

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**НОВОСИБИРСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ  
МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ**

На правах рукописи

**БЕРЕЗИКОВА ЕКАТЕРИНА НИКОЛАЕВНА**

**ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ  
СИСТЕМНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ  
У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ  
СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ**

14.00.16 — патологическая физиология

14.00.05 — внутренние болезни

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертация на соискание ученой степени**

**кандидата медицинских наук**

**НОВОСИБИРСК-2004**

Работа выполнена в Новосибирской государственной медицинской академии  
МЗ и СРРФ

Научные руководители:

доктор медицинских наук

Маянская Светлана Дмитриевна

доктор медицинских наук

Васькина Елена Анатольевна

Официальные оппоненты;

доктор медицинских наук, профессор

Зыков Альберт Андреевич

доктор медицинских наук

Николаев Юрий Алексеевич

Ведущее организация-

Сибирский государственный медицинский университет МЗ и СР РФ

(г.Томск)

Защита состоится «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2004 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.04 при Новосибирской государственной медицинской академии МЗ и СР РФ по адресу: 630091, Новосибирск, Красный проспект, 52, тел. 22-22-86.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Новосибирской государственной медицинской академии

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2004 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета:

доктор медицинских наук, профессор

Зубахин А.А.

2005-4  
16890

893005

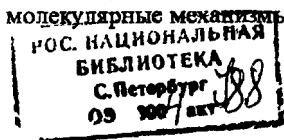
## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность **темы**. В последние два десятилетия высокий, непрерывно возрастающий уровень распространенности хронической сердечной недостаточности (ХСН) в экономически развитых странах и в России позволяет говорить о надвигающейся "эпидемии ХСН" (Cleland J.G.F., 1999). При этом, не смотря на большие достижения в медикаментозном лечении и профилактике ХСН, прогноз в отдельных группах больных ИБС (прежде всего, при постинфарктной дисфункции левого желудочка, ассоциированной с сопутствующей артериальной гипертонией (АГ), сахарным диабетом 2-го типа, некоррегированной гиперхолестеринемией) остается весьма неблагоприятным (Аронов Д.М., 2000; Сидорова Л.Д. и др., 1996; Khand A.U. et al., 2001).

В патогенезе развития и прогрессирования ХСН важную роль играет системная воспалительная реакция, характеризующаяся прогрессированием эндотелиальной дисфункции, увеличением концентрации медиаторов воспаления, в том числе цитокиновым каскадом, стимуляцией тромбогенеза, увеличением концентрации активных форм кислорода (АФК), активацией клеток-эффекторов, в первую очередь нейтрофилов (Falk E. et al., 1995; Luscher T.F. et al., 1994).

Эндотелий является "плацдармом", на котором постепенно развиваются все стадии ХСН (Ольбинская Л.И. и др., 1997; Dusting et al., 1996; Вишнев М., 1997; Katz S.D., 1997). Показано, что, эндотелий микрососудов сердца является одной из главных мишеней для активных форм кислорода (АФК) нейтрофилов (Dhoteburger P. et al., 1995; Matsuo Y. et al., 1995; Vanhoutte P.M., 1996). Обладая высокой динамичностью и пластичностью, мощным биоцидным аппаратом, включающим широкий спектр гидролитических ферментов, способность наработки АФК, большого количества цитокинов и других факторов, фагоциты крови полностью реализуют свой эффекторный потенциал через воспалительные реакции в ходе ХСН. В связи с этим именно флогенные факторы и медиаторы воспаления наиболее существенно влияют на фагоциты, побуждая их к функциональным перестройкам. Лейкоциты выступают как детектор воспаления, его интенсивности, кинетики и тенденции развития. (Афанасьев И.Б., 1988; Маянский Д.Н., 1991; Маянская С.Д., 2000). От активности всех клеток-эффекторов во многом зависит течение и прогрессирование дисфункции эндотелия, поэтому представляется крайне важным исследовать функциональную активность клеток как звена, занимающего ключевую позицию в проблеме развития и прогрессирования ХСН.

По современным представлениям цитокины, имеют патогенетическое значение в развитии ХСН. Вместе с т



в основе цитокининдуцируемых нарушений сократительной способности и ремоделирования миокарда, до конца не ясны. В связи с этим представляется важным изучить взаимоотношения между клеточным и гуморальным звеном при гипоксии в течении ХСН и в зависимости от тяжести заболевания

В патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе и ХСН критическая роль принадлежит окислительному стрессу (Dhalla NS. et al., 2002). АФК нейтрофилов могут прямо повреждать клетки сердца, запуская перикисное окисление липидов (ПОЛ) в их мембранах (Byrne JA. et al., 2003). От флогогенного потенциала самих лейкоцитов, а также от баланса между провоспалительной (активность АФК, лизосомальных протеаз) и антиоксидантной активностью сыворотки крови (суммарное содержание в ней супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионредуктазы и других эндогенных антиоксидантов) зависит прогрессирование ХСН (Landmesser U. et al., 2002; Landmesser U. et al., 2002) Поэтому при оценке характера воспалительного процесса представляется целесообразным исследовать не только степень биоцидности клеток-эффекторов, но и уровень флогогенного потенциала сыворотки крови в целом.

Таким образом, оценка трансформации показателей биоцидности нейтрофилов и показателей окислительного метаболизма в зависимости от тяжести течения ХСН является необходимым условием для оценки прогноза заболевания. В связи с этим представляется перспективным изучение изменения флогогенного потенциала лейкоцитов в целом при ХСН и в зависимости от течения заболевания и его исходов.

Все это послужило основанием для планирования данного исследования.

Цель исследования. Выявить динамику основных маркеров воспаления: биоцидности нейтрофилов, уровня цитокинов, баланса про- и антиоксидантной систем крови у больных с хронической сердечной недостаточностью

Задачи исследования.

1. Исследовать спонтанную и индуцированную кислород зависимую биоцидность нейтрофилов крови в зависимости от тяжести и варианта течения хронической сердечной недостаточности в условиях системной воспалительной реакции с помощью спонтанного и стимулированного теста с тетразолием синим
2. Исследовать уровень цитокинов в сыворотке крови: туморнекротизирующего фактора- $\alpha$  и интерлейкина 4 с помощью электрохемилюминесцентного метода в зависимости от тяжести и варианта течения хронической

сердечной недостаточности в условиях системной воспалительной реакции

- 3 Изучить активность про- и антиоксидантных систем крови в условиях системной воспалительной реакции в зависимости от тяжести и варианта течения хронической сердечной недостаточности.
4. Оценить выраженность эндотелиальной дисфункции в условиях системной воспалительной реакции у больных с хронической сердечной недостаточностью с разной степенью тяжести и вариантом течения заболевания с помощью дуплексного исследования брахиоцефальных артерий

Научная новизна.

Впервые были изучены особенности развития системной воспалительной реакции при ХСН. Было выявлено, что по мере развития системной воспалительной реакции при ХСН происходит снижение функциональной активности нейтрофилов и повышение уровня цитокинов: туморнекротизирующего фактора- $\alpha$  и интерлейкина 4 в сыворотке крови на фоне прогрессирования эндотелиальной дисфункции.

В работе оценивалась функция эндотелия с помощью эндотелий зависимой и эндотелий независимой вазодилатации брахиоцефальных артерий у больных ХСН с разной тяжестью и вариантом течения заболевания в начале и в динамике наблюдения. Показано, что в условиях системной воспалительной реакции при ХСН происходят грубые нарушения гемодинамики, сопровождаемые снижением эндотелий зависимой и эндотелий независимой вазодилатации. Обнаружено, что выраженность эндотелиальной дисфункции по мере прогрессирования ХСН соответствует тяжести течения процесса

Впервые показано, что прогрессирование ХСН сопровождается истощением спонтанной и индуцированной биоцидности лейкоцитов крови. При этом степень снижения функциональной активности нейтрофилов крови является прогностическим маркером тяжести клинического течения заболевания. Доказано, что системная воспалительная реакция при ХСН сопровождается истощением активности, как внутриклеточных антиоксидантов, так и антиоксидантной активности сыворотки крови (АОА), что становится более заметным по мере прогрессирования заболевания. Выявлено, что чем тяжелее был функциональный класс больных ХСН, тем ниже активность антиоксидантов. По мере прогрессирования процесса баланс между антиоксидантной и прооксидантной системами смещается в сторону последней, о чем свидетельствует резкое снижение АОА сыворотки крови, каталазы, экстаклеточной супероксиддисмутазы (СОД) у пациентов с ХСН, с одновременным по-

вышением концентрации малонового диальдсгида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК).

Практическая значимость.

Разработана комплексная оценка нарушения функции эндотелия, биоцидной активности нейтрофилов, цитокинов и про- и антиоксидантных систем у пациентов с хронической сердечной недостаточностью. Полученные результаты позволяют расширить наши представления о механизмах гуморально-клеточной кооперации при воспалении в условиях хронической сердечной недостаточности.

Среди больных с хронической сердечной недостаточностью выделена группа с низкой функциональной активностью нейтрофилов, что соответствует неблагоприятному течению заболевания. Уровень снижения биоцидности нейтрофилов крови у больных хронической сердечной недостаточности является интегральным маркером тяжести и характера течения заболевания.

Для оценки резервов клеточной биоцидности у больных с хронической сердечной недостаточностью предложено определение коэффициента функционально-метаболической активности лейкоцитов, как показателя, определяющего тяжесть и прогноз течения хронической сердечной недостаточности и позволяющего выделить группы риска больных с неблагоприятным прогнозом.-

Исследование показателей, характеризующих баланс про и антиоксидантной активности в динамике заболевания позволяет объективно оценивать тяжесть ХСН. Результаты работы используются в педагогической практике на кафедре патофизиологии НГМА при проведении практических занятий и лекций по курсу клинической патофизиологии со студентами VI курса по теме «Хроническая сердечная недостаточность».

Апробация работы. Материалы диссертации доложены на одиннадцатой научно-практической конференции врачей «Актуальные вопросы современной медицины» (Новосибирск - 2001); на научных конференциях студентов и молодых ученых НГМА (Новосибирск - 2003, 2004); на четвертом конгрессе молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (Томск - 2003); на научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы кардиологии» (Тюмень - 2002); на всероссийской научно-практической конференции «Молодые ученые - медицине» (Самара - 2003); на всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний и организации кардиологической помощи населению» (Кемерово - 2003). Диссертация апробирована на совместном заседании сотрудников кафедр патологической физиологии,

биохимии, ЦНИЛ Новосибирской государственной медицинской академии, проблемной комиссии «Функциональные основы гомеостаза» НГМА, Новосибирского Западно-Сибирского филиала Всероссийского общества патофизиологии.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 9 работ.

Положения, выносимые на защиту.

1. Особенностью развития системной воспалительной реакции при хронической сердечной недостаточности является увеличение провоспалительного потенциала с одновременным снижением антифлоггенной активности и депрессией функциональной активности клеток-эффекторов воспаления по мере прогрессирования заболевания.
2. Прогрессирование дисбаланса между про- и антиоксидантными системами по мере развития заболевания свидетельствует о выраженности системной воспалительной реакции у больных с хронической сердечной недостаточностью.
3. По мере развития хронической сердечной недостаточности и нарушения функциональной активности нейтрофилов происходит прогрессирование дисфункции эндотелия сосудов, соответствующее тяжести и варианту течения заболевания.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 147 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, главы материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя, включающего 29 отечественных и 197 зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 32 таблицами и 16 рисунками. Весь материал диссертации получен и проанализирован лично автором.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

На базе отделения неотложной терапии МУЗМКБ№1 г. Новосибирска, за период с 2001 по 2004 г. было обследовано 96 больных с хронической сердечной недостаточностью (ХСН). Из них мужчин 44 - в возрасте от 43 до 81 года (средний возраст  $64,3 \pm 1,5$  лет), женщин - 52 в возрасте от 51 до 89 лет (средний возраст  $69,7 \pm 1,4$  лет). В группу контроля вошли 38 здоровых волонтеров без указания в анамнезе на наличие ИБС, АГ и сердечной недостаточности, средний возраст  $58,4 \pm 0,48$  лет, 33 мужчины и 5 женщин.

Верификация диагноза основывалась, прежде всего, на анализе клинических данных, а также данных инструментальных исследований, включающих электрокардиографию в покое в 12 общепринятых отведениях, рентге-

нографию грудной клетки, эхокардиографию, общеклиническое и биохимическое исследование крови и мочи.

Все пациенты, включенные в исследование, по функциональному классу ХСН были разделены на 3 группы. Разделение пациентов на функциональные классы (ФК) проводилось по классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA) (1964 г.), с использованием теста с 6-минутной ходьбой (Ю.Н. Беленков, 2001). Таким образом, в 1-ю группу вошло 34 пациента с ФК 2, во 2-ю группу - 32 пациента с ФК 3, в 3-ю группу - 30 пациентов с ФК 4. Больные ХСН получали базисную терапию.

На каждого больного заполнялась соответствующая клиническая карта. В течение последующих 2-х месяцев проводилось клиническое наблюдение обследованных больных. Оценивались конечные точки: летальность, частота повторных госпитализаций по поводу ХСН, ухудшения течения ХСН.

Обследование пациентов проводилось в следующие сроки: 1 точка — 1-е сутки госпитализации 2 точка - 10-е сутки госпитализации; 3 точка - через 2 месяца после выписки из стационара. С указанной кратностью проводилось клиническое наблюдение пациентов. В 1-ю точку у больных проводили общий и биохимический анализ крови, эхокардиографию, ЭКГ-обследование. Во 2-ю точку оценивалось клиническое состояние пациентов. В 1-ю и 3-ю точку проводились дополнительные методы исследования, такие как: спонтанный и индуцированный НСТ-тест, оценка про- и антиоксидантного баланса крови, определение цитокинов сыворотки крови, оценка эндотелиальной дисфункции.

Эндотелиальная дисфункция оценивалась по методике Celemajer (1992.), доплерометрическим измерением диаметра плечевой артерии в пробе с реактивной гиперемией и нитроглицерином. В ходе исследования снимались следующие параметры: 1) исходный диаметр плечевой артерии, 2) прирост диаметра плечевой артерии после сжатия манжетой - проба с реактивной гиперемией, оценивающая эндотелий зависимую дисфункцию (ЭЗД), 3) прирост диаметра плечевой артерии после сублингвального приема нитроглицерина, характеризующий эндотелий независимую дисфункцию (ЭНЗД).

Общеклинические исследования крови и мочи проводились в клинической и биохимической лабораториях МУЗ МКБ N 1.

Функциональная активность нейтрофилов оценивались с помощью спонтанного и стимулированного теста с тетразолием синим (сНСТ-тест и иНСТ-тест), спектрофотометрическим методом. (Маянский Д.Н., 1996). (Спектрофотометр Мультикан МСС 340). Материалом для исследования служила венозная кровь. Спонтанная кислород зависимая биоцидность лей-



коцитов крови у пациентов ХСН оценивались по индексу фагоцитоза (ИФ). Индуцибельная активность лейкоцитов крови оценивалась по коэффициенту функционально-метаболической активности фагоцитов (КФМА).

Исследование интенсивности перекисного окисления липидов проводили спектрофотометрическим методом, оценивая содержание малонового диальдегида (МДА) при взаимодействии с тиобарбитуровой кислотой (Камышников В.С., 2001).

Определение содержания диеновых конъюгатов проводилось по методу Гаврилова В.Б. (Гаврилов В.Б. и др., 1988) по степени ультрафиолетового поглощения гептановых и изопропанольных экстрактов.

Активность каталазы определяли в гемолизате эритроцитов, полученном разведением отмытой эритроцитарной взвеси дистиллированной водой в соотношении 1:200, с помощью определения скорости утилизации  $H_2O_2$ .

Активность эритроцитарной супероксиддисмутазы (СОД) оценивали по степени ингибирования окисления адреналина. (Брусов А.С. и др., 1976).

Содержание восстановленного глутатиона в гемолизате определяли методом LKagiw и K.C. Mirfit с использованием аллоксана. Концентрацию восстановленного глутатиона выражали в мг% (Kagiw I., Mirfit K.C., 1960).

АОА определялась по модифицированному методу (Журавлев А.И., Журавлева А.И., 1975). Результаты АОА выражали в условных единицах, которые соответствовали кратности подавления ХМЛ, индуцируемой перекисью водорода, в присутствии сыворотки. Для количественного определения цитокинов в сыворотке был использован электрохемилюминесцентный метод (ЭХЛ) (Крысов С.В. и др., 2000).

Статистический анализ (Додж М. и др. 1998) проводился на основе средних арифметических ( $M$ ) и их ошибок генеральных совокупностей ( $\pm m$ ). Достоверность различий сравниваемых параметров рассчитывали с помощью метода вариационной статистики по  $t$ -критерию Стюдента. Различия сравниваемых показателей принимались за достоверные при  $p < 0,05$ . Для выявления корреляционных связей между параметрами рассчитывали способом квадратов Пирсона. Корреляционная связь между оцениваемыми параметрами считалась достоверной при  $p < 0,05$ . Статистическая обработка полученных данных осуществлялась пакетом прикладных программ Microsoft Excel 2000.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Диаметр плечевой артерии в покое по сравнению с группой контроля у всех больных отличался в меньшую сторону, что свидетельствовало, что у пациентов ХСН была нарушена как эндотелий зависящая вазодилатация

(ЭЗД), так и эндотелий независимая вазодилатация (ЭНЗД) (табл. 1). Причем, эндотелиальная дисфункция прямо коррелировала с тяжестью процесса ( $r=0,7354$ ,  $p<0,05$ ), о чем говорит явное снижение эндотелий зависимой вазодилатации у пациентов с высоким функциональными классами по отношению к пациентам с начальными классами ХСН.

Таблица 1.

Оценка вазодилатации плечевой артерии у пациентов ХСН ( $M \pm m$ )

	Группа 1 n=34	Группа 2 n=32	Группа 3 n=30	Контроль n=38
Диаметр (мм)	4,04±0,06*#	3,7±0,08#	3,9±0,07#	4,89 ± 0,4
ЭЗД (%)	7,5±0,23***#	5,6±0,03#	5,5±0,35#	12,26 ± 0,7
ЭНЗД (%)	16,8±0,21*°#	13,9±0,34#	13,2±0,33#	20,7 ± 0,7

Примечание: #- ( $p<0,01$ ) достоверность по отношению к группе контроля;

\*- ( $p<0,01$ ), \*\* - ( $p<0,05$ ) достоверность по отношению ко 2-ой группе;

° - ( $p<0,01$ ) достоверность по отношению к 3-ей группе.

Функциональная активность нейтрофилов оценивались с помощью спонтанного и стимулированного теста с тетразолием синим (НСТ - ТЕСТ), спектрофотометрическим методом. Спонтанная кислород зависимая биоцидность лейкоцитов крови у пациентов ХСН оценивались по индексу фагоцитоза (ИФ). Индуцибельная активность лейкоцитов крови оценивалась по коэффициенту функционально-метаболической активности фагоцитов (КФМА).

Была прослежена прямая корреляционная связь показателей НСТ-теста с тяжестью процесса ( $r=0,7826$ ,  $p<0,05$ ), глубиной ремиссии. Спонтанная биоцидность лейкоцитов у всех больных ХСН была значительно снижена по сравнению с контролем (рис.1), так ИФ у пациентов с ФК 2 и ФК 3 был в 1,9 раза и в 1,4 раза был выше, чем у пациентов с ФК 4. Принципиально важно, что у больных ХСН во всех группах не выявлялось признаков активного воспаления общедоступными методами (нормальные СОЭ, число лейкоцитов в крови, сдвиг лейкоцитарной формулы влево). У пациентов с ФК 4 наблюдалось наибольшее истощение индуцибельного потенциала клеток по сравнению с другими функциональными классами, что свидетельствовало о неблагоприятном течении заболевания в данной группе (рис.2).

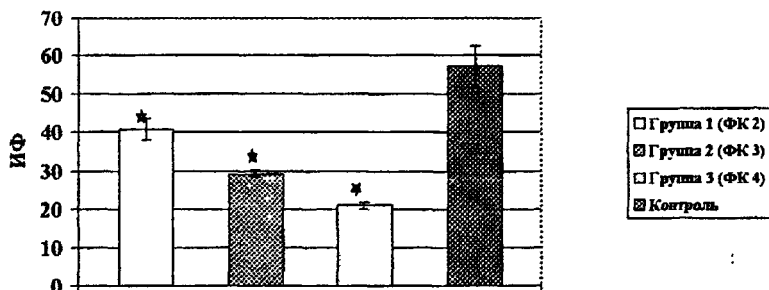


Рис.1. Параметры кислород зависимой биоцидности лейкоцитов крови у пациентов ХСН в начале наблюдения

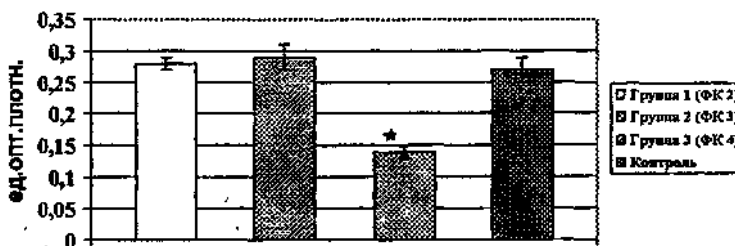


Рис.2. Уровень стимулированной биоцидности лейкоцитов у пациентов ХСН в начале

Примечание (рис. 1-2): ★ достоверность по отношению к значениям между группами ( $p < 0,01$ )

У всех пациентов ХСН уровень **TNF $\alpha$**  в крови был достоверно выше, чем в группе контроля, причем выраженность прироста зависела от тяжести заболевания.

Так уровень TNF $\alpha$  в сыворотке крови в 1-ой, 2-ой и 3-й группах возрастал в среднем в 2,5, 3,5 и 4 раза соответственно по сравнению с контрольной группой (рис.3). Уровень **IL-4** в 1-ой и 2-ой группах существенно не отличался от группы контроля (табл.2). Тогда как в 3-ей группе он значительно возрастал почти в 2 раза, одновременно с показателями TNF $\alpha$  в данной группе.

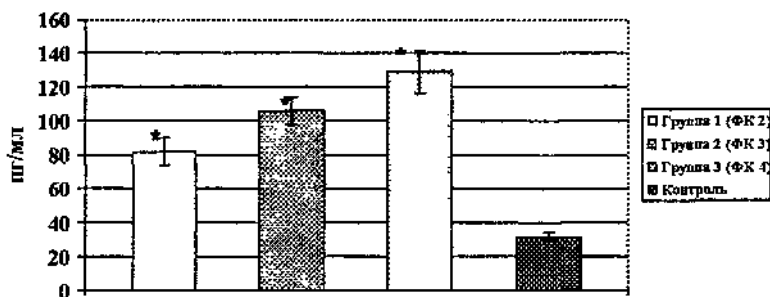


Рис. 3. Уровень  $\text{TNF}\alpha$  крови пациентов ХСН

Примечание (рис.3) ★ достоверность по отношению к значениям между группами больных и группой контроля ( $p < 0,01$ )

Таблица 2.

Уровень EL-4 у больных ХСН ( $M \pm m$ )

IL-4 пг/мл мг	Группа 1 n =34	Группа 2 n =32	Группа 3 n =30	Контроль n =38
1 точка	$25,5 \pm 2,5^\circ$	$29,5 \pm 2,6^\circ$	$44,3 \pm 2,6\#$	$24,6 \pm 2,3$

Примечание: #- ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению к группе контроля;

° - ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению к 3-ей группе.

Исследование цитокина  $\text{TNF}\alpha$ , концентрация которого в крови возрастает при любом воспалительном процессе, проводилось параллельно с исследованием малонового диальдегида (МДА) и антиоксидантной активности сыворотки крови (АОА), отражающей способность эндогенных антиоксидантных механизмов противостоять флогогенному потенциалу крови.

В качестве интегрального показателя активности важнейшего компонента окислительного стресса - перекисного окисления липидов (ПОЛ) у больных ХСН использовалось определение МДА в сыворотке крови как одного из значимых, конечных и относительно стабильных продуктов эндоперекисидации полиненасыщенных жирных кислот (Pompella A. et al., 1987), одновременно у данных пациентов оценивалась концентрация диеновых конъюгатов (ДК).

Наиболее высокой концентрация МДА была у пациентов с ФК 4 (табл 3), она составила 22,3 ммоль/л, что было в 1,1 раза выше, чем во 2-й группе ( $p<0,01$ ) и в 1,3 раза выше, чем в 1-ой группе ( $p<0,01$ ), при этом уровень ДК в этой группе также был наиболее высоким по сравнению с другими пациентами (табл 4) Наиболее низкая АОА сыворотки крови была у пациентов с ФК 4, что в 1,6 и в 1,2 раза было ниже значений пациентов с ФК 2 и 3 (рис 4)

Таблица 3.

Уровень МДА у больных ХСН ( $M \pm m$ )

	Группа 1 n=34	Группа 2 n=32	Группа 3 n=30	Контроль n=38
МДА (ммоль/л)	17,2±0,28*°#	20,4±0,41°#	22,3±0,48#	5,44±0,08

Примечание: #- ( $p<0,01$ ) достоверность по отношению к группе контроля,

\*- ( $p<0,01$ ) достоверность по отношению ко 2-ой группе,

° - ( $p<0,01$ ) достоверность по отношению к 3-ей группе

Таблица 4

Уровень диеновых конъюгатов у больных ХСН ( $M \pm m$ )

	Группа 1 n=34	Группа 2 n=32	Группа 3 n=30	Контроль n=38
ДК (ед. опг. плотн./мл)	0,35±0,01°##	0,37±0,01#	0,41±0,02#	0,27±0,03

Примечание: #- ( $p<0,01$ ), ##- ( $p<0,05$ ) достоверность по отношению к группе контроля, ° - ( $p<0,01$ ), °°- ( $p<0,05$ ) достоверность по отношению к 3-ей группе.

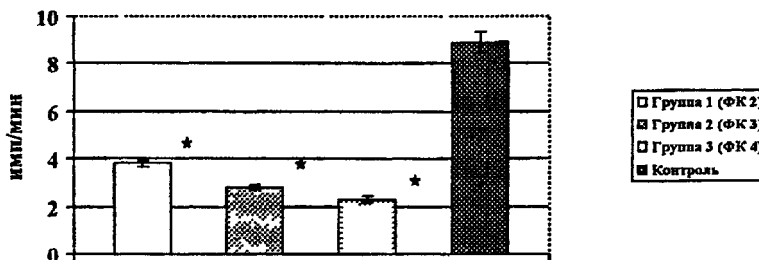


Рис. 4. Общая антиоксидантная активность сыворотки крови у пациентов ХСН в начале наблюдения

Примечание (рис 4) ★ достоверность по отношению к значениям между группами больных и группой контроля ( $p<0,01$ )

Наиболее высокая активность каталазы была у пациентов с ФК 2 (рис.5), что в 1,1 и 1,2 раза достоверно выше, чем в группах с ФК 3 и ФК 4. При этом в последних группах была низкой и СОД - активность, которая в 1,5 раза была ниже, чем у пациентов с ФК 2 (табл.5).

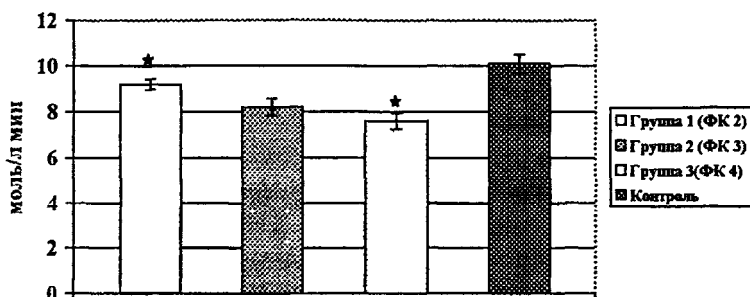


Рис. 5. Активность каталазы у пациентов ХСН в начале наблюдения  
Примечание (рис.4) ★ - достоверность по отношению к значениям между группами больных и группой контроля ( $p < 0,01$ )

Таблица 5.  
Уровень активности экстраклеточной супероксиддисмутазы у больных ХСН в начале наблюдения ( $M \pm m$ )

СОД (усл. ед./л)	Группа 1 n=34	Группа 2 n=32	Группа 3 n=30	Контроль n=38
1 точка	0,74±0,05*°#	0,48±0,04#	0,48±0,04#	2,4±0,04

Примечание: #- ( $p < 0,01$ ). #- ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению к группе контроля; \*- ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению ко 2-ой группе; ° - ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению к 3-ей группе

Резкое снижение АОА сыворотки крови, каталазы, СОД у пациентов с ХСН, с одновременным повышением концентрации МДА и ДК в начале исследования, по-видимому, было связано с выраженным дисбалансом в соотношении окислители-антиоксиданты в сторону первых по мере прогрессирования системной воспалительной реакции при ХСН.

Анализ клинических наблюдений показал, что у 68,8% от всех пациентов в динамике отмечалось клиническое улучшение состояния.

В 1-ой группе у 23 пациентов, во 2-ой группе у 16 пациентов в группе с ФК 4 у всех пациентов отмечалось улучшение клинического состояния в

динамике. Пациентов во 2-ой и 3-ей группах с таким благоприятным вариантом течения определили в группу А. В 31,2% случаев в динамике не происходило клинического улучшения или происходило ухудшение состояния пациентов. Критерием такого клинического ухудшения явилось наличие обострений ХСН, снижение толерантности к физической нагрузке, определяемой с помощью теста с 6-минутной ходьбой. ФК таких пациентов в динамике клинического наблюдения либо оставался прежним, либо снижался. Всех пациентов с данным неблагоприятным вариантом течения определили в группу Б. Так в 1-ой группе такие пациенты составили 32,4% (11 больных), во 2-ой группе 50% (16 больных) в 3-ей группе, как известно, пациентов с неблагоприятным течением ХСН не наблюдалось.

Эндотелиальная дисфункция определяла вариант клинического течения ХСН, о чем свидетельствовало повышение показателей как эндотелий зависимой (ЭЗД) (рис.6), так и эндотелий независимой вазодилатации (ЭНЗД) (рис. 7) в динамике у пациентов с благоприятным вариантом течения ХСН (в группах 2 и 3). Тогда как у пациентов с ФК 4 дисфункция эндотелия носила необратимый характер независимо от клинического течения заболевания.

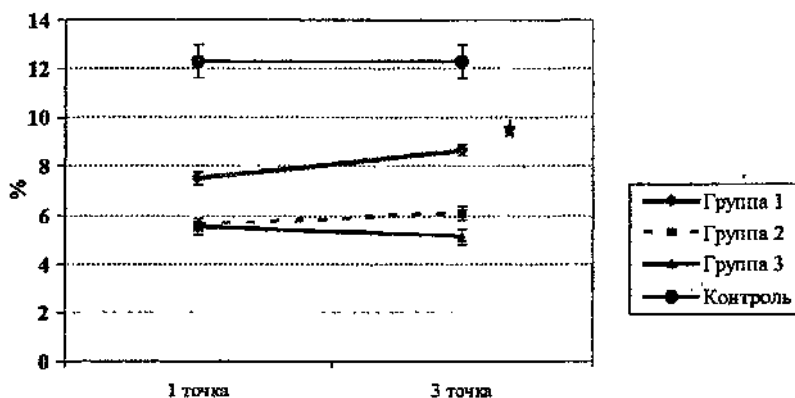


Рис.6. Параметры эндотелий зависимой вазодилатации у пациентов ХСН в динамике (через 2 месяца после выписки)

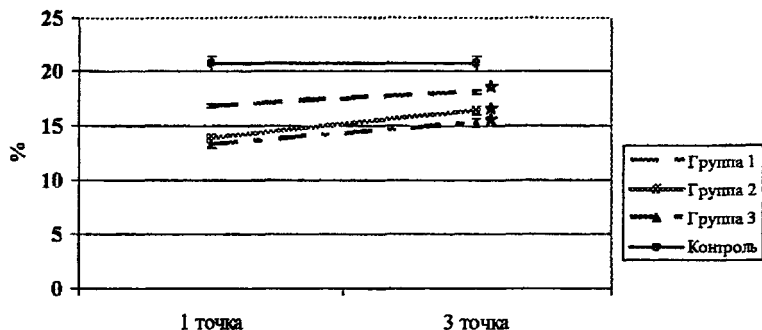


Рис.7. Изменение параметров эндотелий независимой вазодилатации у пациентов ХСН в динамике (через 2 месяца после выписки)

Примечание (рисб-7)" -★ достоверность по отношению к исходным значениям внутри группы ( $p < 0,01$ )

Показатели НСТ-теста довольно четко отражали тяжесть и динамику развития заболевания (табл. 6).

Так у пациентов с ФК 2 и ФК 3 в динамике рост биоцидной активности лейкоцитов был достоверно выше, чем у пациентов с ФК 4. При этом в группах с благоприятным течением рост функциональной активности клеток в динамике был выше, чем в группах с неблагоприятным течением.

Мобилизация потенциальной активности клеток в динамике была зарегистрирована в наиболее легкой из обследуемых пациентов группе с ФК 2. Причем у больных с благоприятным вариантом течения заболевания наблюдался достоверный рост потенциальной биоцидности.

В самой тяжелой группе с ФК 4, не смотря на благоприятное течение заболевания, на фоне исходного истощения флогогенного потенциала клеток к концу наблюдения мобилизации клеточных резервов не происходило. Таким образом, биоцидная активность является диагностическим и прогностическим маркером клинического течения ХСН. По-видимому, системная воспалительная реакция, лежащая в основе патогенеза ХСН приводит не только к истощению потенциальной клеточной активности, но и к необратимым изменениям функционального состояния клеток.



Таблица 6

Параметры кислородзависимой биоцидности лейкоцитов крови у пациентов ХСН в динамике (через 2 месяцев после выписки) ( $M \pm m$ )

	Группа 1 n=34	Группа 2 n=32	Группа 3 n=30	Контроль n=38
ИФ (ед. опт. плотн./абс. число фаго- цитов) (1 точка)	40,8±2,9*° ##	29,3±0,85° #	20,8±0,93#	57,2±5,5
ИФ (ед. опт. плотн./абс. число фаго- цитов) (3 точка)	50,5±2,3**°°	41,5±0,9°#	23,6±0,96**#	57,2±5,5
КФМА (ед. опт. плотн.) (1 точка)	0,28±0,01°	0,29±0,02°	0,139±0,01#	0,27±0,02
КФМА (ед. опт. плотн.) (3 точка)	0,34±0,02**	0,28±0,01	0,119±0,01	0,27±0,02

Примечание: #- ( $p < 0,01$ ), #- ( $p < 0,01$ ), ##- ( $p < 0,05$ ) достоверность по отношению к группе контроля; \*- ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению ко 2-ой группе; °- ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению к 3-ей группе; °- ( $p < 0,01$ ), °- ( $p < 0,05$ ) достоверность по отношению к исходным значениям внутри группы

Изменение уровня цитокинов в крови у пациентов ХСН в динамике происходило в зависимости от динамики течения заболевания .

Так у пациентов с наиболее легким функциональным классом 2 в динамике отмечалось снижение уровня  $TNF\alpha$  в 1,6 раза, тогда как в тяжелой группе с ФК 4 достоверного снижения уровня  $TNF\alpha$  не происходило (табл. 7).

Уровень  $IL-4$  в динамике снижался в группе 3 в 1,4 раза (табл. 8).

У пациентов с благоприятным течением заболевания внутри функционального класса уровень  $TNF\alpha$  к концу наблюдения достоверно снижался,

тогда как у пациентов с неблагоприятным течением это снижение было менее выражено или его совсем не происходило.

. Таблица 7.

Изменение уровня  $\text{TNF}\alpha$  в крови больных ХСН (через 2 месяца после выписки) ( $M \pm m$ )

TNF (пг/мл)	Группа 1 n = 34	Группа 2 n = 32	Группа 3 n = 30	Контроль n = 38
1 точка	81,6±8,1°#	106±8,2#	129±12,3#	31,6±2,5
3 точка	51,3±4,8°*°#	98±8,5*#	115±11,3#	31,6±2,5

Примечание: #- ( $p < 0,01$ ). #- ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению к группе контроля; \*- ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению ко 2-ой группе; °- ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению к 3-ей группе; •- ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению к исходным значениям внутри группы

Таблица 8.

УРОВЕНЬ IL-4 У БОЛЬНЫХ ХСН ( $M \pm m$ )

IL-4 пг/мл мг	Группа 1 n = 34	Группа 2 n = 32	Группа 3 n = 30	Контроль n = 38
1 точка	25,5±2,5°	29,5±2,6°	44,3±2,6#	24,6±2,3
3 точка	24,9±2,7°	27,8±2,6	31,8±2,6•	24,6±2,3

Примечание: #- ( $p < 0,01$ ). #- ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению к группе контроля; \*- ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению ко 2-ой группе; °- ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению к 3-ей группе; •- ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению к исходным значениям внутри группы

Динамика показателей про- и антиоксидантной активности также зависела от степени тяжести ХСН. Так к концу наблюдения отмечалась общая тенденция к снижению концентрации МДА, ДК (рис.8, 9), восстановленного глутатиона, в свою очередь активность каталазы, СОД, АОА у всех пациентов росла по отношению к исходным цифрам в период обострения заболевания (рис 10, 11; табл. 9, 10). При этом у пациентов с более легким ФК

2 динамика этих показателей была более выражена, чем у пациентов с более тяжелыми ФК 3 и 4.

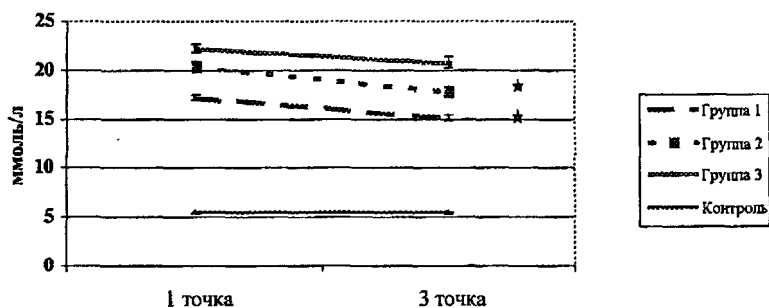


Рис.8 Изменение уровня МДА у пациентов ХСН в динамике (через 2 месяца после выписки)

Примечание (рис. 8) \* достоверность по отношению к исходным значениям внутри группы ( $p < 0,01$ )

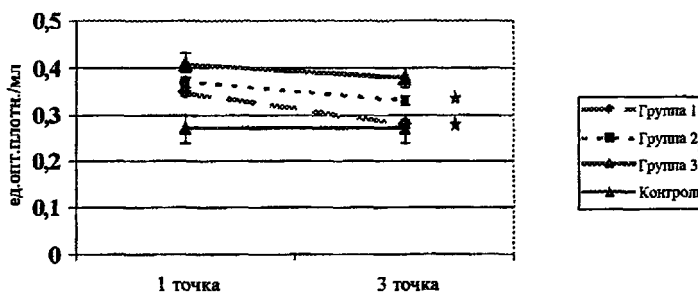


Рис. 9 Изменение уровня диеновых конъюгатов у больных ХСН в динамике (через 2 месяца после госпитализации)

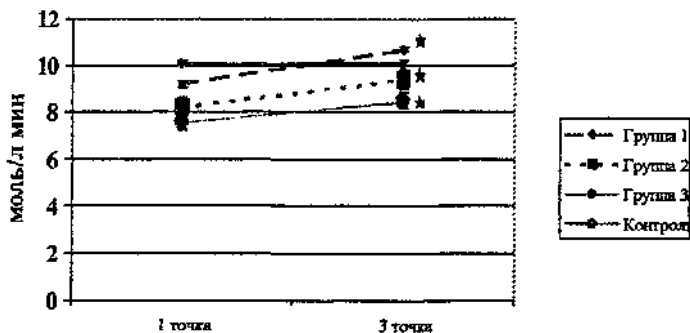


Рис. 10 Изменение параметров каталазы у пациентов ХСН в динамике (через 2 месяца после выписки)

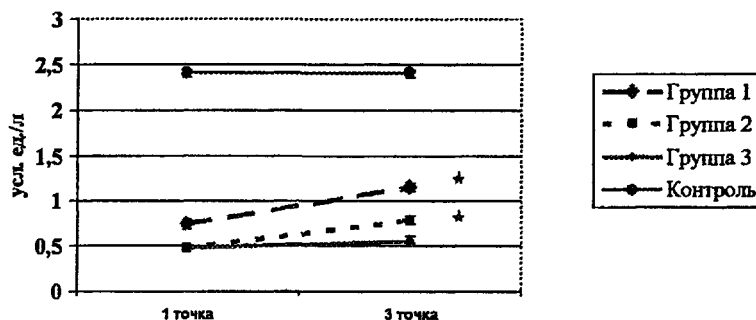


Рис. 11 Изменение активности экстраклеточной супероксиддисмутазы у пациентов ХСН в динамике (через 2 месяца после выписки)

Примечание (рис. 10-12) ★ достоверность по отношению к исходным значениям внутри группы ( $p < 0,01$ )

Дисбаланс между про- и антиоксидантной системами отражал тяжесть течения заболевания, так в группах, где исходно уровень каталазы и восстановленного глутатиона был выше, а концентрация МДА исходно была ниже клиническое течение оценивалось как благоприятное.

Превалирование АОА над флогенной активностью сыворотки у больных с "легким" течением ХСН свидетельствовало о том, что в этой группе компенсаторные антиоксидантные механизмы работали значительно лучше, что, в какой-то мере, обуславливало благоприятное течение. Кроме того, это, вероятно, объясняется также сравнительно невысокой функциональной

активностью лейкоцитов в этой группе, а, следовательно, и невысоким уровнем активных форм кислорода в крови, которые эндогенные антиоксиданты легко нейтрализуют.

Таблица 9.

Изменение уровня восстановленного глутатиона у больных ХСН

в динамике (через 2 месяца после выписки) ( $M \pm m$ )

Глутатион (мг%)	Группа 1 n = 34	Группа 2 n = 32	Группа 3 n = 30	Контроль n = 38
1 точка	21,6±0,99* °#	18,5±0,72°°#	15,6±0,84##	13,7±0,13
3 точка	16,8±0,62*°°#	17,2±0,59° #	14,8±0,38##	13,7±0,13

Примечание: #- ( $p < 0,01$ ), ##-( $p < 0,05$ ) достоверность по отношению к группе контроля; \*- ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению ко 2-ой группе; ° - ( $p < 0,01$ ), °° ( $p < 0,05$ ) достоверность по отношению к 3-ей группе; ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению к исходным значениям внутри группы

Таблица 10.

Изменение антиоксидантной активности крови у больных ХСН

в динамике (через 2 месяца после выписки) ( $M \pm m$ )

АОА (имп/мин)	Группа 1 n = 34	Группа 2 n = 32	Группа 3 n = 30	Контроль n = 38
1 точка	3,8±0,12 *°#	2,8±0,10°#	2,3±0,13#	8,9±0,44
3 точка	6,2±0,02*°°#	3,8±0,16#•	3,5±0,23#•	8,9±0,44

Примечание: : #- ( $p < 0,01$ ), ##-( $p < 0,05$ ) достоверность по отношению к группе контроля; \*- ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению ко 2-ой группе; ° - ( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению к 3-ей группе; •-( $p < 0,01$ ) достоверность по отношению к исходным значениям внутри группы

Таким образом, результаты исследования показали, что уровень биоцидности нейтрофилов, цитокинов и показателей про- и антиоксидантной систем крови играет роль в прогрессировании системной воспалительной реакции при ХСН, о чем свидетельствовала динамика этих важных показателей в зависимости от течения ХСН.

## ВЫВОДЫ

1. Системная воспалительная реакция на фоне прогрессирующей хронической сердечной недостаточности сопровождается снижением спонтанной и индуцированной биоцидности нейтрофилов крови в зависимости от тя-

- жести хронической сердечной недостаточности, причем у пациентов с тяжелой формой заболевания в динамике лечения не наблюдается роста функциональной активности и мобилизации резервов потенциальной биоцидности фагоцитов крови.
2. Степень функциональной активности нейтрофилов крови является прогностическим маркером характера клинического течения заболевания, так у больных с хронической сердечной недостаточностью с функциональным классом 2 и функциональным классом 3, с благоприятным течением и высокой эффективностью лечения в динамике наблюдается достоверный ( $p < 0,01$ ) прирост спонтанной и индуцированной биоцидности лейкоцитов по сравнению с неблагоприятным, резистентным к терапии процессом.
  3. Снижение биоцидной активности нейтрофилов происходит на фоне системного повышения уровня цитокинов: туморнекротизирующего фактора и интерлейкина 4, что свидетельствует о неспособности клеток реагировать на цитокиновую, стимуляцию, из-за истощения их потенциальной биоцидности в условиях системной воспалительной реакции.
  4. По мере прогрессирования системной воспалительной реакции баланс между про- и антиоксидантной системами смещается в сторону первой, о чем свидетельствует резкое снижение активности каталазы, супероксиддисмутазы, восстановленного глутатиона и суммарной антиоксидантной активности с одновременным повышением концентрации малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в сыворотке крови.
  5. Динамика показателей про- и антиоксидантной активности сыворотки крови зависит от степени тяжести и характера течения хронической сердечной недостаточности. Так у пациентов с функциональным классом 2 и 3 на фоне благоприятного развития заболевания прирост активности каталазы, супероксиддисмутазы и суммарной антиоксидантной активности сыворотки крови наряду со снижением малонового диальдегида и диеновых конъюгатов был выше, чем в группе больных с функциональным классом 4.
  6. Прогрессирование хронической сердечной недостаточности сопровождается снижением эндотелий зависимой и эндотелий независимой вазодилатации. Выраженность эндотелиальной дисфункции нарастает по мере прогрессирования хронической сердечной недостаточности и зависит от варианта течения заболевания. Об этом свидетельствует улучшение показателей вазодилатации в динамике у пациентов с благоприятным течением, тогда как при неблагоприятном течении заболевания в условиях системной воспалительной реакции дисфункция эндотелия носит необратимый характер.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Учитывая, что по мере прогрессирования хронической сердечной недостаточности происходит трансформация показателей биоцидности нейтрофилов и показателей окислительного метаболизма в зависимости от тяжести течения заболевания, оценка эндотелий зависимой и эндотелий независимой вазодилатации, клеточной биоцидности нейтрофилов, цитокинов и про- и антиоксидантных систем у пациентов с хронической сердечной недостаточностью позволит более точно оценить тяжесть заболевания и прогнозировать характер его течения.
2. Принимая во внимание, что у больных с хронической сердечной недостаточностью не выявлялось признаков активного воспаления общедоступными методами (нормальные СОЭ, число лейкоцитов в крови, сдвиг лейкоцитарной формулы влево), а показатели НСТ-теста довольно четко отражали тяжесть и динамику развития, заболевания, в комплекс лабораторных исследований больных с хронической сердечной недостаточностью рекомендовано включать определение этого высоко чувствительного метода, позволяющего оценить биоцидный потенциал лейкоцитов крови в целом.
3. Отсутствие какой-либо динамики коэффициента функционально-метаболической активности у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с самым тяжелым функциональным классом 4, не смотря на благоприятное клиническое течение заболевания, характеризовало необратимое течение процесса, что позволяет использовать этот показатель как прогностический маркер хронической сердечной недостаточности.
4. Для объективной оценки тяжести ХСН в динамике течения заболевания рекомендовано определение показателей, характеризующих баланс про- и антиоксидантной активности сыворотки крови.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Березикова Е.Н., Яковлева Н.Ф., Доронина И.Ю. Роль окислительного стресса в формировании эндотелиальной дисфункции при хронической сердечной недостаточности // Сборник тезисов по материалам ежегодной конкурсн-конференции студентов и молодых ученых «Авиценна-2003». - Новосибирск, 2003. -С.260-261
2. Березикова Е.Н., Шилов С.Н., Яковлева Н.Ф. Недостаточность антиоксидантной активности крови влияет на прогрессирование эндотелиальной дисфункции // Сборник тезисов по материалам ежегодной конкурсн-конференции студентов и молодых ученых «Авиценна-2004». - Новосибирск, 2004. -С.216.
3. Березикова Е.Н. Вклад окислительного стресса в дисфункцию эндотелия при хронической сердечной недостаточности // Сборник тезисов докладов

- всероссийской научно-практической конференции «Молодые ученые- медицина». -Самара, 2003. - С. 62-63.
4. Маянская С.Д., Березикова Е.Н., Банникова М.А., Волкова И.И. Особенности окислительного метаболизма у больных с хронической сердечной недостаточностью // Сборник тезисов научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы кардиологии». - Тюмень, 2002. -С. 22-23.
  5. Маянская С.Д., Березикова Е.Н, Лукша Е.Б., Корниенко О.Г.,Банникова М.А., Яковлева Н. Ф., Доронина И.Ю. Зласова Ю. С, Волкова И.И. Особенности Окислительного метаболизма при хронической сердечной недостаточности // Тезисы докладов пятого конгресса с международным участием «Паллиативная медицина и реабилитация в здравоохранении». - Египет, 2003.-С. 132.
  6. Тендитная Н.М, Вохминцева Л.В., Маянская С.Д., Костина Н.В., Ронинсон А.Г., Доронина И.Ю., Маянская Н.Н., Березикова Е.Н. Антиоксиданты в коррекции окислительного метаболизма у больных тяжелой ХОБЛ // Тезисы докладов 10-го российского национального конгресса «Человек и лекарство». -Москва, 2005. - С. 550.
  7. Маянская С.Д., Банникова Е.А., Волкова И.И., Лукша Е.Б., Березикова Е.Н. Особенности окислительного метаболизма у больных с хронической сердечной недостаточностью // Сборник тезисов докладов всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний и организации кардиологической помощи населению». -Кемерово, 2003. -С. 100-101.
  8. Маянская С.Д., Яковлев А.В., Рахманина И.Д., Тендитная Н.М., Березикова Е.Н. Особенности окислительного стресса у больных с нестабильной стенокардией пожилого и старческого возраста // Тезисы докладов по материалам одиннадцатой научно-практической конференции врачей «Актуальные вопросы современной медицины». -Новосибирск, 2001. -С. 324.
  9. Банникова М.А., Маянская С.Д., Яковлева Н.Ф., Доронина И.Ю., Власова Ю.С., Волкова И.И., Лукша Е.Б., Корниенко О.Ю., Березикова Е.Н Особенности окислительного метаболизма при хронической сердечной недостаточности // Тезисы докладов по материалам четвертого конгресса молодых ученых и специалистов «Науки о человеке». -Томск, 2003.-С.45-46.

Соискатель

Березикова Е.Н.



## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ — артериальная гипертония

АОА - общая антиоксидантная активность сыворотки крови

АФК - активные формы кислорода

ДК - диеновые конъюгаты

ИФ — индекс фагоцитоза

КФМА - коэффициент функционально-метаболической активности фагоцитов крови

МДА - малоновый диальдегид

НСТ — тест с тетразолием синим

ПОЛ — перекисное окисление липидов

РААС - ренин-ангiotензин-альдостероновая система

САС - симпатико-адреналовая система

СОД — супероксиддисмутаза

ТНФ- $\alpha$  - туморнекротизирующий фактор-  $\alpha$

ФК — функциональный класс тяжести

ХМЛ — хемилюминесценция лейкоцитов

ХСН - хроническая сердечная недостаточность

ЭЗД — эндотелийзависимая дилатация

ЭКГ — электрокардиография

ЭНЗД - эндотелийнезависимая дилатация

ЭХОКГ - эхокардиография

IL-1 - интерлейкин 1

IL-4 - интерлейкин 4

Подписано в печать 11.10.04 г. Формат 60 x 84 / 16  
Усл. печ. л. 1.0. Тираж 100 экз. Заказ № 94-п

Отпечатано в типографии издательства «Сибмедицдэт»  
630091, г. Новосибирск, ул. Красный проспект, 52.  
Тел.: (383-2) 29-10-83'. E-mail: [sibmedisdat@rambler.ru](mailto:sibmedisdat@rambler.ru)

---



**№ 19697**

РНБ Русский фонд

2005-4

16890