

УДК: 616.24-008.64+616.12-008.64:613.84:577.175.14:616.155.3

© Орлова В.Д., Хренов А.А., 2012

ЛИПОПОЛИСАХАРИД-ИНДУЦИРОВАННЫЙ СИНТЕЗ ЦИТОКИНОВ IL-6 И IL-4 МОНОНУКЛЕАРНЫМИ ЛЕЙКОЦИТАМИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ ЛЕГОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У БОЛЬНЫХ С ДЛИТЕЛЬНЫМ СТАЖЕМ ТАБАКОКУРЕНИЯ

Орлова В.Д., Хренов А.А.

ГУ "Крымский государственный медицинский университет им. С.И.Георгиевского"

Изучение многофакторных механизмов активации иммунитета у больных хронической легочной недостаточностью (ХЛН) (при отсутствии обострения хронического obstructивного заболевания легких) и у больных хронической сердечной недостаточностью (ХСН) (при отсутствии клинических симптомов воспаления) продолжают привлекать внимание исследователей [6, 8, 9].

В рамках решения проблемы субклинической системной воспалительной реакции при хронических заболеваниях органов дыхания вскрыты механизмы формирования липополисахарида (LPS, эндотоксин, О-антиген, антиген Буавена) – индуцированного системного и регионарного (бронхолегочная система) дисбаланса [1, 7, 13, 15].

Сформулирована научная концепция, согласно которой одной из причин повышения уровня цитокинов у больных ХСН являются бактериальные эндотоксины, проникновение которых в организм осуществляется через отечную стенку кишечника. Венозный застой в кишечнике, неизбежный при снижении сердечного выброса, способствует повышению проницаемости стенки для бактерий и/или их токсинов, которые, проникая в кровоток и взаимодействуя с CD14-рецептором иммунокомпетентных клеток, запускают синтез TNF- α и других цитокинов [10, 12]. Подтверждением этой научной идеи является то, что мононуклеарные лейкоциты больных ХСН проявляют повышенную чувствительность к LPS, входящим в состав клеточной мембраны бактерий [10]. Выявлено также, что у больных ХСН концентрация эндотоксина в плазме тем выше, чем более выражен отек кишечной стенки, причем применение диуретиков снижает уровень как эндотоксина, так и TNF- α [12]. "Кишечное" происхождение эндотоксина у больных ХСН подтверждается тем фактом, что его концентрация в печеночных венах достоверно выше, чем в левом желудочке или легочных венах [11].

Учитывая, что ни одна из гипотез не отвечает полностью на все вопросы, связанные с причиной и механизмом повышения уровня цитокинов при сердечной и легочной недостаточности, ряд исследователей полагают, что важным "участником" формирования системного цитокинового дисбаланса может выступать активация всех основных источников цитокинов – иммунокомпетентных клеток, клеток бронхиального эпителия, кардиомиоцитов и скелетной мускулатуры. Результатом этого является критическое повышение уровня циркулирующих цитокинов, негативные сердечно-сосудистые эффекты, которых способствуют еще большему повреждению миокарда и легких [2, 3, 14].

Основной целью исследования явилось научное обоснование целесообразности коррекции дисбаланса цитокинового гомеостаза в комплексном

лечении хронической сердечной и хронической легочной недостаточности у лиц с длительным стажем табакокурения.

Материал и методы. Обследовано 83 больных ХЛН и ХСН, разделенных на четыре группы: 1-я группа – 22 больных ХЛН I-II степени без фактора курения в анамнезе, 2-я группа – 22 больных ХЛН I-II степени, стаж курения более 10 лет; в 3-ю группу вошли 20 больных ХСН, I-II ФК по NYHA без фактора курения в анамнезе, в 4-ю – 19 больных ХСН, I-II ФК по NYHA, стаж курения более 10 лет. Основной причиной развития ХЛН у больных 1-й и 2-й группы явилось хроническое obstructивное заболевание легких (ХОЗЛ), ХСН – различные формы ИБС.

Использован метод краткосрочных органных культур, обеспечивающий культивирование клеток *in vitro* по Лурия Е.А. [5], согласно которому обеспечиваются изоляция клеточных элементов от организма и условия, при которых в клетках могут поддерживаться обменные процессы и осуществляться некоторые функции, не требующие длительной пролиферации и многоэтапной дифференцировки. Культивация проводилась в присутствии антибиотиков (бензилпенициллина натриевой соли 1000 ЕД и стрептомицина сульфата 0,01 г на 1 мл культуральной среды).

Мононуклеарные лейкоциты выделяли из гепаринизированной крови центрифугированием на градиенте плотности фиколл-верографина. LPS получали из штаммов *E.coli* K 30 и C 600(lux)(R-мутанты) по методу Westphal O. (1984) [16]. Мягкий гидролиз нативного LPS проводили уксусной кислотой [4]. Концентрацию цитокинов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. Для определения уровня IL-4 были использованы тест-системы и реагенты тест-системы ProCon TOO "Протеиновый контур" (Россия), уровня IL-6 – тест-системы TOO "Цитокин" (Россия).

Результаты и обсуждение. Результаты исследования динамики LPS-индуцированного уровня провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-4 в культуральной жидкости культуры мононуклеарных клеток больных 1-й, 2-й, 3-й и 4-й групп представлены в табл.

Нами установлено (табл.), что длительный стаж табакокурения оказывает существенное влияние на LPS-индуцированный синтез IL-6 мононуклеарными лейкоцитами: у больных ХСН синтез провоспалительного цитокина возрастает в 1,8 раза ($p < 0,001$), у больных ХЛН – в 1,9 раза ($p < 0,001$). Длительный стаж табакокурения оказывает также существенное влияние на LPS-индуцированный синтез IL-4 мононуклеарными лейкоцитами: у больных ХСН синтез цитокина возрастает на 70,0 % ($p < 0,001$), у больных ХЛН – на 160,5 % ($p < 0,001$).

Таблиця. Влияние табакокурения на LPS-индуцированный уровень IL-6 и IL-4 в культуральной среде краткосрочной культуры мононуклеарных клеток больных 1-й, 2-й, 3-й и 4-й групп в эксперименте *in vitro*, пг/мл культуральной среды

Группа	Стат. показ.	LPS-индуцированный уровень IL-6 в культуральной среде	LPS-индуцированный уровень IL-4 в культуральной среде
1-я группа (ХСН, I-II ФК по NYHA)	M ± m n	43,48 ± 1,51 20	6,06 ± 0,24 20
2-я группа (ХСН, I-II ФК по NYHA, стаж курения более 10 лет)	M ± m n p	76,69 ± 3,68 19 < 0,001	10,30 ± 0,39 19 < 0,001
3-я группа (ХЛН I-II степени)	M ± m n	49,91 ± 1,64 22	4,94 ± 0,26 22
4-я группа (ХЛН I-II степени, стаж курения более 10 лет)	M ± m n p	96,97 ± 3,65 22 < 0,001	12,87 ± 0,43 22 < 0,001

Примечание: p – достоверность различий, высчитанная в сравнении с подобными больными без фактора курения в анамнезе.

Таким образом, у больных ХСН (I-II ФК по NYHA), а также ХЛН (I-II степени) с длительным (более 10 лет) стажем табакокурения в культуральной экспериментальной модели выявлен повышенный LPS-индуцированный синтез мононуклеарными лейкоцитами (целенаправленно мигрирующими *in loko morbi*) цитокинов IL-6 и IL-4, что углубляет дисбаланс цитокинового гомеостаза и формирует условия для хронизации/прогрессирования патологического процесса.

Вывод: У больных ХЛН (I – II степени), а также ХСН (I – II фк по nyha) с длительным (более 10 лет) стажем табакокурения в культуральной экспериментальной модели выявлен повышенный lps-индуцированный синтез мононуклеарными лейкоцитами (целенаправленно мигрирующими *in loko morbi*) цитокинов IL-6 и IL-4, что формирует условия для хронизации/прогрессирования патологического процесса как в легких, так и на уровне тканей миокарда.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Белоглазов В.А. Роль эндотоксина грамотрицательной флоры кишечника в формировании нарушений иммунитета и гемостаза у больных бронхо-обструктивным синдромом / В.А. Белоглазов - I национальный конгресс Украины з імунології, алергології та імуноабілітації: Збірка тез. – Алушта, 1998. – С.153.
 2. Гончарова О.С. Стан системи цитокінів у хворих з ішемічною хворобою серця та хронічною серцевою недостатністю // Медичні перспективи. – 2003. – №2. – Том VIII. – С. 44-47.
 3. Дзяк Г.В., Гончарова Е.С. Состояние системы цитокинов у больных с артериальной гипертензией и хронической сердечной недостаточностью // Матеріали Української науково-практичної конференції: Тези наук. доп. 12-14 травня 2004 р. – Київ. – С.54.
 4. Захарова И.Я. Эндотоксины – О-антигены кишечной палочки. – Киев: Наукова думка, 1980. – 207 с.
 5. Лурія Е.А. Органне культури кривотворної та лимфоїдної ткани: Автореф. дис. ...д-ра біол. наук: 03.099. / Академія мед. наук СССР. – М., 1972. – 37 с.
 6. Agustí A. Neff lecture. Chronic obstructive pulmonary disease: a systemic disease / A. Agustí, A. Thomas // Proc. Am. Thorac. Soc. – 2006. – Vol.3. – P.478 – 481.
 7. Bacterial lipopolysaccharide-induced sulfidoleukotriene release from peripheral blood leukocytes in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease / [Kraus-Filarska M., Malolepszy J., Medrala W. et al.] - J. Invest. Allergol. Clin. Immunol. – 1997. – Vol.8, №2. – P.94-97.
 8. Chung K. F. Multifaceted mechanisms in COPD: inflammation, immunity, and tissue repair and destruction / K. F. Chung, I. M. Adcock // Eur. Respir. J. – 2008. – Vol. 31, N. 6. – P. 1334 - 1356.
 9. C-reactive protein and coronary heart disease: predictive test or therapeutic target? / A. D. Hingorani, T. Shah, J. P. Casas [et al.] // Clin. Chem. – 2009. – Vol. 55, N. 2. – P. 239 - 255.
 10. Elevated soluble CD 14 receptors and altered cytokines in chronic heart failure / [Anker S.D., Egerer K., Volk H-D. et al.] – Am. J. Cardiol. – 1997. – Vol.79. – P. 1426-1430.
 11. Endotoxemia in congestive heart failure: highest levels in hepatic veins suggestive of intestinal bacterial and/or endotoxin translocation / [Peschel T., Anker S.D., Ziegenbalg K. et al.] – Eur. J. Heart failure. – 2000. – Vol.2 (Suppl. 2). – P. 104-112.
 12. Endotoxin and immune activation in heart failure: a prospective cohort study / [Neibauer J., Volk H-D., Kemp M. et al.] – Lancet. – 1999. – Vol.353. – P. 1838-1842.
 13. Inhibition by triptolide of chemokine, proinflammatory cytokine, and adhesion molecule expression induced by lipopolysaccharide in corneal fibroblasts / [Lu Y., Liu Y., Fukuda K. et al.] - Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2006. – Vol. 47, № 9. – P.3796-3800.
 14. Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. Cellular mechanisms (part I) / [Mroz R.M., Szulakowski P., Pierchala W., et al.] // Wiad. Lek. 2006. – Vol.59, №№1-2. – P.92-96.
 15. The involvement of reactive hydroxyl radicals in Haemophilus influenzae-induced deterioration or guinea pig lung beta-adrenergic receptor function / [Engels F., Oostingh R.S., Hericks P.A. et al.] - Agents Action. – 2003. – Vol.17, №3-4. – P.403-404.
 16. Westphal O. Bacterial endotoxins: chemical and clinical aspects / Weinheim. – 1984. – P. 1-10.
- Орлова В.Д., Хренов О.А. Липополісахарид-індукований синтез цитокінів IL-6 та IL-4 мононуклеарними лейкоцитами у хворих із хронічною легеневою і хронічною серцевою недостатністю та тривалим стажем тютюнопаління // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 3. – С. 142-143.
- У хворих із ХЛН і ХСН вивчено рівень цитокінів у культуральному середовищі культури мононуклеарних лейкоцитів та встановлено, що тривалий стаж тютюнопаління характеризується підвищенням LPS-індукованим синтезом мононуклеарними лейкоцитами прозапальних цитокінів IL-6 і IL-4, що формує умови для хронізації і прогресування патологічного процесу.
- Ключові слова:** тютюнопаління, ліпополісахариди, цитокіни, хронічна легенева недостатність, хронічна серцева недостатність.
- Орлова В.Д., Хренов А.А. Липополісахарид-індуцированный синтез цитокинов IL-6 И IL-4 мононуклеарными лейкоцитами у больных хронической легочной и хронической сердечной недостаточностью и длительным стажем табакокурения // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 3. – С. 142-143.
- У больных ХЛН и ХСН изучен уровень цитокинов в культуральной среде культуры мононуклеарных лейкоцитов и установлено, что длительный стаж табакокурения характеризуется углублением дисбаланса цитокинового гомеостаза – повышенным LPS-индуцированным синтезом мононуклеарными лейкоцитами цитокинов IL-6 и IL-4, что может формировать условия для хронизации и прогрессирования патологического процесса.
- Ключевые слова:** табакокурение, липополісахариди, цитокіни, хроническая легочная недостаточность, хроническая сердечная недостаточность.
- Orlova V.D., Hrenov A.A. Long-term experience of tobacco smoking influence on lps-induced synthesis of IL-6, IL-4 cytokines by mononuclear leukocytes at patients with chronic pulmonary and chronic heart insufficiency // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 3. – С. 142-143.
- Cytokines level in cultural medium of mononuclear leukocytes kind was studied at patients with chronic pulmonary and chronic heart insufficiency. Long-term smoking experience was determined to be characterised by increased LPS-induced synthesis of mononuclear leukocytes of proinflammatory IL-6, IL-4 cytokines. This state forms the conditions for chronization and progression of pathological process.
- Key words:** tobacco smoking, lipopolysaccharids, cytokines, chronic pulmonary and chronic heart insufficiency.

Надійшла 17.03.2012 р.
Рецензент: проф. Л.І. Пінський