

---

---

**МЕДИКО–БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ**

---

---

УДК 616. 831

**ЦИТОКИН– И НИТРОКСИДЕРГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ У МУЖЧИН,  
УЧАСТВОВАВШИХ В ВОЕННОМ КОНФЛИКТЕ,  
С РАННИМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ  
ХРОНИЧЕСКИХ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Д.Ш. Альтман  
e-mail: chel.hospital@mail.ru

Челябинский областной клинический терапевтический госпиталь, г. Челябинск, Россия

Статья поступила 21 декабря 2005 г.

**Введение**

Хронические цереброваскулярные заболевания (ХЦВЗ) широко распространены в современном мире, на их фоне часто развиваются угрожающие жизни острые эпизоды нарушений мозгового кровообращения, особенно у мужской части населения. Инсульты в настоящее время занимают среди причин смертности, второе место, уступая в этом отношении лишь ишемической болезни сердца [2, 5, 16].

На развитие и манифестацию патологии существенное влияние оказывает, по данным литературы, наличие стрессовых ситуаций, психо–эмоциональное перенапряжение [1, 2, 7, 10]. В связи с этим представляет интерес изучение патогенетических особенностей развития самых ранних клинических проявлений хронической цереброваскулярных заболеваний (ХЦВЗ) у мужчин, ранее участвовавших в военных действиях, для которых характерным является наличие посттравматических стрессовых расстройств (ПТСР) [6, 15].

Особого внимания у лиц, участвовавших в военных конфликтах, заслуживает анализ мало исследованных аспектов дисрегуляции на уровне иммунной системы, которая наряду с нервной и эндокринной стереотипно вовлекается в развитие генерализованной адаптационной реакции при ответе на любые раздражители. Со времени основополагающих работ Н. Selye к характерной для стресса триаде симптомов относят иммунные нарушения в виде гипоплазии лимфоидной ткани [14]. В последнее время много публикаций появилось о роли секреторных продуктов иммунных клеток в развитии стресс–индуцированных изменений в организме, об участии цитокинов в координации системных защитных реакций организма, развитии генерализованного адаптационного синдрома [4, 9, 11–13].

Меньше исследованы иммунологические аспекты перенесенного тяжелого психо–эмоционального стресса, в т.ч. посттравматических стрессовых расстройств, развивающихся у участников боевых действий в сроки, отставленные на многие годы после военных событий, отсутствуют данные о количественном содержании цитокинов в биологических жидкостях у участников военных конфликтов [4, 6]. Между тем цитокины, первоначально открытые как локальные гуморальные медиаторы, обеспечивающие взаимодействие клеток в пределах иммунной системы, в настоящее время рассматриваются как системные гормоноподобные агенты, индуцирующие глубокие нейроэндокринные и метаболические изменения в организме, влияющие на развитие адаптации, течение различных форм патологии, состояние системы гемостаза, сосудистого тонуса и кровотока [8, 9, 12, 13].

Целью исследования был анализ уровня сывороточных цитокинов и оксида азота, их продукции моноцитами крови в условиях *in vitro* у пациентов с ранними формами хронических цереброваскулярных заболеваний (ХЦВЗ), ранее участвовавших в военных действиях в Афганистане.

## 1. Методика исследования

В исследование было включено 117 мужчин в возрасте от 30 до 50 лет, с диагнозом начальные проявления неполноценности кровоснабжения мозга (НПНКМ) — 81 человек, а также дисциркуляторная энцефалопатия 1 стадии (ДЭП—1) — 36 человек, контрольная группа здоровых мужчин — 13 человек. Среди обследуемых были мужчины, ранее участвовавшие в военных действиях в Афганистане (69 человек), а также лица, никогда не принимавшие участия в военных конфликтах (48 человек). Диагностика и выделение начальных стадий ХЦВЗ проведена в соответствии с общепринятой клинической классификацией сосудистых поражений нервной системы [7]. Обследуемые лица были распределены по группам следующим образом:

- 1 группа — 44 пациента с НПНКМ, участвовавших в афганском конфликте (средний возраст  $38,99 \pm 0,48$  лет);
- 2 группа — 12 пациентов с ДЭП–1, участвовавшие в афганском конфликте (средний возраст  $43,77 \pm 0,82$  лет);
- 3 группа — 37 пациентов с НПНКМ, не участвовавших в военных конфликтах (средний возраст  $41,76 \pm 0,66$  лет);
- 4 группа — 11 пациентов с ДЭП–1, не участвовавших в военных конфликтах (средний возраст —  $46,5 \pm 0,78$  лет);
- 5 группа контрольная из 13 мужчин, здоровых, участвовавших в афганском конфликте (средний возраст  $39,05 \pm 1,05$  лет);

В сыворотке крови пациентов проведено определение уровня туморнекротического фактора альфа (TNF $\alpha$ ), интерлейкина –1 $\alpha$  (IL–1 $\alpha$ ), интерлейкина–2 (IL–2), растворимого рецептора к интерлейкину–2 (sIL–2R), васкулоэндотелиального фактора (VEGF) с помощью стандартных тест–систем для иммуноферментного анализа. Для определения количества TNF $\alpha$  использовалась тест–система производства Института особо чистых биопрепаратов (С.–Петербург), для определения IL–2 — тест–система производства «Протеиновый контур» (С. Петербург), для растворимого рецептора к IL–2 (sIL–2R) тест — система производства Dia–Med (Бельгия). Учет результатов проводился на планшетном фотометре «Multiscan plus» (Labsystems) при длине волны 450 нм. Определение количества васкулоэндотелиального фактора — VEGF проводили с помощью тест–наборов производства Cytimmune (Финляндия), учет результатов — на планшетном фотометре «Multiscan plus» при длине волны 490 нм.

Определение уровня NO в сыворотке крови и культуральной жидкости проводилось с помощью модифицированного метода Гриса [3] по суммарному количеству конечных продуктов метаболизма NO (нитритов и нитратов).

## 2. Результаты и обсуждение

Результаты количественного определения цитокинов в сыворотке крови у мужчин с ранними формами ХЦВЗ, участвовавших и не участвовавших в боевых действиях в Афганистане, представлены в табл. 1.

Как видно из таблицы 1, минимальный уровень TNF $\alpha$  обнаружен в сыворотке крови у здоровых мужчин контрольной группы, ранее участвовавших в военных действиях в Афганистане. Самые высокие значения этого цитокина выявлены у больных с НПНКМ, как среди комбатантов, так и среди пациентов гражданских профессий, максимальный уровень установлен у комбатантов с НПНКМ, на порядок превышающий значение контрольной группы и втрое — значение у больных гражданских профессий с НПНКМ.

Существенных колебаний уровня IL–1 $\alpha$  у пациентов с ХЦВЗ в зависимости от их участия в боевых действиях не выявлено, самый высокий уровень этого цитокина установлен у больных с ДЭП–1, как у комбатантов, так и у больных гражданских профессий.

Таблица 1

Уровни цитокинов в сыворотке крови пациентов с ранними формами ХЦВЗ

Показатель	Участники боевых действий				Лица гражданских профессий				Контроль		P
	1 группа НПНМК n=44		2 группа ДЭП 1 n=12		3 группа НПНМК n=37		4 группа ДЭП 1 n=11		5 группа n=13		
	М	σ	М	σ	М	σ	М	σ	М	σ	
TNFα пг/мл	3,49	3,45	0,95	1,20	1,37	1,19	1,30	1,03	0,30	0,59	0,001 <sub>1-2</sub> 0,001 <sub>1-3</sub> 0,001 <sub>1-4</sub> 0,001 <sub>1-5</sub> 0,01 <sub>2-3</sub> 0,05 <sub>2-4</sub> 0,05 <sub>3-5</sub>
IL-1α, пг/мл	27,52	5,37	34,29	8,56	21,00	6,11	38,43	12,53	26,37	3,97	0,005 <sub>2-3</sub>
IL-2 пкг/мл	31,31	32,67	32,05	50,42	53,66	87,17	—	—	34,03	36,37	
sIL-2R пкг/мл	438,9	210,0	354,6	196,8	142,6	186,4	—	—	264,8	46,92	0,05 <sub>1-2</sub> 0,025 <sub>1-3</sub>
VEGF пг/мл	49,50	40,91	39,71	17,16	24,06	23,83	16,90	7,66	47,43	18,25	0,01 <sub>1-4</sub> 0,05 <sub>2-4</sub> 0,025 <sub>4-5</sub>

Примечание: достоверность различий между группами по Колмогорову–Смирнову.

Достоверных колебаний базового уровня IL-2 во всех изучаемых группах по сравнению с контрольной не установлено, но обнаружено изменение уровня растворимого рецептора к IL-2. Максимальный уровень растворимого рецептора обнаружен у комбатантов с НПНМК, который достоверно превышал количество рецептора у комбатантов с ДЭП-1ст. и у больных мирных профессий с НПНМК, но не отличался достоверно от контрольной группы здоровых комбатантов.

Минимальные значения VEGF установлены у больных гражданских профессий с ДЭП-1, которые были достоверно ниже, чем в контрольной группе и чем у больных ХЦВЗ участвовавших ранее в военных действиях. Несколько выше был этот показатель у больных гражданских профессий с НПНМК, но он не отличается достоверно от уровня контрольной группы.

У больных с НПНМК и ДЭП-1, ранее участвовавших в военных действиях, нами были определены уровни конечных метаболитов оксида азота в сыворотке крови, а также в супернатанте культивируемых *in vitro* моноцитов крови. Данные представлены в табл. 2.

Таблица 2

Уровни конечных метаболитов оксида азота в сыворотке крови и в культуральной жидкости (M±m)

Показатель мкМоль/л	Группа 1 НПНМК n=13	Группа 2 ДЭП-1 n=10	Контрольная группа n=10	P
Показатели сыворотки крови				
NO <sub>2</sub>	3,47±0,34	3,4±0,83	3,6±0,56	
NO <sub>3</sub>	22,58±2,41	14,0±1,94	10,39±1,30	<0,05 <sub>1-2</sub> <0,05 <sub>1-3</sub>
NO <sub>x</sub>	27,87±1,77	17,4±1,93	14,0±1,18	<0,05 <sub>1-2</sub> <0,05 <sub>1-3</sub>
Показатели культуральной жидкости				
NO <sub>2</sub>	10,24±1,05	17,46±5,04	7,25±1,20	
NO <sub>3</sub>	Спонтанная	42,2±4,5	22,22±4,7	<0,05 <sub>1-2</sub> <0,05 <sub>1-3</sub>
NO <sub>x</sub>		51,9±4,96	39,6±5,05	34,58±5,67
NO <sub>2</sub>		12,98±1,60	30,97±8,83	13,6±2,9
NO <sub>3</sub>	Индукцированная	43,96±5,58	20,28±5,41	38,87±8,32
NO <sub>x</sub>		56,97±6,75	51,25±10,8	51,8±10,7

Как следует из табл. 2, самый высокий уровень содержания конечных метаболитов оксида азота в сыворотке крови у участников боевых действий выявлен у пациентов с НПНКМ, у них установлен более высокий уровень нитратов и суммарных метаболитов, чем в контрольной группе, и чем у комбатантов с ДЭП-1.

Соответственно и уровень спонтанной продукции оксида азота моноцитами крови в условиях *in vitro* также оказался самым высоким у комбатантов с НПНКМ, у них был достоверно более высоким уровень нитратов и суммарных продуктов NO. Уровень индуцированной продукции оксида азота под влиянием микробных липополисахаридов (ЛПС) был максимальным также у комбатантов с НПНКМ, о чем свидетельствует рост количества нитратов в культуральной жидкости при выращивании моноцитов.

## Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что характер цитокинергической регуляции у больных с ранними проявлениями ХЦВЗ существенно отличается от контрольной группы здоровых мужчин. Максимальные отклонения от нормы содержания TNF $\alpha$  установлены у больных с самыми начальными, дисрегуляторными проявлениями недостаточности кровоснабжения мозга. У больных с НПНКМ уровень данного цитокина достоверно превышал значения показателей нормы, а также уровни содержания TNF $\alpha$  в сыворотке крови пациентов с ДЭП-1, т. е. с более выраженными стадиями ХЦВЗ, проявляющихся очаговой неврологической микросимптоматикой.

TNF $\alpha$  относится к полифункциональным цитокинам: хорошо известна его способность вызывать геморрагический некроз при экспериментальном воспроизведении сенсибилизации организма к микробным аллергенам, роль в регрессии опухолей, участие в острофазовых ответах организма, провоспалительные эффекты, а также участие в стресс-индуцированных реакциях, усиливающих естественную резистентность организма к неблагоприятным факторам различного характера [8, 9]. Показано действие TNF $\alpha$  на метаболические процессы, усиливающее влияние на продукцию NO, процессы гемокоагуляции [8]. Рост продукции TNF $\alpha$  при самых начальных формах ХЦВЗ следует, по всей вероятности, оценивать как экстренный механизм компенсации, способствующий опосредованно через продукцию NO вазодилатации и оптимизации церебрального кровотока.

Действительно, наряду с увеличением продукции TNF $\alpha$  нами выявлено изменение нитроксидергических процессов при НПНКМ в группе участников военных действий в Афганистане. У комбатантов с НПНКМ был самым высоким уровень конечных метаболитов NO в сыворотке крови в сопоставлении с контрольной группой здоровых мужчин того же возраста, а также в сравнении с участниками боевых действий, страдающих ДЭП-1. При НПНКМ в 1 группе пациентов выявлен также максимальный уровень спонтанной и индуцированной ЛПС микробов продукции оксида азота моноцитами крови в сравнении со 2 и контрольной группой, что косвенно отражает участие иммунцитов в изменении характера нитроксидергической регуляции при НПНКМ.

Главную роль в нейроиммунорегуляторной системе отводят IL-2 [9]. Однако достоверных колебаний уровня этого интерлейкина у больных сравниваемых групп мы не выявили. Вместе с тем установлены существенные различия в уровне растворимого рецептора для IL-2 между сравниваемыми группами. Самым высоким был уровень этого рецептора у комбатантов с НПНКМ, он был достоверно выше, чем у комбатантов с ДЭП 1 стадии и у больных гражданских профессий с НПНКМ и на уровне тенденции, не достигающей степени статистической значимости, превышал значение показателей нормы. Учитывая способность растворимого рецептора связывать циркулирующий лиганд (в данном случае IL-2), можно предполагать, что рост уровня рецептора может способствовать более длительной циркуляции интерлейкина-2, что может оказывать существенное влияние на состояние нейроиммунной регуляции у лиц с НПНКМ, ранее участвовавших в военных конфликтах.

Самый низкий уровень вазоформного цитокина VEGF оказался у больных ХЦВЗ гражданских профессий, у которых этот показатель при ДЭП 1 стадии был существенно ниже, чем в контрольной группе, также как у комбатантов с НПНКМ и ДЭП 1 стадии. Очень низким был уровень VEGF также и при НПНКМ у лиц гражданских профессий, хотя статистических различий с другими группами не выявлено. Низкие значения вазоформного цитокина могут свидетельствовать о дефекте компенсации при ДЭП 1 стадии у лиц гражданских профессий, снижении VEGF-зависимого процесса неангиогенеза.

Таким образом, проведенными исследованиями установлены наиболее выраженные изменения уровней оксида азота, цитокинов и растворимых рецепторов к ним у больных с самыми ранними формами ХЦВЗ, ранее участвовавших в боевых действиях. Выявлено изменение продукции оксида азота моноцитами крови при их культивировании в условиях *in vitro*, что позволяет предполагать участие иммунцитов в изменение цитокин– и нитроксидергических процессов при формировании ХЦВЗ у участников военных конфликтов.

#### **Список литературы**

1. Григорьева В.Н., Густов А.В., Котова О.В., Жирнова Е.В., Лаптев А.В. Роль эмоционального напряжения в развитии начальных форм хронической цереброваскулярной недостаточности // Журн. неврол. и психиатр, 2000. Т. 100, № 3. С.14—18.
2. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Стаховская Л.В., Киликовский В.В., Айриян Н.Ю., Эпидемиология инсульта в России // *Consilium medicum*. Журн. доказательной медицины для практикующих врачей, 2003. Т. 5, №5. С. 1—6.
3. Емченко Н.Л., Цыганенко О.И., Ковалевская Т.В. Универсальный метод определения нитратов в биосредах организма // *Клин. лаб. Диагностика*, 1994. № 6. С. 19—20.
4. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии. Лекция // *Патофизиология и экспериментальная медицина*, 2001. № 4. С. 28—40.
5. Харченко В.И., Какорина Е.П., Корякин М.В. и др. Смертность от основных болезней системы кровообращения в России (Аналитический обзор официальных данных Госкомстата Минздрава России, ВОЗ и экспертных оценок по проблеме) // *Российский кардиологический журнал*, 2005. № 1 (51). С. 5—15.
6. Шанин В.Ю, Стрельников А.А. Патофизиологические основы реабилитации участников войн // В кн.: *Медицинская реабилитация раненых и больных*. Под ред. Ю.Н. Шанина. С.–Петербург. «Специальная литература», 1997. С. 82—111.
7. Шмид Е.В. Классификация сосудистых поражений головного и спинного мозга // *Журн. неврологии и психиатрии им. Корсакова*, 1985. № 9. С. 1281—1288.
8. Ярилин А.А. Основы иммунологии. М.: Медицина, 1999. 607 с.
9. Berczi I. Neuroimmune biology — an introduction // In book: *Neuroimmune biology* (ed. by I. Berczi, A. Szentivanyi). Elsevier—Amsterdam, 2001. Vol. 1. P. 3—45.
10. Goldstein L.B., Adams R., Becker K., Furberg C.D., Gorelick P.B., Hademenos D., Hill M., Howard G., Howard V.J., Jacobs B., Levine S.R., Mosca L., Sacco R.L., Sherman D.G., Wolf P.A., Del Zoppo G.J. Primary prevention of ischemic stroke // *Circulation*, 2001. Vol. 103, № 1. P. 163—208.
11. Ihle J.N. The Janus kinase family and signaling through members of cytokine receptor superfamily // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1994. Vol. 206. P. 268—272.
12. Fabris N. Mucchegiani E., Provinciali M. Pituitary–thyroid axis and immune system: a reciprocal neuroendocrine–immune interaction // *Hormone Res.*, 1995. Vol. 43. P. 29—38.
13. Grignani G., Maiolo Cytokines and hemostasis // *A Haematologica*, 2000. Vol. 85, № 9. P. 967—972.
14. Selye H. The general adaptation syndrome and the disease of adaptation // *J. Clin. Endocrinol*, 1946. Vol. 6. P. 117—230.
15. Stampfer H.G. «Negative symptoms»: a cumulative trauma stress disorder? // *Aust. N. Zeal. J. Psychiatry*, 1990. Vol. 24, № 4. P. 516—528.
16. You R.X., McNeil J.J., Heather M. O'malley, Stephen M.D., Thrift A.G., Donnan G.A. Risk factors for stroke due to cerebral infarction in young adults // *Stroke*. 1997. Vol. 28, № 10. P. 1913—1918.