

CZU: 616.12-008.46-085.276-092.9

DOI: <https://doi.org/10.52692/1857-0011.2022.1-72.11>

BENEFICIUL TRATAMENTULUI ANTIINFLAMATOR PRIN IL-10 DOVEDIT ÎN MODELE EXPERIMENTALE DE INSUFICIENȚĂ CARDIACĂ

¹ POPOVICI Mihail, prof. univ., dr. hab. șt. med., academician al AȘM,¹ MUNTEANU Mihaela, doctorand,¹ POPOVICI Ion, dr. hab. șt. med., prof. cercetător,¹ IVANOV Victoria, dr. hab. șt. med., prof. cercetător,¹ CIOBANU Lucia, dr. hab. șt. med., conf. cercetător,¹ MORARU Ion, dr. șt. med., conf. cercetător,² ROTARU Victoria, dr. șt. med., conf. univ.,² TACU Lilia, asistent univ.,² TODIRAȘ Mihail, dr. hab. șt. med., conf. univ.,² COBEȚ Valeriu, dr. hab. șt. med., prof. univ.¹ IMSP Institutul de cardiologie² Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*e-mail: popovicim@gmail.com*

Rezumat

Scop. Estimarea *in vitro* a efectelor IL-10 în diverse modele experimentale de insuficiență cardiacă.

Material și metode. Insuficiența cardiacă (IC) a fost indusă la șobolani prin administrarea *i/p* a Dx în doză cumulată de 16 mg/kg sau prin administrarea de izoproterenol (*i/p* 2 ori la distanța de 24 ore) în doză de 150 mg/kg. IL-10 a fost administrată *i/p* zilnic timp de 7 zile după modelarea IC în doză unică de 50 mkg/kg. Efectele funcționale au fost testate utilizând modelul de perfuzie a cordului izolat în condiții de efort hemodinamic și neuroendocrin.

Rezultate. IL-10 a îmbunătățit în ambele modele HF la cote similare capacitatea inimii privind adaptarea la efort prin volum și rezistență, cel mai important efect în acest context fiind creșterea vitezei de relaxare și contracție izovolumică a cordului cu până la 19%. De remarcat că, IL-10 a condus la apariția efectului inotrop pozitiv la acțiunea ET-1, reviriment asociată cu creșterea debitului cardiac. De asemenea, IL-10 a crescut toleranța miocardului la ischemie și reperfuzie, fapt atestat prin reducerea semnificativă a presiunii telediastolice a ventriculului stâng. Totodată, IL-10 a crescut rezerva funcțională coronariană inerentă acțiunii acetilcolinei, iar fluxul coronarian a crescut cu 25-33% în stimularea parasimpatică.

Concluzie. IL-10 îmbunătățește în mod analog performanțele funcționale ale inimii în diferite modele de insuficiență cardiacă experimentală în timpul eforturilor hemodinamice și neuroendocrine, subliniind faptul că inflamația este un factor patogen important al IC, indiferent de tipul leziunii miocardice.

Cuvinte cheie: insuficiență cardiacă, IL-10, model de perfuzie a cordului izolat, beneficiu funcțional.

Резюме. Доказанный положительный функциональный эффект ИЛ-10 в различных экспериментальных моделях сердечной недостаточности

Цель. Определение *in vitro* эффектов ИЛ-10 на различных экспериментальных моделях сердечной недостаточности.

Материал и методы. Сердечную недостаточность (СН) индуцировали у крыс введением Dx в кумулятивной дозе 16 мг/кг, либо двукратным введением изопротеренола в дозе 150 мг/кг в течение 48 часов. ИЛ-10 вводили *v/b* ежедневно в течение 7 дней после моделирования СН в разовой дозе 50 мкг/кг. Функциональные эффекты оценивали с использованием модели перфузируемого изолированного сердца, в условиях различных гемодинамических и нейроэндокринных нагрузках.

Результаты. ИЛ-10 улучшил в обеих моделях СН способность сердца к адаптации в условиях нагрузки объемом и сопротивлением, наиболее важный эффект, выразившийся в увеличении скорости изоволюмической расслабления и сокращения миокарда до 19%. Примечательно, что действие ИЛ-10 способствовало появлению положительного инотропного эффекта сердца на действие ЭТ-1, что сочеталось с повышением минутного сердечного объема. Также, ИЛ-10 увеличил толерантность миокарда к действию ишемии и реперфузии, что сопровождалось достоверным снижением конечного диастолического давления левого желудочка. Кроме этого, ИЛ-10 увеличил коронарный функциональный резерв при стимуляции сердца ацетилхолином, что характеризовалось повышением коронарного потока на 25-33%.

Вывод. ИЛ-10 достоверно улучшил функциональные показатели сердца в различных моделях экспериментальной сердечной недостаточности в условиях гемодинамических и нейроэндокринных нагрузках, что свидетельствует о том, что воспаление является важным патогенетическим фактором СН независимо от вида повреждения миокарда.

Ключевые слова: сердечная недостаточность, ИЛ-10, модель перфузии изолированного сердца, положительный функциональный эффект.

Summary. The benefit of antiinflammation treatment via IL-10 in diverse experimental models of heart failure

Aim. The in vitro estimation of IL-10 effects in diverse experimental models of heart failure (HF).

Material and methods. HF was induced in rats either by Dx administration in cumulative dose of 16 mg/kg or by isoproterenol administration twice in dose of 150 mg/kg. IL-10 was i/p administration daily during 7 days after HF modeling in single dose of 50 mkg/kg. Functional effects were assayed using perfused isolated heart exposed to hemodynamic and neuroendocrine efforts.

Results. IL-10 improved in a similar manner in both HF models capacity of the heart regarding its adaptation to effort by volume and resistance, the most important tool being increasing of isovolumic relaxation and contraction velocity by up to 19%. Noteworthy, IL-10 led to appearance of positive inotropic effect on ET-1 action associated with cardiac output enhancement. Likewise, IL-10 augmented myocardium tolerance to ischemia and reperfusion action according to significant lesser levels of the left ventricle end diastolic pressure. Finally, IL-10 increased coronary functional reserve inherent to acetylcholine action, and coronary flow raised by 25-33% during parasympathetic stimulation.

Conclusion. IL-10 notably improves analogically the functional performances of the heart in various models of experimental heart failure during hemodynamic and neuroendocrine efforts, underlying that inflammation is an important pathogenic factor of HF regardless of myocardial injury kind.

Key-words: heart failure, IL-10, model of isolated heart perfusion, functional benefit.

Introducere

Conceptul fiziopatologic al conexiunii inflamației și insuficienței cardiace (IC) de oricare origine este continuu consolidat prin rezultatele numeroaselor cercetări clinice și fundamentale, iar nivelul de expresie a markerilor proinflamatori în miocard și conținutul lor seric se corelează autentic cu severitatea IC (1,2,3). Mediatorii inflamației influențează notabil remodelarea miocardului și matricei extracelulare (MEC), periclitează endoteliul vascular periferic și coronarian, induc moartea celulară prin apoptoză și piroptoză, manifestă efect cardiodepresiv direct, activează stresul oxidativ, stimulează proliferarea și migrarea celulară, etc. (4,5,6). Acțiunea cardiotoxică a diferitor noxe, inclusiv a remediilor farmacologice (eg, antraciclilinele) este indispensabilă de inflamație, vizată drept o pârgă de declanșare și suport sustenabil al evoluției IC. O simfonie deosebită între inflamație și IC este decelată în infarctul miocardic acut, când paternele molecule derivate de celulele lezate ireversibil stimulează prin intermediul factorului nuclear kappaB (NF-kappaB) genele programului proinflamator al diferitor celule cardiace, rezultând în expresia citokinelor proinflamatoare, cum ar fi interleukinele (IL) 1,6,8,17,18), factorul de necroză a tumorii α (TNF α), proteina chemoatractantă a monocitelor (MCP-1) și alte chemokine, factorii de creștere, etc. Important de menționat în acest context caracterul reciproc al legăturii dintre inflamație și IC, întrucât ultima prin diferite mecanisme (eg, ischemia, hipoxia, activarea neuroendocrină, expresia proteinkinazelor intracelulare, etc) susține răspunsul inflamator și facilitează diseminarea acestuia la noima instalării inflamației cronice sau sistemice.

Sub acest aspect abordarea tentativelor de a atenua inflamația în scopul ameliorării evoluției IC este

inteligibilă și conceptual justificată. Cu toate acestea, încercările de a obține un reviriment cardiac concludent la pacienții cu IC prin tratamentul anticitokinic realizat prin administrarea antagoniștilor IL-1, IL-6, TNF α reprezentați de anticorpi monoclonali specifici sau a blocantelor receptorilor lor (eg, Canakinumab, Tocilizumab, Infliximab, Etanercept, etc.) nu s-au soldat cu rezultate încurajatoare și de perspectivă.

Orchestrarea inflamației la nivelul ADN-ului se efectuează prin echilibrul activității genelor pro- și antiinflamatoare, iar la nivelul extracelular prin raportul citokinelor pro- și antiinflamatoare în contextul acțiunii lor paracrine și endocrine. Una din citokinele antiinflamatoare importante este IL-10, sursele celulare de bază fiind macrofagele M2, limfocitele CD4 și CD8, limfocitele B, celulele dendritice, mastocitele, etc. (7,8). Efectele principale ale IL-10, catalogate ca imunosupresive și antiinflamatoare, sunt următoarele (7,8):

- Inhibiția limfocitelor Th1 și, respectiv, a expresiei citokinelor proinflamatoare iminente.
- Inhibiția producției IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 și TNF α cauzată de reducerea expresiei NF-kappaB.
- Stimularea expresiei citokinelor antiinflamatoare, cum ar fi TGF-1 β (factorul de transformare a creșterii), IL-4, IL-27 și IL-33.
- Reducerea expresiei complexului major de histocompatibilitate II și a moleculelor co-stimulatoare B7.1/B7.2. (sau CD80/CD86) inerente.
- Reducerea expresiei ligandului și a receptorului CD40, fapt ce se impune prin efect peiorativ asupra stimulării limfocitelor B de către limfocitele Th2.
- Reducerea expresiei moleculelor de adeziune intercelulară și a MCP-1, datorită căreia este limitată infiltrarea țesuturilor diferitor organe cu monocite, care se vor transforma în macrofage.

Analogic unor citokine, IL-10 demonstrează efecte pleiotrope dispensabile de cele conectate la răspunsul imunoinflamator, care pot fi o bornă însemnată în fiziologia și fiziopatologia sistemului cardiovascular, așa ca (9,10):

- echilibrarea producției de colagen de către fibroblastele miocardului pe seama inhibiției metaloproteinazelor MEC, limitând astfel creșterea matricei pe contul fibrozei reactive sau interstițiale;

- atenuarea declinului oxidului nitric (NO) prin efectul său benefic asupra expresiei nitric oxid sintazei endoteliale (NOSe);

- fosforilarea moleculelor citozolice de transcripție prin activarea receptorilor specifici JAK (kinazele tirozinei Janus), fapt ce facilitează controlul fenotipului contractil al cardiomiocitelor și al miocitelor netede coronariene;

- atenuarea apoptozei cardiomiocitelor prin inhibiția expresiei TNF α , etc.

Per ansamblu, efectele evidențiate au o premoniție concludentă asupra plauzibilității beneficiului IL-10 exogene în tratamentul IC. Cercetările fundamentale, care trebuie să fie în acest context vectorul ostial sunt limitate, iar experiența aplicării IL-10 în medicina internă este trădată în literatura de specialitate doar de câteva surse ce se referă la bolile autoimune (eg, artrita reumatoidă, psoriazisul), cancerul, boala cronică Crohn (11,12,13).

Scopul cercetării

Evaluarea in vitro a efectului IL-10 asupra funcției cordului în modele experimentale de insuficiență cardiacă.

Material și metode

Două modele de insuficiență cardiacă au fost produse la șobolanii albi de laborator prin: (1) administrarea doxorubicinei (Dx) în doză cumulativă de 16 mg/kg pe o perioadă de 2 săptămâni și (2) prin administrarea izoproterenolului în 2 prize la distanța de 24 ore în doză de 150 mg/kg – modelul de IM experimental (IME).

IL-10 a fost administrată i/p zilnic timp de 7 zile după 24 ore de la ultima injecție a Dx sau izoproterenolului în doză de priză, 50 mkg/kg. Evaluarea funcțională s-a realizat pe modelul de cord izolat perfuzat în regim izovolumic (Langendorff) sau de lucru exterior (Neely-Rovetto) cu soluția Krebs (14,15).

Algoritmul de apreciere a efectului IL-10 asupra cordului izolat a inclus estimarea indicilor funcției de pompă a ventriculului stâng (VS), relaxării diastolice și capacității contractile în efort hemodinamic (cu volum și rezistență), neuroendocrin (funcția inotropă a cordului) la acțiunea endotelinei-1 (ET-1) și norepinefrinei (NE), precum și în impactul ischemie-reperfuzie. Efectul IL-10 asupra fenomenului coronarian Gregg dependent de endotelium s-a apreciat conform determinării rezervei funcționale coronariene la acțiunea acetilcolinei.

Materialul cifric a fost calculat ca medie și eroarea medie standard ($M\pm m$) în programul Microsoft Excel 2017, cu determinarea ulterioară a valorii p la confruntarea indicilor parametrici (discrepanța semnificativă s-a notat când $p<0,05$).

Rezultate

Efectul IL-10, administrată la șobolanii cu modelul de IME, asupra capacității cordului de adaptare la efort cu volum rezistență este reflectat în Tabelul 1.

Tabelul 1

Valoarea indicilor funcționali ai VS în efortul cu volum și rezistență

Indice	Lot	Efort		
		Volum minimal	Volum maximal	Rezistență
JA, ml/min	Martor	5,7 \pm 0,45	29,6 \pm 2,8	16,8 \pm 1,7
	IME	2,3 \pm 0,22	18,2 \pm 2,1	7,3 \pm 0,7
	IME+IL-10	3,7 \pm 0,25* p<0,05	30,8 \pm 2,6* p<0,05	12,9 \pm 1,1* p<0,05
DC, ml/min	Martor	16,2 \pm 1,4	52,6 \pm 4,3	29,4 \pm 3,1
	IME	9,6 \pm 0,85	35,4 \pm 2,9	15,8 \pm 1,6
	IME+IL-10	12,6 \pm 1,1* p<0,05	43,5 \pm 3,9* p<0,05	24,1 \pm 2,4* p<0,05
+dP/dTmax, mm Hg/min	Martor	8206 \pm 172	8982 \pm 232	8242 \pm 227
	IME	6124 \pm 167	7026 \pm 215	5665 \pm 226
	IME+IL-10	6415 \pm 193* p<0,05	7512 \pm 231* p<0,05	7453 \pm 222* p<0,05
-dP/dTmax, mm Hg/min	Martor	6387 \pm 163	7784 \pm 211	7196 \pm 219
	IME	4836 \pm 147	5834 \pm 176	5123 \pm 164
	IME+IL-10	5825 \pm 158* p<0,05	6905 \pm 177* p<0,05	6316 \pm 173* p<0,05

Legendă: * semnificativ vs martor ($p<0,05$); p- valoarea semnificației vs indicele IME

Este remarcabilă în contextul aprecierii eficienței IL-10 asupra evoluției IC în IME majorarea semnificativă a indicilor funcției pompă de bază, jetul aortic (JA) și debitul cardiac (DC), în efortul cu volum minimal (5 cm col.H₂O), volum maximal (25 cm col.H₂O) și cu rezistență (presiunea în estuarul aortei – 110 cm col. H₂O). Astfel, cea mai concludentă creștere a acestor indici față de lotul IME s-a constatat în efortul cu rezistență: 47,5% și 72,6%, respectiv pentru DC și JA, deși rămân veritabil subiacent valorii martor. Ameliorarea funcției pompă a VS în efortul cu rezistență s-a asociat cu creșterea semnificativă a vitezei maxime de relaxare și contracție izovolumică a cordului: cu 32%. Prin acest reviriment se confirmă 2 postulate:

1. Fazele de relaxare și contracție izovolumică au o conotație patogenică însemnată în vederea perturbării reglării homeometrice a cordului, iar indicii $-dP/dT_{max}$ și $+dP/dT_{max}$ pot fi predictorii veritabili ai exacerbării evoluției insuficienței cardiace post-infarct.

2. Ameliorarea relaxării și contracției izovolumice a cordului trebuie să fie o țintă a terapiei aplicată în perioada post-infarct.

În efortul cu volum de umplere redus, care este o sarcină grea pentru un cord cu relaxarea diastolică compromisă, acțiunea IL-10 a determinat creșterea JA și DC cu 48,1% și, respectiv, 28,4%. Ameliorarea funcției pompă a avut la bază creșterea semnificativă a valorii $-dP/dT_{max}$ cu 20%.

În efort cu volum maxim de umplere valoarea indicelui $-dP/dT_{max}$ a crescut cu 19%, fapt ce s-a asociat cu ameliorarea relației lungime-forță, manifestată prin majorarea JA și DC cu 70% și, respectiv, 23%.

Un aspect important privind acțiunea IL-10 asupra evoluției IC în IME se anunță creșterea toleranței miocardului la acțiunea ischemiei și reperfuziei, estimată prin valoarea presiunii telediastolice a VS (PTDVS) la diferite perioade (Tabelul 2).

Tabelul 2

Efectul IL-10 asupra presiunii telediastolice (mm Hg) a VS în ischemie și reperfuzie

Lot	Inițial	Ischemie (30 min)	Reperfuzie (45 min)
Martor (n=8)	14,16±1,1	41,5±4,2	16,4±1,5
IME (n=8)	14,21±1,2	73,9±6,7	38,3±3,5
IME + IL-10 (n=8)	14,20±1,2	55,3±5,5* -24,1% p<0,05	27,6±3,1* -25,7% p<0,05

Legendă: % - deviațiile relative vs indicele IME; p - valoarea semnificației vs martor; * - semnificativ vs IME (p<0,05).

Astfel, valoarea PTDVS s-a redus la sfârșitul ischemiei și perioadei de reperfuzie cu 24,1% și, respectiv, 25,7% comparativ cu indicii apreciați în IME.

Îmbunătățirea sub acțiunea IL-10 a rezistenței miocardului la acțiunea ischemie-reperfuzie, care impune eliberarea ET-1 din endoteliocite și stocările miocardice s-a asociat cu apariția efectului inotrop pozitiv la acțiunea oligopeptidei (Tabelul 3).

Tabelul 3

Efectul ET-1 asupra cordului izolat perfuzat în regim de lucru

Indice	Lot	Inițial	Acțiuni ET-1 (10 ⁻⁶ M)
PSVS, mm Hg	Martor	144,7±9,7	170,3±10,4 +17,7% vs inițial
	IME	95,6±9,4	91,7±9,2 -4,1% vs inițial
	IME + IL-10	120,8±10,6	133,8±10,2 +11% vs inițial p<0,05 vs IME
DC, ml/min	Martor	38,2±3,4	44,6±4,2 +16,8% vs inițial
	IME	28,8±2,6	25,2±2,7 -12,5% vs inițial
	IME + IL-10	33,2±2,7	36,9±2,7 +12% vs inițial p<0,05 vs IME

Inotropismul miocardic negativ la acțiunea ET-1 acompaniat de declinul DC în vârful stimulării cordului este un mecanism patogenetic important și un predictor de valoare al insuficienței cardiace. IL-10 a anihilat răspunsul negativ inotrop al cordului și a condus la elevarea presiunii sistolice a VS (PSVS) cu 11%, fapt ce a rezultat în majorarea DC cu 11%. Drept urmare, diferența dintre PSVS și DC în lotul IME+IL-10 față de indicii respectivi din lotul IME a fost mai mare în cadrul stimulării cordului cu ET-1 comparativ cu nivelul bazal.

O altă fațetă a efectului IL-10 este evidențiată în aprecierea ratei modificării fluxului coronarian (FC) al cordului izolat izovolumic la acțiunea ET-1 și Ach (Tabelul 4).

Tabelul 4

Rata modificării FC (%) la acțiunea ET-1 și Ach

Lot	Stimulare	
	ET-1 (10 ⁻⁶ M)	Ach (10 ⁻⁶ M)
Martor	-14,4±1,4	+35,6±3,4
IME	-20,8±2,1	+21,2±2,2
IME + IL-10	-16,8±1,4* (p<0,05)	+28,3±2,5* (p<0,05)

Legendă: * - semnificativ vs martor (p<0,05); p - valoarea semnificației vs IME.

Astfel, tratamentul antiinflamator a condus la creșterea rezervei funcționale coronariene cu 33,5% la acțiunea Ach. Acest beneficiu iminent fenomenului coronarian Gregg dependent de endoteliu s-a asociat cu reducerea semnificativă a declinului relativ al FC la acțiunea ET-1 cu 19,23%.

Evaluarea modelului de IC reprodus prin acțiunea cardiotoxică a Dx a decantat 2 entități importante:

1. Modificarea indicilor funcționali ai cordului izolat și caracterul răspunsului lui la suprasolicitări hemodinamice și neuroendocrine este similar IME, deși în plan patogenetic impactul Dx are distincții notabile.

2. IL-10 a ameliorat performanțele cordului izolat în manieră similară IC ce derivă din infarctul miocardic. Prin urmare, inflamația este un factor patogenetic comun ambelor modele de IC, iar beneficiul atenuării ei prin administrarea IL-10 demonstrează în acest context valoarea reală a acestui factor patogenetic.

Astfel, în efortul cel mai incisiv pentru cord determinat de volumul minimal de umplere a VS, IL-10 a condus la creșterea cu 94% a DC, fapt ce s-a corelat cu majorarea semnificativă a valorii -dP/dT max cu 28%.

Tabelul 5.

Indicii funcționali ai cordului izolat la umplerea minimă a VS

Indici	Loturi		
	Martor (n=9)	Dx (n=9)	Dx+IL-10 (n=9)
Jetul aortic, ml/min	5,7±0,3	1,6±0,1 p1<0,001	3,1±0,3 p1<0,05 p2<0,05
-dP/dT max, mm Hg/sec	7966±188	5356±149 p1<0,05	6844±166 p1<0,05 P2<0,05

Notă: p1 – semnificativ (p<0,05) vs martor; p2 – semnificativ (p<0,05) vs Dx.

Creșterea presiunii în estuarul aortei de la 80 până al 110 cm col.H₂O a agravat la un grad mai sever funcția cordului în modelul Dx comparativ cu lotul martor. IL-10 a ameliorat semnificativ indicii funcției de pompă și parametrii contractilității VS (Tabelul 6).

Tabelul 6

Indicii funcționali ai cordului izolat în efort cu rezistență

Indici	Loturi		
	Martor (n=9)	Dx (n=9)	Dx+IL-10 (n=9)
Jetul aortic, ml/min	15,4±1,1	7,5±0,4 p1<0,01	10,9±0,7 p1<0,05 p2<0,05
Debitul cardiac ml/min	29,2±2,4	16,3±1,2 p1<0,01	22,1±1,8 p1<0,05 p2<0,05
Presiunea sistolică a VS, mm Hg	176,4±11,3	126,3±11,5 p1<0,05	147,1±11,3 p1<0,05 p2<0,05
Presiunea sistolei izotonice a VS, mm Hg	96,4±7,3	36,3±0,22 p1<0,01	56,3±0,45 p1<0,05 p2<0,05
+dP/dT max, mm Hg/sec	9887±276	6835±173 p1<0,05	7829±217 p1<0,05 p2<0,05

Notă: p1 – semnificativ (p<0,05) vs martor; p2 – semnificativ (p<0,05) vs Dx

Valoarea JA și DC a crescut cu 46% și, respectiv, 36%. Acest beneficiu s-a constatat pe fondalul elevării PSVS cu 16% și majorării valorii vitezei contracției izovolumice a cordului (+dP/dT max) cu 14%.

Acțiunea IL-10 s-a impus prin valori semnificativ mai mici ale PTDVS la diferite perioade estimative ale impactului ischemie-reperfuție (tabelul 7).

Important de menționat că restabilirea PSVS pe perioada reperfuției, un indiciu notabil al anduranței miocardului la impactul ischemic este ameliorată sub acțiunea IL-10 (Tabelul 8).

Astfel, la finele reperfuției (min 45) valoarea PSVS este cu 34% mai mare comparativ cu indicele lotului fără tratament.

Tabelul 7

Dinamica PTDVS pe perioada ischemiei și reperfuției

Lot	Ischemie (min)				Reperfuție (min)			
	5	10	20	30	5	10	30	45
Martor, (n=9)	16,3±0,8	27,2±1,7	36,2±1,9	41,7±2,3	36,3±2,5	27,9±2,3	20,7±1,8	14,9±1,1
Dx, (n=9)	21,5±1,4*	38,8±2,1*	55,6±3,6*	63,7±4,4*	58,2±4,3*	46,5±3,3*	30,6±2,5*	22,8±1,4*
Dx + IL-10, (n=9)	18,6±1,2	29,9±1,9#	44,5±2,5##	51,3±3,5##	43,9±3,2##	40,1±2,8*	22,6±1,6##	16,2±1,2#

Notă:* - semnificativ (p<0,05) vs martor; # - semnificativ (p<0,05) vs Dx

Tabelul 8

Dinamica PSVS a cordului izolat izovolumic pe perioada reperfuției

Lot	Inițial (până la ischemie)	Reperfuție (min)			
		15	25	35	45
Martor, (n=9)	139±8,6	74±6,6	92±8,2	103±7,5	125±8,4
Dx, (n=9)	96±5,9*	52±4,7*	61±5,5*	73±5,8*	81±6,3* p<0,05 vs inițial
Dx+IL-10 (n=9)	113±7,4*	61±4,6*	74±6,1*	91±5,4*#	109±7,7*#

Notă:* - semnificativ (p<0,05) vs martor; # - semnificativ (p<0,05) vs Dx

Tabelul 9

Răspunsul inotrop și cronotrop ai cordului izolat la acțiunea NE și ET-1

Indice/lot	Stimularea inotropă			
	Inițial	NE (10^{-7} M)	Inițial	ET-1 (10^{-7} M)
PSVS, mm Hg				
Martor	142,8±8,3	186,8±8,5+30,8%	141,7±8,2	177,3±8,6+25,1%
Dx	105,7±6,2*	109,7±6,4*+3,8%	104,9±6,4*	95,4±6,6*-9,1%
Dx+IL-10	128,8±6,8	143,2±7,3*#+107%	127,7±6,7	140,2±8,3*#+8,9%
FCC, 1/min				
Martor	285±12	309±14+8,4%	284±11	297±15+4,6%
Dx	244±12*	272±13+11,5%	243±10*	250±16*+2,9%
Dx+IL-10	265±12	279±13+5,3%	264±12	278±13+4,4%
Debit cardiac, ml/min				
Martor	36,7±1,9	45,3±2,3+23,4%	36,9±1,9	42,7±2,2+15,7%
Dx	22,7±1,3*	26,3±1,4*+15,9%	23,6±1,3*	21,5±1,5*-8%
Dx+IL-10	29,1±1,5*#	39,6±1,5*#+33,8%	28,7±1,6*#	34,9±1,8*#+14,6%

Notă: * - semnificativ ($p < 0,05$) vs martor; # - semnificativ ($p < 0,05$) vs Dx; ±% - devierea relativă a indicelui față de valoarea lui inițială

Tabelul 10

Valoarea fluxului coronarian și a rezervei funcționale coronariene la acțiunea acetilcolinei

Lot	Indice	Acetilcolină (M)		
		10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}
Martor, (n=9)	FC, ml/min	14,9±0,9	16,5±0,9	17,3±1,0
	RFC, %	11,19±0,8	23,13±1,58	29,1±1,82
Dx, (n=9)	FC, ml/min	13,2±0,8	14,2±0,8	14,8±0,9*
	RFC, %	3,94±0,14*	11,81±0,9*	16,54±1,34*
Dx+ IL-10 (n=9)	FC, ml/min	14,8±0,8	15,9±0,9	17,1±1,2
	RFC, %	9,11±0,8*#	19,67±1,2*#	21,88±1,6*#

Notă: * - semnificativ ($p < 0,05$) vs martor; # - semnificativ ($p < 0,05$) vs Dx

Analogic evoluției IC determinată de IME cardiotoxicitatea Dx s-a manifestat prin răspuns inotrop negativ al cordului la acțiunea ET-1, deși la stimularea simpatică prin NE răspunsul inotrop a fost pozitiv (Tabelul 9).

IL-10 a condus la apariția efectului inotrop pozitiv la acțiunea ET-1, dată fiind elevarea PSVS cu 8,9%, fapt ce a determinat și creșterea debitului cardiac în vârful stimulării cu 14,6%. Remarcabil, că IL-10 a amplificat și efectul inotrop inerent acțiunii NE, incrementul PSVS fiind în vârful stimulării simpatică a cordului aproape de 3 ori mai mare.

Beneficiul IL-10 exercitat asupra perfuziei coronariene s-a impus prin creșterea semnificativă a rezervei funcționale coronariene (RFC) la acțiunea Ach (Tabelul 10).

La acțiunea Ach în concentrația maximă (10^{-5} M) RFC a crescut cu 33%, iar valoarea absolută a FC a demonstrat un decalaj de 15,5% comparativ cu indicele din lotul IC fără tratament. Totuși, RFC rămâne semnificativ subiacent valorii martor cu 24,8% la această concentrație a Ach.

Discuții

În acest studiu fundamental în premieră a fost evaluat efectul IL-10 asupra performanțelor funcționale ale cordului în 2 paterne de IC reproducătoare la șobolani prin IME izoproterenolic sau impactul cardiotoxic al Dx. Estimarea eficienței tratamentului antiinflamator s-a realizat utilizând modelul de perfuzie a cordului izolat în condiții de efort hemodinamic prin modificarea presiunii de umplere a VS sau a presiunii în estuarul aortei, de acțiune a ischemiei și reperfuziei, precum și de stimulare cu Ach, ET-1 și NE.

Remarcabil, că deși mecanismele de afectarea a miocardului sunt distincte, evoluția IC în plan fiziopatologic a excelat în ambele modele prin particularități similare, cum ar fi:

- afectarea reglării homeometrice a cordului în efort cu rezistență determinată de limitarea creșterii vitezei contracției izovolumice;

- afectarea reglării heterometrice a cordului în efort cu volum determinată de limitarea creșterii vitezei relaxării izovolumice;

- diminuarea rezistenței miocardului la acțiunea ischemiei-reperfuziei;

- efectul inotrop negativ al cordului la acțiunea ET-1;

- periclitarea fenomenului coronarian Gregg dependent de endoteliu, manifestată prin reducerea RFC la acțiunea Ach.

Semnificația fiziopatologică a acestor mecanisme constă în faptul că exercițiul lor cumulativ reprezintă o pârgie de agravare a IC în diferite suprasolicitări dispensabil de caracterul remodelării miocardului.

Administrarea i/p zilnică a IL-10 după reproducerea IC în ambele modele de injurie a miocardului pe o perioadă de 7 zile în doza de priză de 50 mkg/kg a ameliorat concludent adaptarea cordului izolat la eforturile impuse, fapt ce evidențiază inflamația drept un mecanism comun de susținere a IC. Cele mai importante dovezi ale beneficiului IL-10 decelate sunt: (i) apariția efectului inotrop pozitiv la acțiunea ET-1, (ii) majorarea valorii indicilor fazelor izovolumice a cordului (ie, $+dP/dT_{max}$ și $-dP/dT_{max}$), precum și (iii) creșterea rezistenței miocardului la impactul ischemie-reperfuzie pe fondalul potențării coronarodilatării parasimpatice.

Exegeza mecanismelor acțiunii detrimentale a inflamației asupra funcției cardiace în contextul declanșării și evoluției IC înaintea plauzibilității mai multor aranjamente.

1. Atenuarea factorului principal al inflamației, $TNF\alpha$, care posedă efect cardiodepresiv, stimulează creșterea MEC, activează stresul oxidativ și induce apoptoza cardiomiocitelor. IL-10 reduce expresia $TNF\alpha$ nu numai prin mecanismul de inhibiție a NF-kappaB, dar și datorită creșterii nivelului receptorului solubil al $TNF\alpha$ (16). În studiile noastre anterioare s-a demonstrat că la pacienții cu STEMI niveluri circulante elevate ale acestei citokine sunt atestate pe perioada remodelării miocardului, iar inhibiția $TNF\alpha$ prin administrarea anticorpului monoclonal specific a ameliorat în plan funcțional cardiotoxicitatea Dx (17,18). Inhibiția acțiunii $TNF\alpha$ s-a decelat de asemenea ca o precondiționare benefică de creștere a toleranței miocardului alterat în impactul diabetogen la acțiunea sindromului ischemie-reperfuzie (19). Miocardul alterat prin diferite acțiuni cardiotoxice exprimă $TNF\alpha$ în proporție directă cu severitatea injuriei.

2. Ameliorarea remodelării matricei extracelulare cauzată de inhibiția MMP-9 prin mecanismul de activare a factorului citozolic de transcripție, STAT3, fenomen în deosebi important în remodelarea miocardului după infarct (20). Mai mult, IL-10 influențează procesul de repolarizare a macrofagelor, determinând creșterea populației de macrofage antiinflamatoare, M2.

3. Atenuarea activării NF-kappaB sub acțiunea factorilor neuroendocrini, nivelul cărora elevează cor relativ severității IC, fapt ce rezultă în expresia limitată

a genelor proinflamatoare, precum și a genelor ce controlează hipertrofia și fibroza miocardului, inclusiv la acțiunea Ang II și a izoproterenolului (21). K. Verma et al (2012) au demonstrat la această noimă că acțiunea IL-10 ameliorează remodelarea miocardului în modelul murin de IC indusă prin efort cu rezistență (22).

4. IL-10 crește perfuzia miocardului grație stimulării expresiei NOSe și prevenirii neutralizării premature a NO în reacția acestuia cu anionul superoxid, ce rezultă în formarea peroxinitritului (ONOO⁻), un radical liber de azot cardiotoxic. Totodată, beneficiul IL-10 asupra endoteliului vascular este și rezultatul limitării inflamației intimei, precum și stimulării procesului de reendotelizare sub acțiunea celulelor progenitoare endoteliale derivate de măduva oaselor (23).

5. IL-10 ameliorează consecințele epizoadelor de ischemie a miocardului, cum ar fi fenomenele „low-reflow” și „no-reflow”, care influențează în mod direct calitatea miocardului siderat și hibernat. Acest efect este un mecanism de ameliorare a evoluției post-infarct a cordului, demonstrat și de alți cercetători care au constatat similar datelor noastre beneficiul IL-10 manifestat prin creșterea valorii $+dP/dT_{max}$ și reducerea PTDVS consecventă ameliorării relaxării diastolice (25).

Așadar, cercetarea realizată aduce la apel o conotație valoroasă la problema conexiunii inflamației și IC, care se proiectează pe dovezi experimentale infailibile privind posibilitatea ameliorării IC prin tratamentul antiinflamator cu IL-10.

Concluzii

1. Atenuarea inflamației prin intermediul IL-10 a ameliorat la cote similare capacitatea cordului izolat de adaptare la efort hemodinamic și neuroendocrin în 2 modele experimentale distincte de insuficiență cardiacă, fapt ce indică că inflamația este un factor patogenetic concludent de declanșare și un suport de susținere a IC indiferent de originea injuriei miocardului.

2. Beneficiile funcționale principale ale IL-10 se impun prin creșterea semnificativă cu până la 19% a vitezei contracției și relaxării izovolumice a cordului, apariția efectului inotrop pozitiv la acțiunea ET-1, precum și augmentarea duranței miocardului la acțiunea ischemiei și reperfuziei pe fondalul majorării coronarodilatării iminente acțiunii Ach.

Bibliografie

1. Adamo L., Rocha-Resende C., Prabhu S. D., Mann D. L. *Reappraising the role of inflammation in heart failure*. Nat. Rev. Cardiol., 2020; 17:269–285. doi:10.1038/s41569-019-0315-x.

2. Bacmeister L., Schwarzl M., Warnke S., et al. *Inflammation and fibrosis in murine models of heart failure*. Basic Res. Cardiol., 2019; 114(3), 19. doi:10.1007/s00395-019-0722-5.

3. Anzai T. *Inflammatory Mechanisms of Cardiovascular Remodeling*. *Circ J*, 2018; 82(3):629-635. doi: 10.1253/circj.CJ-18-0063.
4. Thackeray JT., Hupe HC., Wang Y. et al. *Myocardial Inflammation Predicts Remodeling and Neuroinflammation After Myocardial Infarction*. *Journal of Am. Coll. of Cardiology*, 2018;17 71(3): 263-275.
5. Schirone L., Forte M., Palmerio S. et al. *A Review of the Molecular Mechanisms Underlying the Development and Progression of Cardiac Remodeling*. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017; <https://doi.org/10.1155/2017/3920195>.
6. Glasenapp A., Derlin K., Wang Y. et al. *Multimodality Imaging of Inflammation and Ventricular Remodeling in Pressure-Overload Heart Failure*. *Journal of Nuclear Medicine*, 2020; 61(4):590-596. DOI: <https://doi.org/10.2967/jnumed.119.232488>.
7. Hedrich CM., Bream JH. *Cell type-specific regulation of IL-10 expression in inflammation and disease*. *Immunol Res*, 2010; 47(1-3):185-206. doi: [10.1007/s12026-009-8150-5](https://doi.org/10.1007/s12026-009-8150-5).
8. Minshawi F., Lanvermann S., McKenzie E. et al. *The Generation of an Engineered Interleukin-10 Protein With Improved Stability and Biological Function*. *Front. Immunol.* 2020; 11:1794. doi: 10.3389/fimmu.01794.
9. Dhingra S., Sharma A., Arora J. et al. *IL-10 attenuates TNF α -induced NF- κ B pathway activation and cardiomyocyte apoptosis*. *Cardiovasc. Res.*, 2009; 82(1), 59–66. doi:10.1093/cvr/cvp040.
10. Stafford N., Assrafally F., Prehar S. et al. *Signaling via the Interleukin-10 Receptor Attenuates Cardiac Hypertrophy in Mice During Pressure Overload, but not Isoproterenol Infusion*. *Front. Pharmacol.* 2020; 11:559220. doi: 10.3389/fphar.559220.
11. Saraiva M., Viera P., Garra A. *Cytokines focus biology and therapeutic potential of IL-10*. *J.Exp. Med.*, 2019; 217(1) <https://doi.org/10.1084/jem.418111>.
12. McInnes I.B., Illei G.G., Danning C.H. et al. *IL-10 improves skin disease and modulates endothelial activation and leukocyte effector function in patients with psoriatic arthritis*. *J. Immunol.*, 2001; 167:4075–4082.
13. Schreiber S., Fedorak RN., Nielsen OH. et al. *Safety and efficacy of recombinant human interleukin 10 in chronic active Crohn disease*. *Gastroenterology*, 2000; 119:1461-1472. <https://doi.org/10.1053/gast.2000.20196>.
14. Langendorff O. *Untersuchungen am unverlebenden augetierherzev*. *Pflugers Arch.* 1985; vol. 61, p. 291-320.
15. Neely J., Rovetto M. *Techniques for perfusing isolated rat heart*. *Methods Enzymol.* 1975; vol. 39, p. 43-60.
16. Fioranelli M., Grazia RM. *Twenty-five years of studies and trials for the therapeutic application of IL-10 immunomodulating properties. From high doses administration to low dose medicine new paradigm*. *J Integr Cardiol*, 2014;1(1); 2-6. Doi: 10.15761/JIC.1000102
17. Иванов М. В., Попович М. И., Чебану Л. М., Иванов В. М., Попович И. М., Кобец В. А. *Предикторная значимость маркеров воспаления в отношении паттерна постинфарктного ремоделирования миокарда. Кардиоваскулярная терапия и профилактика*, 2018; 17(5), 17-24. SCOPUS IF 1.145.
18. Ivanov M., Tacu L., Todiraş M., Cobeţ V. *Atenuarea inflamaţiei reduce cardiotoxicitatea doxorubicinii*. *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe medicale*. 2019; vol.1 (61), 208-212.
19. Cobet V., Ivanov, M., Tacu, L., et al. *The TNF-alpha and ET-1 inhibition mitigates ischemia-reperfusion impact in diabetes induced heart failure*. In: *European Journal of Heart Failure*. 2015; vol.17 (Suppl. S1), p.238 (IF 5,135).
20. Krishnamurthy P., Rajasingh J., Lambers E., Qin G., Losordo DW., Kishore R. *IL-10 inhibits inflammation and attenuates left ventricular remodeling after myocardial infarction via activation of STAT3 and suppression of HuR*. *Circ Res*. 2009; 104: e9–18.
21. Freund C., Schmidt-Ullrich R., Baurand A., Dunger S., Schneider W., Loser P., El-Jamali A., Dietz R., Scheide-reit C., Bergmann MW. *Requirement of nuclear factor-kappaB in angiotensin II- and isoproterenol-induced cardiac hypertrophy in vivo*. *Circulation*. 2005; 111:2319–2325.
22. Verma SK., Krishnamurthy P., Barefield D et al. *Interleukin-10 Treatment Attenuates Pressure Overload–Induced Hypertrophic Remodeling and Improves Heart Function via Signal Transducers and Activators of Transcription 3–Dependent Inhibition of Nuclear Factor- κ B*. *Circulation*, 2012;126:418-429. <https://doi.org/10.1161/CirculationAHA.112.112185>.
23. Wang Y., Chen Q., Zhang Z. et al. *Interleukin-10 overexpression improves the function of endothelial progenitor cells stimulated with TNF- α through the activation of the STAT3 signaling pathway*. *Int J Mol Med*, 2014; 35(2):471-477.
24. Xu S., Zhang J., Liu J et al. *The role of interleukin-10 family members in cardiovascular diseases*. *Int Immunopharmacology*, 2021; 94:107475. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107475>.
25. Stumpf C., Seybold K., Petzi S. et al. *Interleukin-10 improves left ventricular function in rats with heart failure subsequent to myocardial infarction*. *Eur J Heart Fail*, 2008;10:733–739.