

УДК 577.1:616.12-008.331.1

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТОНИИ

© 2011 г. Е.А. Чернозубова, З.И. Микашинович

Ростовский государственный медицинский университет,
пер. Нахичеванский, 29, г. Ростов н/Д, 344022,
okt@rostgmu.ru

Rostov State Medical University,
Nakhichevanskiy Lane, 29, Rostov-on-Don, 344022,
okt@rostgmu.ru

Проведено исследование некоторых показателей протеолитических систем крови и их роли в развитии эндотелиальной дисфункции при артериальной гипертензии. Делается вывод о том, что в патогенезе артериальной гипертензии существенную роль играет нарушение динамического равновесия между протеиназами и их ингибиторами калликреин-кининовой и ренин-ангиотензиновой систем крови.

Ключевые слова: калликреин-кининовая система, ренин-ангиотензиновая система, эндотелиальная дисфункция, артериальная гипертензия.

The study of some parameters of proteolytic systems of blood was conducted to determine their role in the development of endothelial dysfunction in patients with arterial hypertension. It is concluded that the failure in dynamic balance between proteinases and their inhibitors of kallikrein-kinin and rennin-angiotensin systems of blood plays an essential role in pathogenesis of arterial hypertension.

Keywords: kallikrein-kinin system, renin-angiotensin system, endothelial dysfunction, arterial hypertension.

Эндоthелиальная дисфункция (ЭД) является системной патологией, сопряженной с нарушением микроструктуры и секреторной функции эндотелиальных клеток, одной из наиболее значимых тканевых систем сосудистого русла, относится к числу ключевых звеньев патогенеза артериальной гипертензии (АГ). Барьерная функция эндотелия сосудов определяет его ведущую роль в поддержании гомеостаза путем регуляции равновесного состояния таких противоположных процессов, как вазодилатация и вазоконстрикция, ингибирование и содействие пролиферации, синтез и ингибирование факторов фибринолиза и агрегации тромбоцитов, выработка про- и противовоспалительных факторов, анти- и проокислительных веществ [1, 2]. Приводит ли нарушение таких метаболических путей, протеолитических и медиаторных каскадов к развитию дисфункции эндотелия, не ясно.

Целью нашего исследования является выяснение молекулярных механизмов развития дисфункции эндотелия при артериальной гипертензии.

Материал и методы исследования

Клиническую группу составили 38 больных АГ со средним возрастом $54,9 \pm 2,9$ лет и длительностью заболевания от 4 до 20 лет. 1-я степень АГ наблюдалась у 6 больных (15,8 %); 2-я – у 9 (23,7 %) и 3-я – у 23 больных (60,5 %). По фактору суммарного стратификационного риска подавляющее большинство больных АГ (89,5 %) имели высокую и очень высокую (10,5 %) степень риска. Контролем служили практически здоровые добровольцы ($n = 30$), сопоставимые по возрасту и полу с больными клинической группы.

«Золотым стандартом» определения состояния эндотелия является проба с реактивной гиперемией, при которой по степени изменения диаметра плечевой артерии и скорости кровотока в условиях проведения окклюзионной пробы оценивают состояние эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД) [3].

До и после окклюзионной пробы в сыворотке крови определяли основные показатели калликреин-кининовой и ренин-ангиотензиновой систем: активность калликреина (К) (КФ 3.4.21.8) и содержание прекалликреина (ПК) после отделения от других сериновых протеиназ с помощью ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-сефадексе А-50 по скорости гидролиза N-бензоил-1-аргинин этилового эфира (БАЭЭ), ингибиторную активность α_1 -протеиназного ингибитора (α_1 -ПИ) и α_2 -макроглобулина (α_2 -МГ) унифицированным энзиматическим методом, суммарную активность сериновых протеиназ по отношению к БАЭЭ [4, 5], активность киназазы II (ангиотензинпревращающего фермента, КФ 3.4.15.1) с использованием в качестве субстрата фурилакрилоилфенилаланилглицилглицина (ФАПГГ) [6]. Обработку полученных данных проводили общепринятыми методами медицинской статистики с использованием U-критерия Манна-Уитни с применением пакета прикладных программ Statistica 6.1. Статистически достоверными считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В контрольной группе результаты окклюзионной пробы показали отсутствие признаков нарушения функций эндотелия: реакция сосудов на временное ограничение кровотока выражалась в увеличении более чем на 10 % диаметра плечевой артерии относительно исходного уровня. В физиологических условиях дилатационные факторы и факторы констрикции находятся в состоянии динамического равновесия. В ответ на механическое воздействие на сосуд это равновесие нарушается в сторону увеличения дилатационных факторов, что подтверждается увеличением на 29,02 % ($p_c < 0,05$) активности калликреина при одновременном снижении на 21,43 % ($p_c < 0,05$) активности его специфического ингибитора α_2 -МГ в контрольной группе по сравнению с соответствующими показате-

лями до окклюзионной пробы. Остальные показатели ККС после окклюзионной пробы не изменялись. Активность ключевого фермента, регулирующего давление, – кининазы II (АПФ) после окклюзионной пробы снижается на 30,04 % ($p_c < 0,05$).

Таким образом, физиологическая реакция на окклюзию характеризуется увеличением активности калликреина – фермента, освобождающего из высокомолекулярного кининогена вазоактивный нонапептид брадикинин, снижением контроля над активностью этого фермента со стороны пула ингибиторов (α_2 -макроглобулина и α_1 -протеиназного ингибитора). Обращает на себя внимание и снижение после окклюзионной пробы активности ангиотензин-превращающего фермента, разрывающего брадикинин и освобождающего ангиотензин II. Физиологическое равновесие между вазоконстрикторными и вазодилаторными факторами смещается в пользу последних, поскольку после окклюзионной пробы в крови, по-видимому, увеличивается содержание брадикинина – мощного вазодилатора и снижается содержание ангиотензина II – мощного вазоконстриктора.

По результатам окклюзионной пробы нами показано, что у 63,2 % больных АГ отсутствуют признаки дисфункции эндотелия. Результаты исследования показали, что у этих больных активность калликреина на 49,0 % ($p_a < 0,05$) превышала таковую в контрольной группе, при этом содержание его профермента – прекалликреина снижалось на 33,4 % ($p_a < 0,05$). Суммарная активность трипсиноподобных протеиназ (БАЭЭ-эстеразная активность) у больных АГ без дисфункции эндотелия не отличалась от контрольных величин. Обращает на себя внимание увеличение антипротеолитического потенциала крови у больных АГ без нарушения сосудодвигательной функции эндотелия. Так, у этих больных активность α_2 -МГ и α_1 -ПИ была на 28,6 ($p_a < 0,05$) и 41,2 % ($p_a < 0,05$) соответственно выше контрольных значений. Активность АПФ у больных с АГ без эндотелиальной дисфункции на 22,5 % ($p_a < 0,05$) превышает таковую в контрольной группе. Таким образом, при артериальной гипертензии, не осложненной развитием эндотелиальной дисфункции, активация калликреина, а следовательно, и продукция брадикинина, ограничивается увеличением ингибиторной активности α_2 -МГ и α_1 -ПИ и активности АПФ.

После окклюзионной пробы у больных с АГ без ЭД активность калликреина и содержание его профермента прекалликреина в сыворотке крови увеличилась на 28,8 ($p_c < 0,05$) и 10,4 % ($p_c < 0,05$) соответственно. Обращает на себя внимание снижение и протеолитического и ингибиторного потенциала ККС крови после механического воздействия на сосуд у больных без нарушения сосудодвигательной функции эндотелия. БАЭЭ-эстеразная активность крови снизилась на 12,0 % ($p_c < 0,05$), снизилась и ингибиторная активность α_2 -МГ и α_1 -ПИ – на 50,0 ($p_c < 0,05$) и на 51,7 % ($p_c < 0,05$) по сравнению с аналогичными показателями до окклюзии. Обращает на себя внимание резкое – на 61,5 % ($p_c < 0,05$) снижение активности АПФ в ответ на окклюзию, что приводит к увеличению содержания брадикинина и снижению содержания ангиотензина II.

В ответ на действие прессорного фактора у больных с артериальной гипертензией, не осложненной нарушением функций эндотелия, выявлена активация калликреинообразования и мобилизация неактивного предшественника – прекалликреина из сосудистого эндотелия и тканевых депо, а также снижение активности АПФ и ингибиторной активности α_2 -МГ. Подобная динамика изменения этих показателей при окклюзионной пробе выявлена и в контрольной группе.

У 36,8 % больных АГ отмечено нарушение ЭЗВД во время пробы с реактивной гиперемией и уменьшение прироста диаметра плечевой артерии по сравнению с таковыми в группе контроля. Нарушение ЭЗВД у больных АГ сопровождалось увеличением активности калликреина на 63,4 % ($p_b < 0,05$) по сравнению с больными АГ без ЭД. Развитие эндотелиальной дисфункции и высокий уровень активности калликреина у этих больных компенсируется увеличением на 21,1 % ($p_b < 0,05$) содержания прекалликреина и снижением активности специфического ингибитора калликреина α_2 -макроглобулина на 27,8 ($p_b < 0,05$) по сравнению с соответствующими показателями у больных АГ без ЭД. Активность АПФ у больных АГ с нарушением ЭЗВД не отличается от таковой без признаков ЭД. Таким образом, активация калликреинообразования при развитии эндотелиальной дисфункции не ограничена повышением ингибиторного звена ККС, что приводит к истощению ее адаптивного потенциала, дефициту вазодилатирующих факторов и, как следствие, к развитию АГ.

У больных АГ, осложненной нарушением ЭЗВД, активность калликреина и содержание прекалликреина в сыворотке крови после окклюзионной пробы снизились на 41,2 ($p_c < 0,05$) и 16,4 % ($p_c < 0,05$) соответственно. Ингибиторная активность α_2 -МГ и α_1 -ПИ после окклюзии напротив увеличилась на 51,3 ($p_c < 0,05$) и 36,8 % ($p_c < 0,05$). БАЭЭ-эстеразная активность сыворотки крови после механической деформации сосуда увеличилась на 12,3 % ($p_c < 0,05$), при этом активность АПФ не изменилась.

Одновременное снижение активности калликреина, истощение его «запасов», повышение ингибиторного потенциала ККС и высокая активность АПФ ограничивают активное кининообразование в ответ на окклюзию и, как следствие, являются причиной прогрессирующего ухудшения эндотелийзависимого расслабления сосудов при АГ, осложненной развитием дисфункции эндотелия.

В норме функция эндотелия определяется балансом противоположно действующих начал: усиление-ослабление сосудистого тонуса, агрегация-деагрегация клеток крови, увеличение-уменьшение числа сосудистых клеток. В сосуде с «нормальным» эндотелием этот баланс сдвинут в сторону поддержания вазодилатации, однако при длительном воздействии повреждающих факторов (гипоксия, интоксикация, воспаление, гемодинамическая перегрузка и др.) происходит постепенное истощение и извращение компенсаторной «дилатирующей» способности эндотелия, и преимущественным ответом эндотелиальных клеток на обычные стимулы становится вазоконстрикция и пролиферация.

При АГ эндотелий выступает, с одной стороны, в качестве наиболее рано повреждаемого органа-мишени, а с другой – как орган, реализующий многие звенья патогенеза гипертонии. Дисбаланс в системе протеиназы ингибиторы ключевых протеолитических систем крови – калликреин-кининовой и ренин-ангиотензиновой играет ведущую роль в ремоделировании сосудов при АГ. Определение резервных возможностей адаптации калликреин-кининовой и ренин-ангиотензиновой систем крови при окклюзионной пробе позволяет судить о степени функционального напряжения, скрытых нарушениях и компенсаторных возможностях как всей системы, так и отдельных ее компонентов. Снижение содержания прекалликреина и высокая активность АПФ в сыворотке крови после механической деформации сосуда являются маркерами развития дисфункции эндотелия при АГ. Увеличение содержания прекалликреина в сыворотке крови после окклюзии свидетельствует о сохранении адаптивного потенциала ККС при механической деформации сосуда. Снижение же содержания прекалликреина, напротив, является предиктором нарушения баланса вазодилатационных и вазоконстрикторных факторов, продуцируемых эндотелием, в пользу последних.

Эндотелий как высокоорганизованная регуляторная система, контролирующая и обеспечивающая гомеостаз организма, прежде всего работу системы кровообращения, заслуживает особого внимания для профилактики, ранней диагностики и разработки адекватных патогенетических методов терапии АГ. Снижение артериального давления без коррекции дисфункции эндотелия не может считаться успешно решенной клинической задачей [7].

Таким образом, калликреин-кининовая система крови является важным регулятором эндотелиально-вазальной системы. Формирование гипертензивных состояний связано с нарушением механизмов ЭЗВД и дезадаптацией калликреин-кининовой и ренин-ангиотензиновой систем крови.

Литература

1. Воробьева Е.Н., Шумахер Г.И., Осипова И.В. Роль дисфункции эндотелия в патогенезе атеросклероза // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2006. Т. 5, № 6. С. 129–136.
2. Ранние маркеры дисфункции эндотелия в динамике развития артериальной гипертонии у лиц молодого возраста / С.Д. Маянская [и др.] // Казанский мед. журн. 2009. Т. 90, № 1. С. 32–37.
3. Балахонова Т.В., Погорелова О.А., Алиджанова Х.Г. Неинвазивное определение функции эндотелия у больных гипертонической болезнью в сочетании с гиперхолестеринемией // Терапевтический архив. 1998. № 4. С. 15–19.
4. Пасхина Т.С., Кринская А.В. Упрощенный метод определения калликреиногена и калликреина в сыворотке (плазме) крови человека в норме и при некоторых патологических состояниях // Вопросы мед. химии. 1974. Т. 20, № 6. С. 660–663.
5. Нартикова В.Ф., Пасхина Т.С. Унифицированный метод определения активности α_1 -антитрипсина и α_2 -макроглобулина в сыворотке (плазме) крови человека // Вопросы мед. химии. 1979. Т. 25, № 4. С. 494–502.
6. Голиков П.П., Николаева Н.Ю. Экспресс-метод определения активности ангиотензинпревращающего фермента в сыворотке крови // Клини. лаб. диагностика. 1998. № 1. С. 11–13.
7. Значение пробы с реактивной гиперемией в качестве дополнительного критерия диагностики артериальной гипертонии / В.В. Долгих [и др.] // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2006. Т. 49, № 3. С. 177–182.