

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.127-005.4-06:616.71-007.234]-055.2-078.33

Царенок С.Ю.<sup>1</sup>, Горбунов В.В.<sup>1</sup>, Терешков П.П.<sup>1</sup>

## УРОВЕНЬ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 $\beta$ , ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ $\alpha$ И ИХ РАСТВОРИМЫХ РЕЦЕПТОРОВ У ЖЕНЩИН С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА, КОМОРБИДНОЙ С ОСТЕОПОРОЗОМ

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия Минздрава России, 672090, г. Чита

*Цель – определить уровень интерлейкина (ИЛ)-1 $\beta$ , фактора некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО $\alpha$ ), растворимых рецепторов ИЛ-1 2-го типа (ILsR II), растворимых рецепторов ФНО (sTNFr) в сыворотке крови у женщин с ишемической болезнью сердца (ИБС) в сочетании с тяжелым остеопорозом.*

*Обследованы 98 женщин (средний возраст 71,2  $\pm$  8,6 года), страдающих ИБС. Из них у 48 диагностировали сочетание ИБС и тяжелого остеопороза. Всем пациенткам определяли уровень ИЛ-1 $\beta$ , ФНО $\alpha$  и их растворимых рецепторов в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа.*

*Выявили, что у женщин, имеющих сочетанную патологию, уровень ФНО $\alpha$  был выше, а концентрация растворимых рецепторов достоверно ниже, чем у женщин с изолированной ИБС. Установили прямую корреляционную связь между наличием переломов, коронарного атеросклероза и уровнем ФНО $\alpha$ , наличие переломов было обратно связано с уровнем растворимых рецепторов ФНО ( $\gamma = -0,3$ ;  $p = 0,0029$ ), наличие ИБС – с растворимыми рецепторами ИЛ-1.*

**Ключевые слова:** остеопороз; ИБС; цитокины; растворимые рецепторы цитокинов.

*Tsarenok S.Yu., Gorbunov V.V., Tereshkov P.P.*

THE LEVEL OF INTERLEUKIN-1 $\beta$ , TUMOR A NECROSIS FACTOR AND THEIR DISSOLVING RECEPTORS IN WOMEN WITH ISCHEMIC HEART DISEASE COMORBIDE WITH OSTEOPOROSIS

The Chita state medical academy of Minzdrav of Russia, 672090, Chita, Russia

*The study was carried out to determine level of interleukin-1 $\beta$  (IL), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF), soluble receptors of IL-1 of type II (ILsR II), soluble receptors of TNF (sTNF) in blood serum in women with ischemic heart disease associated with severe osteoporosis.*

*The sampling consisted of 98 women (average age 71.2 $\pm$ 8.6 years) with ischemic heart disease. The combination of ischemic heart disease and severe osteoporosis was diagnosed in 48 out of them. All female patients were analyzed for level of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and their soluble receptors in blood serum. The technique of immune enzyme analysis was applied. It was revealed that in women with associated pathology the level of TNF- $\alpha$  was higher and concentration of soluble receptors reliably lower than in women with isolated ischemic heart disease. It was established that direct correlation relationship exists between occurrence of bone fractures, coronary atherosclerosis and level of TNF- $\alpha$ . The occurrence of bone fractures was inversely correlated with level of soluble receptors of TNF ( $\gamma=0.3$ ;  $p=0.0029$ ), and occurrence of ischemic heart disease with soluble receptors of IL-1.*

**Key words:** osteoporosis; ischemic heart disease; cytokine; soluble receptors of cytokines.

Постменопаузальный период характеризуется нарастанием частоты ишемической болезни сердца (ИБС) и остеопороза. Эти заболевания относятся к хроническим неинфекционным заболеваниям, характеризуются бессимптомным течением на ранних стадиях и развитием осложнений, сопряженных с высоким риском преждевременной смерти. Несомненно, дефицит эстрогенов выступает в качестве одного из основных предрасполагающих факторов этих заболеваний у женщин старше 50 лет, однако существует ряд общих модифицируемых факторов риска развития как сердечно-сосудистых заболеваний, так и остеопороза. В последние годы обсуждается вопрос о патогенетической взаимосвязи этих заболеваний. В исследованиях продемонстрирована зависимость между снижением минеральной плотности костной ткани позвоночника, проксимального отдела бедра и повышением содержания кальция в коронарных артериях по данным компьютерной томографии [3, 5]. В настоящее время в качестве одного из механизмов развития атеросклероза рассматривают системный воспалительный процесс. Основанием для этого послужили обнаруживаемые в крови больных ИБС маркеры воспаления: провоспалительные цитокины,

С-реактивный белок, фибриноген и т.д. [1]. Доказано, что цитокины оказывают разнонаправленное действие не только на сердечно-сосудистую систему, но и на костную ткань. Известно, что резорбтивное действие оказывают интерлейкин (ИЛ)-1, фактор некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО $\alpha$ ) и ИЛ-6 путем повышения активности RANK [6–8]. Из растворимых рецепторов хорошо изучена роль остеопротегерина. Он действует как рецептор-ловушка и, таким образом, угнетает пролиферацию остеокластов, приводя к снижению костной резорбции. В настоящее время в патогенезе остеопороза существенную роль отводят нарушениям баланса в системе RANK/RANKL–остеопротегерин. Данных о роли других растворимых рецепторов цитокинов при остеопорозе в доступной литературе не обнаружили.

Цель исследования – определить уровень ИЛ-1 $\beta$ , ФНО $\alpha$ , растворимых рецепторов ИЛ-1 2-го типа (ILsR II), растворимых рецепторов ФНО (sTNFr) у женщин с ИБС в сочетании с остеопорозом.

**Материалы и методы.** Исследование одномоментное, поперечное. В исследовании приняли участие 98 женщин (средний возраст 71,2  $\pm$  8,6 года), страдающих различными формами ИБС и подписавших добровольное информированное согласие. Всех пациенток разделили на 2 группы. В 1-ю группу ( $n = 50$ ; средний возраст 71,4  $\pm$  8,4 года) включили женщин с изолированной ИБС, во 2-ю ( $n = 48$ ; средний возраст 70,9  $\pm$  9,1 года) с сочетанием ИБС и тяжелого остеопороза. Тяжелый остеопороз определяли при наличии в анамнезе переломов,

Для корреспонденции:

Царенок Светлана Юрьевна, науч. сотр.  
Адрес: 672090, Чита, ул. Горького, 39а  
E-mail: sveta-tsarenok@yandex.ru

Таблица 1

Клиническая характеристика пациенток с ИБС ( $M \pm SD$ )

Показатель	Изолированная ИБС (1-я группа; n = 50)	ИБС в сочетании с остеопорозом (2-я группа; n = 48)
Возраст, годы	71,4 ± 8,4	70,9 ± 9,1, p = 0,9
Рост, см	157,2 ± 5,3	155,9 ± 6,1, p = 0,7
Масса тела, кг	73,7 ± 11,6	70,2 ± 10,0, p = 0,21
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	29,4 ± 4,0	29,0 ± 4,1, p = 0,89
МО, %	10,6 ± 3,2	19,1 ± 6,3, p < 0,0001
HF, %	2,46 ± 1,8	4,9 ± 4,6, p < 0,0001

произошедших при низком уровне травмы (падение с высоты собственного роста, спонтанно или при выявлении компрессионных переломов позвонков) в возрасте после 50 лет. У всех пациенток провели сбор анамнеза для выявления факторов риска остеопороза, антропометрическое исследование, рассчитали абсолютный 10-летний риск переломов при помощи on-line калькулятора FRAX с использованием российской модели. Оценивали абсолютный 10-летний риск остеопоротических переломов – Major Osteoporotic (МО) и риск перелома шейки бедра – Hip Fracture (HF). Группы больных были сопоставимы по возрасту, антропометрическим показателям. При оценке абсолютного 10-летнего риска переломов выявили, что во 2-й группе риск всех остеопоротических переломов и перелома шейки бедра был значимо выше, чем в 1-й. Характеристика групп больных представлена в табл. 1. Уровень ИЛ-1, ФНО $\alpha$ , ILsR II, sTNF $\gamma$  в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (табл. 2). Статистическую обработку результатов провели при помощи пакета программ Statistica 6.0 с использованием непараметрических критериев Вальда–Вольфовица, корреляционный анализ – с использованием  $\gamma$ -корреляции, выполнили многофакторный регрессионный анализ. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Установили, что у женщин с коморбидной патологией уровень ИЛ-1 достоверно не отличался от такового у женщин с изолированной ИБС. Концентрация ФНО $\alpha$  во 2-й группе была выше, чем в 1-й. В норме ФНО $\alpha$  играет важную роль в процессах иммунорегуляции, однако при разных заболеваниях этот цитокин способен оказывать патологическое действие. Результаты исследований показали, что уровень ФНО $\alpha$  достоверно выше у больных с острым коронарным синдромом [4] и имеет неблагоприятное прогностическое значение. Риск коронарной смерти и развития инфаркта миокарда прямо коррелирует с уровнем ФНО $\alpha$ . Кроме того, установлено, что гиперпродукция этого цитокина индуцирует костную резорбцию [9]. Уровень ILsR II был выше у женщин с изолированной ИБС. Аналогичную тенденцию отметили и в sTNF $\gamma$  – у женщин с изолированной патологией их концентрация была выше. ILsR II характерен для В-клеток, макрофагов и моноцитов, лучше связывает ИЛ-1 $\beta$ , предотвращая его взаимодействие с рецепторами клеток-мишеней (Symons S. и соавт., 1991). Повышение концентрации растворимых рецепторов может быть обусловлено стимуляцией клеточных рецепторов ИЛ-1 и отщеплением экстрацеллюлярного домена. Между группами пациенток различий в содержании ИЛ-1 не выявили, однако у женщин с изолированной ИБС отметили тенденцию к его повышению. Рецепторы sTNF $\gamma$  экспрессируются всеми ядродержащими клетками (Vandenabede P. и соавт., 1995). Существуют как общие, так и совершенно противоположные эффекты этих рецепторов (Carpentier I. и соавт., 2004). При этом биологические эффекты ФНО зависят от того, какой тип рецепторов активируется [2]. Предполагают, что отщепление данных рецепторов в результате

Таблица 2

Содержание цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ФНО $\alpha$ ), ILsR II и sTNF $\gamma$  в сыворотке крови у женщин с изолированной ИБС и в сочетании с тяжелым остеопорозом ( $M \pm SD$ )

Показатель, пг/мл	Изолированная ИБС (1-я группа; n = 50)	ИБС в сочетании с остеопорозом (2-я группа; n = 48)
ИЛ-1 $\beta$	2,05 ± 4,16	1,83 ± 3,72 p = 0,41
ФНО $\alpha$	3,11 ± 3,35	3,32 ± 3,15* p = 0,008
ILsR II	4050,3 ± 1186,9	3625,2 ± 1483,7* p = 0,0001
sTNF $\gamma$	0,129 ± 0,101	0,103 ± 0,114* p = 0,000069

Примечание. \* –

активации клеток представляет собой способ регуляции активности ФНО, однако роль и значение этого процесса до конца не ясны.

Для уточнения роли разнонаправленных изменений уровня цитокинов и их растворимых рецепторов в развитии переломов и ИБС мы провели корреляционный анализ с использованием  $\gamma$ -корреляции (поскольку сопоставляли качественные и количественные признаки) между изученными показателями. Так, установлено, что наличие переломов обратно связано с уровнем sTNF $\gamma$  ( $\gamma = -0,3$ ;  $p = 0,0029$ ) и прямо с концентрацией ФНО $\alpha$  ( $\gamma = 0,35$ ;  $p = 0,001$ ), наличие ИБС находилось в прямой связи с уровнем ILsR II ( $\gamma = 0,42$ ;  $p = 0,004$ ) и ФНО $\alpha$  ( $\gamma = 0,52$ ;  $p = 0,0005$ ) и в отрицательной связи с уровнем sTNF $\gamma$  ( $\gamma = -0,43$ ;  $p = 0,004$ ). Мы провели многофакторный регрессионный анализ для определения независимых факторов развития переломов у женщин с ИБС. Установили, что независимой детерминантой развития переломов стал уровень sTNF $\gamma$  ( $\beta = -0,27$ ; 95% доверительный интервал от -1,89 до -1,07;  $p = 0,024$ ).

**Вывод.** У женщин с ИБС и остеопорозом отметили повышение концентрации ФНО $\alpha$  и снижение концентрации ILsR II и sTNF $\gamma$ . Выявили прямую связь уровня ФНО с наличием переломов и ИБС и обратную связь концентрации sTNF $\gamma$  с наличием переломов и ILsR II и ИБС. Снижение концентрации sTNF $\gamma$  является независимой детерминантой развития переломов у женщин с ИБС.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Говорин А.В., Жеребцова С.В., Порушничак Е.Б., Роднина О.С. Система гемостаза, лейкоцитарно-тромбоцитарные взаимоотношения, белки острой фазы воспаления и цитокины у больных с различными формами ИБС. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2009; 1(37): 49–63.
2. Aderka D., Engelmann H., Hornic V., Skornick Y., Levo Y., Wallach D., Kushtai G. Increased serum levels of soluble receptors to TNF in cancer patients. *Cancer Res*. 1991; 51: 5602–7.
3. Barengolts E.U., Berman M., Kukreja S.C. et al. Osteoporosis and coronary atherosclerosis in asymptomatic postmenopausal women. *Calcify Tissue Int*. 1998; 62: 209–13.
4. Heinisch R.H., Zanetti C.R., Comin F. et al. Inflammatory cytokines predict one-year outcome of patient with acute coronary syndromes but not in stable angina. *Eur. Heart J*. 2001; 22: Supl: 518.
5. Jorgensen L., Joakimsen O., Bersten R. et al. Low bone mineral density is related to echogenic carotid artery plaques: a population-based study. *Am. J. Epidemiol*. 2004; 160 (6): 549–53.
6. Jorgesen N.R. *Cytokines and osteoporosis*. 1997; 160(1): 24–8.
7. Lee Y.M., Fujicado N., Manaka H., Yashuda H., Iwakura Y. IL-1 plays an impotent role in the bone metabolism under physiological conditions. *Immunol*. 2010; 22(10): 805–16.
8. McLean R.R. Proinflammatory cytokines and osteoporosis. *Curr. Osteoporosis Rep*. 2009; 7(4): 134–9.

9. Ouchi Y., Akashita M., De Souza A.C. et al. Age-related loss of bone mass and aortic/aortic valve calcification-reevaluation of recommended dietary allowance of calcium in the elderly. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1993; 676: 297–307.

## REFERENCES

1. Vitkovskij Ju.A., Kuznik B.I., Govorin A.V., Zherebcova S.V., Porushnichak E.B., Rodnina O.S. Haemostasis, leucocyte-platelet relation, proteins of acute inflammatory phase and cytokines in patient with different coronary heart disease. *Tromboz, gemostaz i reologija.* 2009; 1(37): 49–63. (in Russian)
2. Aderka D., Engelmann H., Hornic V., Skornick Y., Levo Y., Wallach D., Kushtai G. Increased serum levels of soluble receptors to TNF in cancer patients. *Cancer Res.* 1991; 51: 5602–7.
3. Barengolts E.U., Berman M., Kukreja S.C. et al. Osteoporosis and coronary atherosclerosis in asymptomatic postmenopausal women. *Calcify Tissue Int.* 1998; 62: 209–13.
4. Heinisch R.H., Zanetti C.R., Comin F. et al. Inflammatory cytokines predict one-year outcome of patient with acute coronary syndromes but not in stable angina. *Eur. Heart. J.* 2001; 22: Suppl: 518.
5. Jogensen L., Joakimsen O., Bersten R. et al. Low bone mineral density is related to echogenic carotid artery plaques: a population-based study. *Am. J. Epidemiol.* 2004; 160 (6): 549–53.
6. Jorgesen N.R. Cytokines and osteoporosis. *Ugeskr Laeger.* 1997; 160(1): 24–8.
7. Lee Y.M., Fujicado N., Manaka H., Yashuda H., Iwakura Y. IL-1 plays an important role in the bone metabolism under physiological conditions. *Immunol.* 2010; 22(10): 805–16.
8. McLean R.R. Proinflammatory cytokines and osteoporosis. *Curr. Osteoporos Rep.* 2009; 7(4): 134–9.
9. Ouchi Y., Akashita M., De Souza A.C. et al. Age-related loss of bone mass and aortic/aortic valve calcification-reevaluation of recommended dietary allowance of calcium in the elderly. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1993; 676: 297–307.

Поступила 05.06.14  
Received 05.06.14

## МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 579.841.11.083.18

Кузнецова М.В.<sup>1,2</sup>, Максимова А.В.<sup>1</sup>, Карпунина Т.И.<sup>2</sup>

### ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ REP- И RAPD-ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ИЗОЛЯТОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

<sup>1</sup>Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН, Пермь; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России

В работе представлена сравнительная оценка диагностической значимости методов Rep- и RAPD-полимеразной цепной реакции (ПЦР) при генотипировании клинических изолятов *Pseudomonas aeruginosa*. Штаммы выделены из стационаров различных лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) взрослой (8 ЛПУ; n = 145) и педиатрической (5 ЛПУ; n = 151) сети. Результаты исследования показали различную разграничивающую способность трех реакций: индекс дискриминации Симпсона составил 0,993, 0,875 и 0,639 для RAPD-, ERIC- и BOX-ПЦР соответственно. RAPD-ПЦР позволяет выявлять индивидуальные особенности штаммов. Из двух вариантов Rep-ПЦР показано преимущество ERIC-ПЦР, причем только с одним праймером ERIC2. BOX-ПЦР имеет наименьшую дискриминирующую способность при типировании изолятов *P. aeruginosa*, устанавливая только видовые особенности. Клинические штаммы *P. aeruginosa* распределились на 24 геномгруппы, 52 изолята имели индивидуальные генотипы. Оценивая результаты генотипирования, можно говорить о сходстве тенденций распространенности штаммов *P. aeruginosa* среди госпитализированных взрослых и подростков и своеобразии выявления в неонатальной клинике. Очевидно, что стационары разного профиля, включая отделения реанимации и интенсивной терапии, представляют специфическую экологическую среду, существенно различающуюся по уровню эндо- и экзогенного инфицирования.

Ключевые слова: *P. aeruginosa*; Rep-ПЦР; RAPD-ПЦР; индекс дискриминации Симпсона.

Kuznetsova M.V.<sup>1,2</sup>, Maksimova A.V.<sup>1</sup>, Karpunina T.I.<sup>2</sup>

THE EXPERIENCE OF IMPLEMENTATION OF REP- AND RAPD-POLYMERASE CHAIN REACTION IN EPIDEMIOLOGIC CHARACTERISTIC OF NOSOCOMIAL ISOLATES *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

<sup>1</sup>The institute of ecology and genetics of microorganisms of the Ural Branch of the Russian academy of sciences, Perm, Russia; <sup>2</sup>The E.A. Wagner Perm state medical academy of Minzdrav of Russia, Perm, Russia

Для корреспонденции:

Кузнецова Марина Валентиновна, науч. сотр.  
Адрес: 614081, Пермь, ул. Голева, 13.  
E-mail: mar@iegm.ru