

- association yields new sequence variants at seven loci that associate with measures of obesity. *Nat. Genet.* 2009; 41(1): 18–24.
59. Tomlinson I., Webb E., Carvajal-Carmona L. A genome-wide association scan of tag SNPs identifies a susceptibility variant for colorectal cancer at 8q24.21. *Nat. Genet.* 2007; 39(8): 984–8.
60. van de Vijver M.J., He Y.D., van't Veer L.J. et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 2002; 347(25): 1999–2009.
61. Vihinen P.P., Pyrhonen S.O., Kahari V.M. New prognostic factors and developing therapy of cutaneous melanoma. *Ann. Med.* 2003; 35(2): 66–78.
62. Wang I.M., Stepaniants S., Boie Y. et al. Gene expression profiling in patients with chronic obstructive pulmonary disease and lung cancer. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2008; 177(4): 402–11.
63. Wang Z., Gerstein M., Snyder M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nat. Rev. Genet.* 2009; 10(1): 57–63.
64. Yang S., Ghanny S., Wang W. Using DNA microarray to study human cytomegalovirus gene expression. *J. Virol. Methods.* 2006; 121(12): 202–8.
65. Zembutsu H., Ohnishi Y., Tsunoda T. et al. Genome-wide cDNA microarray screening to correlate gene expression profiles with sensitivity of 85 human cancer xenografts to anticancer drugs. *Cancer Res.* 2002; 62(2): 518–27.
66. Zimmermann K., Eiter Th., Scheiflinger F. Consecutive analysis of bacterial PCR samples on a single electronic microarray. *J. Microbiol. Methods.* 2003; 55(2): 471–4.

Поступила 19.02.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616.13-004.6-06:616.11-07:616.152.172.6-031

Никитина В.В.¹, Захарова Н.Б.¹, Гладилин Г.П.¹, Коршунов Г.В.²

ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИЙ ОКСИДА АЗОТА И АКТИВНОСТИ ОКСИСТАТА НА РАЗВИТИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ

¹ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, ²ФБГУ «Саратовский НИИ травматологии и ортопедии» Минздрава России, Саратов

Проведен анализ результатов исследования влияния концентраций оксида азота (NO) и активности оксистата на изменения сосудистой стенки у пациентов с разными стадиями атеросклероза сосудов и выявлены приоритетные показатели по установленному маркеру.

Ключевые слова: сахарный диабет 1-го и 2-го типа; хроническая ишемия головного мозга I–II степени; облитерирующий атеросклероз сосудов нижних конечностей I–III степени; оксид азота; оксистат; фактор роста эндотелия сосудов; моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1; эндотелин-1.

V.V. Nikitina¹, N.B. Zakharova¹, G.P. Gladilin¹, G.V. Korshunov²

THE IMPACT OF CONCENTRATIONS OF NITRIC OXIDE AND ACTIVITY OF OXISTAT ON DEVELOPMENT OF INFLAMMATORY ALTERATIONS IN VASCULAR WALL

¹The V.I. Razumovskiy Saratov state medical university of Minzdrav of Russia, Saratov, Russia; ²The Saratov research institute of traumatology and orthopedics of Minzdrav of Russia, Saratov, Russia

The analysis was applied to results of study of impact of concentrations of nitric oxide and activity of oxistat on development of alterations in vascular wall in patients with different stages of atherosclerosis of vessels. The priority indicators according established marker are revealed.

Key words: diabetes mellitus type I and II, chronic cerebral ischemia degree I–II, arteriosclerosis obliterans of lower extremities degree I–III, nitric oxide, oxistat, growth factor of endothelium of vessels, monocytic chemo-attractant protein-1, endothelin-1

В диагностике ранних стадий атеросклероза следует сосредоточиться на показателях ремоделирования сосудистой стенки [1]. Оксид азота (NO) играет существенную роль в ингибировании ремоделирования сосудов, регуляции сосудистого тонуса, активности воспалительного процесса, подавлении адгезии тромбоцитов к эндотелию, агрегации и формировании тромбов, а также адгезии лейкоцитов к стенке сосудов [2]. Патофизиологическая роль NO при сердечно-сосудистой патологии остается недостаточно изученной, так как не известно, как меняется уровень NO и

других маркеров воспалительно-фиброзной реакции по мере развития атеросклероза сосудов – от длительной ранней бессимптомной стадии до осложнений и от молодого возраста до пожилого.

Цель исследования – изучение активности NO в сыворотке крови и его влияние на состояние маркеров воспалительно-фиброзной реакции в развитии стадий атеросклероза сосудов при разных вариантах сердечно-сосудистой патологии в исследуемых возрастных группах.

Материалы и методы. Обследованы 347 человек, из которых 285 составили группы пациентов, находившихся на обследовании и лечении по поводу сахарного диабета (СД) 1-го и 2-го типа, осложненного диабетической ретинопатией (ДР), хронической ишемии головного мозга (ХИГМ) I–II степени, осложненной артериальной гипертензией (АГ), облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей (ОАСНК) I–III степени с нарушением кровообращения

Для корреспонденции:

Коршунов Геннадий Васильевич, д-р мед. наук, проф.

E-mail: GKors@mail.ru

Никитина Виктория Викторовна (Nikitina Viktoria Viktorovna), vnik72@mail.ru

(НК). Среди них было 122 (42,8%) мужчины и 163 (57,2%) женщины от 17 до 75 лет (средний возраст пациентов – 56,2 ± 18,51 года). Диагнозы всем больным были поставлены ранее; впервые выявленных не было. Группу сравнения составили 62 практически здоровых человека, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными: 33 мужчины и 29 женщин от 17 лет до 65 лет (средний возраст – 30,9 ± 12,72 года). Были выделены возрастные группы < 20, 21–40, 41–60 и > 60 лет. Критериями включения в группу сравнения служили возраст от 17 до 65 лет, нормальные значения артериального давления, отсутствие жалоб на состояние здоровья, добровольное согласие на участие в исследованиях. В эту группу также вошли лица старше 60 лет, занимающиеся фитнесом и в группах здоровья. Критерии исключения: возраст > 65 лет, почечная и печеночная недостаточность, эндокринные нарушения, инфекционные заболевания, энцефалопатии несосудистого генеза, онкологические процессы, экзо- или эндогенная интоксикация, неврологические проявления остеохондроза позвоночника, церебральные жалобы, сосудистые заболевания в анамнезе, признаки хронической церебральной ишемии, СД 1-го и 2-го типа и его осложнения, нарушение толерантности к глюкозе, алкоголизм. Всем обследованным группам проводили общеклинические и биохимические исследования согласно стандартам обследования и специальные лабораторные исследования, которые включали определение показателей NO в сыворотке крови методом количественной оценки в культуральной среде, сыворотке, плазме и моче (набор “Total NO/Nitrite/Nitrate Assay” фирмы “R&D”); определение показателей оксидативного стресса (оксидат) в сыворотке крови колориметрическим методом количественной оценки содержания перекисей в плазме, сыворотке и других биологических жидкостях (“Biomedica OxyStat”); определение показателей воспаления (ИЛ-6 и ИЛ-8, моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 – MCP-1, эндотелина-1) в сыворотке крови; ИЛ-6 и ИЛ-8 определяли с помощью наборов для их количественной оценки в биологических жидкостях человека и культуральных средах фирмы “Вектор Бест”, Новосибирск. Эндотелин-1 определяли иммуноферментным методом с использованием наборов фирмы “Biosource, Europe S.A.”. Оценивали показатели ангиогенеза (фактор роста эндотелия сосудов – ФРЭС) в сыворотке крови; MCP-1 и ФРЭС исследовали в сыворотке крови с использованием наборов фирмы “Вектор-Бест”, Новосибирск.

Матричная диаграмма рассеяния позволяет определить вид и тесноту связи между парами соответствующих переменных в группах обследуемых лиц с установленным маркером по эндотелину-1. Для математического и статистического анализа использовали пакеты компьютерных программ Statistica 6.0 (“StatSoft Inc.”), SPSS 13.0 for Windows (“SPSS Inc.”), Microsoft Office Excel 2007.

Результаты и обсуждение. В группе сравнения у лиц моложе 20 лет выявлена связь концентраций NO с ИЛ-6 и оксидатом, 21–40 лет – зависимость NO только от оксидата, 41–60 лет – связь концентрации NO с ростом концентраций ФРЭС, ИЛ-8 и незначительным ростом MCP-1, у лиц старше 60 лет концентрация NO значительно влияла на рост ФРЭС и MCP-1 в сыворотке крови. Такие приоритетные показатели были выявлены в группе сравнения при концентрациях NO от 147,0 до 477,4 мкмоль/л сыворотки крови, что незначительно отразилось на росте концентрации эндотелина-1 (рис. 1, см. вклейку).

В результате анализа матричной диаграммы рассеяния среди лиц с СД 1-го и 2-го типа, осложненным ДР, были выявлены 3 приоритетных показателя – содержание оксидата, ФРЭС и MCP-1 при сниженной концентрации NO в сыворотке крови (6,9–16,1 мкмоль/л) во всех обследованных группах. Изменилась и концентрация установленного маркера – эндотелина-1. В группе лиц моложе 20 лет его концентрация увеличилась в среднем в 8,5 раза, а в группе старше 60 лет – в 7 раз по отношению к группе сравнения

(рис. 2, см. вклейку). Для ХИГМ I–II степени, осложненной АГ, матричная диаграмма рассеяния имела те же приоритетные показатели, как и в предыдущем случае, только в отношении ХИГМ II степени в возрастной группе 21–40 лет. В этой же возрастной группе, но для ХИГМ I степени выявлен 1 приоритетный показатель – концентрация оксидата. В группах 41–60 и > 60 лет также обнаружена стойкая зависимость между NO и оксидатом. Между NO и ФРЭС, MCP-1, ИЛ-6, ИЛ-8 отмечена умеренная зависимость. Скорее всего именно II степень ХИГМ у лиц в возрасте 21–40 лет является переломным моментом в нарастании тяжести заболевания и развитии осложнений. Это подтверждается незначительным подъемом уровня эндотелина-1, который в последующем нарастает, но уже при слабом ответе ФРЭС и MCP-1 (рис. 3, см. вклейку).

Разброс точек на матричной диаграмме рассеяния в группе больных ОАСНК I–III степени показал зависимость между NO и ФРЭС, MCP-1, ИЛ-6, оксидатом с установленным маркером по эндотелину-1 во всех группах. Достаточно интересно в данной группе пациентов проявил себя эндотелин-1. Его уровень начинал возрастать только при ОАСНК II–III степени у лиц старше 60 лет (рис. 4, см. вклейку).

Нарастание продукции свободных радикалов и усиление окислительного стресса ведут к инактивации NO и нарушению эндотелийзависимой вазодилатации [3, 4] сосудистой стенки при всех рассмотренных в данном случае нарушениях сердечно-сосудистой системы. Превышение уровня оксидата во всех обследованных группах приводит к изменению спектра выделяемых эндотелием веществ с усилением синтеза одних и торможением продукции других. Окислительный стресс становится причиной инактивации нитритов и нитратов и, следовательно, вызывает снижение концентрации NO в тканях организма, препятствуя вазодилатации. Недостаточная продукция эндотелием NO сопровождается повышением тонуса и спазмом сосудов, повышенной проницаемостью сосудов для белков и липопротеинов, ускоренной пролиферацией гладкомышечных клеток, беспрепятственной экспрессией адгезивных молекул на поверхности эндотелиальных клеток, повышенным тромбообразованием.

Самый высокий уровень эндотелина-1 выявлен при СД 1-го и 2-го типа. [5–7]. В данной группе пациентов даже у лиц моложе 20 лет выявлены приоритетные связи между оксидатом и ФРЭС, MCP-1, но не обнаружена связь между оксидатом и NO. По-видимому, процесс деструктивно-дистрофических изменений в сосудистой стенке у этой категории больных начинается остро в очень раннем возрасте и протекает длительно. Все это способствует росту уровня эндотелина-1 в сыворотке крови.

ХИГМ на начальном этапе имеет 1 приоритетный показатель – уровень оксидата. Активация перекисного окисления липидов постепенно «подготавливает» сосудистую стенку к изменениям. Ангиогенез начинает активно проявляться только при ХИГМ II степени, и в случае неадекватного или несвоевременного лечения деструктивно-воспалительный процесс в сосудистой стенке становится необратимым, что и подтверждается ростом установленного маркера (эндотелин-1).

К сожалению, пациентов с ОАСНК в возрасте 20–40 лет выявить не удастся (отсутствуют жалобы, нет еще яркой клиники заболевания, пациенты этой возрастной группы редко обращаются к специалистам и т. д.). Поэтому сложно судить о первоначальной связи NO и оксидата. Эндотелин-1 начинает проявлять себя только при ОАСНК II–III степени после 60 лет. У пациентов с ОАСНК I степени одновременно с нарастанием уровня оксидата и провоспалительных цитокинов (ИЛ-6) начинают активироваться ростовые факторы (ФРЭС). По-видимому, пока воспалительный процесс в сосудистой стенке преобладает над ангиогенезом, функциональная активность эндотелия меняется незначительно, что подтверждается динамикой концентрации эндотелина-1.

Выводы. 1. На начальном этапе формирования атеросклеротического поражения сосудистого русла приоритетным показателем является уровень оксидата, который инактивирует NO.

2. В зависимости от степени снижения концентрации NO и роста оксидата на следующих этапах формирования атеросклеротического поражения сосудистого русла отмечен приоритет и рост двух показателей – ФРЭС и MCP-1. Менее значимыми оказались ИЛ-6, ИЛ-8.

3. Нарастание концентрации эндотелина-1 в сыворотке крови начинается только при наличии деструктивно-дистрофических изменений сосудистой стенки, что проявляется ростом концентраций ФРЭС и MCP-1 в сыворотке крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. De Rosa S., Cirillo P., Paglia A., Sasso L., Di Palma V., Chiariello M. Reactive oxygen species and antioxidants in the pathophysiology of cardiovascular disease: does the actual knowledge justify a clinical approach. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2010; 8(2).
2. Shah A., Passacquale G., Gkaliagkousi E., Ritter J., Ferro A. Биосинтез оксида азота в тромбоцитах при сердечной недостаточности: роль окислительного стресса. *Cardiology. Research.* 2011; 91: 625–31.
3. Pena J.M., MacFadyen J., Glynn R.J. et al. High-sensitivity C-reactive protein, statin therapy, and risks of atrial fibrillation: an exploratory analysis of the JUPITER trial. *Eur. Heart J.* 2012; 33(4): 531–7.
4. Griendling K.K., Sorescu D., Ushio-Fukai M. NAD(p)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ. Res.* 2000; 86: 494–501.
5. Puddu G.M., Cravero E., Arnone G. et al. Molecular aspects of atherogenesis: new in-sights and unsolved questions. *J. Biomed. Sci.* 2005; 18: 373–88.

6. Shah P.K. Cellular and molecular mechanisms of plaque rupture. In: Khachigian L.M., ed. High-risk atherosclerotic plaques: mechanisms, imaging, models, and therapy. New York: CRC Press; 2005: 1–19.
7. Wang X., Connolly T.M. Biomarkers of vulnerable atheromatous plaques: translational medicine perspectives. *Adv. Clin.Chem.* 2010; 50: 1–22.

REFERENCES

1. De Rosa S., Cirillo P., Paglia A., Sasso L., Di Palma V., Chiariello M. Reactive oxygen species and antioxidants in the pathophysiology of cardiovascular disease: does the actual knowledge justify a clinical approach. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2010; 8(2).
2. Shah A., Passacquale G., Gkaliagkousi E., Ritter J., Ferro A. Биосинтез оксида азота в тромбоцитах при сердечной недостаточности: роль окислительного стресса. *Cardiology. Research.* 2011; 91: 625–31.
3. Pena J.M., MacFadyen J., Glynn R.J. et al. High-sensitivity C-reactive protein, statin therapy, and risks of atrial fibrillation: an exploratory analysis of the JUPITER trial. *Eur. Heart J.* 2012; 33(4): 531–7.
4. Griendling K.K., Sorescu D., Ushio-Fukai M. NAD(p)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ. Res.* 2000; 86: 494–501.
5. Puddu G.M., Cravero E., Arnone G. et al. Molecular aspects of atherogenesis: new in-sights and unsolved questions. *J. Biomed. Sci.* 2005; 18: 373–88.
6. Shah P.K. Cellular and molecular mechanisms of plaque rupture. In: Khachigian L.M., ed. High-risk atherosclerotic plaques: mechanisms, imaging, models, and therapy. New York: CRC Press; 2005: 1–19.
7. Wang X., Connolly T.M. Biomarkers of vulnerable atheromatous plaques: translational medicine perspectives. *Adv. Clin.Chem.* 2010; 50: 1–22.

Поступила 10.10.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616.13-004.6-07:616.155.34-008.1

Мишланов В.Ю., Суханов С.Г., Сандаков П.Я., Ронзин А.В., Владимирский В.Е., Сыромятникова Л.И., Половинкина Т.А., Середенко Н.Н., Харузина О.В.

ДЕФЕНЗИНЫ-АЛЬФА, ПЕПТИДЫ И БЕЛКИ, СИНТЕЗИРУЕМЫЕ И ВЫСВОБОЖДАЕМЫЕ НЕЙТРОФИЛАМИ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ РАЗНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России, 614990, Пермь

В последние годы появились научные публикации о нарушении содержания дефензинов-альфа в нейтрофилах у больных атеросклерозом. Растет интерес как к различным нарушениям белоксинтезирующей функции нейтрофилов, так и к биологическим эффектам, вызываемым дефензинами, другими пептидами и белками, принимающими участие в противомикробной защите организма человека. С целью изучения содержания дефензинов-альфа (1–3), синтеза и высвобождения других белков и пептидов нейтрофилами определяли концентрации дефензинов-альфа, липопротеида (а) (ЛП (а)), С-реактивного белка (СРБ), предшественника мозгового натрийуретического пептида (proBNP), VII фактора свертывания крови и фактора Виллебранда (ФВ) в супернатантах лейкоцитарных культур у больных стенокардией напряжения и атеросклерозом нижних конечностей. Проведена оценка нагрузочного теста *in vitro* с фактором некроза опухоли α (ФНОα). Одновременно изучали сывороточные концентрации цитокинов и проатерогенных белков. Установлено, что у больных с ИБС наблюдается нарушение белоксинтезирующей функции нейтрофилов, проявляющееся в снижении синтеза дефензинов-альфа, увеличении синтеза ЛП (а), proBNP, СРБ и ФВ. Установлена патогенетическая роль ФНОα. Выявлено увеличение концентрации ИЛ-8 в сыворотке крови.

Ключевые слова: дефензины; проатерогенные белки и пептиды; нейтрофилы; атеросклероз; цитокины; регуляция.

Для корреспонденции:

Мишланов Виталий Юрьевич, д-р мед. наук, проф., зав. каф. пропедевтики внутренних болезней; e-mail: permmmed@hotmail.com

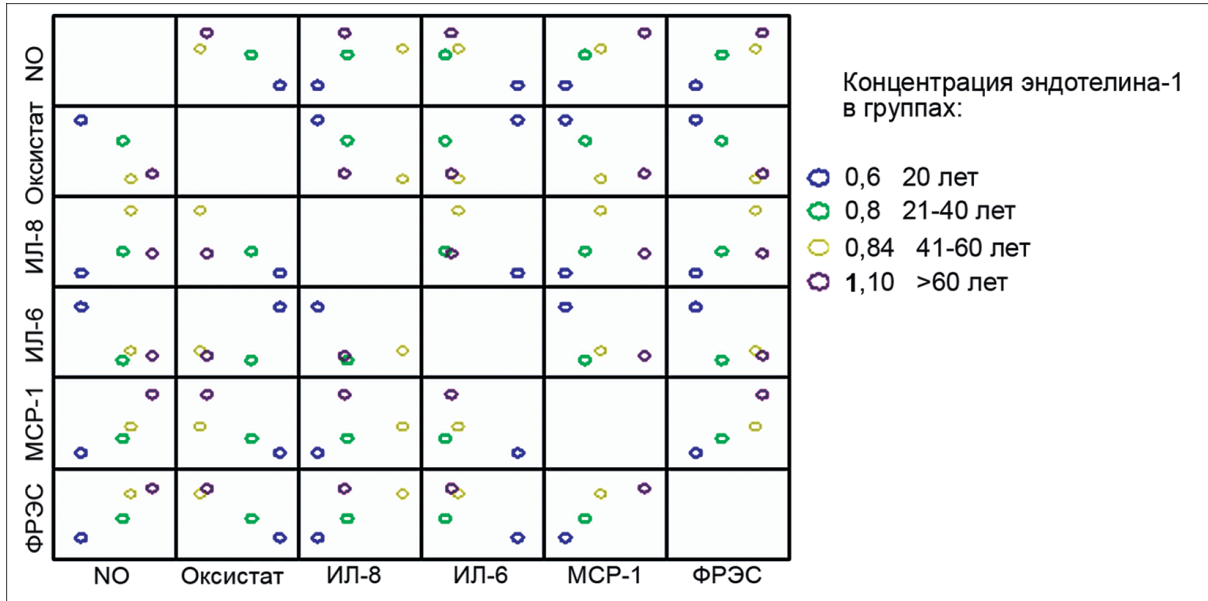


Рис. 1. Матричная диаграмма рассеяния в группе сравнения.
Здесь и на рис. 2–4: концентрацию эндотелина-1 измеряли в фмоль/мл.

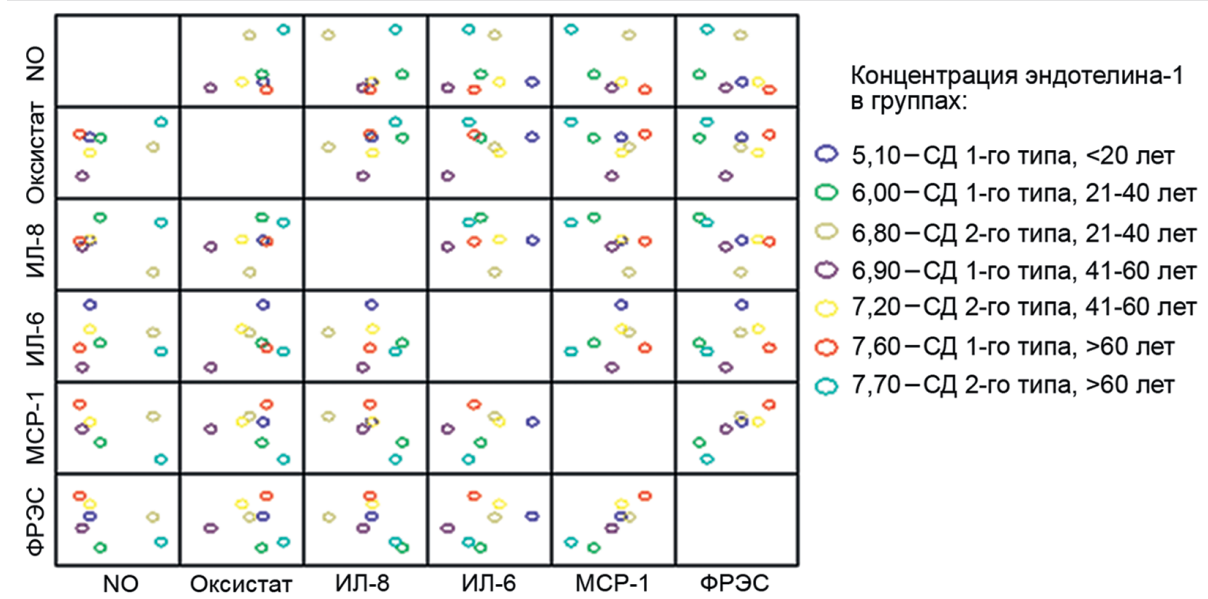


Рис. 2. Матричная диаграмма рассеяния в группе лиц с СД 1-го и 2-го типа, осложненным ДР.

К ст. Никитиной В.В. и соавт.

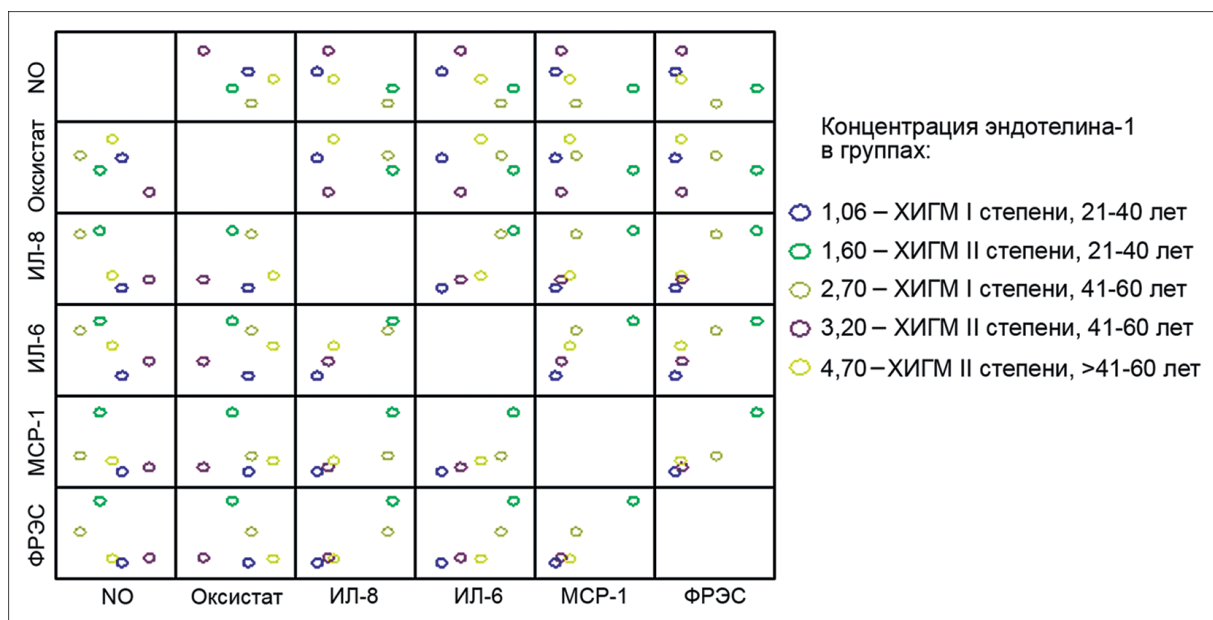


Рис. 3. Матричная диаграмма рассеяния в группе лиц с ХИГМ I–II степени, осложненной АГ.

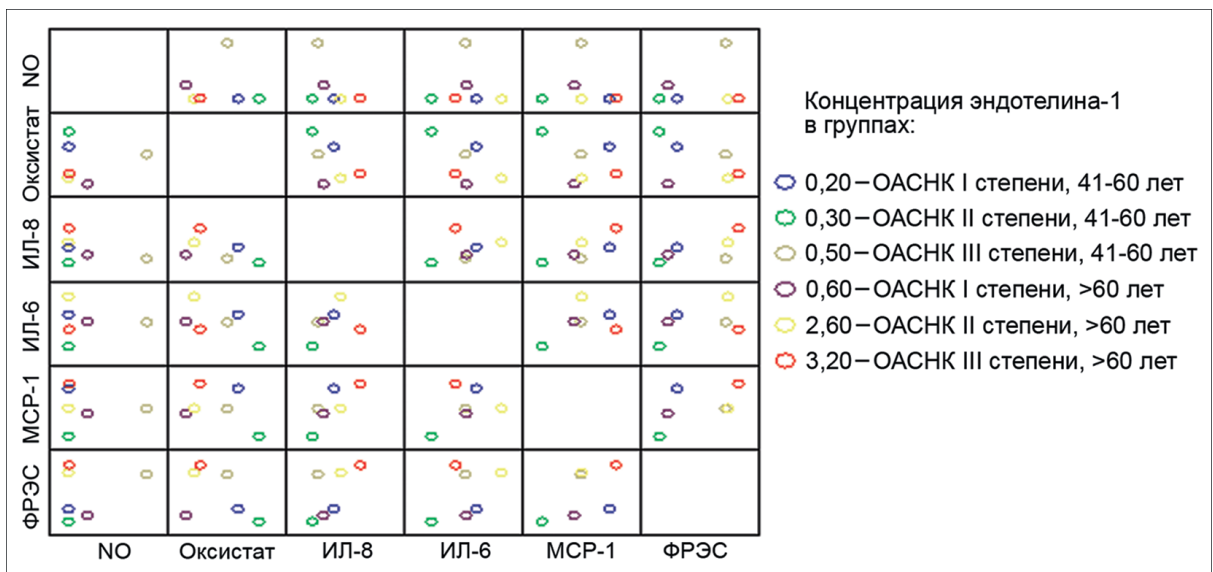


Рис. 4. Матричная диаграмма рассеяния в группе лиц с ОАШК I–III степени.