

© Коллектив авторов, 2007

Ю.В. Шматкова, Т.В. Бершова, Е.Н. Басаргина, М.И. Баканов, А.Г. Гасанов,  
С.В. Монаенкова, А.П. Иванов, Е.Н. Арсеньева

### ИММУНОХИМИЧЕСКИЕ МЕДИАТОРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ МИОКАРДА У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Государственное учреждение Научный центр здоровья детей РАМН, Москва

У детей с хронической сердечной недостаточностью (ХСН), вызванной дилатационной кардиомиопатией (ДКМП), гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП) и врожденными пороками сердца (ВПС), исследовали содержание интерлейкина 2 (ИЛ2), интерлейкина 6 (ИЛ6), их растворимых рецепторов (рИЛ2р, рИЛ6р), неоптерина, тропонина I и миоглобина в сыворотке крови для выяснения роли указанных цитокинов в процессах повреждения миокардиальной ткани. Показано, что продукция ИЛ2, ИЛ6, их растворимых рецепторов и неоптерина наиболее выражена у больных с IIБ–III стадией ХСН при ДКМП, IА стадии ХСН при ГКМП и ВПС. Установлена зависимость изменения концентрации цитокинов от ЭХОКГ-показателей дисфункции левого желудочка. Изменения в содержании тропонина I и миоглобина отмечены у детей с НК IIБ–III стадией при ДКМП, ВПС и при летальном исходе ХСН. Отмечена динамика уровня цитокинов и их взаимосвязь с содержанием тропонина I и миоглобина, что может отражать важный иммунорегуляторный механизм изучаемых цитокинов, лежащий в основе повреждения миокардиальной ткани, а также определять краткосрочный и отдаленный прогноз ХСН, что имеет большое значение для выбора метода лечения.

Authors studied concentration of serum interleukine 2 (IL2), interleukine 6 (IL6), their soluble receptors (s-IL2p and sIL6p), neopterin, troponin I and myoglobin in children with chronic cardiac insufficiency (CCI) due to dilated cardiomyopathy (DCMP), to hypertrophic cardiomyopathy (HCMP) and to congenital heart disease (CHD), in order to establish their role in myocardial tissue lesion. The study showed that production of IL2, IL6, their receptors and neopterin was maximal in patients with CCI degree IIБ–III due to DCMP, with CCI degree IА due to HCMP and CHD. Authors showed correlation of changes in cytokines concentration and US signs of left ventricle dysfunction. Changes in troponin I and myoglobin concentration occurred in children with CCI degree IIБ–III due to DCMP, CHD and in cases of CCI fatal outcome. Authors showed dynamic of cytokines level and its correlation with level of troponin I and myoglobin, which can reflect important immunoregulatory mechanism of studied cytokines, underlying myocardial tissue lesion, and can determine short-term and long-term CCI prognosis and, so, to determine therapeutic tactics.

В настоящее время не вызывает сомнения факт патогенетической взаимосвязи сердечной недостаточности (СН) и повышенной экспрессии цитокинов. Усиление застоя и нарастающая гипоксия периферических тканей и самого миокарда, свойственные СН, могут стать первопричиной активации иммунной системы. Согласно этой концепции, неспецифическая активация макрофагов и моноцитов в плазме и межтканевой жидкости является индуктором синтеза провоспалительных цитокинов, определяющих степень дисфункции левого желудочка (ЛЖ) [1, 2].

Предполагается, что провоспалительные цитокины играют важную роль в прогрессировании СН, определяя состояние структурных белков миофибрилл и цитоскелет кардиомиоцита [3, 4]. К биохимическим маркерам повреждения миокарда относят среди прочих кардиоспецифические белки – тропонин I и миоглобин.

Вопросы прогнозирования поражения миокарда в большой степени изучены у взрослых при инфарктах миокарда и ишемической болезни сердца [5, 6]. Существуют лишь единичные публикации по прогнозированию гипоксически-ишемических состояний у детей [7]. В связи с этим определенный интерес представляет изучение роли провоспалительных цитокинов в процессах деструкции миокардиальной ткани у детей на разных стадиях развития СН.

Цель исследования – выяснить функциональную и патогенетическую роль цитокинов в процессах повреждения миокардиальной ткани у детей с СН.

#### Материалы и методы исследования

Обследовано 79 детей с хронической СН (ХСН), из них больных с дилатационной кардиомиопатией (ДКМП) – 46, с гипертрофической кар-

диомиопатией (ГКМП) – 13 детей и 20 пациентов – с врожденными пороками сердца (ВПС). Всех больных объединило наличие на момент исследования ХСН. Недостаточность кровообращения (НК) оценивали в соответствии с классификацией Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко [8]. Согласно указанной классификации, при I стадии (ст.) НК выявлялась бессимптомная дисфункция ЛЖ, при II ст. – адаптивное ремоделирование сердца и сосудов, при III ст. – дезадаптивное ремоделирование сердца и сосудов, а III ст. характеризовалась необратимыми изменениями органов на фоне выраженных изменений гемодинамики. Возраст обследованных детей варьировал от 3 до 16 лет. Средняя продолжительность заболевания, сопровождаемая ХСН, составила 3 года. Ухудшение состояния с летальным исходом констатировано в 18% случаев (у 14 больных). Летальный исход наступил в среднем через 2,5 мес после взятия проб крови. Контрольную группу составили 20 здоровых детей того же возраста.

Клиническая картина ДКМП определялась тяжестью НК на момент исследования и характеризовалась признаками левожелудочковой или тотальной недостаточности. НК I ст. была выявлена у 8 пациентов (17%), II ст. – у 24 (53%) и III ст. – у 14 больных с ДКМП. Летальный исход отмечен у 8 детей. При проведении ЭХОКГ у детей с ДКМП отмечались изменения в виде дилатации полостей сердца (98%) – больше левых, снижении систолической функции (85%), регургитации через атриовентрикулярные клапаны (96%), диастолической дисфункции миокарда (91%), признаков легочной гипертензии (83%). При анализе электрокардиограммы (ЭКГ) и суточного мониторирования у детей с ДКМП выявлены признаки гипертрофии миокарда предсердий и желудочков (чаще левого), синусовая тахикардия (76%), аритмии (66%), нарушение проводимости (52%), нарушение процессов реполяризации (84%), депрессия сегмента ST (32%).

Клинические проявления НК при ГКМП заключались в усилении верхушечного толчка (69%), систолического шума с максимумом в 3–4-м межреберье слева от грудины, усиливающегося в ортостазе. Отличительным признаком ХСН у таких детей являлось раннее наличие (до появления жалоб) эхокардиографических изменений. К ним относились гипертрофия стенки ЛЖ (26%) или межжелудочковой перегородки (74%) с уменьшением полости ЛЖ (77%), обструкцией выводного тракта ЛЖ (62%), нарушением диастолической функции (92%) и относительным повышением фракции изгнания (ФИ) (85%). При анализе ЭКГ было отмечено наличие признаков гипертрофии желудочков, синусовая аритмия (45%), эпизоды атриовентрикулярной или желудочковой экстрасистолии (20%), нарушение проводимости (80%), нарушение процессов реполяризации в миокарде

желудочков (100%). В группе детей с ГКМП зарегистрировано 2 летальных случая.

ВПС были диагностированы у 20 детей. Течение ХСН у этих пациентов определялось тяжестью гемодинамических нарушений, обусловленных пороком или наличием послеоперационных осложнений. Проявления НК выражались в наличии «сердечного горба» у 8 (40%), расширения границ сердца у 17 (87%). Эхокардиографическая картина у пациентов с ВПС была разнообразна и зависела от типа гемодинамических нарушений. При проведении ЭКГ признаки гипертрофии миокарда были выявлены у 13 (67%), нарушение проводимости (A–V блокады, блокады левой ножки пучка Гиса) – у 9 пациентов (47%), нарушение процессов реполяризации в миокарде желудочков – у 8 детей (40%).

В соответствии с целью работы всем детям было проведено определение ИЛ2, растворимых рецепторов ИЛ2 (pИЛ2p), ИЛ6, растворимых рецепторов ИЛ6 (pИЛ6p), неоптерина и концентрации тропонина I и миоглобина в сыворотке крови.

В работе использован метод твердофазного энзимсвязанного иммуносорбентного анализа (ELISA). Постановку реакций проводили с помощью коммерческих наборов реактивов фирм: «Neopterin ELISA» (Германия), «IL2 ELISA» (Бельгия), «IL6 ELISA» (Бельгия), Humans «IL2R» (Бельгия), «SIL-6R ELISA» (Бельгия), «Myoglobin Enzyme Immunoassay Test Kit» (США); «Troponin I (Human cardiac-specific) Enzyme Immunoassay Test Kit» (США) согласно инструкциям фирм-изготовителей.

### Результаты и их обсуждение

При анализе проведенных исследований у больных с ХСН были обнаружены выраженные изменения продукции ИЛ2, ИЛ6 и их растворимых рецепторов, содержания неоптерина, тропонина I и миоглобина в зависимости от стадии НК. Как следует из таблицы, у детей с ХСН получены достоверные отличия концентраций указанных биохимических агентов от значений у детей контрольной группы. Установлена гиперпродукция ИЛ2 у пациентов с НК II–III ст. при ДКМП, с НК II ст. при ГКМП и с НК II–III ст., III ст. у больных с ВПС. У детей с СН уровень pИЛ2p варьировал от 1525 до 264 пкг/мл. Наибольшая частота выявления повышенного содержания pИЛ2p отмечена у больных с НК II–III ст. при ДКМП и у детей с НК II ст. и НК II–III ст. при ВПС. Гиперэкспрессия этих рецепторов на фоне снижения концентрации ИЛ2 обнаружена у пациентов с НК I–II ст. при ДКМП и НК II ст. при ВПС. Такой дисбаланс между синтезом ИЛ2 и его растворимыми рецепторами может быть обусловлен способностью высоких концентраций pИЛ2p снижать содержание ИЛ2 [9]. При сравнении показателей ИЛ6 и pИЛ6p в большинстве случаев выявлен параллелизм между динамикой изменений самого

Таблица

## Сравнительная характеристика содержания цитокинов, их растворимых рецепторов и неоптерина при различных стадиях НК у детей

Группы детей	Неоптерин, нм/л	ИЛ2, пкг/мл	pИЛ2р, пкг/мл	ИЛ6, пкг/мл	pИЛ6р, нг/мл
ДКМП НК I ст.	n=8 7,8±1,1	n=8 1,5 ± 0,3 <sup>2)</sup>	n=8 989,8±18,8 <sup>1),2)</sup>	n=6 6,8±1,4 <sup>2)</sup>	n=8 4,9±0,5 <sup>1),2)</sup>
ДКМП НК II ст.	n=24 7,2±0,9	n=24 1,6±0,4	n=24 594,7±15,29 <sup>1),2)</sup>	n=8 21,7±1,8 <sup>1),2)</sup>	n=24 7,4±0,9
ДКМП НК ПБ–III ст.	n=14 9,8±1,2 <sup>1)</sup>	n=14 2,9±0,2	n=14 1525,9±17,90 <sup>1)</sup>	n=8 30,7±4,3 <sup>1)</sup>	n=14 11,0±1,8
ГКМП НК I ст.	n=6 7,1±0,4	n=6 1,9±0,4	n=6 264,5±6,9 <sup>1),2)</sup>	n=6 9,88±0,6 <sup>1),2)</sup>	n=6 10,0±0,5 <sup>2)</sup>
ГКМП НК II ст.	n=7 8,6±0,7	n=7 2,8±0,4	n=7 530,1± 8,1 <sup>1)</sup>	n=7 14,75±0,6 <sup>1)</sup>	n=7 12,7±0,3 <sup>1)</sup>
ВПС НК I ст.	n=5 6,7±0,5	n=5 2,1±0,3	n=5 810,6±5,7 <sup>1),2)</sup>	–	n=5 5,1±0,3 <sup>1),2)</sup>
ВПС	n=7 8,8±0,9	n=7 2,5±0,4	n=7 1082,9±9,21)	–	n=7 10,0±0,6
ВПС НК ПБ–III ст.	n=8 8,6±0,8	n=8 1,6±0,1 <sup>2)</sup>	n=8 1000,0±7,8 <sup>1)</sup>	–	n=8 10,1±0,4
Здоровые дети	n=19 6,8±0,7	n=19 2,3±0,5	n=19 423,9±8,4	n=19 6,0±0,8	n=19 9,1±0,5

p<0,05: <sup>1)</sup> при сравнении показателей со здоровыми детьми, <sup>2)</sup> при сравнении показателей у больных с НК ПБ–III ст., – исследования не проводили.

цитокина и его рецепторов. У детей с ДКМП и ГКМП отмечена их максимальная концентрация при выраженной стадии НК.

Как было показано нами ранее [10], усиление продукции ИЛ2 и ИЛ6 может быть одной из причин увеличения синтеза ФНО $\alpha$  у таких больных. В этом случае ФНО $\alpha$  может рассматриваться как аутокринный соучастник миокардиальной дисфункции при гипоксических состояниях. ФНО $\alpha$ , ИЛ2, ИЛ6 могут играть важную роль в реализации процессов гиперкоагуляции, нарушении регулирования сосудистого тонуса, формировании эндотелиальной дисфункции [11]. Причиной увеличения содержания указанных цитокинов является системная гипоксия и воспалительный синдром, проявляющийся в последних стадиях СН при глубоком дефекте микроциркуляции.

Увеличение содержания неоптерина отмечено у всех обследованных пациентов. Значительное повышение неоптерина (в 1,4 раза по сравнению с его значениями в контрольной группе) выявлено у детей с НК ПБ–III ст при ДКМП. Можно полагать, что основным механизмом увеличения концентрации неоптерина при СН является интерферон  $\gamma$ -стимулированный его синтез, обусловленный высоким содержанием ФНО $\alpha$ . Продукция неоптерина является также результатом комплексного взаимодействия цитокинов и особенно информативно отражает активацию клеточного процесса. Гиперпродукция неоптерина, особенно характерная для детей с НК ПБ–III ст, подтверждает патогенетическое значение клеточного иммунитета в развитии НК.

Не исключено, что высокие концентрации неоптерина могут усиливать цитотоксичность, опосредованную свободными радикалами, играющими важную роль в повреждении кардиомиоцитов.

При изучении концентрации тропонина I и миоглобина в сыворотке крови детей с ХСН установлены определенные изменения в содержании кардиоспецифических белков, обусловленные экспрессией изучаемых цитокинов. Так, нами выявлено выраженное увеличение уровня тропонина I у детей с НК ПБ–III ст и умерших впоследствии больных при ДКМП, а также у пациентов с ВПС с летальным исходом заболевания (см. рисунок). Снижение уровня миокардиальных белков у больных с ранними стадиями НК может быть следствием усиления катаболизма структурных и транспортных белков в результате гиперпродукции ИЛ2 и ИЛ6 и указывает на то, что у детей крайне редко развивается острый коронарный синдром и связанный с ним инфаркт миокарда. Кроме того, по данным ряда авторов [11, 12], у больных с семейной ДКМП и ГКМП описаны мутации гена тропонина, что может приводить к редукции тропонина и снижению его концентрации в крови. Повышение концентрации тропонина I и миоглобина у детей с неблагоприятным исходом заболевания свидетельствует о том, что терминальная стадия ХСН сопровождается гибелью кардиомиоцитов и выходом кардиоспецифических белков в кровь.

Корреляционный анализ сывороточного содержания изученных цитокинов, тропонина I и мио-

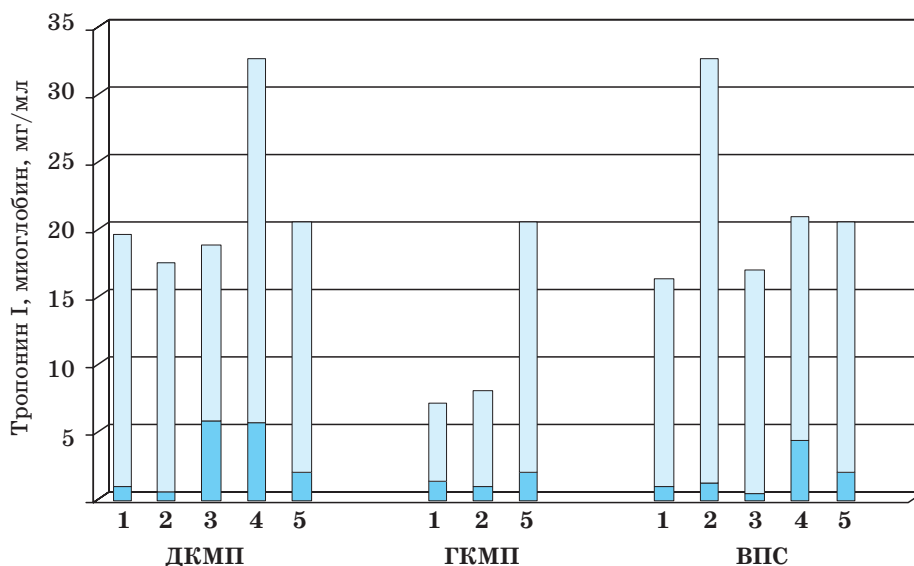


Рисунок. Динамика содержания тропонина I и миоглобина у детей с СН различной этиологии.

1 – НК I ст., 2 – НК II ст., 3 – НК III ст., 4 – летальный исход, 5 – контрольная группа; ■ – миоглобин, ■ – тропонин I.

глобина показал тесную корреляционную зависимость их концентраций от степени эхокардиографических изменений сердца. У детей с СН при ДКМП выявлена зависимость степени дилатации ЛЖ от уровня ИЛ2, ИЛ6 и их рецепторов: конечного диастолического размера (КДР) от концентрации ИЛ2 и рИЛ6р (КДР–ИЛ2,  $r=0,52$ ; КДР–рИЛ6р,  $r=0,61$ ;  $p<0,05$ ), конечного систолического размера (КСР) от содержания рИЛ6р (КСР–рИЛ6р,  $r=0,54$ ); конечного диастолического объема (КДО) от уровня ИЛ2 и рИЛ6р (КДО–ИЛ2,  $r=0,56$ ; КДО–рИЛ6р,  $r=0,57$ ;  $p<0,05$ ). Установлена обратная связь между параметром ФИ и ИЛ2, ( $r=-0,48$ ); а также ФИ и рИЛ2р ( $r=-0,49$ ;  $p<0,05$ ). Уменьшение соотношения амплитуд раннего и позднего наполнения ЛЖ ( $V1/V2$ ), свидетельствующего о диастолической дисфункции, также ассоциировалось с увеличением уровня ИЛ2 и рИЛ6р ( $V1/V2$ –ИЛ2,  $r=0,59$ ;  $V1/V2$ –рИЛ6р,  $r=0,47$ ;  $p<0,05$ ). У пациентов с НК ПБ–III ст. отмечена зависимость содержания тропонина I от концентрации рИЛ6р и ИЛ2 ( $r_1=0,48$ ;  $r_2=0,54$  соответственно,  $p<0,05$ ).

Полученные результаты являются подтверждением концепции о механизмах развития СН, в основе которой лежит представление об иммунной

активации и гибели кардиомиоцитов как маркерах неблагоприятного прогноза и формирования дисфункции ЛЖ. Не исключено, что цитокины играют важную роль в прогрессировании СН, определяя интенсивность процессов ремоделирования миокарда посредством регулирования уровня апоптоза и следующего за ними заместительного фиброза в сердце, что является причиной нарушения его структуры и несостоятельности сократительного аппарата при прогрессировании ХСН.

### Выводы

1. ХСН у детей сопровождается повышением концентрации ИЛ2, ИЛ6, их растворимых рецепторов и неоптерина в сыворотке крови. Выраженность указанных сдвигов определяется стадией НК, ее длительностью, прогнозом заболевания и не зависит от этиологического фактора СН.

2. Сывороточная концентрация тропонина I и миоглобина ассоциируется со степенью дисфункции миокарда и повышена у детей с выраженными симптомами НК и у умерших впоследствии больных. Отмечена зависимость содержания тропонина I и миоглобина от уровня изучаемых цитокинов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Визир А.А., Березин А.Е. Иммуновоспалительная активация как концептуальная модель формирования и прогрессирования сердечной недостаточности. Тер. архив. 2000; 4: 77–80.
2. Testa M., Veh M., Lee P. Circulating levels of cytokines and their endogenous modulators in patients with mild to severe congestive heart failure due to coronary artery disease or hypertension. J. Am. Coll. Card. 1996; 28: 964–971.
3. Muller J., Wallukat G., Dauder M. et al. Immunoglobulin adsorption in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. Circulation. 2000; 101: 385–391.
4. Kusser M. O., Kopf V., Penninger I.V., Erricsson U. Cytokines that regulate autoimmune myocarditis. Swiss Med. Wkly. 2002; 132: 408–413.
5. Короткова А.А., Титов В.Н., Стараведов И.И. Прогностическая роль кардиального тропонина I у больных с острым синдромом без подъема ST. Кардиология. 2002; 4: 19–22.
6. Амелюшкина В.А., Коткина Т.И., Титов В.Н. Биохимические маркеры пораженного миокарда. Клини. мед. 2000; 5: 9–13.