

## Роль противовоспалительного звена цитокинов в формировании адаптивных реакций в ранний послеоперационный период у больных, перенесших аортокоронарное шунтирование

И. Б. Каган, Е. Д. Рождественская

ГОУ ВПО УГМА Росздора, Первая областная клиническая больница, областной центр «Сердце и сосуды», г. Екатеринбург.

### The role of anti-inflammatory cytokine components in the adaptive behavior development during early postoperative period in patients after aortocoronary

I. B. Kagan, E. D. Rozhdestvenskaya

The Ural State Medical Academy. Regional clinical hospital №1, regional centre «Heart and vessels», Yekaterinburg.

#### Резюме

Статья посвящена анализу участия противовоспалительного звена цитокинов в формировании адаптивных реакций у больных ишемической болезнью сердца (ИБС), перенесших операцию аортокоронарного шунтирования (АКШ).

В исследовании включено 40 пациентов с диагнозом ИБС, стенокардия III функциональный класс, которым была выполнена операция реваскуляризации миокарда. Результаты проведенного исследования показали, что неосложненное течение раннего послеоперационного периода было обусловлено снижением провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ ) на фоне активации противовоспалительных цитокинов (РАИЛ и ИЛ-10) в момент снятия зажима с аорты. Наряду с этим проявилась адаптивная роль противовоспалительных цитокинов в подавлении повреждающего действия продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) — малонового альдегида (МДА), что нашло отражение в появлении отрицательных достоверных корреляционных связей между РАИЛ и МДА (коэффициент корреляции -0,58 при уровне значимости 0,006) и ИЛ-10 и МДА (коэффициент корреляции -0,48 при уровне значимости 0,01).

**Ключевые слова:** ИБС, цитокины, АКШ, послеоперационный период.

#### Summary

The article covers the analysis of anti-inflammatory cytokine components role in the adaptive behavior development in coronary heart disease patients, survived aortocoronary. This study included 40 coronary heart disease patients, III functional class stenocardia, undergoing myocardial revascularization. According to the results of the study, the intact early postoperative period was associated with anti-inflammatory cytokine reduction (IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ ) against anti-inflammatory cytokine development (receptor antagonist interleukin-1 and IL-10) at the moment of aorta clamps release. Along with it, adaptive role of anti-inflammatory cytokines resolves lipid peroxidation product damaging action — malonic dealdehyde (MDA), that led to negative reliable correlation between receptor antagonist interleukin-1 and MDA (correlation is -0,58 with confidence level 0,006) and between IL-10 and MDA (correlation is -0,48 with confidence level 0,01)

**Key words:** coronary heart disease (CHD), cytokines, aortocoronary, postoperative period.

Хирургические технологии лечения больных ишемической болезнью сердца (ИБС) постоянно совершенствуются, но до настоящего времени радикальным методом лечения ИБС продолжает оставаться аортокоронарное шунтирование (АКШ). Фундаментальной составляющей большинства кардиохирургических операций является искусственное кровообращение, что, наряду с самым оперативным вмешательством, создает условия для появления воспалительной реакции разной степени выраженности у подавляющего большинства

оперируемых больных [1, 2]. Характер и степень ответной острофазовой реакции в ответ на стрессовое воздействие может быть обусловлена и особенностями иммунного статуса в каждом конкретном случае. Об этом свидетельствуют клинические наблюдения, в частности, появление у больных в раннем послеоперационном периоде лихорадки, тахикардии, тенденции к гипотензии и тахипное, которые быстро сходят «на нет». Из данных, приводимых в литературе, известно, что индуктором реакции воспаления являются провоспалительные цитокины: интерлейкин-1 (ИЛ-1) и фактор некроза опухоли (ФНО- $\alpha$ ), потенцирующие секрецию интерлейкинов — [2, 6, 8]. Интерлейкин-6 (ИЛ-6) стимулирует выработку в гепатоцитах «вторичных» участников вос-

И. Б. Каган — врач кардиолог ГУЗ «СОКБ №1», отделение кардиологии №1;

Е. Д. Рождественская — д. м. н., профессор кафедры терапии ФПК и ПП ГОУ ВПО УГМА Росздора.

паления — белков острой фазы: С-реактивного протеина, фибриногена, аполипопротеина-а, компонентов комплимента.

Все перечисленные факторы запускают каскад локальных и системных воспалительных реакций [3, 4]. Приводимые в литературе исследования отводят основную роль в появлении в раннем послеоперационном периоде выше перечисленных симптомов ФНО- $\alpha$ , который продуцируется активированными моноцитами и макрофагами [5]. Вместе с тем, заслуживает внимание факт противоречивых данных об уровне ФНО- $\alpha$  в плазме крови кардиологических больных: в одних исследованиях обнаруживается повышение уровня ФНО- $\alpha$  после снятия зажима с аорты, в других — не выявлено существенных различий показателей с данными предоперационного периода [1]. Здесь, по-видимому, будет уместно еще раз вернуться к предположению о значении «готовности» иммунной системы ответить на стрессовое воздействие. Тем более, что клиническая практика располагает и более драматическими наблюдениями, когда у пациента уже в первые дни раннего послеоперационного периода возникает нарастающая гемодинамическая нестабильность, абсолютно рефрактерная к проводимой терапии. Именно в таких случаях следует ожидать в интраоперационном периоде резкого повышения уровня ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  — цитокинов «первой волны», которое не компенсируется возрастанием уровня интерлейкинов «защиты» — рецепторного антагониста ИЛ-1 (РАИЛ) и интерлейкина-10 (ИЛ-10) [5]. Так, ИЛ-10 подавляет секрецию активированными моноцитами и макрофагами провоспалительных цитокинов, в т.ч. ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6, и реактивных интермедиатов кислорода и азота [6, 7, 8]. Также, в свою очередь, ИЛ-10 индуцирует экспрессию РАИЛ. В дополнение он усиливает продукцию противовоспалительных цитокинов, таких, как РАИЛ и растворимую форму рецептора ФНО [9]. Антагонист рецептора ИЛ-1 выступает в качестве ингибитора и является важным физиологическим регулятором снижения активности ИЛ-1 $\beta$ . Проведенные в последние годы исследования подтверждают, что провоспалительные цитокины модулируют иммунологические процессы воспаления, пролиферации и апоптоза [1, 3, 4, 10]. ИЛ-10 и РАИЛ предотвращает апоптоз [11].

Установлено, что при реперфузии происходит выраженная аккумуляция нейтрофилов в ишемизированном миокарде с последующей продукцией свободных радикалов и перекисных соединений. Это происходит под влиянием цитокинов, комплементарных белков, лейкотриенов, тромбоцит-активирующего фактора. Также известно, что кислородные радикалы генерируются в большом количестве в предва-

рительно ишемизированном сосудистом эндотелии [12]. Таким образом, одним из компонентов реперфузионного повреждения является окислительный стресс.

**Цель** настоящего исследования — выявить влияние противовоспалительных цитокинов на течение раннего послеоперационного периода после операции АКШ.

### Материалы и методы

В исследование включены 40 пациентов мужского пола с ИБС, стенокардией III функционального класса в возрасте от 36 до 65 лет. Всем пациентам было проведено следующее обследование: сбор анамнеза, объективное обследование, общеклиническое исследование (ОАК, ОАМ, биохимия крови, липидный спектр), показатели системы ПОЛ/АОС (супероксиддисмутаза (СОД), МДА, антиоксидантная активность (АОА)), цитокины (ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-10, РАИЛ) и инструментальные методы исследования (КАГ, ЭХОКГ, ЭКГ, Рентгеновской клетки). По завершении этапа исходного обследования было сделано заключение о необходимости проведения операции реваскуляризации всем 40 пациентам. Характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Исследование проводилось трехкратно: в день предстоящей операции, интраоперационно, после снятия зажима с аорты, и на 8-10 сутки аортокоронарного шунтирования.

Статистическая обработка результатов проводилась в соответствии с методами вариационной статистики с использованием персонального компьютера. Все данные были описаны следующим образом: для количественных признаков были рассчитаны среднее ( $M$ ), медиана ( $Me$ ), 95% доверительный интервал (95% ДИ) для среднего и межквартильный диапазон (МКД); для качественных признаков были рассчитаны абсолютная частота проявления признака (в виде количества обследуемых) и относительная частота проявления признака (в %). Все количественные данные были проверены на соответствие распределения нормальному (Гаусса-Лапласа) с помощью критерия согласия Шапиро-Уилка. В связи с тем, что для большинства данных гипотеза о нормальности была отвергнута, для последующего анализа были использованы непараметрические критерии, не требующие нормальности распределения. Для сравнения групп «до-после» (эффект лечения) по количественному признаку был использован непараметрический парный критерий Вилкоксона, а для анализа по трем временным точкам использовался анализ по Фридману и критерий Данна. При анализе связей двух количественных показателей использовался непараметрический ранговый коэффициент корреляции

Спирмена ( $p$ ): в описании результатов приведено значение  $p$  и 95% интервал для него. Различия и связи между показателями считались статистически значимыми, если уровень значимости  $p$  для соответствующего статистического критерия не превышал 0,05.

### Результаты исследование и их обсуждение

В дооперационном периоде среднее значение ИЛ-1 $\beta$  составил 59,63 пкг/мл, показатель провоспалительного интерлейкина ФНО- $\alpha$  находился в пределах нижней границы нормы, был равен 0,81 пкг/мл, противовоспалительный ИЛ-10 находился также в пределах нормы, составил 23,07 пкг/мл. Показатель РАИЛ находился в пределах ниже нормы и составил 258,8 пкг/мл. Подводя краткий итог исследованию цитокинов в дооперационный период, мы не обнаружили значительных отклонений от нормативов изучаемых показателей на исходном этапе обследования. Ответ на это, по-видимому, кроется в особенностях функционирования иммунной системы организма, обеспечивающей постоянство его внутренней среды и защищающей его от действия экзо- и эндогенных факторов. При анализе исследуемых цитокинов в динамике выявлены достоверные различия между показателями ИЛ-1 $\beta$  при поступлении и после снятия зажима с аорты ( $p=0,001$ ) и между показателями ИЛ-10 в тот же период, а также на 8-10 сутки после операции ( $p=0,0001$ ). Динамика провоспалительного цитокина ФНО и противовоспалительного РАИЛ была статистически не достоверной, однако наблюдалось умеренное повышение уровня РАИЛ в интраоперационном периоде, после снятия зажима с аорты и снижение ФНО в тоже время. Отчетливо выраженная активация противовоспалительной системы цитокинов в ответ на интраоперационное стресс-тканевое повреждение оказывает ощутимое положительное влияние на характер послеоперационного течения, которое у обследованных нами больных можно оценить как неосложненное.

Также всем пациентам на всех трех этапах исследования определяли в крови уровень АОА, СОД и МДА. Пациенты характеризовались состоянием оксидантного стресса, что подтверждается повышением МДА и снижением АОА в сравнении с нормой. Концентрация малонового диальдегида до операции превышал в 2,5 раза нормативный показатель и составил 0,86 моль/л  $\times 10^{-5}$ . Наряду с этим показатель АОА был ниже нормы — 35,45%.

Вместе с тем выявляется тенденция, к возрастанию показателя СОД в сравнении с нормативным: 268,03 при нормативном  $205 \pm 15$  ед/г%Нв в мин, что подтверждает защитную роль супероксиддисмутазы в процессе перекисного

окисления липидов. Таким образом, анализируя исходное состояние показателей ПОЛ у обследованных нами пациентов, можно сделать вывод, что система ПОЛ/АОС функционирует в напряженном режиме, что может иметь значение в развитии послеоперационных осложнений.

В послеоперационный период, в 1-е и на 8-10 сутки после АКШ, уровень МДА оставался практически на исходном уровне, наблюдалось незначительное его снижение. Показатель АОА имел тенденцию к снижению на 8-10 сутки послеоперационного периода, при повышении СОД в тот же период исследования. Достоверных различий при исследовании показателей системы ПОЛ и АОС в до- и послеоперационный период получено не было ( $p>0,05$ ).

Далее нами был проведен корреляционный анализ, который является отражением физиологических и патофизиологических процессов. Данные представлены в табл. 2. Так, выявлена отрицательная достоверная связь между СОД и МДА в дооперационном периоде (коэффициент корреляции -0,50 при уровне значимости 0,003), что может быть доказательством высокой сопряженности уровня конечного продукта ПОЛ — МДА и активности СОД, задача которой заключается в реализации процесса превращения активных свободных радикалов в безвредные для организма соединения. Однако в условиях постоперационного стресса подобная связь утрачивается, что свидетельствует о возможном выходе продукции МДА из-под контроля ферментативного звена АОС. Подтверждением этого факта является сохранение высоких показателей МДА на протяжении всех трех периодов наблюдения за больными: 0,85 моль/л  $\times 10^{-5}$  перед операцией; 0,85 моль/л  $\times 10^{-5}$  в 1-е сутки после операции и 0,82 моль/л  $\times 10^{-5}$  на 8-10 сутки. Вместе с тем, антиоксидантная система стремится «исправить» положение: на первые сутки после операции появляется корреляционная связь между показателями АОА и СОД, что является сигналом адаптивной поддержки системы АОС (коэффициент корреляции 0,43, уровень значимости 0,05). На 8-10 сутки после коронарного шунтирования включается еще одна мощная поддержка со стороны цитокинов: подтверждением этого факта является появление отрицательной корреляционной связи между показателем МДА и двумя представителями противовоспалительных цитокинов — ИЛ-10 и РАИЛ: РАИЛ — МДА: коэффициент корреляции -0,58, уровень значимости 0,006; ИЛ-10 — МДА: коэффициент корреляции -0,48, уровень значимости 0,01. Это обстоятельство является не случайным и подтверждает ведущую роль продукции активных форм кислорода макро-

фагами и нейтрофилами в развитии оксидантного стресса, что активизировало противовоспалительные цитокины с целью устранения мощного повреждающего фактора.

Участие цитокинов как «реализаторов» адаптивных реакций мы отметили и в процессе анализа ответа основных органов и систем организма на постоперационный стресс, отслеживая динамику их показателей, характеризующих функциональное состояние органов под воздействием стресс-фактора. Корреляционная связь с цитокинами обычно появлялась при выраженной реакции показателя на оперативное вмешательство, как сигнал о необходимости адаптационной помощи. Так, подобная корреляционная связь появилась между показателями АСТ и противовоспалительным интерлейкином РАИЛ на 8-10 сутки после АКШ (коэффициент корреляции 0,45, уровень значимости 0,01). Корреляционная связь между КФК и провоспалительным интерлейкином фактором некроза опухоли появилась в 1 сутки после АКШ, усугубляющая ситуацию в связи с разрушительным воздействием ФНО- $\alpha$  (коэффициент корреляции 0,39, уровень значимости 0,01); на 8-10 сутки после операции в режиме «sos» появилась корреляционная связь КФК с РАИЛ (коэффициент корреляции 0,54, уровень значимости 0,03). Выход на противовоспалительные цитокины является свидетельством потребности воздействовать на системный воспалительный ответ организма, вызванного операционным вмешательством в условиях искусственного кровообращения. Клинические наблюдения, представленные в литературе, а также наши собственные данные, свидетельствуют о том, что степень и характер острофазовой реакции на стресс-тканевое повреждение при операциях на сердце определяется не только особенностью самой патологии с многочисленными факторами риска ИБС, но и присущей пациенту особенности его иммунной системы. Ответная реакция ИЛ-1 $\beta$  после снятия зажима с аорты проявилась снижением в сравнении с исходным

уровнем с 59,6 пкг/мл до 45,2 пкг/мл ( $p=0,001$ ), что явилось следствием адаптивного воздействия противовоспалительного ИЛ-10 в результате повышения его активности после снятия зажима с аорты ( $p=0,03$ ). Не находим, на первый взгляд, достаточно убедительного объяснения снижению на 8-10 сутки ИЛ-10 до 5 пкг/мл. Однако именно в этот период возросла корреляционная зависимость между ИЛ-10 и мощным противовоспалительным цитокином РАИЛ (коэффициент корреляции 0,43 при уровне значимости 0,04), что свидетельствует о взаимном усилении противовоспалительной активности указанных цитокинов.

Следует особо подчеркнуть «четкость» работы системы цитокинов: активация ее противовоспалительного звена приурочена к наиболее уязвимым периодам операционного вмешательства.

В процессе нашей работы нам удалось зафиксировать формирование адаптивных реакций, направленных на устранение нежелательных повреждающих механизмов, провоцируемых постоперационным стрессом, что, безусловно, оказывает положительное влияние на характер течения послеоперационного периода, в чем мы убедились на примере наших клинических наблюдений. Отрицательное влияние практически бездействующего противовоспалительного звена цитокинов на процесс коронарной реваскуляризации мы можем продемонстрировать одним из наших наблюдений: больной Ч., 1946 г.р. с Ds: ИБС. Стенокардия III ф.к. ПИКС (2004 г.) Артериальная гипертензия III ст., риск 4. НК I (НУНА).

Проведено обследование, в т.ч. КАГ, где выявлено 85% стеноз ПНА во 2 сегменте и 50% стеноз в 1 сегменте, а также гемодинамически незначимый стеноз ЛОА — 20%, 55% стеноз ПКА. При левой венгерулографии ФВ > 50%. Было рекомендовано оперативное лечение — АКШ.

Далее была проведена операция АКШ. Наложен шунт левой ВГА с ПНА. При попытке шунтирования ПКА появились выраженные изменения на ЭКГ по типу трансмиокардиального повреждения задней стенке левого желудочка. Через 5 минут ЭКГ нормализовалась, но от попытки дальнейшей реваскуляризации миокарда воздержались. Температура тела превышала норму в 1 сутки после операции, максимальный подъем до 37,4°C с последующей стойкой нормализацией. По ЭКГ в 1 сутки ре-

Таблица 1. Характеристика пациентов, n=40

Показатель	Встречаемость
Возраст	От 35 до 67 лет
Пол	40 мужчин
Гипертоническая болезнь	34 пациента (84,5%)
Дислипидемия	29 пациентов (72%)
Сократительная функция миокарда	ФВ ср. 57,18%
Изменения ЭКГ – покоя	25 пациентов (67,57%)
Значимое коронарное поражение	40 пациентов (100%)
Сахарный диабет	0 (критерий исключения)
Другие сопутствующие воспалительные заболевания	0 (критерий исключения)

гистрировался синусовый ритм 86 уд. в минуту, признаки перикардита I стадии, сохраняющиеся и на 8-10 суток. Рентгенологически с 1-х суток — гидроторакс слева, который также сохранялся и на 8-10 сутки. Гемодинамика была стабильная с момента окончания операции, без инотропной поддержки.

На всех трех этапах исследования оба звена противовоспалительных интерлейкинов — РАИЛ и ИЛ-10 оставались на «0» уровне в течение всего периода исследования, в то время как ИЛ-1 $\beta$  до операции, интраоперационно, после снятия зажима с аорты и постоперационно сохранялся на высоком уровне, превышая в 8 раз верхние границы нормы, соответственно в пределах 480, 450 и 440 пг/мл, при полном отсутствии адаптивной реакции звена противовоспалительных цитокинов. На этом фоне во время операции формируются ишемические преходящие изменения по типу трансмурального повреждения по задней стенке левого желудочка с быстрым формированием перикардита и незначительного гидроторакса в послеоперационном периоде, начиная с 1 суток.

## Выводы

1. При исследовании уровня цитокинов у пациентов ИБС, стенокардией III функционального класса в дооперационном периоде выявлена низкая активность противовоспалительного звена этой системы (РАИЛ-231,7 пкг/мл против нормативных 350-700 пкг/мл), что в сочетании с недостаточной активностью АОС (АОА-37,7% против нормативного 42,5%) в этот же период повышает риск развития послеоперационных осложнений после АКШ.

2. Противовоспалительные цитокины РАИЛ и ИЛ-10 устраняют повреждающий механизм активных форм кислорода. Подтверждением этого является выявленная отрицательная корреляционная связь между уровнем РАИЛ и МДА (уровень значимости 0,006, коэффициент корреляции -0,58); ИЛ-10 и МДА (уровень значимости 0,01, коэффициент корреляции -0,48).

3. Выявлена корреляционная зависимость между уровнем КФК и цитокинами ФНО- $\alpha$  в первые сутки после операции АКШ, что подтверждает интраоперационное участие фактора некроза опухоли в стресс-тканевом повреждении: коэффициент корреляции 0,34 при уровне значимости 0,02. На 8-10 сутки после операции отмечено подключение компенсаторной противовоспалительной реакции, обусловленной активацией противовоспали-

Таблица 2. Корреляционные связи продуктов ПОЛ, АОС и цитокинов

ПОЛ и АОС	Показатели корреляции	До операции	1-е сутки после АКШ	8 - 10 сутки после АКШ	
		СОД	СОД	РАИЛ	ИЛ - 10
АОА	коэффициент корреляции	-	0,43	-	-
	уровень значимости	-	0,05	-	-
МДА	коэффициент корреляции	- 0,50	-	- 0,58	- 0,48
	уровень значимости	0,003	-	0,006	0,01

тельного цитокина РАИЛ, коэффициент корреляции 0,55 при уровне значимости 0,04.

4. Проведенный корреляционный анализ выявил положительную связь между ИЛ-10 и РАИЛ (коэффициент корреляции 0,48 при уровне значимости 0,04), подтверждая тем самым их потенцирующее взаимодействие, как адаптивной реакции в подавлении неспецифического воспаления, присущего постоперационной травме.

## Литература

1. Мирлюбова О. А., Добродеев Л. К., Аверина М. Ю., Чернов И. И., Шонбин А. Н., Сенькова Л. В. Роль цитокинов и апоптоза в развитии постперфузионного синдрома после операций на открытом сердце с искусственным кровообращением. Кардиология 2001; 1: 67-69.
2. Jansen N. Y., Overen W. et al Endotoxin and tumor necrosis factor formation during bypass. Ann Thorae Surg 1992; 54: 744-748.
3. Богова О. Т., Чукаева И. И. Инфаркт миокарда. Воспаление и прогноз. Российский кардиологический журнал 2003;4: 37-42.
4. Кремнева Л. В., Шалаев С. В. Интерлейкин-6 и молекулы клеточной адгезии: связь с факторами риска и прогнозом ишемической болезни сердца. Клиническая фармакология и терапия 2004; 13: 78.
5. Волкова С. Ю., Шуплецова В. А., Меженков Е. М., Пушкинова М. А., Шалаев С. В. Значение N-концевого фрагмента мозгового натрийуретического пропептида и ряда провоспалительных цитокинов для прогноза сердечно-сосудистой смерти у больных ишемической болезнью сердца. Ур. м. ж. 2008; 9: 20-24.
6. Niiro H., Otsuka T., Izuohara K. et al. Regulation by interleukin-10 and interleukin-4 of cyclooxygenase-2-expression in human neutrophils. Blood 1997; 89: 1621-1628.
7. Banchereau J., Pacesny S., Blanco P. et al. Dendritic cells: controllers of the immune system and a new promise for immunotherapy. Ann N Y Acad Sci 2003; 987: 180-187.
8. Groux H., Bigler M., de Vries J. E., Boncardo M. G. Interleukin-10 induces a long-term antigen-specific anergic state in human CD4+ T-cells. J Exp Med 1996; 184: 19-29.
9. Antachopoulos C., Roilides E. Cytokines and fungal infections. Br J Haematol 2005; 129: 583-596.
10. Макаров Л. И., Саласи Ж. М., Савина Н. Т. Апоптоз и сердечная недостаточность. Сердечная недостат. 2002; 6: 312.
11. Levi Y., Brouet J. Interleukin-10 prevents spontaneous death of germinal center B-cells by induction of the bcl-2 protein. J Clin Invest 1994; 93: 424-428.
12. Яворовский А. Г., Мещеряков А. В. Дисфункция миокарда при кардиохирургических вмешательствах. Руководство по кардиоанестезиологии под ред. Бунятына А. А., Трековой Н.А. М.; 2005: 123-170.