

# АСПЕКТЫ ВЗАИМОСВЯЗИ АПОПТОЗА И ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Ю.С. Рудык, Ю.Н. Мозговая

*Институт терапии им. А.Т. Малой АМН Украины, Харьков  
Харьковский государственный медицинский университет*

**Ключевые слова:** апоптоз, толерантность к физической нагрузке, трофологический статус, функциональный класс, хроническая сердечная недостаточность.

Активные меры, предпринимаемые по устранению или уменьшению влияния факторов риска, способствовали снижению смертности от ишемической болезни сердца (ИБС). Однако у все большего числа выживших больных ИБС в более позднем периоде развивается хроническая сердечная недостаточность (ХСН) [2]. Концепция надвигающейся эпидемии ХСН была «просчитана» на симуляционной модели развития заболевания к 2010 г. на примере Нидерландов. Расчеты показали снижение распространенности ХСН в популяции пациентов до 60 лет, что с лихвой «компенсируется» ростом этого показателя в старших возрастных группах [3]. Эти данные делают актуальными исследования, направленные на раскрытие патогенетических звеньев формулирования и прогрессирования ХСН.

Ультроструктурные исследования у больных с кардиомиопатиями, гипертрофией сердца и ХСН, а также экспериментальные модели дисфункции левого желудочка (ЛЖ) четко показали дегенеративные изменения кардиомиоцитов [4]. Многие исследователи отводят апоптозу ведущую роль в структурных изменениях сердца в результате потери массы мышечных клеток на поздних этапах декомпенсации ХСН [7, 8]. В силу того, что кардиомиоциты являются клетками конечно детерминированными, их потеря в значительной мере определяет степень нарушения сократительной способности оставшегося «живого» миокарда [8]. Согласно современным представлениям, апоптоз ассоциируется с экспрессией специфических рецепторов Fas/APO-1 (sCD95) и индуцируется ишемией, реперфузией, цитокинами, нейрого르몬ами. Поверхностный клеточный рецептор апоптоз-сигнальной системы Fas/APO-1 проявляет родство к фактору некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) [12, 14]. Эти рецепторы широко представлены практически во всех клеточных структурах. L. Agnoletti с соавторами обнаружили увеличение экспрессии этого рецептора в лимфо-

цитах больных с ХСН, что сочеталось с повышением их индекса апоптоза [11]. Имеются немногочисленные данные о динамике уровней сигнальных молекул апоптоза в сыворотке крови, отображающих степень системности «клеточной программированной смерти», по мере прогрессирования ХСН. Таким образом, изучение влияния апоптоза на течение и прогрессирование ХСН является на современном этапе, актуальным вопросом кардиологии, требующим дальнейших исследований.

Цель: выявление взаимосвязей между сывороточными уровнями «сигнальных» молекул и функциональным состоянием больных с ХСН.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 124 больных (83 мужчины и 41 женщина) с ХСН I—IV функционального класса (ФК), согласно критериям NYHA, в возрасте от 46 до 75 лет, средний возраст ( $64,3 \pm 5,1$ ) года. В соответствии с ФК ХСН, больные были распределены на следующие группы: I — 32 пациента с ХСН I ФК, II — 31 больной с ХСН II ФК, III — 31 пациент с ХСН III ФК, IV — 30 больных с ХСН IV ФК. Контролем служили результаты исследования 31 лица, сопоставимых по возрасту и полу, без клинико-инструментальных признаков ХСН.

Всем пациентам проводили общеклиническое обследование, доплерэхокардиографию по стандартной методике [10] на сонографе SSD-280 LS (Япония). Толерантность к физической нагрузке определяли при помощи теста с 6-минутной ходьбой [18]. Для дефиниции трофологического состояния больных с ХСН рассчитывали индекс массы тела (ИМТ,  $\text{кг}/\text{м}^2$ ) и величину жировой массы тела (ЖМТ,  $\text{кг}$ ) [9]. При помощи иммуноферментного метода определяли содержание ФНО- $\alpha$  и апоптоз-опосредуемых факторов (растворимого рецептора CD95 (sCD95) (APO-1, Fas) и белка p53) в сыворотке крови с использованием соответственно тест-систем «ProCon-TNF» «Протеиновый контур»

(Россия), «sCD95 (APO1/Fas) ELISA KIT» и «p53 ELISA KIT» фирмы «Diaclone Research» (Франция).

Статистические расчеты проводили с использованием двухвыборочного t-критерия Стьюдента, однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и метода апостериорного сравнения средних, корреляционного анализа [7]. Для определения достоверности различий сил взаимосвязи параметров в различных группах была проведена проверка статистической гипотезы о равенстве коэффициентов  $r$  (одного знака, при  $P_r < 0,05$ ). Анализ данных выполнен на IBM PC при помощи пакета прикладной программы Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные, отображающие динамику сывороточного уровня sCD95 в зависимости от тяжести ХСН, представлены в табл. 1. Установлено, что у больных с ХСН III и IV ФК происходит увеличение сывороточного уровня растворимого рецептора ФНО- $\alpha$  — sCD95 (sFas/APO-1) в сравнении с контролем (соответственно на 123,0%,  $P < 0,01$  и на 213,0%,  $P < 0,001$ ). В третьей группе концентрация данного белкового комплекса достоверно выше в сравнении с таковой в I и II группах (соответственно на 135,1% и 88,0%). Пиковый уровень sCD95 выявлен при IV ФК и отличается от такового у больных с I, II и III ФК ( $P < 0,01$ ). При IV ФК сывороточное содержание p53 превышает контрольный уровень (на 245,3%, при  $P < 0,001$ ), а также уровни в I (на 264,3%), II (на 206,9%) и III (на 187,0%) группах ( $P < 0,01$ ).

Проанализирована динамика величины соотношения сывороточного уровня ФНО- $\alpha$  и его клеточного рецептора sCD95 (ФНО- $\alpha$ /sCD95), отображающего баланс системы индуктор-рецептор реализации апоптоза [12]. Величина индекса (ФНО- $\alpha$ /sCD95) у больных с ХСН III и IV ФК достоверно ниже контрольного значения, соответственно на 42,3 ( $P < 0,01$ ) и на 46,9% ( $P < 0,001$ ). У больных с ХСН II—IV ФК значение ФНО- $\alpha$ /sCD95 меньше по сравнению с таковым в первой группе соответственно на 13,7, 48,6 и 52,7% ( $P < 0,001$ ).

Проведенный корреляционный анализ выявил достоверную отрицательную зависимость между величиной ФНО- $\alpha$ /sCD95 и дистанцией, проходимой при 6-минутном тесте у больных с III ( $r = -0,38$ ;  $P_r < 0,05$ ) и IV ( $r = -0,47$ ;  $P_r < 0,02$ ) ФК (табл. 2).

Исследования зарубежных авторов [17] показали, что истощение больных с ХСН является независимым фактором неблагоприятного исхода. В ряде исследований было отмечено, что у пациентов с тяжелой ХСН происходит повышение уровня в плазме лептина — катоболического гормона, продуцируемого жировой тканью (одним из проявлений действия лептина является развитие сердечной кахексии), пропорциональное возрастанию содержания ФНО- $\alpha$ . Анализ взаимосвязи между сывороточными уровнями сигнальных молекул апоптоза и параметрами трофологического статуса больных с ХСН выявил достоверную отрицательную зависимость между ИМТ и содержанием sCD95 при III ФК ( $r = -0,43$ ;  $P_r < 0,05$ ) и значимо большей силы при IV ФК ( $r = -0,81$ ;  $P_r < 0,02$ ) при достоверности различий роста значений коэффициентов  $r$  от III к IV ФК ХСН. Аналогичные зависимости свойственны для ФНО- $\alpha$ /sCD95 и ИМТ:  $r = -0,33$  ( $P_r < 0,05$ ) и  $r = -0,71$  ( $P_r < 0,02$ ), соответственно для больных с III и IV ФК (табл. 3).

Последующий анализ выявил достоверную отрицательную корреляционную зависимость средней силы между величиной ЖМТ и сывороточным уровнем p53 при III ФК ( $r = -0,40$ ;  $P_r < 0,05$ ) и отрицательную зависимость большей силы при IV ФК ( $r = -0,75$ ;  $P_r < 0,01$ ) (табл. 4). Выявлена также значимость различий коэффициентов корреляций от ХСН III к IV ФК.

Полученные данные могут указывать на то, что у больных с ХСН III ФК преимущественным путем реализации запрограммированной клеточной смерти является система «транздюссер—рецептор». При IV ФК имеют значение как рецепторно-опосредованные, так и безрецепторные пути.

Роль апоптоза в детерминации прогрессирования ХСН в настоящее время активно изучается во всем

Таблица 1. Сывороточный уровень сигнальных молекул апоптоза у больных с ХСН

Показатель	Группа					P (1:2:3:4)
	Контрольная (n = 33)	I (n = 32)	II (n = 31)	III (n = 31)	IV (n = 30)	
sCD95, пг/мл	42,3 ± 3,7	40,2 ± 3,8 <sup>#</sup>	50,2 ± 2,6 <sup>#</sup>	94,4 ± 7,0 <sup>*/#</sup>	132,5 ± 12,7 <sup>**/#</sup>	< 0,01
p53, ЕД/мл	1,92 ± 0,63 <sup>#</sup>	1,82 ± 0,16	2,16 ± 0,17	2,31 ± 0,24 <sup>#</sup>	6,63 ± 0,96 <sup>**/#</sup>	< 0,01
ФНО- $\alpha$ /sCD95	1,30 ± 0,17	1,46 ± 0,05 <sup>#</sup>	1,26 ± 0,04	0,75 ± 0,05 <sup>*/#</sup>	0,69 ± 0,02 <sup>**/#</sup>	< 0,001

Примечание. 1. Достоверность различий показателей между параметрами в контрольной группе и при ХСН:

\* —  $P < 0,01$ , \*\* —  $P < 0,001$ .

2. # — Различия в группах с ХСН достоверны.

Таблиця 2. Взаємозв'язь между сывороточними уровнями сигнальных молекул апоптоза и толерантностью к физической нагрузке

Показатель	Группа				P (3:4)
	I (n = 32)	II (n = 31)	III (n = 31)	IV (n = 30)	
6-минутная дистанция, м	441,5 ± 11,1	352,5 ± 4,7	222,9 ± 5,5	87,5 ± 3,4	
sCD95, пг/мл	r = -0,26; P <sub>r</sub> > 0,05	r = 0,28; P <sub>r</sub> > 0,05	r = 0,27; P <sub>r</sub> > 0,05	r = 0,18; P <sub>r</sub> > 0,05	—
p53, ЕД/мл	r = 0,20; P <sub>r</sub> > 0,05	r = 0,20; P <sub>r</sub> > 0,05	r = 0,28; P <sub>r</sub> > 0,05	r = -0,07; P <sub>r</sub> > 0,05	—
ФНО-α/sCD95	r = 0,21; P <sub>r</sub> > 0,05	r = -0,26; P <sub>r</sub> > 0,05	r = -0,38; P <sub>r</sub> < 0,05	r = -0,47; P <sub>r</sub> < 0,02	> 0,05

Таблиця 3. Взаємозв'язь сывороточных уровней сигнальных молекул апоптоза с величиной ИМТ при ХСН

Показатель	Группа				P (3:4)
	I (n = 32)	II (n = 31)	III (n = 31)	IV (n = 30)	
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	25,2 ± 2,0	24,9 ± 2,8	22,3 ± 1,7	17,9 ± 1,2	
sCD95, пг/мл	r = -0,17; P <sub>r</sub> > 0,05	r = 0,05; P <sub>r</sub> > 0,05	r = -0,43; P <sub>r</sub> < 0,05	r = -0,81; P <sub>r</sub> < 0,02	< 0,02
p53, ЕД/мл	r = 0,19; P <sub>r</sub> > 0,05	r = 0,28; P <sub>r</sub> > 0,05	r = -0,27; P <sub>r</sub> > 0,05	r = -0,02; P <sub>r</sub> > 0,05	—
ФНО-α/sCD95	r = 0,12; P <sub>r</sub> > 0,05	r = 0,16; P <sub>r</sub> > 0,05	r = -0,33; P <sub>r</sub> < 0,05	r = -0,71; P <sub>r</sub> < 0,02	< 0,05

Таблиця 4. Взаємозв'язь сывороточных уровней сигнальных молекул апоптоза с величиной ЖМТ при ХСН

Показатель	Группа				P (3:4)
	I (n = 32)	II (n = 31)	III (n = 31)	IV (n = 30)	
ЖМТ, кг	17,8 ± 2,8	16,2 ± 1,9	12,2 ± 1,7	7,9 ± 1,5	
sCD95, пг/мл	r = -0,06; P <sub>r</sub> > 0,05	r = -0,06; P <sub>r</sub> > 0,05	r = 0,30; P <sub>r</sub> > 0,05	r = 0,08; P <sub>r</sub> > 0,05	—
p53, ЕД/мл	r = -0,16; P <sub>r</sub> > 0,05	r = -0,28; P <sub>r</sub> > 0,05	r = -0,40; P <sub>r</sub> < 0,05	r = -0,75; P <sub>r</sub> < 0,01	< 0,05
ФНО-α/sCD95	r = -0,02; P <sub>r</sub> > 0,05	r = 0,25; P <sub>r</sub> > 0,05	r = -0,25; P <sub>r</sub> > 0,05	r = 0,14; P <sub>r</sub> > 0,05	—

мире [1, 3]. Предполагается, что данный процесс представляет собой мембраннозависимый энергозатратный механизм [14]. Существуют данные об увеличении экспрессии рецепторов (Fas/APO-1) в лимфоцитах больных с ХСН, что сочетается с повышением их индекса апоптоза [15]. Содержание растворимой формы Fas/APO-1 (sFas/APO-1) повышается в плазме крови больных с ХСН в результате депонирования внеклеточного домена специфического рецептора [12]. С другой стороны, достоверно известно, что изменяющийся при дисфункции ЛЖ уровень ФНО- $\alpha$  может быть потенциальным индуктором апоптоза [14]. Взаимосвязь между ФНО- $\alpha$  и sFas/APO-1 показана в работе Е. Economou с соавт. [15]. Авторы отмечают, что незначительное повышение уровня этого комплекса можно обнаружить даже на самых ранних стадиях развития дисфункции ЛЖ. Вероятно, это связано со снижением экспрессии Fas/APO-1 на поверхности клеточных мембран, что может явиться специфическим адаптивным механизмом, ограничивающим индукцию апоптоза. Принято также считать, что элевация уровня sFas/APO-1 у больных с ХСН зависит от нейрогуморальной активации и соответствует клиническому состоянию пациентов. Высказаны предположения о том, что sFas/APO-1 способны блокировать

процессы апоптоза посредством ингибирования связывания Fas/APO-1 и его специфического лиганда, который, вероятно, и является апоптоз-сигнальной молекулой [16]. На поздних стадиях развития ХСН исчерпывается адаптивный механизм ограничения влияния индукторов на рецепторы Fas/APO-1, что приводит к потенцированию цитотоксичности ФНО- $\alpha$  и sFas/APO-1, а также к активизации альтернативных путей реализации программы клеточной смерти [19]. Подобная ситуация наблюдается и в проведенном нами исследовании.

### ВЫВОДЫ

1. При ХСН II и III ФК основным путем реализации «программированной клеточной смерти» является система «трансдюссер—рецептор». При IV ФК процесс активизации апоптоза реализуется за счет как рецепторно-опосредованного, так и безрецепторного путей.
2. При ХСН III и IV ФК существует отрицательная зависимость между величиной ФНО- $\alpha$ /sCD95 и толерантностью к физической нагрузке.
3. У больных с ХСН III—IV ФК выявлено отрицательную корреляционную зависимость между ИМТ и содержанием sCD95, а также между величиной ЖМТ и сывороточным уровнем p53.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабак О.Я., Немцова В.Д., Шапошникова Ю.Н. Апоптоз и его роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. Современное состояние вопроса // Укр. терапевт. журн.— 2004.— № 2.— С. 4—10.
2. Беленков Ю.Н., Агеев Ф.Т., Мареев В.Ю. Парадоксы сердечной недостаточности: взгляд на проблему на рубеже веков // Сердечная недостаточность.— 2000.— Т. 1, № 1.— С. 4—7.
3. Визир В.А., Березин А.Е. Роль иммунной и воспалительной активации в формировании и прогрессировании сердечной недостаточности // Укр. мед. журн.— 1999.— Т. 14, № 6.— С. 13—20.
4. Залесский В.Н., Гавриленко Т.И., Фильченков А.А. Апоптоз при ишемии и реперфузии миокарда // Лікарська справа.— 2002.— № 1.— С. 21—24.
5. Класифікація хронічної серцевої недостатності. Рекомендації з лікування хронічної серцевої недостатності / Робоча група Українського наукового товариства кардіологів.— К.: Четверта хвиля, 2002.— 20 с.
6. Платонов А.Е. Статистический анализ данных в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы.— М.: Изд-во РАМН, 2000.— 250 с.
7. Семенов В.Н., Пасечник И.Н. Апоптоз и его роль в патогенезе критических состояний // Вестн. интенсивной терапии.— 2004.— № 1.— С. 3—7.
8. Скворцов А.А., Челмакина С.М., Пожарская Н.И., Мареев В.Ю. Модулирование активности системы нейрогуморальной регуляции при хронической ХСН // Рус. мед. журн.— 2000.— Т. 2, № 8.— С. 87—93.
9. Стандарты обследования больного с ХСН со сниженной массой // Сердечная недостаточность.— 2001.— Т. 2, № 3.— С. 67—71.

10. Шиллер Н., Осипов М.А. Клиническая эхокардиография.— М.: Мир, 1993.— 347 с.
11. Agnoletti L., Malacarne F., Gaia G. Chronic lymphocyte activation in patients with severe ischemic cardiomyopathy // J. Molec. Cell. Cardiol.— 1998.— Vol. 30.— A 27.
12. Cai W., Devaux B., Schaper W., Schaper J. The role of Fas/APO 1 and apoptosis in the development of human atherosclerotic lesions // Atherosclerosis.— 1997.— Vol. 131.— P. 177—186.
13. Colucci W.S. Apoptosis in the heart // N. Engl. J. Med.— 1996.— Vol. 335.— P. 1224—1226.
14. Economou E., Farmakis D., Stefanadis C. Elevated circulating levels of the soluble form of Fas/APO-1, an important cofactor to the activation of apoptosis, in chronic heart failure // Eur. Heart J.— 1998.— Vol. 19.— A468.
15. Grzela T., Odak M., Jowak J., Malejczyk J. Induction of apoptosis by receptors for factors from the TNF family // Postery Hig. Med. Sur.— 1999.— Vol. 53 (2).— P. 351—363.
16. Iversen P.O., Woldbaek P.R., Toennesen T., Christensen G. Apoptosis of hematopoietic progenitor cells and increased activation of the TNFa/Fas death pathway within the mouse bone marrow in congestive heart failure // Eur. Heart Journ.— 2001.— Vol. 22, Abstr. Suppl.— P. 397.
17. Lavie C.J., Milani R., Mehra M.R. Obesity, weight reduction and survival in heart failure // J. Amer. Coll. Cardiol.— 2002.— Vol. 39, N 9.— P. 1563—1564.
18. Remme W. J., Swedberg K. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure. Task force for the diagnosis and treatment of chronic heart failure, European Society of Cardiology // Eur. Heart J.— 2001.— Vol. 22.— P. 1527—1560.
19. Sharov V.G., Sabbah H.N., Shimoyama H. et al. Evidence of cardiocyte apoptosis in myocardium of dogs with chronic heart failure // Am. J. Pathol.— 1996.— Vol. 148.— P. 141—149.

## АСПЕКТИ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКУ АПОПТОЗУ ТА ТЯЖКОСТІ ПЕРЕБІГУ ХРОНІЧНОЇ СЕРЦЕВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Ю.С. Рудик, Ю.М. Мозгова

Вивчено сироватковий рівень чинників апоптозу (sCD95, p53, ФНО- $\alpha$ ) у 124 хворих на ХСН залежно від функціонального класу захворювання. Встановлено, що при II і III ФК ХСН головним шляхом реалізації апоптозу є система «трансдюсер—рецептор». При IV ФК апоптоз реалізується як за рахунок рецептор-опосередкованого, так і безрецепторного шляхів. У хворих з III та IV ФК існує негативна залежність між величиною співвідношення ФНО- $\alpha$ /sCD95 і толерантністю до фізичного навантаження. При III та IV ФК виявлено негативну залежність між індексом маси тіла та рівнем sCD95, а також між величиною жирової маси тіла та сироватковим рівнем p53.

## THE ASPECT OF INTERACTION OF APOPTOSIS WITH SEVERITY OF CHRONIC HEART FAILURE COURSE

Yu. S. Rudyk, Yu. N. Mozgovaya

The serum levels of apoptosis-mediated factors (sCD95, p53, TNF- $\alpha$ ) were studied in 124 patients with chronic heart failure (CHF). It has been established that the main way of realization of «programmed cellular death» is a system «transducer-receptor» in patients with CHF of II and III functional classes. At CHF of IV FC apoptosis is realized through both receptor-mediated and non-receptor ways. In patients with CHF of III and IV FC a negative relationship between the value of TNF- $\alpha$ /sCD95 ratio and the tolerance to physical load exists. Moreover in these groups of patients negative correlation between the body mass index and serum sCD95 level, as well as between the fat body mass and serum p53 levels have been revealed.