

СВЯЗЬ СУТОЧНЫХ КОЛЕБАНИЙ СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОКИНОВ С ИЗМЕНЕНИЕМ РИТМОВ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ ПРИ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ ВТОРОЙ СТАДИИ

О. А. Радаева¹✉, А. С. Симбирцев², А. В. Ховряков³

¹ Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарева, Саранск, Россия

² Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

³ ГБУЗ РМ «Республиканская клиническая больница № 4», Саранск, Россия

Все больше внимания уделяется исследованию роли суточных ритмов в патологических процессах в организме. Безусловно, существуют суточные иммунные маркеры, позволяющие судить о прогрессировании ряда заболеваний. Целью исследования было изучить содержание цитокинов (интерлейкинов, молекул адгезии, факторов некроза опухоли, роста и др.) в сыворотке периферической крови больных эссенциальной артериальной гипертензией (ЭАГ) II стадии в утреннее/вечернее время и его корреляцию со степенью снижения артериального давления (АД) в ночное время. У 90 пациентов с ЭАГ II стадии проводили забор крови в 7.00 и 20.00 ч, определяли иммуноферментным методом в сыворотке периферической крови цитокины и проводили анализ данных суточного мониторинга АД с выделением групп: «Dipper», «Non-dipper», «Night-peaker». Обнаружено изменение отношения утренних и вечерних концентраций при сравнении со здоровыми, за счет повышения степени роста в вечернее время как цитокинов из группы «somnogenic» (IL1 β , IL1 α), так и мало изученных в аспекте суточных закономерностей LIF, sLIFr, M-CSF. Динамика и уровни исследуемых показателей у пациентов с ЭАГ II стадией и анамнезом заболевания 10–14 лет без гипотензивной терапии отличались от таковых в группе здоровых добровольцев (контроля). Повышение концентраций IL1 α , LIF, sLIFr, M-CSF, эритропоэтина в 20.00 ч на 20% и более является значимым компонентом формирования патологических околосуточных ритмов АД («Non-dipper» и «Night-peaker») у больных ЭАГ II стадии при длительности заболевания 10–14 лет (без приема гипотензивных препаратов). Понимание патофизиологической роли изменения не только количественных характеристик цитокинов сыворотки периферической крови у больных ЭАГ II стадии, но и особенностей их суточной динамики может стать основой создания новых систем профилактики прогрессирования ЭАГ и снизить частоту повреждения органов-мишеней.

Ключевые слова: цитокины, эссенциальная артериальная гипертензия, «Dipper», «Non-dipper», «Night-peaker»

Информация о вкладе авторов: О. А. Радаева: набор группы пациентов, забор материала для исследования, интерпретация результатов исследования и литературных данных, подготовка первоначального варианта текста статьи, компьютерная работа с текстом; А. С. Симбирцев: научное руководство, определение цели и задач, методологии исследования, критический анализ полученных результатов и доработка текста; А. В. Ховряков: набор группы пациентов, забор материала для исследования, компьютерная работа с текстом.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ «МГУ им. Н. П. Огарева» (протоколы № 12 от 14 декабря 2008 г.); отбор биологического материала для исследования (кровь) произвели с учетом положений Хельсинкской Декларации ВМА (2000) и протокола Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине (1999); все участники исследования подписали добровольное информированное согласие на участие в эксперименте.

✉ **Для корреспонденции:** Ольга Александровна Радаева
ул. Ульянова, д. 26а, г. Саранск, 430030; vtlbwbyf_79@mail.ru

Статья получена: 16.07.2018 **Статья принята к печати:** 01.03.2019 **Опубликована онлайн:** 12.03.2019

DOI: 10.24075/vrgmu.2019.011

A CORRELATION BETWEEN THE FLUCTUATIONS OF CYTOKINE CONCENTRATIONS MEASURED IN THE MORNING AND EVENING AND THE CIRCADIAN BLOOD PRESSURE RHYTHM IN PATIENTS WITH STAGE II ESSENTIAL HYPERTENSION

Radaeva OA¹✉, Simbirtsev AS², Khovryakov AV³

¹ National Research Mordovia State University, Saransk, Russia

² State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, FMBA, St. Petersburg, Russia

³ Mordovian Republican Clinical Hospital No.4, Saransk, Russia

Today, increasing attention is being paid to the role of circadian rhythms in pathology. There are time-of-day-dependent immune markers that provide valuable information about disease progression. The aim of this study was to measure evening and morning concentrations of a few cytokines (interleukins, adhesion molecules, tumor necrosis/growth factors, etc.) in the peripheral blood of patients with stage II essential hypertension and to investigate how they correlate with a nocturnal blood pressure decline. Blood samples were collected from 90 patients with stage II EH at 7:00 a.m. and 8:00 p.m. Cytokine concentrations were measured using immunoassays. Based on 24-h blood pressure monitoring, the patients were distributed into 3 groups: dippers, non-dippers and night-peakers. The morning to evening ratios of cytokine concentrations in patients with EH differed from those in healthy controls due to an increase in the evening concentrations of somnogenic cytokines (IL1 β , IL1 α) and LIF, sLIFr, and M-CSF whose daily fluctuations patterns remain understudied. On the whole, the fluctuation patterns of the measured cytokines in patients with stage II EH who had had the condition for 10 to 14 years and were receiving no antihypertensive treatment at the time of our study differed from those displayed by healthy controls. A twenty percent rise in the evening concentrations of IL1 α , LIF, sLIFr, M-CSF, and erythropoietin contributes significantly to pathological blood pressure rhythms (as demonstrated by the groups of non-dippers and night-peakers) in patients with stage II EH receiving no antihypertensive therapy. Understanding the pathophysiological role of cytokine levels and their fluctuations over a 24-h cycle could inspire new methods for EH prevention and reduce end-organ damage.

Keywords: cytokines, essential hypertension, Dipper, Non-dipper, Night-peaker

Author contribution: Radaeva OA recruited the study participants, collected blood samples, interpreted the results, analyzed the literature, and helped to write a draft of the manuscript. Simbirtsev AS supervised the research group, identified the aims and objectives of the study, proposed a methodology, and provided critical feedback. Khovryakov AV recruited the study participants, collected blood samples and wrote the manuscript.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of Ogariov Mordovian State University (Protocol 12 dated December 14, 2008). All patients gave their informed consent to participate. Blood samples were collected in full compliance with the Declaration of Helsinki (2000) and the Protocol of the Convention on Human Rights and Biomedicine of the Council of Europe (1999).

✉ **Correspondence should be addressed:** Olga A. Radaeva
Ulianova 26/a, Saransk, 430030; vtlbwbyf_79@mail.ru

Received: 16.07.2018 **Accepted:** 01.03.2019 **Published online:** 12.03.2019

DOI: 10.24075/brsmu.2019.011

Циркадианные ритмы — это околосуточные колебания в поведении и физиологии, которые подготавливают организм к тому, чтобы лучше реагировать на изменения окружающей среды, происходящие вследствие вращения Земли [1]. Клеточные часы берут начало от цианобактерий, соответствующие механизмы найдены у всех многоклеточных организмов и сохраняются у млекопитающих. Лауреатами Нобелевской премии в 2017 г. по направлению: «Физиология и медицина» стали Джеффри Холл (Jeffrey C. Hall), Майкл Росбаш (Michael Rosbash) и Майкл Янг (Michael W. Young), «за открытие и исследование молекулярных механизмов, управляющих циркадианными ритмами». Это подчеркивает значимость изучения роли суточных ритмов в рамках как физиологических, так и патологических процессов. В 1960 г. Halberg и соавторы озвучили базовые принципы исследований суточных ритмов в иммунологии на примере циркадианного характера восприимчивости мышей после введения бактериального эндотоксина. Цикл сна–бодрствования — одно из наиболее изученных проявлений циркадианного ритма и соотносится как с иммунным ответом, так и с динамикой артериального давления (АД) [2]. По данным современных научных исследований, провоспалительные цитокины относятся к группе «*somnogenic*» (повышение синтеза во время фазы покоя), противовоспалительные цитокины, такие как IL10, активизируются после пробуждения и подавляют сон. Наибольшее количество научных статей посвящено суточным колебаниям IL1 β , TNF α , IFN γ , IL6 и IL4 и IL10 [1, 3, 4, 5]. В соответствии с классическими принципами контроля уровня АД значимыми являются нейроэндокринные механизмы: моноаминергические системы (изменение физиологической активности автономной нервной системы и секреции биогенных аминов), гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая, гипоталамо-гипофизарно-щитовидная, опиоидная, ренин-ангиотензин-альдостероновая и эндотелиальная системы и вазоактивные пептиды [6, 7]. В последнее время возрос интерес к суточным ритмам и их влиянию на иммунную систему, но, несмотря на значительный прогресс в понимании этих механизмов, многие суточные фенотипы еще предстоит понять. В ряде экспериментальных исследований доказывалась связь поражения органов-мишеней при ЭАГ в зависимости от времени суток [8] и процента снижения АД в ночное время [9]. Безусловно, прогрессивное течение эссенциальной артериальной гипертензии (ЭАГ) с закреплением высоких значений АД и снижением вариаций в вечернее время соотносится с уровнями некоторых цитокинов, что дает возможность предположить наличие суточных иммунных маркеров, определяющих прогрессирование сердечно-сосудистых заболеваний и обосновывает цель нашего исследования — изучить связь содержания цитокинов (интерлейкинов, молекул адгезии, факторов некроза опухоли, роста и др.), эритропоэтина в сыворотке периферической крови больных ЭАГ II стадии в утреннее и вечернее время (7.00 и 20.00 ч) со степенью снижения АД в вечернее время у данной категории пациентов.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполняли на базе Регионального сосудистого центра ГБУЗ РМ «КБ № 4», ГБУЗ РМ «РКБ № 3» и кафедре иммунологии, микробиологии, вирусологии ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарева. В исследовании участвовали 90 пациентов (40 мужчин и 50 женщин).

Группу контроля составили 50 здоровых добровольцев (сопоставимых по полу и возрасту, без признаков ЭАГ). Критерии включения пациентов в исследование: возраст 57,5 \pm 1,17 лет; ЭАГ II стадии; длительность заболевания 10–14 лет; отсутствие гипотензивной терапии. Критерии исключения: ассоциированные клинические состояния, сахарный диабет I и II типов, метаболический синдром, аутоиммунные, аллергические заболевания, симптоматическая артериальная гипертензия, перенесенные за месяц до начала исследования инфекционные заболевания, психические заболевания, алкогольная/наркотическая зависимость, отказ пациента от долгосрочного участия в исследовании. У участников исследования и членов группы контроля провели забор крови в 7.00 и 20.00 ч (интервал без приема пищи не менее 6 ч) с определением в сыворотке периферической крови IL1 β , IL1 α , IL1ra, IL18, IL18BP, IL37, IL6, sIL6r, LIF, sLIFr, TNF α , sTNF-RI, IL2, IL10, TGF- β 1, IL8, CX3CL1, CXCL10, INF γ , M-CSF, эритропоэтина и вазоактивных пептидов: NO, iNOS, eNOS, ADMA, SDMA, Nt-proCNP, Nt-proBNP (у 20% с целью проверки воспроизводимости результатов применяли метод парных сывороток, повторный забор крови через месяц: вариации в интервале 3–6%). Временные точки измерений выбрали на основе данных литературы [1, 8, 10] и собственных пилотных исследований (у 5 здоровых и 24 больных ЭАГ II стадии с разными типами суточного ритма АД определяли уровень 6 цитокинов (IL1 α , LIF, sLIFr, M-CSF, эритропоэтина) в 6.00, 8.00, 12.00, 16.00, 20.00, 00.00 ч.

Уровень цитокинов сыворотки периферической крови и вазоактивных веществ определяли иммуноферментным методом на базе лаборатории кафедры иммунологии МГУ им. Н. П. Огарева (лицензия РФ № 13.01.04.0001.Л.000005.06.11 от 23 июня 2011 г., бессрочная) на иммуноферментном анализаторе «Personal Lab TM» (Adaltis; Италия).

Всем участникам исследования специалисты Регионального сосудистого центра ГБУЗ РМ «РКБ № 4», ГБУЗ РМ «РКБ № 3» проводили суточное мониторирование АД с помощью системы Space Labs Medical 90702 (Spacelabs Medical, Inc.; США) согласно рекомендациям IV Международной согласительной конференции по проблемам СМАД в амбулаторных условиях (Бельгия, 1994 г.); данные заносили в истории болезни или амбулаторные карты пациентов. Пациенты были разделены на группы в соответствии со степенью изменения АД в ночное время (снижение на 10–20% — «Dipper»; < 10% — «Non-dipper»; повышение — «Night-peaker»).

Для статистической обработки данных использовали пакет прикладных программ Statistica версии 8.0. (StatSoft Inc.; США) Нормальность распределения показателей определяли с помощью одновыборочного критерия Колмогорова–Смирнова. При подтверждении нормального распределения данные представляли в виде среднего арифметического (M) и стандартного отклонения (SD), для признаков с отличным от нормального распределения указывали медиану (Me) и межквартильный размах — 25-й и 75-й процентиля (C25%–C75%). В зависимости от нормальности и объема выборки использовали: для сравнения несвязанных групп — двухвыборочный *t*-критерий Стьюдента и критерий Манна–Уитни; для связанных групп — парный критерий Стьюдента и критерий Уилкоксона.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У пациентов с ЭАГ II стадией и анамнезом заболевания 10–14 лет без гипотензивной терапии в утренние часы

наблюдали в сыворотке периферической крови более высокие концентрации IL1 β , IL1 α , IL18, IL18BP, IL6, sIL6r, LIF, TNF α , sTNF-RI, IL10, TGF- β 1, IL8, CX3CL1, CXCL10, INF γ , M-CSF, эритропоэтина ($p < 0,001$) на фоне меньших концентраций IL1ra ($p < 0,001$) по сравнению со здоровыми добровольцами (табл. 1). Анализ динамики показал увеличение уровня IL1 β на 14,1% (0,37), $p < 0,05$; IL1 α — на 14,8% (0,33), $p < 0,05$; IL6 — на 29,2% (0,98), $p < 0,001$; TNF α — на 12,3% (0,78), $p < 0,01$; sTNF-RI — на 12,6% (0,65), $p < 0,05$; на фоне снижения IL1ra на 14,6% (0,32), $p < 0,01$; IL10 — на 23% (0,58), $p < 0,01$ и sIL6r — на 30,4% (1,54), $p < 0,001$ в вечерние часы в группе здоровых. У пациентов с ЭАГ II стадии направление динамики изменений совпадало с группой контроля, но с достоверно большей степенью увеличения: IL1 β на 21,3% (0,92), $p < 0,001$; IL1 α — на 31,2% (1,12), $p < 0,001$. Наиболее выраженные патогенетически значимые отличия связаны с ростом в сыворотке периферической крови больных гипертензией содержания LIF на 16% (0,43), $p < 0,01$ и sLIFr — на 22% (0,63), $p < 0,001$; M-CSF — на 20,2% (0,42), $p < 0,001$ и эритропоэтина — на 36,5% (1,22), $p < 0,001$, а также снижением IL18BP на 11% (0,27), $p < 0,05$; IL37 на 21,7% (0,86), $p < 0,001$, что не определено в группе контроля. Данные в отношении процента роста IL6 и TNF α в вечернее время сопоставимы в двух группах (IL6 на 31% (1,02) и 29,2% (0,98), $p < 0,001$); TNF α на 12,3% (0,78) и на 12,2% (0,66), $p < 0,01$), но у здоровых на фоне снижения sIL6r ($p < 0,001$), что вторично уменьшает активность IL6 после 20.00 ч. У лиц на фоне повышенного АД данного протективного компонента не зарегистрировано.

Анализ изменения вечерних концентраций IL10 выявил в процентном отношении сопоставимое снижение ($p < 0,01$) провоспалительного цитокина в группе здоровых и на фоне гипертензии — на 17% (0,58) и 15% (0,63) соответственно.

При анализе утренних и вечерних концентраций цитокинов и вазоактивных веществ выявлено усиление прямых корреляционных связей вечерних концентраций: IL1 α и ADMA, $r = 0,76$, $p < 0,01$ (между дневными уровнями: $r = 0,58$, $p < 0,05$); sLIFr и SDMA, $r = 0,85$, $p < 0,001$ (между дневными уровнями: $r = 0,69$, $p < 0,05$); M-CSF и SDMA, $r = 0,81$, $p < 0,01$ (между дневными уровнями: $r = 0,51$, $p < 0,05$). Сила и направление связей между IL1 β , IL1ra, IL18, IL18BP, IL37, IL6, sIL6r, LIF, TNF α , sTNF-RI, IL2, IL10, TGF- β 1, IL8, CX3CL1, CXCL10, INF γ и сывороточными концентрациями вазоактивных веществ в вечернее время не отличались от данных, полученных в 7.00 ч.

Зарегистрированное в ходе исследования выраженное повышение у больных ЭАГ II стадии в вечернее время концентрации некоторых цитокинов, коррелирующих с вазопрессорными факторами, актуализирует сравнение утренних/вечерних уровней цитокинов в сыворотке периферической крови с типами суточного ритма АД («Dipper»; «Non-dipper» и «Night-peaker»).

Пациенты с адекватным снижением АД в ночное время (10–20%) — группа «Dipper» — как и другие группы больных ЭАГ II стадии характеризуются более высокими концентрациями провоспалительных цитокинов, но степень и направление их изменения в вечернее время (анализ временных точек в 7.00 и 20.00) по данным 16 цитокинов (IL1 β , IL18, IL18BP, IL37, LIF, sLIFr, TNF α , sTNF-RI, IL2, IL8,

Таблица 1. Утренние и вечерние уровни цитокинов (пг/мл) в сыворотках больных ЭАГ II стадии (анамнез от 10 до 14 лет) без приема гипотензивных препаратов

Цитокины	Здоровые (n = 50)		Больные ЭАГ II стадии (n = 90)	
	7.00 ч	20.00 ч	7.00 ч	20.00 ч
	1	2	3	4
IL1 β	5,2 (1,87)	5,95 (1,37) ¹¹	18,7 (5,8) ^{*1}	22,8 (6,12) ^{*2,3}
IL1 α	3,83 (1,17)	4,37 (0,98) ¹¹	13,2 (3) ^{*1}	17,2 (2,93) ^{*2,3}
IL1ra	691 (99)	598 (96) ^{^1}	575 (108) ^{*1}	582 (96,2)
IL18	197 (59)	201 (48)	371 (84) ^{*1}	382 (83) ^{*2}
IL18BP	4934 (1173)	4903 (1122)	6710(1980) ^{*1}	5970 (1783) ^{^2,3}
IL37	90 (25,6)	88 (17,3)	92 (24,5)	71,6 (18,2) ¹¹
IL6	3,12 (0,63)	4,03 (0,69) ^{*1}	23,7 (4,2) ^{*1}	27,2 (3,92) ^{*2,3}
sIL6r	681 (52)	478 (50) ^{*1}	1826 (263) ^{*1}	1902 (255) ^{*2}
LIF	1,41 (0,61)	1,47 (0,54)	7,54 (2,4) ^{*1}	9,08 (2,24) ^{*2,3}
sLIFr	3920 (1123)	4003 (1223)	4100 (1200)	5100 (1420) ^{*2,3}
TNF- α	7,56 (1,83)	8,49 (1,64) ^{^1}	21,4 (4) ^{*1}	23,2 (3,84) ^{*2,^3}
sTNF-RI	1620 (367)	1817 (367) ¹¹	2770 (670) ^{*1}	2810 (627) ^{*2}
IL2	10,1 (2,12)	10,7 (1,97)	10,8 (3,11)	10,4 (2,82)
IL8	8,75 (1,82)	9,21 (2,03)	29 (7,83) ^{*1}	31,2 (6,61) ^{*2}
IL10	18,2 (5,7)	15,9 (4,83) ^{^1}	26,2 (7,9) ^{*1}	22,3 (6,87) ^{*2,3}
INF γ	8,97 (2,23)	8,84 (2,14)	18,4 (4,3) ^{*1}	18,7 (3,96) ^{*2}
M-CSF	202 (51)	197 (47)	389 (92) ^{*1}	463 (87) ^{*2,3}
CX3CL1	422 (61,3)	436 (58,1)	520 (120) ^{*1}	503 (112) ^{^2}
CXCL10	8,83 (1,73)	8,97 (1,24)	18,2 (4,5) ^{*1}	17,9 (3,84) ^{*2}
TGF β 1	11,5 (3,23)	10,2 (2,84)	21,4 (4,64) ^{*1}	20,2 (4,24) ^{*2}
Эритропоэтин	3,93 (1,31)	4,27 (1,01)	12,6 (3,8) ^{*1}	17,2 (3,43) ^{*2,3}

Примечание: уровень достоверности: ¹ — $< 0,05$, [^] — $< 0,01$, ^{*} — $< 0,001$ при сравнении с указанной группой. Данные представлены в виде среднего арифметического (M) и стандартного отклонения (SD).

IL10, IFN γ , CX3CL1, CXCL10, TGF β 1, M-CSF) совпадали с аналогичными показателями у здоровых лиц (табл. 2). В этой группе отличалась суточная динамика только шести показателей: системы IL6/sIL6r (менее выраженный рост в вечернее время IL6 на фоне сохранения высоких концентраций sIL6r), и в отличие от здоровых отсутствовало снижение IL1ra (является протективным элементом) и эритропоэтина при увеличении в сыворотке крови в 20.00 ч содержания IL1 α (более чем на 20% при сравнении с данными, полученными в 7.00 ч). По результатам нашего исследования суточных закономерностей изменения уровней 21 цитокина в вечернее время по сравнению с утренними данными, наибольшее патогенетическое значение в аспекте прогрессирования гипертензии имеет отклонение уровней от утренней концентрации более чем на 20%, что в группе «Dipper» определено только для IL1 α , который ассоциируется с увеличением ADMA в сыворотке крови больных ЭАГ II стадии.

В группе пациентов «Non-dipper» с недостаточным снижением АД в ночное время (< 10%) наблюдали более выраженное изменение содержания цитокинов в вечернее время в крови при сопоставлении со здоровыми и группой «Dipper» (табл. 2). Отношение утренних и вечерних уровней только 9 цитокинов (IL18, TNF α , sTNF-RI, IL2, IL8, IFN γ , TGF β 1, CX3CL1, CXCL10) сохраняет закономерности, схожие с группой здоровых лиц. Отклонение от утренних концентраций на 20% и более с достоверным отличием от группы здоровых определено при анализе отношения

между утренними и вечерними концентрациями IL1 β , IL1 α , IL37, LIF, sLIFr, IL10, M-CSF и эритропоэтина. Для IL37 и IL10 (по данным нашего исследования, они обладают протективными свойствами в аспекте прогрессирования гипертензии) у пациентов с недостаточным снижением АД характерно более выраженное падение в ночное время в сыворотке крови по сравнению со здоровыми, а для IL1 β , IL1 α , LIF, sLIFr, M-CSF, эритропоэтина — рост. Необходимо отметить, что в группе «Non-dipper» вечерние уровни IL1ra не отличаются от утренних (в группе здоровых обнаружено достоверное снижение), что также служит признаком протективности, как и в группе «Dipper», так как возникает буферный потенциал в отношении роста IL1 β и IL1 α .

В группе «Night-peaker» с повышением АД в ночное время тенденция суточной динамики 9 цитокинов схожа с таковой у группы здоровых (IL1ra, IL18, TNF α , sTNF-RI, IL2, IL8, CX3CL1, CXCL10, TGF β 1) (табл. 2). Отклонение от утренних концентраций на 20% и более с достоверным отличием от группы здоровых выявлено при анализе ритмов показателей IL1 β , IL1 α , IL37, LIF, sLIFr, M-CSF, неоптерина, эритропоэтина. Для IL37 (по данным нашего исследования, с условно протективными свойствами относительно прогрессирования гипертензии) у пациентов с повышением АД характерно более выраженное падение в вечернее время в сыворотке крови при сравнении со здоровыми, а для IL1 β , IL1 α , LIF, sLIFr, M-CSF, неоптерина, эритропоэтина — более выраженный рост. Необходимо отметить, что в группе «Night-peaker» вечерние уровни IL10

Таблица 2. Утренние и вечерние уровни цитокинов (пг/мл) в сыворотках периферической крови больных ЭАГ II стадии (анамнез заболевания от 10 до 14 лет) без приема гипотензивных препаратов в зависимости от типа суточного ритма артериального давления

Цитокины	«Dipper» (n = 36 человек)		«Non-dipper» (n = 30 человек)		«Night-peaker» (n = 24 человек)	
	7.00	20.00	7.00	20.00	7.00	20.00
	1	2	3	4	5	6
IL1 β	16,3 [3,24–25,1]	18,7 [10,3–29,4] ^{^1}	16,8 [3,32–26,4]	22,3 [15,6–32,8] ^{^2*3}	22,4 [10,4–32,2] ^{^1,3}	29,4 [18,9–36,3] ^{^2,5^4}
IL1 α	12,5 [5,72–17,3]	15,2 [10,4–21,3] ^{^1}	12,8 [5,23–17,9]	17,3 [13,8–23,1] ^{^2*3}	16,2 [10,1–20,2] ^{^1,3}	23,7 [17,2–24,8] ^{^2,5,4}
IL1ra	570 [493–670]	591 [517–691]	567 [488–691]	586 [504–652]	589 [468–702]	514 [387–601] ^{^2,4,5}
IL18	370 [311–432]	400 [322–465]	362 [291–421]	407 [319–467]	389 [298–444]	397 [263–450]
IL18BP	6740 [5370–8457]	5990 [4700–7100] ^{^1}	6940 [5128–8620]	6103 [4620–7130] ^{^3}	6630 [4970–8520]	5930 [4550–7310] ^{^5}
IL37	87,5 [70,2–110]	82,3 [59,3–109]	90,1 [67,5–106]	60,4 [32,2–83,3] ^{^2,3}	85,4 [68,7–114]	62,5 [33,4–80,9] ^{^2,5}
IL6	23,9 [20,8–26,7]	27,2 [24,5–29,9] ^{^1}	24,3 [20–26,9]	27,7 [24–29,3] ^{^3}	23,7 [21,2–26,5]	26,8 [24,8–30] ^{^5}
sIL6r	1826 [1648–2003]	1902 [1730–2073]	1793 [1615–2121]	1837 [1710–2113]	1804 [1583–2107]	1924 [1698–2107]
LIF	8,07 [4,68–10,3]	8,56 [6,86–9,93]	7,09 [4,92–9,12]	10,8 [9,92–12,1] ^{^2*3}	8,32 [5,13–9,3]	11,3 [8,43–12,9] ^{^2,5}
sLIFr	4140 [3120–4820]	4320 [3270–5240]	4060 [3230–4770]	5930 [4600–7720] ^{^2,3}	3980 [3040–4910]	6030 [4580–7810] ^{^2,5}
TNF- α	21,2 [18,3–24]	23,6 [20,9–26,1] ^{^1}	20,7 [18,9–23,5]	23,1 [20,2–25,7] ^{^5}	20,9 [17,9–24,3]	23,9 [21,6–26,7] ^{^5}
sTNF-RI	2790 [2320–3220]	3030 [2607–3450] ^{^1}	2810 [2280–3110]	3110 [2406–3640] ^{^3}	2720 [2120–3310]	3090 [2540–3620] ^{^5}
IL2	10,6 [8,92–12,9]	10,4 [8,5–12,2]	10,9 [8,83–12,4]	11,1 [8,69–12,5]	10 [8,63–11,7]	10,4 [8,57–12,1]
IL8	29,1 [23,7–34,3]	31,2 [26,8–35,6]	30,4 [23,9–34,8]	32,4 [27,7–36,2]	29,8 [22,9–33,8]	30,9 [25,9–35,3]
IL10	26,2 [20,9–31,5]	22,3 [17,7–27] ^{^1}	27,8 [19,7–32,6]	21,6 [16,9–26,3] ^{^3}	25,7 [19,1–30,3]	23,5 [18,5–28,1]
IFN γ	18,4 [15,5–21,3]	19,3 [16–21,8]	18,9 [16,7–22,3]	20,2 [17,3–22,4]	17,9 [14,7–21,8]	21,1 [17,4–24,3] ^{^2,5}
M-CSF	371 [320–448]	402 [345–484] ^{^1}	378 [314–452]	451 [391–540] ^{^2*3}	394 [322–440]	517 [410–614] ^{^2,4,5}
CX3CL1	520 [439–607]	503 [427–579]	553 [455–647]	544 [409–597]	546 [461–639]	519 [447–602]
CXCL10	18,6 [15,2–21,3]	17,7 [15,1–20,5]	19,5 [16,3–22,1]	18,2 [15,8–21,3]	17,9 [14,7–21,9]	18,9 [15,4–21,3]
TGF β 1	21,4 [18,3–24,9]	20,3 [17,2–23,1]	22,1 [18,1–24,3]	19,7 [16,8–22,9]	20,9 [17,9–24,5]	20,6 [17,7–23,3]
Эритропоэтин	15,5 [10,2–20,3]	15,7 [9,62–19,9]	12,5 [9,12–15,6] ^{^1}	17,2 [12,9–22,3] ^{^2*3}	12,7 [7,8–16,9] ^{^1}	20,3 [16,2–24,7] ^{^2,5^4}

Примечание: уровень достоверности: ^{^1} — < 0,05, ^{^2} — < 0,01, ^{^3} — < 0,001 при сравнении с указанной группой (1 — 7.00 «Dipper», 2 — 20.00 «Dipper», 3 — 7.00 «Non-Dipper», 4 — 20.00 «Non-Dipper», 5 — 7.00 «Night-peaker», 6 — 20.00 «Night-peaker»). Данные представлены в виде медианы (Me), 25-й и 75-й процентилей [C25%–C75%].

не отличаются от утренних (в группе здоровых достоверное снижение), и данная тенденция может быть протективной, так как они реализуют буферный потенциал в отношении роста провоспалительных цитокинов. Пациенты группы «Night-peaker» имеют схожие с пациентами группы «Non-dipper» закономерности изменения суточного синтеза цитокинов. Различия выражаются в «потере» протективного потенциала IL1ra в вечернее время в группе «Night-peaker» (определено достоверное снижение в 20.00 ч), но на фоне отмены снижения противовоспалительного цитокина IL10 (данная закономерность не регистрируется в группе «Non-dipper»), что условно выравнивает протективные линии групп «Night-peaker» и «Non-dipper». В группе «Night-peaker» определяется большая степень повышения в вечернее время уровней IL1 α , M-CSF и эритропоэтина при сохранении общей тенденции пациентов категории «Non-dipper» — рост более 35% в 20.00 ч.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

По литературным данным, влияние цитокинов (IL1 β , TNF α , IFN γ , IL6, IL4 и IL10) на биологическую активность нейромедиаторов/нейромодуляторов, а также прямое действие на нейроны в определенных областях головного мозга способствуют регуляции архитектоники сна (наиболее изученного циркадианного ритма) [2], а значит в той или иной степени связаны с процессами, косвенно совпадающими с ритмом сна и бодрствования, в частности с изменением уровня АД. По результатам нашего исследования, анализ содержания цитокинов в сыворотке периферической крови больных с ЭАГ II стадии и длительностью заболевания 10–14 лет демонстрирует искажение динамики эндогенных суточных колебаний при сравнении со здоровыми за счет повышения степени роста в вечернее время уровня как классических цитокинов из группы «somnogenic» (IL1 β , IL1 α), так и малоизученных в данном аспекте LIF, sLIFr, M-CSF. У лиц без ЭАГ изменение в вечернее время уровня указанных иммунорегуляторных пептидов составляет для LIF, sLIFr, M-CSF менее 10%, а для IL1 α и эритропоэтина — 10–15%. Важно отметить, что изменение по сравнению со здоровыми динамики синтеза цитокинов у больных ЭАГ II стадии при длительности заболевания 10–14 лет (без приема гипотензивных препаратов) выражается в повышении в 20.00 ч на 20% и более уровней IL1 α , LIF, sLIFr, M-CSF, эритропоэтина до значений, которые, по нашим результатам, коррелируют с ростом вазоактивных веществ с прессорным действием, наиболее выражено с уровнями ADMA и SDMA (ADMA конкурирует с L-аргинином в рамках взаимодействия с eNOS [11], SDMA — структурный изомер ADMA — влияет на этап связывания аргинина с трансмембранным переносчиком, ограничивая его доступность для eNOS и снижая последующее образование NO [12]). Данная тенденция значима в аспекте прогрессирования ЭАГ и находит подтверждение в данных последних экспериментальных международных исследований: IL1 α оказывает прямое стимулирующее действие на пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов, активизирует процессы фиброобразования, а также способствует повышению экспрессии мРНК рецепторов классических вазопрессоров (ангиотензина II, эндотелина-1) на поверхности гладкомышечных клеток сосудистой стенки [13]. По нашим данным, IL1 α вторично повышает уровень LIF в крови больных ЭАГ [14], что может стимулировать LIF-опосредованный ток Ca²⁺

и ER β -зависимую активацию MAPK [15]; рост M-CSF подавляет активность eNOS [16], а также снижает уровень мРНК собственного рецептора IL34 (PTP- ζ) [17], что подтверждается нашими собственными данными. Снижение IL34 в сыворотке периферической крови у больных ЭАГ при росте M-CSF [18] блокирует его протективные эффекты в отношении головного мозга. Суммарно эти биологические эффекты могут запускать и закреплять изменение архитектоники сосудов со снижением вазодилатации и повышением чувствительности к вазопрессором. Данные патологические процессы реализуются на фоне снижения уровней цитокинов с протективными свойствами при ЭАГ (IL37) и без роста IL10, что наиболее выражено у лиц с патологическим искажением суточного ритма АД («Non-dipper» и «Night-peaker»).

В группе с сохранением физиологического снижения АД в ночное время более 10% («Dipper») суточные изменения уровней основных цитокинов (IL1 β , IL18, IL18BP, IL37, LIF, sLIFr, TNF α , sTNF-RI, IL2, IL8, IL10, IFN γ , CX3CL1, CXCL10, TGF β 1, M-CSF) сохраняют закономерности динамики показателей, наблюдаемые у здоровых, с количественными изменениями в 20.00 ч в интервале до 15%, исключая более выраженные физиологические колебания в системе IL6/sIL6r и эритропоэтина в группе без ЭАГ. Увеличение в сыворотке уровней IL1 β , IL1 α , LIF, sLIFr, M-CSF и эритропоэтина более чем на 20% в 20.00 ч потенциально является одним из факторов, изменяющих тонус сосудов и центральную регуляцию АД. При этом АД недостаточно снижается в ночное время, происходит повышение уровня данных цитокинов в 20.00 ч в виде роста более чем на 35%, что ассоциируется с ростом АД в указанный временной период. Эти изменения объясняются выявленными корреляциями с вазопрессорами и согласуются с данными экспериментальных исследований, упомянутых выше. Представляет интерес изменение протективных цитокиновых механизмов при переходе от лиц без ЭАГ к группам «Dipper», «Non-dipper» и «Night-peaker»; оно иллюстрирует различие противодействия активности провоспалительных цитокинов: в группе «Dipper» аналогично лицам без ЭАГ снижается концентрация IL10 в 20.00 ч, но блокируется вечернее падение IL1ra, демонстрируя компенсаторное антагонистическое действие в отношении роста IL1 β , IL1 α (без снижения sIL6r, характерного для здоровых), что дает дополнительную активность IL6; в группе «Non-dipper» дополнительно формируется отрицательная динамика концентрации IL37 в 20.00 ч, и только в группе «Night-peaker» не регистрируется в вечернее время падение IL10, что указывает на формирование линии противодействия провоспалительным цитокинам, но со снижением уровня IL1ra.

ВЫВОДЫ

В ходе исследования выявлены изменения суточной динамики содержания цитокинов в сыворотке периферической крови больных ЭАГ II стадии, которые ассоциированы с формированием патологических суточных ритмов АД («Non-dipper» и «Night-peaker»), в первую очередь, за счет роста в вечернее время уровней LIF, sLIFr, M-CSF, IL1 α и эритропоэтина более чем на 20%, а в группе «Night-peaker» — более чем на 35%. Пациенты с достаточным снижением АД в ночное время («Dipper») имеют более высокие уровни провоспалительных цитокинов, чем здоровые, но с сохранением суточной динамики, аналогичной таковой в

группе здоровых. Глубокое понимание патофизиологической роли изменений не только количественных характеристик цитокинов сыворотки периферической крови у больных ЭАГ II стадии, но и особенностей их суточной динамики, связей с формированием патологических суточных вариаций АД может стать основой создания новых систем

профилактики прогрессирования ЭАГ со снижением частоты повреждения органов-мишеней и разработкой персонализированных программ диспансеризации. Это доказывает актуальность исследований, направленных на изучение динамики физиологических показателей в связи с циркадианными ритмами.

Литература

1. Geiger SS, Fagundes CT, Siegel RM. Chrono-immunology: progress and challenges in understanding links between the circadian and immune systems. *Immunology*. 2015; 146 (3): 349–58.
2. Rico-Rosillo MG, Vega-Robledo GB. Sleep and immune system. *Rev Alerg Mex*. 2018; 65 (2): 160–70.
3. Labrecque N, Cermakian N. Circadian Clocks in the Immune System. *J Biol Rhythms*. 2015; 30 (4): 277–90.
4. Bennardo M, Alibhai F, Tsimakouridze E, et al. Day-night dependence of gene expression and inflammatory responses in the remodeling murine heart post-myocardial. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2016; 311 (6): 1243–54.
5. Paganelli R, Petrarca C, Gioacchino M. Biological clocks: their relevance to immune-allergic diseases. *Clin Mol Allerg*. 2018; 16 (1). PMID: 29344005. DOI: 10.1186/s12948-018-0080-0.
6. Portaluppi F. The circadian organization of the cardiovascular system in health and disease. *Indian J Exp Biol*. 2014; 52 (5): 395–8.
7. Xing CY, Tarumi T, Meijers RL, et al. Arterial Pressure, Heart Rate, and Cerebral Hemodynamics Across the Adult Life Span. *Hypertension*. 2017; 69 (4): 712–20.
8. Cuesta M, Boudreau P, Dubeau-Laramee G, et al. Simulated Night Shift Disrupts Circadian Rhythms of Immune Functions in Humans. *J Immunol*. 2016; 196 (6): 2466–75.
9. Su D, Song A, Yan B, et al. Circadian Blood Pressure Variations in Postmenopausal Females with Hypertension. *Int Heart J*. 2018; 59 (2): 361–6.
10. Sartini C, Whincup PH, Wannamethee SG, et al. Associations of time of day with cardiovascular disease risk factors measured in older men: results from the British Regional Heart Study. *BMJ Open*. 2017; 7 (11): e018264. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-018264.
11. Shin S, Thapa SK, Fung H-L. Cellular interactions between L-arginine and asymmetric dimethylarginine: Transport and metabolism. *PLoS ONE*. 2017; 12 (5): e0178710. DOI:10.1371/journal.pone.0178710.
12. Dahlem DP, Neiger R, Schweighauser A. Plasma Symmetric Dimethylarginine Concentration in Dogs with Acute Kidney Injury and Chronic Kidney Disease. *J Veterin Int Med*. 2017; 31 (3): 899–04.
13. Ahnstedt H, Stenman E, Cao L, et al. Cytokines and growth factors modify the upregulation of contractile endothelin ET(A) and ET(B) receptors in rat cerebral arteries after organ culture. *Acta Physiol*. 2012; 205 (2): 266–78.
14. Радаева О. А., Симбирцев А. С. Гендерные особенности системы интерлейкина-1 у женщин с эссенциальной артериальной гипертензией. Цитокины и воспаление. 2014; 3 (13): 31–8.
15. Dey D, Shepherd A, Pachua J, Martin M. Leukemia inhibitory factor regulates trafficking of T-type Ca²⁺ channels. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2011; 300 (3): 576–87.
16. Hsu CP, Zhao JF, Lin SJ, et al. Asymmetric Dimethylarginine Limits the Efficacy of Simvastatin Activating Endothelial Nitric Oxide Synthase. *J Am Heart Assoc*. 2016; 5 (4): e003327. DOI: 10.1161/JAHA.116.003327.
17. Hawley CA, Rojo R, Raper A. Csf1r-mApple Transgene Expression and Ligand Binding In Vivo Reveal Dynamics of CSF1R Expression within the Mononuclear Phagocyte System. *J Immunol*. 2018 Mar 15; 200 (6): 2209–23. DOI: 10.4049/jimmunol.1701488.
18. Радаева О. А., Симбирцев А. С. М-CSF, IL-34, VEGF-A как факторы риска развития инфаркта миокарда, острого нарушения мозгового кровообращения у больных эссенциальной артериальной гипертензией. Российский иммунологический журнал. 2015; 9 (1): 93–101.

References

1. Geiger SS, Fagundes CT, Siegel RM. Chrono-immunology: progress and challenges in understanding links between the circadian and immune systems. *Immunology*. 2015; 146 (3): 349–58.
2. Rico-Rosillo MG, Vega-Robledo GB. Sleep and immune system. *Rev Alerg Mex*. 2018; 65 (2): 160–70.
3. Labrecque N, Cermakian N. Circadian Clocks in the Immune System. *J Biol Rhythms*. 2015; 30 (4): 277–90.
4. Bennardo M, Alibhai F, Tsimakouridze E, et al. Day-night dependence of gene expression and inflammatory responses in the remodeling murine heart post-myocardial. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2016; 311 (6): 1243–54.
5. Paganelli R, Petrarca C, Gioacchino M. Biological clocks: their relevance to immune-allergic diseases. *Clin Mol Allerg*. 2018; 16 (1). PMID: 29344005. DOI: 10.1186/s12948-018-0080-0.
6. Portaluppi F. The circadian organization of the cardiovascular system in health and disease. *Indian J Exp Biol*. 2014; 52 (5): 395–8.
7. Xing CY, Tarumi T, Meijers RL, et al. Arterial Pressure, Heart Rate, and Cerebral Hemodynamics Across the Adult Life Span. *Hypertension*. 2017; 69 (4): 712–20.
8. Cuesta M, Boudreau P, Dubeau-Laramee G, et al. Simulated Night Shift Disrupts Circadian Rhythms of Immune Functions in Humans. *J Immunol*. 2016; 196 (6): 2466–75.
9. Su D, Song A, Yan B, et al. Circadian Blood Pressure Variations in Postmenopausal Females with Hypertension. *Int Heart J*. 2018; 59 (2): 361–6.
10. Sartini C, Whincup PH, Wannamethee SG, et al. Associations of time of day with cardiovascular disease risk factors measured in older men: results from the British Regional Heart Study. *BMJ Open*. 2017; 7 (11): e018264. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-018264.
11. Shin S, Thapa SK, Fung H-L. Cellular interactions between L-arginine and asymmetric dimethylarginine: Transport and metabolism. *PLoS ONE*. 2017; 12 (5): e0178710. DOI:10.1371/journal.pone.0178710.
12. Dahlem DP, Neiger R, Schweighauser A. Plasma Symmetric Dimethylarginine Concentration in Dogs with Acute Kidney Injury and Chronic Kidney Disease. *J Veterin Int Med*. 2017; 31 (3): 899–04.
13. Ahnstedt H, Stenman E, Cao L, et al. Cytokines and growth factors modify the upregulation of contractile endothelin ET(A) and ET(B) receptors in rat cerebral arteries after organ culture. *Acta Physiol*. 2012; 205 (2): 266–78.
14. Radaeva OA, Simbircev AS. Gendernye osobennosti sistemy interlejkina-1 u zhenshchin s ehssencial'noj arterial'noj gipertenziej. *Citokiny i vospalenie*. 2014; 3 (13): 31–8. Russian.
15. Dey D, Shepherd A, Pachua J, Martin M. Leukemia inhibitory factor regulates trafficking of T-type Ca²⁺ channels. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2011; 300 (3): 576–87.

- Cell Physiol. 2011; 300 (3): 576–87.
16. Hsu CP, Zhao JF, Lin SJ, et al. Asymmetric Dimethylarginine Limits the Efficacy of Simvastatin Activating Endothelial Nitric Oxide Synthase. *J Am Heart Assoc.* 2016; 5 (4): e003327. DOI: 10.1161/JAHA.116.003327.
 17. Hawley CA, Rojo R, Raper A. Csf1r-mApple Transgene Expression and Ligand Binding In Vivo Reveal Dynamics of CSF1R Expression within the Mononuclear Phagocyte System. *J Immunol.* 2018 Mar 15; 200 (6): 2209–23. DOI: 10.4049/jimmunol.1701488.
 18. Radaeva OA, Simbircev AS. M-CSF, IL-34, VEGF-A kak faktory riska razvitiya infarkta miokarda, ostrogo narusheniya mozgovogo krovoobrashcheniya u bol'nyh ehssencial'noj arterial'noj gipertenziej. *Rossijskij immunologicheskij zhurnal.* 2015; 9 (1): 93–101. Russian.