лиц к HCV-1, и 80,3 % к CMV; титр специфических антител JgG составил $95,3 \pm 16,3$ EU/мл. Серопозитивных лиц к H.pylori было 56 %; суммарный титр специфических антител (JgA, M, G) к хеликобактеру составил $28,1 \pm 5,1$. Антитела β -гемолитического стрептококка группы А (АСЛО) выявлены у 36 % пациентов, а его титр составил $120,0 \pm 17,1$. Маркеры хламидийной инфекции (C. trachomatis и C. pneumoniae) не найдены. В целом у всех обследованных имелась та или другая инфекция в различных комбинациях. Но невысокие титры специфических антител свидетельствуют о низкой инфекционной нагрузке.

Частота распространения инфицирования как среди мужчин и женщин, так и в возрастных категориях < 40 лет и > 40 лет статистического различия не имела (таблица 1).

В старшей возрастной категории имело место небольшое повышение процента серопозитивных лиц к HCV-1, CMV, β -гемолитическому стрептококку гр. А, увеличение титра антител к H.pylori и АСЛО, но эти различия не были достоверными ($p > 0,05$), поэтому возрастной фактор не играет существенной роли в инфицировании организма.

При исследовании маркеров воспаления у лиц без ФР было обнаружено, что количество СРБ

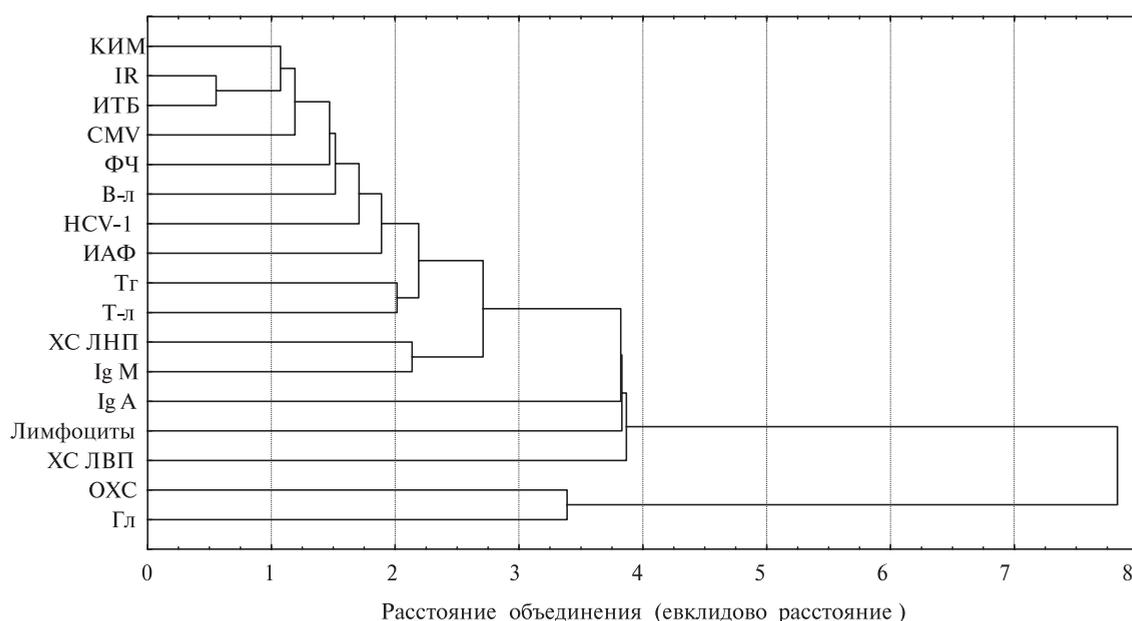
в сыворотке крови не превышало 1 мкг/мл и среднем составило $0,56 \pm 0,11$ мкг/мл, что соответствует норме [10]. Различия между мужчинами и женщинами и в разных возрастных категориях отсутствовали ($p > 0,05$).

Уровень исследуемых провоспалительных цитокинов у лиц без ФР был в пределах нормы. Количество ИЛ-1 составило $7,97 \pm 0,9$ пг/мл, ИЛ-8 $3,4 \pm 1,3$ пг/мл, INF γ $51,9 \pm 13,1$ пг/мл, ФНО α $3,1 \pm 0,1$ пг/мл, противовоспалительный цитокин ИЛ-4 — в количестве $9,7 \pm 3,8$ пг/мл. Количество изучаемых цитокинов было практически одинаково у лиц в возрасте <40 лет, и >40 лет ($p > 0,05$, во всех случаях). Корреляционный анализ выявил прямую связь ИЛ-1 и ИЛ-8 с уровнем СРБ — $r = 0,63$, $r = 0,75$, соответственно ($p < 0,05$). Это соответствует данным [11], и может быть связано с тем, что эти цитокины индуцируют ген СРБ и этим усиливают его синтез.

Все показатели врожденного (количество лейкоцитов и лимфоцитов, а также фагоцитоз) и приобретенного иммунитета (антитела, субпопуляции лимфоцитов) соответствуют Российским и региональным нормам [12,13]. Уровень INF γ в количестве $51,9 \pm 13,1$ пг/мл, свидетельствует о невысокой антигенной вирусной нагрузке на организм [10,14].

Для определения внутренних взаимосвязей между изучаемыми показателями был выполнен факторный анализ. По данным этого анализа не было обнаружено внутреннего фактора объединения по изучаемым параметрам (факторные нагрузки составили $< 0,41$).

Результаты кластерного анализа показали, что все исследуемые показатели (всего были включены 136 показателей) объединяются в общий кластер на евклидовом расстоянии $d = 49500$ усл.ед. Для повышения точности предположений о наличии тесной связи между показателями в работе взят уровень $d = 10$ усл. ед. В этом диапазоне объединяются основные параметры, характеризующие состояние сосудов, иммунную систему, инфицированность организма, особенности отложения жировой ткани, а также показатели липидного обмена и гликемии.



Примечание: IgM — иммуноглобулин класса М, IgA — иммуноглобулин класса А, В-л — В-лимфоциты, Т-л — Т-лимфоциты, Гл — глюкоза.

Рис. 1 Дендрограмма агломерации исследуемых показателей у лиц без ФР (метод одиночной связи).

По данным кластерного анализа было выявлено, что первую агломерацию образуют ряд показателей: ТКИМ, IR, индекс талия/бедро (ИТБ), вирусного инфицирования (CMV HCV-1), иммунных факторов (ФЧ, ИАФ, В-лимфоциты). При этом в наиболее тесной связи находится IR сосуда и ИТБ, которые объединяются на уровне $d=0,55$ усл.ед. (рисунок 1).

Далее к этому кластеру на втором шаге кластеризации ($d=1,2$ усл. ед.) присоединяется показатель ТКИМ. На уровне $d=1,3$ усл.ед. присоединяется показатель инфицированности цитомегаловирусной инфекцией, а на уровне $d=1,73$ усл.ед. — показатель вируса простого герпеса. В этот кластер на уровне $d=1,48-1,92$ усл.ед. входят также некоторые показатели иммунной системы, в частности ФЧ, ИАФ, количество В-лимфоцитов. Необходимо подчеркнуть, что перечисленные показатели входят в комбинированный кластер на условиях очень близкого объединения, евклидово расстояние которого в общей сложности не превышает 2 усл.ед. В этой агломерации выявляется высокая корреляция между ТКИМ и ИТБ ($r=0,71$, $p=0,04$), т. е. толщина стенки артерий и характер отложения жировой ткани очень тесно связаны. Одновременно имеется достоверная связь между ТКИМ и вирусной инфицированностью — CMV ($r=0,71$, $p=0,04$) и HCV-1 ($r=0,41$, $p=0,04$). Наличие взаимосвязи между ТКИМ и показателями вирусной инфицированности, а также линейная близость этих показателей по данным кластерного анализа служит подтверждением высокой тропности этих вирусов к эндотелию сосудов [5]. Учитывая, что в этом объединении находятся и параметры врожденного иммунитета, а также показатель абсолютного

количества В-лимфоцитов, то это можно рассматривать как факт эффективного контроля иммунной системы за инфекционными агентами [12]. Это подтверждается данными корреляционного анализа, при котором обнаружена связь между CMV и ФЧ ($r=0,51$, $p=0,01$), а также HCV-1 с ФЧ и ИАФ — $r=0,45$ и $r=0,62$, соответственно ($p=0,01$).

Вторая агломерация, представляющая интерес, объединяет ХС ЛВП, ХС ЛНП, ТГ и ряд показателей иммунной системы (рисунок 1). Эта агломерация формируется на уровне $d=3,87$ усл.ед. Третье объединение образовано величинами ОХС и глюкозы сыворотки ($d=3,3$ усл.ед), с двумя предыдущими агломерациями, этот кластер объединяется на расстоянии $d=7,81$ усл.ед. Не выявлено корреляционных связей между показателями первой, второй и третьей агломерации. Эти показатели также не коррелируют с толщиной сосудистой стенки.

Следует отметить, что в дендрограмму тесно взаимосвязанных показателей с сосудистой стенкой не вошли бактериальные инфекции (H, pylori и стрептококк-β), хотя они имели место у пациентов. Также в кластеры не вошли показатели воспаления СРБ и исследуемые провоспалительные цитокины.

Заключение

По результатам кластерного и корреляционного анализов можно судить о высокой степени связи инфекционных факторов с состоянием стенки артерии, в частности, с ТКИМ. Высокую тропность к артериальным сосудам проявляют CMV и HCV-1. Взаимодействие инфекционного фактора со стенкой

артерии происходит в сочетании с липидами крови — ТГ, ХС ЛНП, ХС ЛВП, ОХС. Также с сосудистой стенкой формируют агломерацию очень высокой линейной взаимосвязи показатели врожденного и приобретенного иммунитета. Участие этих иммунных факторов в регуляции гомеостаза сосудистой стенки, вероятно, позволяет контролировать процесс репликации вирусов и препятствовать развитию воспаления в сосудах. Это подтверждается отсутствием воспалительного процесса в организме, о чем свидетельствует низкий уровень СРБ и провоспалительных цитокинов, и отсутствием взаимосвязи между толщиной стенки артерий и показателями воспаления. Полученные данные позволяют заключить, что у практически здоровых лиц в условиях отсутствия основных ФР ССЗ сосуды испытывают влияние инфекционных факторов, среди которых наибольшей тропностью обладают вирусы: цитомегаловирус и простого герпеса 1 типа. Однако эти инфекции

находятся под контролем иммунной системы, что не позволяет им проявлять патогенные свойства. При этом в условиях отсутствия триггерных влияний ФР сосудистая стенка сохраняет свои функциональные возможности, что характеризуется ее нормальным тонусом. Нормальный уровень липидного обмена, несмотря на его высокую линейную связь с параметрами сосудистой стенки, в этих условиях не проявляет патологических воздействий на нее.

Таким образом, у практически здоровых лиц без ФР сосудистая стенка находится в тесном взаимодействии с инфекционными вирусными факторами, с показателями врожденного и приобретенного иммунитета, липидами крови и глюкозы. Однако эти взаимодействия сбалансированы и поэтому отсутствуют условия для развития внутрисосудистого воспалительного процесса. Взаимодействие этих показателей, как было показано ранее, существенно изменялось при наличии ФР [15].

Литература

1. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis — an update. *New Engl J Med* 1986; 314(8): 488.
2. Жданов В.С. Гиперплазия интимы коронарных артерий у людей молодого возраста как фактор риска ишемической болезни сердца. *Кардиология* 1998; 6: 25-9.
3. Вихерт А.М., Розина В.Н. К вопросу об эндотелиальной выстилке артерий у человека в генезе атеросклеротической бляшки. В кн. Роль сосудов в атеро- и тромбогенезе. Москва 1983; с.5.
4. Fabricant CG, Fabricant J, Minick CR, Litrenta MM. Atherosclerosis induced by infection with herpesvirus. *Fed Proc* 1983; 42(8): 2476.
5. Гранитов В.М. Герпесвирусная инфекция. Москва “Мед книга”, Н.Новгород “Изд-во НГМА” 2001; 88.
6. Амвросьева Т.В. Вотяков В.И., Владыко Г.В. и др. Репликация вируса в культуре гладкомышечных клеток аорты. *Вопр вирус* 1988; 12: 239-43.
7. Долгов В.В., Титов В.Н., Творогова М.Г. и др. Лабораторная диагностика нарушений обмена липидов. Тверь 1999; 48.
8. Вуколов Э.А. Основы статистического анализа. Москва 2004; 464.
9. Наследов А.Д. Математические методы психологического исследования. Анализ и интерпретация данных. Санкт-Петербург 2004; 392.
10. Назаров П.Г. Реактанты острой фазы воспаления. Санкт-Петербург 2001; 423.
11. Nasarov PG. Direct toxin-neutralizing effects of TNF α , IFN and C-reactive protein. *Cytokine* 1994; 6,5: 547.
12. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунная недостаточность (выявление и лечение). Москва “Мед книга” 2003; 443 с.
13. Бахметьев Б.А., Ширшев С.В., Кеворков Н.Н. Основные показатели иммунограммы детей и взрослых Пермской области. Пермь: ООО Изд.дом “Кама-пресс” 2002; 43 с.
14. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции. *Цитокины и воспаление* 2004; 3(2): 16-22.
15. Шаврин А.П., Ховаева Я.Б., Головской Б.В. Состояние сосудистой стенки при латентных инфекциях у лиц с разной степенью развития атеросклеротического процесса. *Клин мед* 2009; 1: 36-9.

Поступила 24/02-2010