

АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ИЛ-1 β У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ПОСЛЕ СТЕНТИРОВАНИЯ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

Владимирская Т. Э., Швед И. А., Михневич Д. Л., Полина С. С., Федоров А. Л., Кицаева О. Ф.

Государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск, Республика Беларусь

Реферат. Основу работы составили иммуно-гистохимическое исследование экспрессии ИЛ-1 β , которое проводилось на коронарных артериях (далее — КА), взятых от 70 умерших с ишемической болезнью сердца (далее — ИБС) и коронарным атеросклерозом, и исследование содержания ИЛ-1 β в сыворотке крови 34 пациентов с ИБС иммуноферментным анализом, у которых проводилось стентирование. В результате исследований установлено, что концентрация ИЛ-1 β в крови пациентов с ИБС в сроки стентирования более 180 сут после операции ниже ($p < 0,05$), чем у пациентов в ранние сроки после операции. В крови пациентов с клинически верифицированным рестенозом концентрация ИЛ-1 β значительно ниже ($p < 0,05$), чем у пациентов без такового. Выявлена прямая связь между экспрессией ИЛ-1 β в тканях стентированных КА и концентрацией ИЛ-1 β в сыворотке крови пациентов с ИБС после стентирования ($r = 0,22$; $p < 0,05$).

Ключевые слова: коронарные артерии, стентирование, тромбоз, рестеноз, интерлейкин-1 бета.

Введение. За последние десятилетия широкое внедрение эндоваскулярных методов реваскуляризации миокарда при стенозирующем коронарном атеросклерозе позволило существенно улучшить результаты лечения при ИБС [1]. Однако главным осложнением, ограничивающим клиническую эффективность чрескожных коронарных вмешательств, является высокая частота развития рестеноза. В процессе его развития важную роль играет воспаление [2]. В настоящее время достаточно подробно изучено влияние таких маркеров воспаления, как интерлейкины, высокочувствительный С-реактивный белок, фибриноген, фактор некроза опухолей в развитии и прогрессировании атеросклероза [3]. Все они участвуют в регуляции запуска каскада реакций воспалительного ответа, в основе которого лежит баланс между воспалительными и противовоспалительными факторами. Одним из наиболее широкоизученных цитокинов, ответственных за развитие воспалительной реакции, является интерлейкин-1 бета (далее — ИЛ-1 β).

ИЛ-1 β — многофункциональный цитокин с широким спектром действия, играет ключевую роль в формировании и регуляции неспецифического и специфического иммунитета. При действии патогенных факторов он один из первых запускает ответную защитную реакцию организма [4]. Основными продуцентами ИЛ-1 β являются макрофаги и моноциты, также в синтезе могут принимать участие лимфоциты, фибробласты. Известно, что ИЛ-1 β оказывает стимулирующее влияние на метаболизм соединительной ткани. Медиатор стимулирует пролиферацию фибробластов и увеличивает продукцию ими простагландинов, ростовых факторов и ряда цитокинов [5]. Кристаллы холестерина (далее — ХС) обладают способностью стимулировать синтез ИЛ-1 β . Было установлено, что кристаллы ХС могут также стимулировать образование нейтрофильных внеклеточных ловушек, которые подготавливают макрофаги к синтезу провоспалительных цитокинов [6]. Таким образом, липидная инфильтрация, связанная с высокой экспрессией ИЛ-1 β , определяет интенсивность лейкоцитарной инфильтрации сосудистой стенки. Однако провоспалительные цитокины могут регулировать экспрессию металлопротеиназ: активация клеток цитокинами приводит к увеличенной конвертации ферментов из неактивной формы в активную [7]. В стенке поврежденного сосуда происходит пролиферация гладкомышечных клеток синтетического типа, накопление коллагена и изменение структуры межклеточного матрикса, что проявляется гиперплазией интимы сосудистой стенки.

Таким образом, исследование динамики уровня ИЛ-1 β у пациентов с ИБС в разные сроки после стентирования КА является актуальным в плане прогнозирования риска развития гиперплазии интимы и связанного с ней рестеноза, а также хронического воспаления и тромбоза.

Цель работы — исследование динамики показателей ИЛ-1 β в крови пациентов, а также в тканях КА умерших с ИБС в разные сроки после стентирования КА; оценка роль данного цитокина в развитии осложнений.

Материалы и методы. Иммуногистохимическое исследование уровня экспрессии ИЛ-1 β проведено с использованием моноклонального антитела ИЛ-1 β фирмы Thermo Fisher Scientific (США) с разведением 1:100. В качестве системы визуализации использовалась Expose Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB Detection IHC Kit (Abcam), содержащая комплекс вторичных антител и хромоген диаминобензидин (DAB). Исследования проводились на КА, взятых от 70 умерших от острой сердечной недостаточности с ИБС и коронарным атеросклерозом, у которых проводилось стентирование. Коронарные артерии

вскрывались продольно и поперечно, отбирались сегменты сосуда со стентами и вне стентирования, с тромбами и без них.

В морфологические исследования были включены 287 сегментов КА, распределение их по срокам от момента стентирования: 0–1 сут — 136 сегментов, 1–30 сут — 112 сегментов, 30–180 сут — 27 сегментов, >180 сут — 12 сегментов.

Морфометрический анализ гистологических препаратов проводился при помощи программы количественной микроскопии для анализа и обработки изображений Leica-Qwin версии 1.56. Для анализа отбирались цифровые изображения неперекрывающихся полей зрения с четкой визуализацией оболочек сосудистой стенки. Количественную оценку экспрессии IL-1 β в ткани КА выполняли путем анализа цифрового изображения, полученного с помощью микроскопа Leica DMLS (при увеличении в 200 раз и минимальном количестве полей зрения 10) с использованием алгоритма «positive pixel count» и программы для морфометрии Aperio Image Score. Рассчитывался индекс экспрессии (далее — ИЭ) как отношение числа позитивных пикселей к их общему числу.

Для исследования изменений содержания в крови IL-1 β использовали наборы ELISAKit, Human IL-1 в фирмы «Вектор-Бест» (РФ). В исследуемую группу вошли 34 стентированных пациента с ИБС, у которых образцов крови (n = 96) отбирались в зависимости от сроков стентирования: 0–1 сут — 34 образца, 1–30 сут — 23, 30–180 сут — 27, >180 сут — 12, а также наличия ангиографически верифицированного рестеноза.

Оптическую плотность измеряли на иммуноферментном анализаторе SIRIO S SEAC (Италия). Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета статистических программ Statistica 10.0.

Результаты и их обсуждение. Количественный анализ экспрессии IL-1 β показал статистически значимое повышение экспрессии цитокина в ранние сроки стентирования (0–30), с максимальным подъемом экспрессии белка в сроки от 1 до 30 сут (29,5 (26,6; 33,2)) (таблица 1).

Таблица 1. — Экспрессия IL-1 β в КА у умерших пациентов по срокам от момента стентирования

№ п/п	Сроки стентирования, сут	ИЭ, % Me (25; 75)	P
1	0–1	22,4 (17,7; 28,7)	P ₁₋₂ <0,05 P ₁₋₃ <0,05 P ₁₋₄ <0,05
2	1–30	29,5 (26,6; 33,2)	P ₂₋₃ <0,05 P ₂₋₄ <0,05
3	30–180	5,6 (4,1; 7,4)	P ₃₋₄ <0,05
4	>180	7,4 (6,0; 8,5)	

В ранние сроки (от 0 до 30 сут) отмечалась выраженная лимфоцитарная инфильтрация меди и краев бляшки КА. В ткани КА IL-1 β локализовался чаще в очагах лейкоцитарной и макрофагальной инфильтрации и тромбоза. В дальнейшем наблюдалось снижение ИЭ IL-1 β .

Результаты иммуноферментного анализа концентрации IL-1 β в крови пациентов после стентирования показали статистически значимое (p<0,05) снижение концентрации цитокина через 6 мес. после стентирования по сравнению с первыми сутками после операции (таблица 2).

За первый послеоперационный месяц концентрация IL-1 β незначительно снизилась и оставалась практически неизменной в течение 6 мес., после чего наблюдалось дальнейшее ее снижение.

В крови пациентов с клинически верифицированным рестенозом наблюдалось статистически значимое (p<0,05) снижение уровня IL-1 β по сравнению с пациентами без рестеноза (таблица 3).

Статистический анализ выявил прямую слабую связь между экспрессией IL-1 β в тканях стентированных КА и концентрацией IL-1 β в сыворотке крови пациентов с ИБС после стентирования (r = 0,22; p<0,05).

Таблица 2. — Динамика концентрации IL-1 β в крови пациентов после стентирования

№ п/п	Сроки стентирования, сут	Концентрация IL-1 β , пг/мл Me (25; 75)	P
1	0–1	1,72 (1,24; 2,06)	P _{1–4} <0,05
2	1–30	1,31 (1,17; 1,1,65)	
3	30–180	1,31 (0,9; 1,58)	
4	>180	0,97 (0,83; 1,38)	

Таблица 3. — Уровни IL-1 β в сыворотке крови у пациентов с рестенозом и без такового

Группы пациентов	Концентрация IL-1 β , пг/мл Me (25; 75)
С рестенозом	0,83* (0,62; 0,97)
Без рестеноза	1,38 (1,38; 1,45)
* — различия статистически значимы по сравнению с группой без рестеноза (p<0,05).	

Заключение. Количественный анализ экспрессии IL-1 β показал статистически значимое повышение экспрессии цитокина в ранние сроки стентирования (0–30), с максимальным подъемом экспрессии белка в сроки от 1 до 30 сут. Так как IL-1 β является одним из основных медиаторов воспаления с широким спектром действия, повышение его экспрессии свидетельствует о выраженной воспалительной реакции и, как следствие, может быть причиной развития тромбоза. IL-1 β является одним из факторов стимуляции синтеза металлопротеиназ и его повышенная активность также может свидетельствовать о формировании нестабильных атеросклеротических повреждений. Напротив, снижение концентрации IL-1 β ассоциировано с развитием рестеноза, о чем свидетельствует статистически значимое (p<0,05) снижение концентрации IL-1 β в сыворотке крови у пациентов с ангиографически верифицированным рестенозом и снижение экспрессии цитокина в ткани КА в отдаленные сроки после стентирования. Выявленная связь между уровнем экспрессии IL-1 β в ткани КА и концентрацией IL-1 β в крови (r = 0,22; p<0,05) свидетельствует о потенциальной прогностической значимости исследования данного цитокина в качестве лабораторного маркера развития осложнений стентирования.

Литература

1. The pathology of neoatherosclerosis in human coronary implants bare-metal and drug-eluting stents / G. Nakazawa [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. — 2011. — Vol. 57, № 11. — P. 1314–1322.
2. Risk of restenosis and health status outcomes for patients undergoing percutaneous coronary intervention versus coronary artery bypass graft surgery / J. A. Spertus [et al.] // Circulation. — 2005. — Vol. 111. — P. 768–773.
3. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies / J. Danesh [et al.] // JAMA. — 1998. — Vol. 279, № 18. — P. 1477–1482.
4. Симбирцев, А. С. Новые подходы к клиническому применению Беталейкинарекомбинатного интерлейкина-1 β / А. С. Симбирцев [и др.] // Terra Medica. — 2000. — № 1. — С. 3–5.
5. IL-33, an interleukin- 1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines / J. Schmitz [et al.] // Immunity. — 2005. — Vol. 23, № 5. — P. 479–490.
6. Гольшко, В. С. Роль цитокинов в патогенезе ишемической болезни сердца / В. С. Гольшко // Журн. ГрГМУ. — 2010. — № 4. — С. 32.
7. Маркелова Е. В. Матриксные металлопротеиназы: их взаимосвязь с системой цитокинов, диагностический и прогностический потенциал / Е. В. Маркелова // Иммунопатология, Аллергология, Инфектология. — 2016. — № 2. — С. 11–22.

ANALYSIS OF IL-1 β DYNAMICS IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE AFTER STENTING OF CORONARY ARTERIES

Vladimirskaya T. E., Shved I. A., Mikhnevich D. L., Polina S. S., Fedorov A. L., Kitsaeva O. F.

State Educational Establishment "Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education", Minsk, Republic of Belarus

The basis of the work were the immunohistochemical (IHC) study of IL-1 β expression, which was performed on coronary arteries (CA) taken from 70 deaths from ischemic heart disease and coronary atherosclerosis and study of IL-1 β concentrations in serum of 34 patients with IHD by immunoassay (ELISA), who underwent stenting. As a result of the conducted studies it was found that the concentration of IL-1 β in the blood of patients with IHD in terms of stenting more than 180 days after surgery was lower ($p < 0.05$) than in patients in the early postoperative period. In the blood of patients with clinically verified restenosis, the concentration of IL-1 β is significantly lower ($p < 0.05$) than in patients without restenosis. A direct relationship between the expression of IL-1 β in the tissue of stented CA and IL-1 β concentration in the serum of patients with IHD after stenting was found ($r = 0.22$; $p < 0.05$).

Keywords: coronary arteries, stenting, thrombosis, restenosis, interleukin-1 beta.