

УДК612.017:616.24-002:616.12-005.4-089.844

*Е.В. Маркелова, Е.П. Турмова, А.А. Силаев,
Д.Б. Андреев, В.В. Волков*

РОЛЬ ЦИТОКИНОВ В РАЗВИТИИ ПНЕВМОНИИ ПОСЛЕ АОРТОКОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ У БОЛЬНЫХ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Владивостокский государственный медицинский университет,
Приморская краевая клиническая больница № 1
(г. Владивосток),
Дальневосточный филиал НИИ клинической
иммунологии СО РАМН (г. Владивосток),
Филиал НИИ кардиологии Томского научного
центра СО РАМН (г. Владивосток)

*Ключевые слова: цитокины, послеоперационная
пневмония, аортокоронарное шунтирование.*

По данным литературы, в кардиохирургии на долю пневмоний приходится существенный процент осложнений, что связывают с негативным влиянием искусственного кровообращения, развитием постперфузионного синдрома, длительной искусственной вентиляцией легких, а также с топографической близостью операционного поля [1, 2, 3]. В ответ на стимуляцию, какой является операционный стресс, травма, кровопотеря, поддержание иммунного гомеостаза организма обеспечивается цитокиновой регуляцией [4, 5, 8, 13].

Изучение выработки основных про- и противовоспалительных цитокинов у пациентов с ишемической болезнью сердца после проведения аортокоронарного шунтирования, несомненно, представляется актуальной задачей, поскольку поможет объяснить механизмы развития осложнений и грамотно назначить лечение.

Многими исследователями доказано, что активация продукции интерлейкина-10 (IL-10) и смещение баланса в сторону Th2-лимфоцитов могут быть обусловлены действием эндотоксина, а также выбросом катехоламинов и глюкокортикоидов как ответной реакцией на стресс, индуцированный травмой, хирургическим вмешательством или бактериальной агрессией [7, 12, 14]. При значительном увеличении секреции интерлейкина-10 происходит подавление синтеза и секреции цитокинов Th1-лимфоцитами, активированными моноцитами и натуральными киллерами, а также уменьшение продукции антител плазматическими клетками. В то же время сниженный уровень IL-10 может быть обусловлен повышенной секрецией Т-лимфоцитами интерферона-у [9, 15]. Доказано, что повышенная чувствительность

Th1-клеток к негативной регуляции интерлейкина-10 связана с их зависимостью от паракринной дифференцировки интерлейкина-12 (IL-12), продукцию которого ингибирует интерлейкин-10 [8, 10].

Интерлейкин-12 является ключевым цитокином для усиления клеточно-опосредованного иммунного ответа и инициации эффективной противомикробной защиты [6, 14]. Протективные эффекты интерлейкина-12 при инфекциях опосредованы интерферон-у-зависимыми механизмами: усиленной продукцией оксида азота и Т-клеточной инфильтрацией, усилением экспрессии адгезионных молекул и продукции хемокинов, стимуляцией цитотоксической активности натуральных киллеров и цитотоксических лимфоцитов [6]. Известно, что интерлейкин-12 — гетеродимер, который состоит из двух ковалентно (дисульфидно) связанных полипептидных цепей: тяжелой — 40 кД (p40) и легкой — 35 кД (p35) [6, 11, 14]. Биологической активностью и способностью индуцировать сигнал активации обладает только димер легких цепей (p70), а p40 является естественным антагонистом интерлейкина-12, особенно в случае его димеризации в гомодимер (p40)₂ под влиянием воспалительных стимулов (липополисахариды и др.). При этом он способен, связываясь с рецептором интерлейкина-12, не проявлять биологической активности [6].

Целью нашего исследования явилась оценка роли противовоспалительного цитокина интерлейкина-10 и регуляторного цитокина интерлейкина-12 (двух его субтипов — 12p70 и 12p40) в развитии послеоперационной пневмонии у пациентов при операции аортокоронарного шунтирования. Содержание цитокинов исследовали у 53 человек в возрасте от 35 до 65 лет до и после проведения аортокоронарного шунтирования. У всех больных имелось выраженное атеросклеротическое поражение коронарного русла и абсолютные показания к оперативной реваскуляризации миокарда.

Пациенты были разделены на две группы: первая группа — без осложнений в течение послеоперационного периода (40 человек — 75%), вторая группа — больные с послеоперационной пневмонией (13 человек — 25%). Контролем служили 30 практически здоровых доноров. Забор крови проводили в утренние часы непосредственно перед операцией и в динамике (на 1-е, 5-е и 10-е сутки) после операции и определяли цитокины в сыворотке крови. Спонтанную и активированную (фитогемагглютинином и конканавалином А) секрецию цитокинов клетками крови оценивали на 5-е сутки послеоперационного периода. Концентрацию интерлейкина-10, интерлейкина-12p70 и интерлейкина-12p40 определяли иммуноферментным методом с использованием реактивов R&D Diagnostics Inc. (США). Результаты исследований обрабатывали с использованием компьютерного пакета прикладных программ Statistica 6.0 и Biostat. Определяли среднюю арифметическую вариационного ряда (М), среднее квадратическое отклонение ($\pm\sigma$); среднюю ошибку средней

арифметической ($\pm m$). Достоверность различий параметров определяли по критерию Стьюдента (t), проводили анализ качественных признаков (χ^2).

При исследовании уровней цитокинов до операции выявлено, что у больных 2-й группы уровень интерлейкина-10 достоверно превышал показатель практически здоровых доноров. Уровень интерлейкина-12p70 был достоверно снижен в группе больных с послеоперационной пневмонией, а у пациентов с гладким течением послеоперационного периода зафиксировано лишь незначительное его снижение. При оценке отношения IL-12p70/IL-12p40 установлено, что в группе больных с пневмонией отмечалось статистически достоверное снижение этого показателя по сравнению с контролем и группой пациентов с последующим гладким течением послеоперационного периода (табл. 1).

Послеоперационный мониторинг уровня цитокинов показал, что при пневмонии уровень интерлейкина-10 был высоким в течение всего послеоперационного периода, особенно в 1-е сутки после операции. Его содержание достоверно превышало таковое у пациентов с гладким течением послеоперационного периода: $174,26 \pm 43,87$ против $36,09 \pm 7,54$ пг/мл (рис. 1). Выявлено, что у пациентов 2-й группы угнетение секреции интерлейкина-12p70 опосредовано повышенной выработкой его физиологического антагониста интерлейкина-10, ингибирующего продукцию интерферона- γ и весь Th1-ответ ($r=0,55$ при $p<0,05$). Зафиксирована взаимосвязь развития пневмонии и уровня интерлейкина-10, превышавшего 80 пг/мл в сыворотке крови пациентов с ишемической болезнью сердца на 1-е сутки после операции ($\chi^2=4,44$, что выше χ^2_{St} при уровне значимости $p=0,01$ при 1-й степени свободы).

У пациентов с послеоперационной пневмонией в 1-е сутки зарегистрировано статистически достоверное снижение соотношения IL-12p70/IL-12p40: $0,04 \pm 0,01$ против $0,14 \pm 0,03$ в контроле и $0,18 \pm 0,05$ в 1-й группе с сохранением тенденции к снижению до 10-х суток послеоперационного периода (рис. 2).

Также во 2-й группе больных регистрировалась тенденция к повышению спонтанной продукции интерлейкина-10, при статистически достоверном снижении активированной его продукции и индекса активации клеток, что свидетельствовало о глубоком

угнетении резервных возможностей иммукомпетентных клеток, включая клетки памяти, продуцировать этот цитокин в ответ на дополнительную стимуляцию (табл. 2).

При оценке уровня интерлейкина-12 в клеточном тесте на 5-е сутки после аортокоронарного шунтирования у больных с пневмониями по сравнению с 1-й группой пациентов достоверных отличий не обнаружено. Однако отмечалась тенденция к увеличению спонтанной и снижению митогенактивированной секреции обеих субъединиц цитокина, при этом индекс активации интерлейкина-12 с фитогемагглютинином во 2-й группе был статистически достоверно

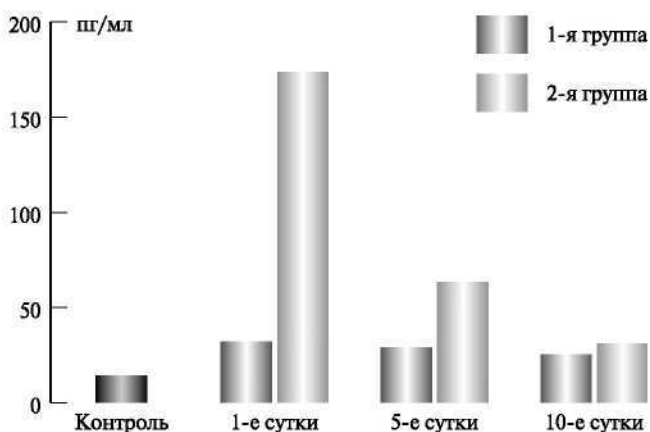


Рис. 1. Концентрация интерлейкина-10 в сыворотке крови больных ишемической болезнью сердца после аортокоронарного шунтирования.

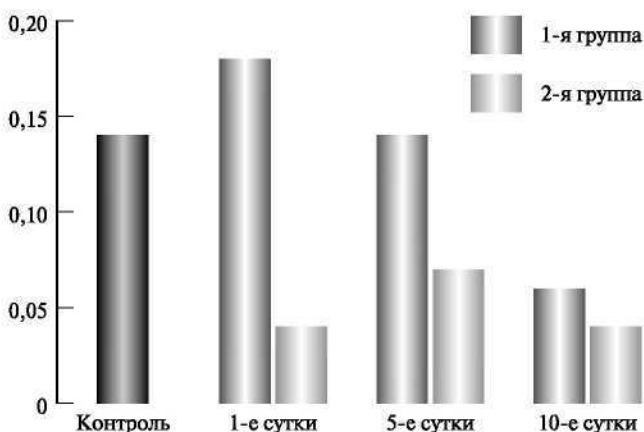


Рис. 2. Соотношение IL-12p70/IL-12p40 у больных ишемической болезнью сердца в послеоперационном периоде.

Таблица 1
Концентрация интерлейкинов в сыворотке крови пациентов с ишемической болезнью сердца до операции аортокоронарного шунтирования

Группа	IL-10, пг/мл	IL-12p70, пг/мл	IL-12p40, пг/мл	IL-12p70/IL-12p40
Контроль	$14,14 \pm 0,82$	$7,44 \pm 0,72$	$57,58 \pm 10,95$	$0,14 \pm 0,03$
Первая	$19,03 \pm 5,66$	$4,86 \pm 2,82$	$65,06 \pm 21,22$	$0,08 \pm 0,01$
Вторая	$24,03 \pm 5,661$	$1,22 \pm 0,441$	$41,28 \pm 7,19$	$0,03 \pm 0,011^2$

¹ Различие статистически достоверно с группой контроля.

² Различие между 1-й и 2-й группами статистически достоверно.

Таблица 2

Уровни спонтанной и активированной продукции IL-10 (пг/мл) клетками крови больных на 5-е сутки после аортокоронарного шунтирования

Продукция IL-10	1-я группа	2-я группа	Контроль
Спонтанная	4,54±1,78	6,56±1,461	3,60±0,12
Активированная фитогемагглютинином	12,94±3,16	5,93±2,07 ^{1,2}	19,81±4,71
индекс активации:	1,75±0,34	0,6±0,06 ^{1,2}	5,50±1,96
Активированная конканавалином А	11,77±3,98	10,52±3,17	13,18±2,94
индекс активации:	2,59±0,43	1,49±0,441	3,66±0,64

¹ Различие статистически достоверно с группой контроля.

² Различие между 1-й и 2-й группами статистически достоверно.

ниже уровня здоровых: к секреции интерлейкина-12-p70 — 0,85±0,14 против 1,92±0,86, к секреции интерлейкина-12p40 — 0,78±0,43 против 6,56±2,13.

Выявленные изменения указывают на снижение способности макрофагов и натуральных киллеров секретировать интерлейкин-12 на фоне дополнительной антигенной нагрузки и обеспечивать его должный уровень для участия в иммунных реакциях, что, вероятно, зависит от низкой продукции интерферона-у.

ВЫВОДЫ

1. У больных с послеоперационной пневмонией выявлена дисрегуляция в системе цитокинов — повышение в сыворотке крови перед операцией уровня интерлейкина-10, а в 1-е сутки после операции — снижение соотношения IL-12p70/IL-12p40 и чрезмерное увеличение секреции интерлейкина-10.
2. У пациентов с пневмонией после аортокоронарного шунтирования зафиксировано снижение митоген-активированной секреции клетками крови интерлейкина-10 и снижение индекса активации клеток с фитогемагглютинином к продукции интерлейкина-12.
4. Нарушения цитокинового статуса у пациентов с ишемической болезнью сердца до операции аортокоронарного шунтирования определяют необходимость профилактической иммуномодулирующей терапии.

Литература

1. Богомолова Н.С. // Инфекции и антимикробная терапия. - 2000. - №3. - С. 36-39.
2. Волков А.М. Прогнозирование и профилактика гнойно-септических осложнений после коронарного шунтирования: автореф. дис.... канд. мед. наук. — СПб., 2002.
3. Ермакова Л.П. Состояние иммунной системы у кардиохирургических больных при искусственном кровообращении: дис.... канд. мед. наук. — М., 2001.
4. Винницкий Л.И., Миронова Е.В., Буянтян К.А., Инвиняева Е.В. // Анестезиол. и реаниматол. — 2000. — № 5. - С. 46-49.
5. Миролюбова О.А., Добродеева Л.К., Аверина М.Ю. и

др. // Кардиология. - 2001. - №1. - С. 67-70.

6. Фрейдлин И.С. // Иммунология. — 1999. — № 4. — С. 5-9.
7. Фрейдлин И.С. // Иммунология. — 2001. — № 5. — С. 4-7.
8. Фрейдлин И.С., Кузнецова С.А. // Мед. иммунология. - 1999. - № 1-2. - С. 27-36.
9. Хлопина И.А., Шацова Е.Н. // Физиология и патология иммунной системы. — 2004. — Т. 6, №1. — С. 119.
10. Anderson S., Shires V.L., Wilson R.A., Mountford A.P. // Amer. J. of Respirat. Cells and Molec. Biol. - 1999. - Vol. 20, No. 3. - P. 371-378.
11. Biron Ch., Gazzinelly R. // Current Opinion in Immunology. - 1995. - Vol. 7. - P. 485-496.
12. Colino J. // J. Immunol. - 2003. - Vol. 171, No. 7. - P. 3508-3519.
13. Hiesmayr M.J., Spittler A., Lawssnigg A. // Clin. and Exp. Immunol. - 1999. - Vol. 115, No. 2. - P. 315-323.
14. Isles P., de Rochemonteix B.G., Songeon F. et al. // Amer. J. of Respirat. Cell and Mol. Biol. - 1999. - Vol. 20, No. 2. - P. 270-278.
15. Standiford T.J. // Curr. Pharm. Des. - 2000. - Vol. 6, No. 6. - P. 633-649.

Поступила в редакцию 09.01.06.

THE ROLE OF CYTOKINES IN THE DEVELOPMENT OF THE PNEUMONIA AFTER AORTO-CORONARY BYPASS AT PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE

E. V. Markelova, E. P. Turmova, A. A. Silaev, D. B. Andreev, V. V. Volkov

Vladivostok State Medical University, Primorsky Regional Hospital No. 1, Far Eastern Branch of Scientific Research Institute Clinical Research Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, The Branch of Scientific Research Institute of Cardiology of the Tomsk Scientific Centre Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences (Vladivostok)

Summary — Authors estimated the role of the anti-inflammatory cytokine IL-10 and regulator cytokine IL-12 in the development of pneumonia in 53 patients after aorto-coronary bypass. In the patients with a postoperative pneumonia the increased blood level of IL-10 before the surgery, and in 1 day after surgery the decrease in the ratio IL-12p70/IL-12p40 and excessive growth of secretion of IL-10 is revealed, and also the decrease in the mitogen-activated secretion of IL-10 by blood cells and the decrease in the index of activation of cells to IL-12 production is found. The revealed abnormalities determine the necessity of immunotrope therapy to this category of patients.

Pacific Medical Journal, 2006, No. 2, p. 35-37.