

УДК: 616.006.442+616.006.444

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ У БОЛЬНЫХ ГЕМОБЛАСТОЗАМИ ДО И ПОСЛЕ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ

В.Д. Коптев¹, Т.И. Поспелова^{1,2}, Д.Д. Цырендоржиев^{2,3}

*Новосибирский государственный университет¹
Новосибирский государственный медицинский университет²
НИИ клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск³
630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14, e-mail: don60@ngs.ru³*

Проведено исследование функционального состояния эндотелия сосудов у 30 больных гемобластозами до и после полихимиотерапии (ПХТ). В сыворотке крови больных гемобластозами до ПХТ выявлено преобладание факторов вазоконстрикции (фактора Виллебранда и эндотелина-1) над уровнем стабильных метаболитов оксида азота, обладающего вазодилатирующим эффектом действия. После курсов ПХТ содержание фактора Виллебранда и эндотелина-1 в сыворотке крови больных снижалось, а оксида азота – повышалось, но эти изменения не достигали уровня у здоровых доноров. Результаты исследования свидетельствуют о формировании эндотелиальной дисфункции у больных гемобластозами.

Ключевые слова: гемобластоzy, эндотелиальная дисфункция, эндотелин-1, оксид азота, фактор фон Виллебранда.

FUNCTIONAL STATE OF VESSEL ENDOTHELIUM IN PATIENTS WITH HEMOBLASTOSIS BEFORE
AND AFTER POLYCHEMOTHERAPY

V.D. Koptev¹, T. I. Pospelova^{1,2}, D. D. Tsyrendorzhiev^{2,3}

Novosibirsk State University¹

Novosibirsk State Medical University²

Research Institute for Clinical Immunology, Siberian Branch of the Academy of Medical Sciences, Novosibirsk³

14, Yadrintsevskaya street, 630099-Novosibirsk, e-mail: don60@ngs.ru³

The functional state of vessel endothelium was investigated in 30 patients with hemoblastosis before and after polychemotherapy (PChT). The prevalence of vasoconstriction factors (von Willebrand factor and endothelin-1) over the level of stable metabolites of nitrogen oxide having a vasodilating effect was revealed in the blood serum of patients with hemoblastosis before PChT. After PChT, the levels of von Willebrand factor and endothelin-1 in blood serum of the patients were reduced, whereas the level of nitrogen oxide was increased but these changes did not reach the level of the target values of healthy donors. The results of the study indicated the development of endothelial dysfunction in patients with hemoblastosis.

Key words: hemoblastosis, endothelial dysfunction, endothelin-1, nitrogen oxide, von Willebrand factor.

В последние десятилетия заболеваемость гемобластозами (ГБ) продолжает неуклонно возрастать [6, 8]. Последние достижения клинической онкологии позволили увеличить количество и продолжительность ремиссий, а также повысить качество жизни больных ГБ [18, 21]. Существенные прорывы в онкогематологии связаны как с улучшением диагностики опухолей крови на основании молекулярно-биологических методов верификации опухолевых клонов, так и с широким внедрением в повседневную практику высокоспециализированных многокомпонент-

ных схем полихимиотерапии (ПХТ) [14]. К сожалению, отсутствие строгой селективности цитостатических препаратов определяет их токсическое действие на нормальные, быстро-пролиферирующие ткани организма, в том числе эндотелий сосудов [15].

В литературе достаточно широко представлены данные о структурных и функциональных изменениях эндотелия сосудов при таких патологических процессах, как артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, инсульт, сахарный диабет, ревматоидный артрит,

гестозы, синдром Рейно, системные васкулиты и др. [1, 7, 9, 16, 17, 19]. Однако мы не встретили работ, посвященных исследованию функционального состояния эндотелия при ГБ, в частности при таких распространенных заболеваниях, как лимфома Ходжкина (ЛХ) и неходжкинские злокачественные лимфомы (НХЛ).

В связи с этим целью настоящей работы являлось исследование функционального состояния эндотелия сосудов у больных гемобластозами до и после проведения курсов полихимиотерапии.

Материал и методы

Всего обследовано 30 больных ЛХ и НХЛ в возрасте от 20 до 55 лет, лечившихся в Городском гематологическом центре г. Новосибирска и в специализированном гематологическом отделении МУЗ городской клинической больницы № 2. Все больные были разделены на 2 группы: в I вошли 15 пациентов с впервые установленным диагнозом ЛХ и НХЛ до начала ПХТ, во II – 15 больных с ГБ после проведения от 2 до 6 курсов стандартной схемы ПХТ. В контрольную группу были отобраны 28 практически здоровых доноров обоего пола в возрасте от 22 до 57 лет.

Всем больным определяли содержание эндотелина-1 (ЕТ-1), стабильных метаболитов нитратов/нитритов (NO/NO^-) и фактора Виллебранда (vWF) в сыворотке крови. Оценку уровня ЕТ-1 производили с использованием иммуноферментного набора для количественного определения эндотелина 1 в биологических жидкостях («Biomedica Medizinprodukte», Австрия). Содержание ЕТ-1 в сыворотке крови измеряли в fmol/ml. Уровень оксида азота (NO) в сыворотке крови определяли по измерению содержания его стабильных метаболитов – нитратов/нитритов (NO/NO^-) с использованием реактива Грисса. Единица измерения NO/NO^- в крови – мМ/мл. Для количественного определения фактора Виллебранда (vWF) использовали фотоэлектроколориметрический метод [3]. Процентное содержание vWF определяли по калибровочной кривой.

После определения вышеуказанных факторов рассчитывали индексы их соотношения: $K_1 = \text{ЕТ-1}/\text{NO}$ и $K_2 = \text{vWF}/\text{NO}$, величины которых выражали в условных единицах (усл. ед.) и

сравнивали с соответствующими значениями в контрольной группе. При этом величина каждого показателя в контрольной группе принималась за 1 усл. ед.

Статистическую обработку полученных данных производили с помощью лицензированного пакета компьютерных программ «Statistica 8.0» [5]. Распределение количественных данных оценивали по критерию Шапиро-Уилка. Для сравнения количественных показателей с нормальным распределением, применяли t-критерий Стьюдента, а при их отличии – непараметрические критерии Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова. Для сравнения двух зависимых групп использовали непараметрический критерий Вилкоксона. Корреляционный анализ данных проводили по Спирмену. Различия сравниваемых показателей считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Предварительный анализ данных показал, что уровни ЕТ-1, vWF и NO/NO^- в сыворотке крови у больных как ЛХ, так и НХЛ практически не отличаются. В связи с этим для дальнейшего анализа данных все результаты, полученные у больных с этими нозологическими вариантами заболевания, были объединены в общую группу под диагнозом ГБ.

Результаты исследования показали, что в сыворотке крови больных ГБ до начала лечения наблюдается значительный рост содержания ЕТ-1 и vWF, обладающих четко выраженными вазоконстрикторными свойствами. Так, в сыворотке крови пациентов I группы содержание ЕТ-1 было в 14,1 раза, а vWF – в 2,2 раза выше, чем в контрольной группе. В то же время у больных этой же группы содержание стабильных метаболитов оксида азота NO/NO^- , напротив, было в 2,6 раза ниже, чем у лиц контрольной группы, что свидетельствует о снижении факторов с вазодилататорными свойствами (табл. 1). После курса ПХТ наблюдается снижение уровней ЕТ-1 и vWF, а также рост содержания NO/NO^- в сыворотке крови больных ГБ. Так, содержание ЕТ-1 в сыворотке крови больных ГБ после курса ПХТ снизилось в 2,7 раза, но было все еще в 5,3 раза выше, чем в контроле. Подобная картина наблюдалась и при определении содержания

Таблица 1

Показатели функционального состояния эндотелия сосудов больных гемобластозами до и после ПХТ (M ± m)

Группы больных	ET-1, fmol/ml	vWF, %	NO/NO ⁻ , μM/мл
I. До лечения (n=15)	4,23 ± 0,20 p<0,001	211,57 ± 4,20 p<0,001	5,07 ± 0,22 p<0,001
II. После курса ПХТ (n=15)	1,58 ± 0,08 p<0,001 p ₁ <0,001	135,68 ± 2,60 p<0,001 p ₁ <0,001	9,08 ± 0,39 p<0,001 p ₁ <0,001
Контроль (n=28)	0,30 ± 0,01	96,38 ± 1,20	13,22 ± 0,42

Примечание: p – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой, p₁ – статистически значимые различия по сравнению с I группой.

Таблица 2

Коэффициенты соотношения показателей функционального состояния эндотелия сосудов у больных гемобластозами до и после ПХТ (M ± m)

Группы больных	ET-1/NO, усл. ед.	vWF/NO, усл. ед.
I. До начала лечения (n=15)	0,88 ± 0,08 p<0,001	27,79 ± 1,69 p<0,001
II. После курса ПХТ (n=15)	0,17 ± 0,01 p<0,001 p ₁ <0,001	24,23 ± 1,56 p<0,001 p ₁ <0,001
Контрольная группа (n=28)	0,02 ± 0,01	7,50 ± 0,26

Примечание: p – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой, p₁ – статистически значимые различия по сравнению с I группой.

vWF. В этом случае после ПХТ содержание vWF в сыворотке крови больных снизилось в 1,6 раза и, так же как и ET-1, оставалось на высоком уровне, превышая контрольные значения в 1,4 раза. Содержание NO/NO⁻ в сыворотке крови больных после ПХТ возросло в 1,8 раза, но не достигало уровня контрольных величин (табл. 1). При этом стоит отметить, что прямой зависимости изменения уровня определяемых факторов от числа курсов ПХТ нами не было выявлено. В то же время замечено, что самое значимое изменение их уровня наблюдается после 2 курсов ПХТ.

Корреляционный анализ данных у больных I группы выявил сильную прямую зависимость между вазоконстрикторами ET-1 и vWF ($r = +0,94$). В то же время между факторами констрикции (ET-1 и vWF) и дилатации (NO) выявлены сильные обратные связи, соответственно $r = -0,96$ и $r = -0,98$ ($p < 0,05$). У больных II группы после ПХТ отмечаются незначительные ослабления корреляции между ET-1 и vWF ($r = +0,85$) и (vWF и NO) ($r = -0,85$), а между ET-1 и NO – сохраняется ($r = -0,97$) ($p < 0,05$).

Для оценки соотношения вазодилатирующих, антитромбогенных, антипролиферативных факторов (NO), с одной стороны, и вазоконстрикторных, протромбогенных, пролиферативных (вызывающих ремоделирование сосуда) факторов – с другой (ET-1, vWF) рассчитывали соответствующие индексы (табл. 2). До начала проведения ПХТ индексы соотношения ET-1/NO и vWF/NO у больных ГБ значительно превышали соответствующие показатели у лиц контрольной группы. Так, индекс соотношения ET-1/NO у этих пациентов превышал в 44 раза таковой в группе контроля, а vWF/NO был в 3,7 раза больше, чем в контроле. После ПХТ значения индексов ET-1/NO и vWF/NO снижались соответственно в 5,2 и в 1,2 раза по сравнению с исходными (до лечения) данными у больных I группы. В то же время, в отличие от контрольных цифр, у больных II группы величины этих индексов после ПХТ все еще оставались высокими.

Результаты исследования показали, что высокие величины индексов соотношения ET-1/NO и vWF/NO свидетельствуют о преобладании ва-

зоконстрикторов над факторами вазодилатации. С учетом того, что функциональное состояние эндотелия сосудов и/или его тонус зависит от таких регуляторных медиаторов, как NO, vWF и эндотелины, в настоящее время сформировалось представление об эндотелиальной дисфункции (ЭД), под которой понимают нарушение баланса между этими факторами с преобладанием влияния вазоконстрикторов [22]. Таким образом, у больных ГБ развивается выраженная ЭД, которая характеризуется увеличением концентрации вазоконстрикторных медиаторов на фоне снижения уровня вазодилататорных факторов.

Эндотелиальная дисфункция – это сложный процесс, в механизме развития которого участвует множество факторов, нарушающих баланс в системе регуляции тонуса сосудов. Однако механизмы развития ЭД при ГБ до сих пор еще остаются слабо изученными. Как известно, опухолевые заболевания сопровождаются развитием синдрома эндогенной интоксикации (СЭИ), которая приводит к нарушениям микро- и макроциркуляции, водно-электролитного обмена, кислотно-щелочного равновесия, структурным и ультраструктурным изменениям в клетках органов и тканей [10].

В литературе имеется большое количество работ, посвященных проблеме дестабилизации лизосомальных мембран при онкопроцессах, сопровождаемое увеличением содержания ферментов в крови, под действием которых образуется большое количество биологически активных веществ, в том числе и вазоактивные вещества, способные повреждать эндотелий сосудов и повышать их проницаемость [23]. С другой стороны, в развитии ЭД при ГБ ключевую роль могут играть про- и противовоспалительные цитокины, поскольку они обладают регуляторными свойствами на эндотелий сосудов. При изучении цитокинового профиля у больных с впервые выявленными лимфомами Н.П. Кареевой [11] установлено увеличение содержания в сыворотке крови IL-1 β , IL-6, TNF- α и IFN- γ до начала ПХТ. Многие авторы считают, что усиление эндогенной продукции цитокинов является важным патогенетическим звеном онкологических заболеваний, однако их роль в развитии опухолевого процесса различна. Например, умеренное повышение IL-1 β

и TNF- α многими авторами рассматривается как проявление активации противоопухолевого иммунитета и механизма апоптоза [4], однако чрезмерно высокая эндогенная продукция цитокина, в частности TNF- α , не только не способствует регрессу опухоли, но и служит фактором промоции последней [11, 24]. В высоких концентрациях TNF- α проявляет свои иммуносупрессивные свойства, оказывает системное воздействие на организм с развитием интоксикационного синдрома и может усиливать цитотоксические эффекты химиотерапии в отношении нормальных тканей за счет выброса свободных кислородных радикалов с развитием окислительного стресса [2, 20].

Снижение уровней vWF и ET-1 и повышение стабильных метаболитов NO в сыворотке крови больных после курсов ПХТ, вероятно, связано с ослаблением СЭИ и снижением продукции провоспалительных цитокинов. Известно, что опухолевые клетки сами являются активными продуцентами цитокинов [13]. Отсюда уменьшение объема опухолевой ткани после курсов ПХТ, что способствует сокращению плацдарма выработки цитокинов и, соответственно, снижению их действия на эндотелий сосудов, приводя к ослаблению выраженности ЭД.

Таким образом, можно предположить, что причинами формирования ЭД при ГБ являются эндогенная интоксикация, которая сопровождает эти заболевания на всех этапах развития [15], а также влияние про- и противовоспалительных цитокинов. После курсов ПХТ содержание vWF и ET-1 в сыворотке крови больных снижалось, а стабильных метаболитов NO – повышалось, однако после проведения ПХТ величины ET-1, vWF и стабильных метаболитов NO в сыворотке крови не достигали нормальных значений, что свидетельствует о сохранении ЭД, требующей проведения дальнейших реабилитационных мероприятий для улучшения качества жизни больных ГБ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амосова Е.Н., Яременко О.Б., Матияцук И.Г. и др. Состояние эндотелий-зависимой и эндотелий-независимой вазорегуляции у больных системной красной волчанкой // Укр. ревматол. журн. 2008. № 4 (34). С. 4–9.
2. Антонов В.Г., Козлов В.К. Патогенез онкологических заболеваний: иммунные и биохимические феномены и механизмы. Внеклеточные и клеточные механизмы общей иммунодепрессии

- и иммунной резистентности // Цитокины и воспаление. 2004. Т. 3. № 1. С. 8–19.
3. Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д. и др. Лабораторные методы исследования системы гемостаза // Томск: Изд-во Том. ун-та, 1980. 314 с.
 4. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Система интерлейкинов и рак (новые аспекты взаимодействия опухоли и организма) // Киев: ДИА, 2000. 224 с.
 5. Боровиков В.П. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере // СПб.: Питер, 2003. 688 с.
 6. Вержбицкая Н.Е., Магарилл Ю.А. Сравнительная характеристика частоты некоторых видов злокачественных неходжкинских лимфом в Кемеровской области и других географических регионах // Сибирский онкологический журнал. 2007. № 4. С. 96–100.
 7. Гребенникова Л.Г. Применение окклюзионного теста для оценки функции эндотелия у больных ревматоидным артритом // ИнВестРегион. 2008. № 3. С. 60–64.
 8. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2006 году // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2008. Т. 19, № 2 (Прил. 1). 152 с.
 9. Домашенко М.А., Орлов С.В., Костырева М.В. и др. Дисфункция эндотелия при ишемических нарушениях мозгового кровообращения на фоне ИБС // Сердце. 2007. Т. 5, № 7. С. 376–378.
 10. Дорохин К.М., Спас В.В. Патофизиологические аспекты синдрома эндогенной интоксикации // Анестезиология и реаниматология. 1994. № 1. С. 56–60.
 11. Кадагидзе З.Г. Цитокины // Практическая онкология. 2003. Т. 4, № 3. С. 131–139.
 12. Карева Н.П. Клинико-патогенетические аспекты механизма действия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона при осложнениях химиотерапии лимфом: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Новосибирск, 2007. 42 с.
 13. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 552 с.
 14. Клинические рекомендации ESMO по диагностике, лечению и наблюдению при первично-диагностированной крупноклеточной неходжкинской лимфоме // Минимальные клинические рекомендации Европейского общества медицинской онкологии (ESMO). М.: РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 2003. С. 25–27.
 15. Лосева М.И., Поспелова Т.И., Солдатова Г.С. и др. Отдаленные последствия противоопухолевой терапии гемобластозов. Новосибирск: ИПП «Art-Avenue», 2005. 364 с.
 16. Лысенко Н.В. Эндотелин-1 и циклический гуанозинмонофосфат в плазме крови больных ревматоидным артритом, ассоциированным с синдромом Рейно // Укр. ревматол. журн. 2002. № 1 (7). С. 57–60.
 17. Небиеридзе Д.В. Дисфункции эндотелия и ее коррекции при артериальной гипертензии // Русский медицинский журнал. 2006. Т. 14, № 2. С. 127–131.
 18. Подольцева Э.И. Особенности лечения агрессивных лимфом // Практическая онкология. 2004. Т. 5, № 3. С. 194–202.
 19. Шилкина Н.П., Молодкина О.А., Виноградов А.А. Изменения сосудистого русла и функционального состояния эндотелия при системных васкулитах // Научно-практическая ревматология. 2007. № 2. С. 19–23.
 20. Aukrust P, Shardal A.M., Muller F. et al. Decreased levels of total and reduced glutathione in CD4 lymphocytes in common variable immunodeficiency are associated with activation of the tumor necrosis factor system: possible immunopathogenetic role of oxidative stress // Blood. 1995. Vol. 86. P. 1383–1391.
 21. Hennessy B.T., Hanrahan E.O., Daly P.A. Non Hodgkin's lymphoma; an update // Lancet Oncol. 2004. Vol. 5. P. 341–353.
 22. Nedeljkovic Z.S., Gokce N., Loscalzo J. Mechanisms of oxidative stress and vascular dysfunction // Postgrad. Med. J. 2003. Vol. 79 (930). P. 195–199.
 23. Schmitt M., Mengele K., Schueren E. et al. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Pathobiology Group standard operating procedure for the preparation of human tumour tissue extracts suited for the quantitative analysis of tissue associated biomarkers // Eur. J. Cancer. 2007. Vol. 43 (5). P. 835–844.
 24. Szlosarek P., Kellie A.C., Balkwill F.R. Tumour necrosis factor α as a tumor promoter // Eur. J. Cancer. 2006. Vol. 42 (6). P. 745–750.

Поступила 10.02.10