

DOI: 10.26693/jmbs04.04.072

УДК 646.379-008.64:616.127-005.8-036.11-078:57.083.3:577.124/.125

Журавльова М. І., Риндіна Н. Г., Кравчун П. Г.

ЗМІНИ ПАРАМЕТРІВ ЦИТОКІНОВОГО СТАТУСУ НА ПІДСТАВІ ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ КАЛЬПРОТЕКТИНУ Й ІНТЕРЛЕЙКІНУ-22 У ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ ІНФАРКТ МІОКАРДА В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД НАЯВНОСТІ СУПУТНЬОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ

Харківський національний медичний університет, Україна

rudenkomarina2012@gmail.com

Мета дослідження – оцінити зміни про- та протизапальних параметрів цитокінового статусу на підставі визначення активності кальпротектину й інтерлейкіну-22 у хворих на гострий інфаркт міокарда в залежності від наявності або відсутності супутнього цукрового діабету 2 типу, а також проаналізувати зв'язки між цитокінемією та показниками вуглеводного метаболізму у досліджуваних когортах хворих.

Обстежено 110 хворих (середній вік $65,25 \pm 0,09$ років), які знаходились на лікуванні у інфарктному відділенні харківської міської клінічної лікарні № 27 та харківської клінічної лікарні на залізничному транспорті № 1. До основної групи було залучено 64 хворих (середній вік $65,31 \pm 1,62$ років) на гострий інфаркт міокарда із супутнім цукровим діабетом 2 типу. Групу зіставлення склали 46 хворих на ізольований гострий інфаркт міокарда (середній вік $65,19 \pm 1,22$ років).

Концентрація глюкози сироватки крові визначали глюкозооксидазним методом. Визначення рівня інсуліну здійснювали імуноферментним методом з використанням тест-системи EIA-2935, Insulin ELISA. Визначення рівня кальпротектину сироватки крові здійснювали імуноферментним методом з використанням тест-системи MRP8/14 ELISA KIT. Визначення рівня інтерлейкіну-22 сироватки крові здійснювали імуноферментним методом з використанням тест-системи Human IL-22 ELISA KIT.

Отримані зв'язки між кальпротектином та ІЛ-22 у хворих на ізольований гострий інфаркт міокарду свідчать про високу активність як про-, так і протизапальної ланки цитокінового статусу. У хворих з гострим інфарктом міокарду 2 типу гіперактивність прозапального індикатора кальпротектину асоціювалась із зниженням протизапального ІЛ-22, що дає змогу стверджувати про відсутність компенсаторної реакції у даної когорти хворих.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, гострий інфаркт міокарду, інтерлейкін-22, кальпротектин сироватки крові.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Стаття є фрагментом НДР «Ішемічна хвороба серця в умовах поліморбідності: патогенетичні аспекти розвитку, перебігу, діагностики й удосконалення лікування», № держ. реєстрації 0118U000929.

Вступ. На сьогоднішній день, гострий інфаркт міокарда (ГІМ) посідає особливе провідне місце у структурі захворюваності серед працездатного населення не лише в Україні, а й в усьому світі [1, 2]. Аналогічна ситуація складається як з ізольованим перебігом цукрового діабету 2 типу (ЦД), так і з його коморбідністю [3].

Актуальним викликом перед сучасною науковою спільнотою постає питання пошуку сучасних методів оцінки та своєчасної діагностики змін структури коронарних артерій, а також коливань показників цитокінового каскаду.

Особливу увагу привертає кальпротектин, що являє собою гетеродімер, утворений двома кальгранулінами. Кальпротектин в основному експресується клітинами мієлоїдного ряду включаючи моноцити та нейтрофіли. Крім того, є відомості про можливість експресії даного параметру ендотеліальними клітинами [4] у відповідь на імунозапалення, що призводить до трансендотеліальної акумуляції компонентів у вогнищі ураження [5].

В свою чергу, інший фактор імунного запалення – інтерлейкін-22 (ІЛ-22) привертає увагу своєю протизапальною активністю [6, 7].

Мета дослідження: оцінити зміни про- та протизапальних параметрів цитокінового статусу на підставі визначення активності кальпротектину й інтерлейкіну-22 у хворих на гострий інфаркт міокарда в залежності від наявності або відсутності

супутнього цукрового діабету 2 типу, а також проаналізувати зв'язки між цитокінемією та показниками вуглеводного метаболізму у досліджуваних когортах хворих.

Матеріал та методи дослідження. Обстежено 110 хворих (середній вік $65,25 \pm 0,09$ років), які знаходились на лікуванні у інфарктному відділенні харківської міської клінічної лікарні № 27 та харківської клінічної лікарні на залізничному транспорті № 1. До основної групи було залучено 64 хворих (середній вік $65,31 \pm 1,62$ років) на ГІМ із супутнім ЦД 2 типу. Групу зіставлення склали 46 хворих на ГІМ без ЦД 2 типу (середній вік $65,19 \pm 1,22$ років). Групи були співставні за віком та гендером.

Дослідження проведене відповідно до основних біоетичних норм Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення науково-медичних досліджень із поправками (2000, з поправками 2008), Універсальної декларації з біоетики та прав людини (1997), Конвенції Ради Європи з прав людини та біомедицини (1997). Письмова інформована згода була отримана у кожного учасника дослідження і вжиті всі заходи для забезпечення анонімності пацієнтів.

Дизайн дослідження полягав у первинному лабораторному обстеженні хворих протягом першої доби від початку гострого інфаркту міокарда з елевациєю сегмента ST до початку проведення тромболітичної терапії або перкутанного втручання та їх розподіл на групи в залежності від наявності або відсутності супутнього цукрового діабету 2-го типу.

Ускладнений перебіг ГІМ у вигляді гострої серцевої недостатності було виявлено у 12 хворих 1 групи, та 8 хворих 2 групи. Порушення ритму у хворих з ГІМ та ЦД 2 типу було виявлено у вигляді фібриляції передсердь у 4 хворих, екстрасистолічної аритмії у 6 хворих. У групі з ізольованим ГІМ фібриляція передсердь зустрічалась у 3 хворих, екстрасистолічна аритмія у 6 хворих. Порушення провідності знайдено у вигляді АВ блокад та блокад лівої та правої гілок пучка Гіса у 10 хворих на ГІМ з ЦД 2 типу та у 12 хворих на ізольований ГІМ. Діагноз артеріальна гіпертензія було встановлено у 100% хворих основної групи та групи зіставлення. Тривалість перебігу цукрового діабету за даними амбулаторних карт становила 3–10 років.

Концентрація глюкози сироватки крові визначали глюкозооксидазним методом. Визначення рівня інсуліну здійснювали імуноферментним методом з використанням тест-системи EIA-2935, Insulin ELISA. Визначення рівня кальпротектину сироватки крові здійснювали імуноферментним методом з використанням тест-системи MRP8/14 ELISA KIT. Визначення рівня інтерлейкіну-22 сироватки крові здійснювали імуноферментним методом з використанням тест-системи Human IL-22 ELISA KIT.

Оцінка рівня порушення вуглеводного обміну проводилася шляхом розрахунку індексів інсулінорезистентності HOMA, QUICKI, Саго за математичними формулами:

$$\text{Індекс HOMA: } (G_0 \times I_0) / 22,5$$

де I_0 – інсулінемія натщесерце (мкОД/мл), G_0 – глікемія натщесерце (ммоль/л)

$$\text{Індекс QUICKI} = 1 / [\log (I_0) + \log (G_0)]$$

де G_0 – глікемія натщесерце (мг/дл), I_0 – інсулінемія натщесерце (мкОД/мл).

Значення рівня інсуліну ≥ 12 мкОД/мл; індексу HOMA $\geq 2,6$ свідчать про наявність інсулінорезистентності.

Статистичний аналіз проводився із використанням статистичних програм BIOSTAT 3.4. Оцінку різниці між групами при розподілу близькому до нормального проводили параметричними методами за допомогою критерія F – Фішера. Наявність взаємозв'язків між показниками що вивчалися визначалась з використанням кореляцій Пірсона (R). Статистично вірогідними вважалися відмінності за умов $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення.

З метою отримання інформації щодо наявності та характеру зв'язків між параметрами, що вивчаються використано кореляції.

У хворих на ГІМ за наявності ЦД 2 типу знайдено кореляційний зв'язок між кальпротектином сироватки крові та інсулінемією ($R=0,57$; $p < 0,05$), індексом HOMA ($R = 0,52$; $p < 0,05$) та рівнем глікемії натще ($R=0,59$; $p < 0,05$). Отримані результати свідчать про те, що зростання імунозапальної активності за рахунок прозапального параметра кальпротектину супроводжується зростанням змін у роботі системи вуглеводного гомеостазу у вигляді зростання ступеня інсулінорезистентності у хворих на ГІМ та ЦД 2 типу (табл.).

Таблиця – Показники вуглеводного обміну, кальпротектину та інтерлейкіну-22 у хворих на ГІМ за наявності або відсутності ЦД 2 типу

| Показник, одиниці вимірювання | ГІМ з ЦД 2 типу | Ізольований ГІМ | Достовірність (P) |
|-------------------------------|------------------|------------------|-------------------|
| Кальпротектин нг/мл | 7.77 ± 1.59 | 3.44 ± 0.48 | < 0.001 |
| Інтерлейкін-22 нг/мл | 26.58 ± 6.61 | 49.73 ± 4.08 | < 0.01 |
| Тропонін I нг/мл | 5.43 ± 1.26 | 3.96 ± 4.21 | > 0.05 |
| Інсулін | 29.57 ± 0.67 | 2.46 ± 0.25 | < 0.01 |
| Глюкоза ммоль/л | 11.17 ± 0.56 | 4.62 ± 0.16 | < 0.01 |
| Індекс HOMA | 12.61 ± 0.87 | 0.45 ± 0.05 | < 0.01 |
| Індекс Саго | 0.32 ± 0.02 | 2.49 ± 0.61 | < 0.0001 |
| Індекс QUICKI | 0.31 ± 0.005 | 1.17 ± 0.12 | < 0.0001 |

Виявлено, що у пацієнтів на ГІМ у поєднанні ЦД 2 типу спостерігається негативна кореляція між сироватковим інтерлейкіном-22 та інсулінемією ($R = -0,32$; $p < 0,05$), індексом НОМА ($R = -0,43$; $p < 0,05$) і рівнем глікемії натщесерце ($R = -0,63$; $p < 0,05$). Отримані результати свідчать про те, що зміни протизапального показника інтерлейкіну-22 супроводжуються змінами вуглеводного гомеостазу у вигляді збільшення ступеня резистентності до інсуліну у хворих на гострий ІМ та ДМ типу 2.

У когорті хворих на ізольований ГІМ характер зв'язку між кальпротектином та інтерлейкіном-22 був прямий.

Взаємини між параметрами метаболізму вуглеводів у хворих порівнюваних груп продемонстрували відмінності. У групі хворих з ізольованим ГІМ характер зв'язків між глікемією та інсуліном був зворотний. На відміну від хворих даної групи, у хворих з ГІМ та супутнім ЦД 2 типу знайдено пряму кореляцію між рівнем глюкози натщесерце та інсулінемією ($R = 0,57$; $p < 0,05$).

Отримані зв'язки між кальпротектином та ІЛ-22 у хворих на ГІМ без супутнього ЦД 2 типу свідчать про високу активність як про-, так і протизапальної ланки цитокинового статусу. На відміну від групи хворих з ізольованим ГІМ, у хворих з поєднаним перебігом ГІМ та ЦД 2 типу гіперактивність прозапального індикатора кальпротектину асоціювалась із зниженням протизапального ІЛ-22, що дає змогу стверджувати про відсутність компенсаторної реакції у даної когорті хворих. Крім того, знайдений прямий зв'язок між глікемією та інсуліном у хворих на ГІМ та ЦД 2 типу вказує на підвищення рівня глюкози паралельно до зростання концентрації інсу-

ліну, що має декомпенсаторний характер. У хворих на ізольований ГІМ взаємини між показниками продемонстрували компенсаторний характер, коли зростання активності інсуліну призводить до зниження глікемії.

Таким чином, за результатами даного дослідження зниження концентрації ІЛ-22 асоціюється зі зростанням сироваткового кальпротектину. Згідно з даними світової медичної літератури ІЛ-22 здатний полегшувати перебіг метаболічних порушень, у тому числі ЦД 2 типу [8, 9]. Деякі автори розглядають ІЛ-22 в якості протектора ендотеліальної тканини [10]. Крім того ІЛ-22 може бути стримуючим фактором раннього розвитку атеросклерозу й структурних ускладнень у хворих з ЦД 2 типу [11, 12].

Висновки. Розвиток ГІМ у хворих з супутнім ЦД 2 типу відбувався на тлі активності прозапального чинника кальпротектину в умовах виснаження ресурсів ІЛ-22, який володіє протизапальними властивостями, що супроводжуються зростанням виразності порушень вуглеводного обміну, прогресування інсулінорезистентності. Взаємозв'язок між порушеннями метаболізму вуглеводів виявили дезадаптаційний характер. У хворих на ГІМ та супутній цукровий діабет 2 типу збільшення вмісту кальпротектину відбувається на фоні високих концентрацій протизапального цитокинового маркера ІЛ-22 разом із зворотною спрямованістю зв'язку між глікемією та інсуліном, що може вказувати на наявність адаптаційних патогенетичних парадигм.

Перспективами подальших досліджень стане вивчення прогнозування несприятливого перебігу гострого інфаркту міокарда за результатами даних цитокинової активності.

References

1. Townsend N, Wilson L, Bhatnagar P, Wickramasinghe K, Rayner M, Nichols M. Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016. *Eur Heart J*. 2016; 37(42): 3232-45. PMID: 27523477. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw334
2. Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H, et al. ESC Scientific Document Group 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*. 2018; 39(2): 119-77. PMID: 28886621. doi: 10.1093/eurheartj/ehx393
3. Hartley A, Marshall DC, Saliccioli JD, Sikkil MB, Maruthappu M, Shalhoub J. Trends in mortality from ischemic heart disease and cerebrovascular disease in Europe: 1980 to 2009. *Circulation*. 2016; 133(20): 1916-26. PMID: 27006480. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018931
4. Striz I & Trebichavsky I. Calprotectin – a pleiotropic molecule in acute and chronic inflammation. *Physiological Research*. 2004; 53(3): 245–53. PMID: 15209531
5. Manitz MP, Horst B, Seeliger S, Strey A, Skryabin BV, Gunzer M, et al. Loss of S100A9 (MRP14) results in reduced interleukin-8-induced CD11b surface expression, a polarized microfilament system, and diminished responsiveness to chemoattractants in vitro. *Molecular and Cellular Biology*. 2003; 23(3): 1034–43. PMID: 12529407. PMID: PMC140712. doi:10.1128/MCB.23.3. 1034-1043.2003
6. Wolk K, Witte E, Witte K, Warszawska K, Sabat R. Biology of interleukin-22. *Seminars in Immunopathology*. 2010; 32(1): 17–31. PMID: 20127093. DOI: 10.1007/s00281-009-0188-x
7. Lin YZ, Wu BW, Lu ZD, Huang Y, Shi Y, Liu H, et al. Circulating Th22 and Th9 Levels in Patients with Acute Coronary Syndrome. *Mediators of Inflammation*. 2013; 2013: 635672. PMID: 24453425. PMID: PMC3884785. doi: 10.1155/2013/635672

8. Dalmas E, Venteclef N, Caer C, Poitou C, Cremer I, Aron-Wisnewsky J, et al. T cell-derived IL-22 amplifies IL-1 β -driven inflammation in human adipose tissue: relevance to obesity and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2014; 63(6): 1966–77. PMID: 24520123. doi: 10.2337/db13-1511
9. Wang X, Ota N, Manzanillo P, Kates L, Zavala-Solorio J, Eidenschenk C, et al. Interleukin-22 alleviates metabolic disorders and restores mucosal immunity in diabetes. *Nature*. 2014; 514(7521): 237–41. PMID: 25119041. doi: 10.1038/nature13564
10. Gong F, Wu J, Zhou P, Zhang M, Liu J, Liu Y, et al. Interleukin-22 Might Act as a Double-Edged Sword in Type 2 Diabetes and Coronary Artery Disease. *Mediators Inflamm*. 2016; 2016: 8254797. PMID: 27829708. PMCID: PMC5088317. doi: 10.1155/2016/8254797
11. Paneni F, Beckman JA, Creager MA, Cosentino F. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. *European Heart Journal*. 2013; 34(31): 2436–46. PMID: 23641007. PMCID: PMC3743069. doi: 10.1093/eurheartj/eh149
12. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2003; 23(2): 168–75. PMID: 12588755. doi: 10.1161/01.atv.0000051384.43104.fc

УДК 646.379-008.64:616.127-005.8-036.11-078:57.083.3:577.124/.125

**ИЗМЕНЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА
НА ОСНОВАНИИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ КАЛЬПРОТЕКТИНА
И ИНТЕРЛЕЙКИНА-22 У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ СОПУТСТВУЮЩЕГО САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА**

Журавлева М. И., Рындина Н. Г., Кравчун П. Г.

Резюме. Цель исследования - оценить изменения про- и противовоспалительных параметров цитокинового статуса на основании определения активности кальпротектину и интерлейкина-22 у больных острым инфарктом миокарда в зависимости от наличия или отсутствия сопутствующего сахарного диабета 2 типа, а также проанализировать связи между цитокинемией и показателями углеводного метаболизма в исследуемых когортах больных.

Обследовано 110 больных (средний возраст 65,25 \pm 0,09 лет), находившихся на лечении в инфарктно-му отделении харьковской городской клинической больницы №27 и харьковской клинической больницы на железнодорожном транспорте №1 В основную группу были привлечены 64 больных (средний возраст 65, 31 \pm 1,62 лет) с острым инфарктом миокарда с сопутствующим сахарным диабетом 2 типа. Группу сравнения составили 46 больных изолированный острый инфаркт миокарда (средний возраст 65,19 \pm 1,22 лет).

Концентрация глюкозы сыворотки крови определяли глюкозооксидазным методом. Определение уровня инсулина осуществляли иммуноферментным методом с использованием тест-системы EIA-2935, Insulin ELISA. Определение уровня кальпротектина сыворотки крови осуществляли иммуноферментным методом с использованием тест-системы MRP8 / 14 ELISA KIT. Определение уровня интерлейкина-22 сыворотки крови осуществляли иммуноферментным методом с использованием тест-системы Human IL-22 ELISA KIT.

Полученные связи между кальпротектином и ИЛ-22 у больных изолированный острый инфаркт миокарда свидетельствуют о высокой активности как про-, так и противовоспалительного звена цитокинового статуса. У больных с острым инфарктом миокарда 2 типа гиперактивность провоспалительных индикатора кальпротектину ассоциировалась со снижением противовоспалительного ИЛ-22, что позволяет говорить об отсутствии компенсаторной реакции в данной когорте больных.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, острый инфаркт миокарда, интерлейкин-22, кальпротектин сыворотки крови.

UDC 646.379-008.64:616.127-005.8-036.11-078:57.083.3:577.124/.125

**Changes of the Cytokine Status Parameters on the Basis
of Determination of Activity of Calprotectin and Interleukin-22
in Patients with Acute Myocardial Infarction with Diabetes Mellitus Type 2**

Zhuravlova M., Ryndina N., Kravchun P.

Abstract. The purpose of the study was to evaluate changes in the pro-and anti-inflammatory parameters of the cytokine status based on the determination of the activity of calprotectin and interleukin-22 in patients with acute myocardial infarction, depending on the presence or absence of concomitant type 2 diabetes, as well as to analyze the relationships between cytokinemia and carbohydrate metabolism in the studied cohorts of patients.

Material and methods. A total of 110 patients (mean age 65.25 \pm 0.09 years) who were on treatment in the infarctional department of Kharkiv city clinical hospital № 27 and Kharkiv clinical hospital on railway transport

№ 1 were examined. 64 patients (average age 65, 31 ± 1.62 years) for acute myocardial infarction with concomitant type 2 diabetes mellitus. The comparison group was 46 patients with isolated acute myocardial infarction (mean age 65.19 ± 1.22 years).

Results and discussion. Blood glucose concentration was determined by glucose oxidase method. Determination of the level of insulin was carried out using the immunoassay method using the test system EIA-2935, Insulin ELISA. Determination of serum calprotectin level was performed by immunoassay using the MRP8 / 14 ELISA KIT test system. Determination of the level of interleukin-22 serum was carried out by immunoassay using the human IL-22 ELISA KIT test system.

Conclusions. The resulting linkages between calprotectin and IL-22 in patients with isolated acute myocardial infarction indicate a high activity both pro- and anti-inflammatory levels of cytokine status. In patients with acute myocardial infarction type 2, the hyperactivity of the proinflammatory indicator of calprotectin was associated with a decrease in anti-inflammatory IL-22, which proved that there was no compensatory reaction in this cohort of patients.

Keywords: diabetes mellitus type 2, acute myocardial infarction, interleukin-22, serum calprotectin.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 28.03.2019 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування