

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© ГРЕБЕНКИНА И. А., ПОПОВА А. А., ЯКОВЛЕВА И. В., БЕРЕЗИКОВА
Е. Н., ЯКОВЛЕВА Н. Ф.

УДК 616.12 – 008.331.1:611 – 018.74 – 008.6

КРИТЕРИИ ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТОНИЕЙ

И. А. Гребенкина, А. А. Попова, И. В. Яковлева, Е. Н. Березикова,
Н. Ф. Яковлева

Новосибирский государственный медицинский университет, ректор – д. м. н.,
проф. И. О. Маринкин; кафедра поликлинической терапии и ОВП (семейной
медицины), зав. – к.м.н., доцент А.А. Попова.

Резюме. Изучена функция эндотелия сосудов с помощью доплерометрического измерения диаметра плечевой артерии в покое и во время пробы с реактивной гиперемией, путем определения сывороточного уровня суммарной продукции оксида азота, а также путем оценки состояния системы про- и антиоксидантной активности крови у 80 пациентов мужского пола (средний возраст $72,5 \pm 2,7$ лет) с артериальной гипертонией III степени, риск 3,4. Выявлено нарушение эндотелий-зависимой вазодилатации во время пробы с реактивной гиперемией и уменьшение прироста диаметра плечевой артерии по сравнению с группой контроля. Установлено, что нарушение эндотелий-зависимой вазодилатации сопровождалось снижением продукции оксида азота эндотелием, а выраженность дисфункции эндотелия находилась в тесной корреляционной связи с показателями дисбаланса между про- и антиоксидантной активностью крови.

Ключевые слова: артериальная гипертония, эндотелиальная дисфункция, оксид азота, системы прооксидантной и антиоксидантной активности.

Гребенкина Ирина Аркадьевна – ассистент каф. поликлинической терапии и общей врачебной практики (семейной медицины) НГМУ; 8(383)224-64-65.

Попова Анна Александровна – к.м.н., доц. зав. каф. поликлинической терапии и общей врачебной практики (семейной медицины) НГМУ; e-mail: ann24@ngs.ru.

Яковлева Инна Владимировна – аспирант каф. поликлинической терапии и общей врачебной практики (семейной медицины) НГМУ; тел. 8 (383) 2246465.

Березикова Екатерина Николаевна – к. м. н., доц. каф. поликлинической терапии и общей врачебной практики (семейной медицины); тел. 8 (383) 2246465.

Артериальная гипертензия (АГ) до сих пор является одной из наиболее значимых социальных проблем. Нарушение функционирования эндотелия сосудов рассматривается как один из ведущих механизмов развития АГ и ее осложнений. В настоящее время результаты экспериментальных и клинических исследований подтвердили концепцию важной причинно-следственной взаимосвязи между эндотелиальной дисфункцией и прогрессированием и/или развитием АГ [1, 3, 7, 9, 10]. Свои функции (модулирование тонуса сосудов, формирования внеклеточного матрикса и др.) эндотелий сосудов осуществляет путем синтеза и выделения ряда биологических активных соединений. Среди них наибольшее значение имеет оксид азота (NO) [4, 5, 6], изменение синтеза и релизинга которого, является важным регулятором эндотелиально-вазальной системы [4, 5, 11, 13], что лежит в основе развития дисфункции эндотелия (ДЭ). Ведущей причиной дефицита NO при гипертензии, считается разрушение или захват NO свободными радикалами. Избыточное образование свободных радикалов, нарушающих эндотелий – зависимое расслабление сосудов и усиливающих сократительные реакции гладкой мышцы, запускают ряд

химических реакций, в том числе – перекисное окисление липидов (ПОЛ), одним из основных продуктов которого является малоновый диальдегид (МДА) [15]. Интенсивность образования свободных радикалов кислорода в организме находится под постоянным контролем антиоксидантной системы защиты, препятствующей формированию эндотелиальной дисфункции (ЭД) [11].

Кроме того, важнейшим фактором эндотелиальной дисфункции является хроническая гиперактивация ренин – ангиотензиновой системы (РАС), которая наблюдается при АГ. В условиях оксидативного стресса усиливается локальное высвобождения ангиотензина II, оказывающее мощное вазоконстрикторное действие посредством стимуляции AT_I – рецепторов гладкомышечных клеток сосудов и развитием провоспалительных изменений [14, 15], что, в свою очередь, активирует образование свободных радикалов, которые инактивируют оксид азота, тем самым, запуская механизм эндотелиальной дисфункции [15].

Все выше упомянутое указывает на то, что АГ, в основе которой лежит ЭД, формируется в результате действия нескольких звеньев патогенеза, тесно взаимосвязанных между собой и постоянно потенцирующих друг друга. Поэтому определение дисфункции эндотелия имеет прогностическое значение для пациентов с артериальной гипертонией, а также для их динамического наблюдения.

Целью настоящей работы явилось комплексное исследование вазомоторной и метаболической функций сосудистого эндотелия и определение степени эндотелиальной дисфункции у лиц пожилого возраста с артериальной гипертонией III степени, риск 3, 4.

Материалы и методы

В исследование включили 80 мужчин в возрасте 60–75 лет (средний возраст $72,5 \pm 2,7$ лет) с АГ III степени, риск 3, 4. Длительность заболевания в среднем была $6,7 \pm 0,7$ лет. Контрольную группу составили 45 мужчин в возрасте 60–75 лет (средний возраст $67,3 \pm 2,5$ лет) с нормальным АД. В исследование не включали больных с симптоматической гипертензией; онкологическими

заболеваниями; с метаболическими и эндокринными нарушениями; болезнями крови; с признаками на момент исследования острых воспалительных и / или обострения хронических заболеваний.

Все пациенты прошли общее клиническое обследование, включающее: ЭКГ в 12-ти стандартных отведениях; суточное мониторирование артериального давления (СМ АД) с использованием монитора «Кардиотехника – 4000 АД» (фирма ИНКАРТ, С-Пб, Россия), при анализе СМ АД оценивались: усредненные по времени значения систолического и диастолического АД (САД и ДАД соответственно) за 3 временных периода: 24 часа, день, ночь; «нагрузку давлением» - по 2 показателям – индексу времени (ИВ) и нормированному индексу площади (НИП) для САД и ДАД; выраженность двухфазного ритма АД (суточный индекс (СИ)); эхокардиографию, которая осуществлялась с использованием УЗИ сканера «Asuson 128» (США).

Изучение функции эндотелия проводилось с помощью доплерометрического измерения диаметра плечевой артерии в покое и во время пробы с реактивной гиперемией (ПРГ) и нитроглицерином и путем определения сывороточного уровня суммарной продукции оксида азота по количеству его стабильных метаболитов (нитратов и нитритов), а также путем оценки состояния системы про- и антиоксидантной активности крови (АОА) (с помощью определения содержания МДА и АОА сыворотки крови). Больным и группе сравнения осуществлялся забор крови при первом обращении, а также при повторном исследовании в динамике (через год).

Для оценки сосудодвигательной функции эндотелия использовали доплерометрическое измерение диаметра плечевой артерии (аппарат «Sonolim Versa Plus», Siemens, Германия) в покое и во время ПРГ и нитроглицерином. Исходно измерение диаметра плечевой артерии осуществляли в покое с помощью линейного датчика 7 МГц. Для оценки эндотелий-зависимой вазодилатации проводили ПРГ. Изменения диаметра сосудов выражали в процентах по отношению к исходной величине (%). Эндотелий-независимую

вазодилатацию оценивали путем измерения диаметра плечевой артерии в ответ на сублингвальный прием нитроглицерина (1 табл. (0,0005 г.)).

Оценка сывороточного уровня суммарной продукции оксида азота проводилась путем определения суммарной концентрации его стабильных метаболитов (нитритов – NO_2^- (в мМ/мл) и нитратов – NO_3^-) в плазме крови с помощью реакции диазотизации сульфановой кислоты нитритами в кислой среде и затем их соединения с N-I-Ned. С этой целью использовался реактив Грисса, растворенный в 12% уксусной кислоте. Определение вторичных, стабильных продуктов ПОЛ по уровню МДА в сыворотке крови проводилось по реакции с тиобарбитуровой кислотой с последующей спектрофотометрией. Антиоксидантную активность (АОА) сыворотки крови определяли по модифицированному методу, основанному на оценке спонтанного хемилюминисцентного ответа.

Статистическая обработка результатов исследования проведена с помощью программы Statistical Package for Social Science (SPSS) v. 10.05. Статистическое ранжирование и коэффициенты Спирмана (r) и Кендэла применялись для анализа данных порядковых шкал. Для данных, измеренных в количественных шкалах, применялся коэффициент корреляции Пирсона и модель простой линейной регрессии. Вычисляли среднее арифметическое значение (M) и стандартную ошибку средней (m); показатель существенной разности (t) - учитывали число измерений по таблице t - распределения Стьюдента для определения вероятности различий (p). Различие считалось статистической достоверным, начиная со значений $p < 0,05$. Для проверки формы распределения использовались тест Колмогорова-Смирнова, критерий Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

По данным комплексного обследования, включающего суточное мониторирование АД, наличие АГ III степени, риск 3, 4 у пожилых пациентов определяется повышением САД и ДАД, дневного и ночного индекса времени более 50%; изменением циркадного профиля АД – его недостаточным

снижением («non – dippers»), или чрезмерным ночным снижением АД («over – dippers»), а также отрицательным суточным индексом типа («night – peakers»).

Определение эндотелий–зависимой вазодилатации показало, что в покое средний диаметр плечевой артерии у пациентов с АГ III ст., риск 3, 4 составил $3,29 \pm 0,4$ мм. В группе контроля этот показатель оказался больше ($4,89 \pm 0,4$ мм.) ($p < 0,05$). В фазу реактивной гиперемии (120 сек. после декомпрессии) отмечалось незначительное увеличение диаметра плечевой артерии до $3,51 \pm 0,3$ мм у пациентов с гипертонией, а в сравниваемой группе увеличение диаметра было достоверно больше – до $5,39 \pm 0,6$ мм ($p < 0,05$). Прирост диаметра плечевой артерии в фазу реактивной гиперемии у больных с АГ III ст., риск 3, 4 составил 6,69 %. Тогда как в контрольной группе прирост диаметра составил 10,22 % ($p < 0,05$), что больше в 1,5 раза по сравнению с группой больных (табл. 1). Оценка эндотелий–независимой вазодилатации в основной и контрольной группах показала, что прирост диаметра плечевой артерии в ответ на сублингвальный прием нитроглицерина составил $11,2 \pm 0,45$ и $19,7 \pm 0,7$ соответственно. Полученные данные свидетельствовали о нормальной сосудорасширяющей реакции на нитроглицерин в данной возрастной группе, что подтверждает наличие нарушения именно эндотелий – зависимой вазодилатации.

Определение сывороточного уровня суммарной продукции NO у пациентов в основной и контрольной группах показало, что у лиц с АГ III ст., риск 3, 4 продукция NO была в 1,2 раза ниже, чем в группе контроля ($p < 0,05$). При этом, индивидуальные значения этого показателя у обследуемых варьировали от 3,2 – 11,5 мкмоль/л. Снижение продукции NO приводит к нарушению NO-зависимого расслабления артерий, что является одним из механизмов ЭД, приводящей к гипертонии, и/или способствующей ее прогрессированию.

Эндотелиальная дисфункция неизбежно ведет к накоплению продуктов ПОЛ в сосудистой стенке и кровеносном русле, что усугубляет сосудистый дисбаланс и приводит к повреждению эндотелия. Этому процессу противостоят эндогенные механизмы антиоксидантной защиты.

Измерение концентрации МДА (табл. 2) показало, что у больных с АГ III ст., риск 3, 4 она больше, чем у здоровых на 14,53 % ($p < 0,05$), то есть в 2, 7 раза. Антиоксидантная активность крови в сравниваемых группах составила $3,05 \pm 0,13$ и $7,32 \pm 0,31$ ($p < 0,05$) соответственно (табл. 2). Возможно, это связано с накоплением продуктов ПОЛ в сосудистой стенке и кровеносном русле, возникающего вследствие эндотелиальной дисфункции. Для оценки баланса антиоксидантной и прооксидантной систем использовалось определение отношения суммарной АОА к МДА. Данный коэффициент составил 0,15 в группе с гипертонией и 1,35 в группе контроля, что свидетельствовало о повышении «напряженности» антиоксидантной системы в группе больных с АГ за счет активации свободно радикального окисления. При этом соотношение АОА / МДА сдвигалось в сторону прироста прооксидантной активности.

При подсчете коэффициента линейной корреляции между вазодилатацией плечевой артерии, уровнем суммарной продукции NO и показателями систем про- и антиоксидантной активности, была выявлена прямая тесная корреляционная связь (D_1 -АОА: $r=1,0$; D_2 -АОА: $r=1,1$; D_3 -АОА: $r=1,1$; D_1 -МДА: $r=1,0$; D_2 -МДА: $r=1,0$; D_3 -МДА: $r=1,0$; NO-АОА: $r=0,99$; NO-МДА: $r=1,0$) ($p < 0,05$).

Через год (табл. 1) диаметр плечевой артерии в покое у пациентов с АГ III ст., риск 3, 4 уменьшился на 6,1 %, в фазу реактивной гиперемии – на 8%, что сопровождалось выраженным снижением прироста диаметра плечевой артерии более чем на 30%, по сравнению с первоначальным исследованием. Тогда как в группе контроля достоверных изменений не наблюдалось. Все это свидетельствует не только о сохранении патологической ригидности сосудистой стенки у пациентов с АГ, но и, о ее прогрессировании с течением времени.

Оценивая динамику выработки суммарной продукции NO у пациентов с АГ III ст., риск 3, 4 и в группе контроля через год, было выявлено, что тенденция к более низкой выработке NO у лиц с АГ не только сохранилась, но и

усугубилась. Если при первом исследовании разница между группами составляла 22,5%, то через год она стала 62,9 % ($p < 0,05$). Индивидуальные значения NO в основной группе также были несколько ниже, чем год назад (2,9 – 10,1 мкмоль/л). При сравнении первоначального уровня продукции NO у больных с АГ III ст., риск 3, 4 и его уровня через год, оказалось, что при повторном исследовании продукция NO уменьшилась на 30,3 %. В группе контроля через год продукция NO также уменьшилась - на 7,3 %, что объясняется уменьшением способности эндотелия к выработке NO в процессе старения.

Сравнивая уровни концентрации МДА в основной и контрольной группах через год, было выявлено, что достоверно больше концентрация МДА в группе с АГ. При этом прирост показателя составил 75,3 % по сравнению с первым исследованием, что является признаком более интенсивного протекания процессов свободно – радикального окисления у больных пожилого возраста. Антиоксидантная активность крови при повторном исследовании оказалась в 2,6 раза меньше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$) и на 8,2 % меньше, чем при первом исследовании у пациентов с гипертонией. В контрольной же группе АОА практически не изменилась (табл. 2).

Коэффициент АОА / МДА составил через год 0,13 – в группе лиц с АГ, и 1,34 – в группе контроля, что в десять раз больше, чем у больных. При этом данный коэффициент уменьшился в основной группе (в 1,2 раза) и не изменился в контрольной по сравнению с первоначальным исследованием. Это отражает прогрессирующие изменения про- и антиоксидантного баланса у пожилых пациентов с АГ, связанные с ростом продуктов ПОЛ и их конечных метаболитов, а также истощением антиоксидантной системы.

Таким образом, течение гипертонии у пожилых сопровождается прогрессирующей дисфункцией эндотелия сосудов, чему способствуют снижение продукции оксида азота эндотелием и дисбаланс системы «прооксиданты – антиоксиданты» в сторону первых.

CRITERIA OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION PROGRESSION IN PATIENTS WITH HYPERTENSION

I. A. Grebenkina, A. A. Popova, I. V. Yakovleva, E. N. Berezikova,

N. F. Yakovleva

Novosibirsk State Medical University

Abstract. We studied endothelial function on 80 male patients (mean age 72.5 $\pm$ 2.7) with hypertension III risk 3 and 4 by Doppler measuring of brachial artery diameter in rest and during probe with reactive hyperthermia, determining serum level of total nitric oxide production and pro and antioxidative activity of blood. We revealed disturbances of endothelial dependent vasodilatation during probe with reactive hyperthermia and decrease of brachial artery diameter growth compare to control. Disturbances of endothelial dependent vasodilatation accompanied by decrease of endothelial nitric oxide production and expression of endothelial dysfunction correlated with pro and antioxidative blood activity disbalance.

Key words: hypertension, endothelial dysfunction, nitric oxide, systems of prooxidative and antioxidative activity.

Литература

1. Бабак О. Я., Шапошникова Ю. Н., Немцова В. Д. Артериальная гипертензия и ишемическая болезнь сердца – эндотелиальная дисфункция: современное состояние вопроса // Украинский терапевт. журн. – 2004. – № 1. – С. 14-21.
2. Денисова Е. А., Кириченко Л. Л., Стручков П. А. Структурно-функциональное состояние сердечно-сосудистой системы у больных артериальной гипертонией // Терапевт. архив. – 2008. – № 9. – С. 84-86.

3. Зарубина Е. Г., Мишина Е. А., Осадчук М. А. Роль эндотелиальной дисфункции в патогенезе сочетанных сердечно-легочных заболеваний // Клинич. медицина. – 2006. – № 5. – С. 31-34.
4. Лямина Н. П., Сенчихин В. Н., Долотовская П. В. и др. Суточная продукция NO у больных артериальной гипертонией II стадии // Рос. кард. журн. – 2001. – № 6 (32). – С. 34-37.
5. Манухина Е. Б., Лямина Н. П., Долотовская П. В. и др. Роль оксида азота и кислородных свободных радикалов в патогенезе артериальной гипертензии // Кардиология. – 2002. – № 11. – С. 73-84.
6. Марков Х. М. Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия // Кардиология. – 2005. – №12. – С. 62-67.
7. Петрищев Н. Н., Власов Т. Д. Функциональное состояние эндотелия при ишемии-реперфузии (обзор литературы) // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2000. – № 2. – С. 148-163.
8. Покровский В. И. , Виноградов Н. А. Оксид азота, его физиологические и патофизиологические свойства // Терапевт. архив. – 2005. – №1. – С. 82-87.
9. Хельсинская декларация Всемирной медицинской ассоциации // Морфология. – 2010. – Т. IV, № 2. – С. 69-72.
10. Chu L., Zweier J., Hao H. et al. Exogenous nitric oxide increases the expression of Oct-4 and may modify bone marrow stem cell differentiation into endothelial cells in vitro // JACC. – 2007. – Vol. 49, №401. – P. 1026-1029.
11. Deanfield J. E., Halcox J. P., Rabelink T. J. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance // Circulation. – 2007. – Vol. 115. – P. 1285-1295.
12. Jialal I., Devaraj S. Antioxidants and Atherosclerosis Don't Throw Out Baby With the Bath Water // Circulation. – 2003. – Vol. 107. – P. 926-928.
13. Lev E. I., Estrov Z., Aboulfatova K. et al. Potential role of activated platelets in homing of human endothelial cells to subendothelial matrix // Thromb. Haemost. – 2006. – Vol. 96. – P. 498-504.

14. Nishiwaki Y., Yoshida M., Iwaguro H. et al. Endothelial E-selectin potentiates neovascularization via endothelial progenitor cell-dependent and – independent mechanisms // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2007. – Vol. 27. – P. 512-518.
15. Thum T., Fraccarollo D., Schultheiss M. et al. Endothelial nitric oxide synthase uncoupling impairs endothelial progenitor cell mobilization and function // *Diabetes.* – 2007. – Vol. 56. – P. 666-674.