

МАРКЕРЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ ПРИЗНАК ТЕЧЕНИЯ ВНУТРИСЕРДЕЧНОГО ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА

Асташев П.Е., Гудымович В.Г.

Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И. Пирогова

УДК: 611.018.74-008.6:616.12.9-036

Резюме

Представлены результаты исследования маркеров эндотелиальной дисфункции (ЭД) у 35 пациентов с приобретенными пороками сердца, из них 23 – с инфекционным эндокардитом. Оценка ЭД выполнялась до операции, непосредственно после и через 10–12 дней после хирургического вмешательства. Полученные данные свидетельствуют о выраженной ЭД у пациентов с инфекционным эндокардитом (ИЭ). После операции происходит резкое увеличение маркеров ЭД в обеих группах. У пациентов с ИЭ при адекватной санации и антибактериальной терапии нормализация показателей функции эндотелия происходит после 12–15 суток.

Ключевые слова: инфекционный эндокардит, ангиогенный сепсис, пороки сердца, эндотелий, эндотелиальная дисфункция.

MARKERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION AS A PROGNOSTIC SIGN OF INTRACARDIAC INFECTIOUS FLOW PROCESS

Astashev P.E., Godymovich V.G.

The results of studies of markers of endothelial dysfunction (ED) in 35 patients with acquired heart defects, including 23 with infective endocarditis, have been presented. ED evaluation has been performed before surgery, immediately after and 10–12 days after surgery. The obtained data indicate severe endothelial dysfunction in patients with infective endocarditis (IE). After surgery, there is a sharp increase in markers of ED in both groups. In patients with IE with adequate sanitation and antimicrobial therapy, normalization of endothelial function occurs after 12–15 days.

Keywords: infective endocarditis, angiogenic sepsis, heart (valvular) disease, endothelium, endothelial dysfunction.

Решающее значение в патогенезе внутрисердечной инфекции имеет сочетание микробной инвазии с наличием деструкции эндокарда, причем экспериментальные данные свидетельствуют, что даже такое минимальное повреждение, как катетеризация сердца, длящаяся всего несколько минут, делает эндокард чувствительным к микробной агрессии в течение многих дней [7, 8]. Выделяют три основных патогенетических момента: подготовка клапанов к микробной адгезии (т.е. их травматизация); адгезия, т.е. фиксация микроорганизмов в зоне поврежденного эндокарда; выживание этих микроорганизмов. Безусловно, огромное значение имеет прежде всего повреждение эндотелия вследствие каких-либо факторов. Важным патогенетическим аспектом возникновения первичного инфекционного эндокардита (ИЭ) может быть развитие эндотелиальной дисфункции (ЭД). К этому виду повреждения может быть отнесен и иммунокомплексный механизм повреждения эндокарда, встречающийся при различных инфекционных и инфекционно-аллергических заболеваниях [5, 7, 9].

Локализация септического очага непосредственно в кровеносном русле является основной и принципиально важной особенностью, определяющей патогенетическую сущность, клиническую картину и прогноз заболевания. При этом поступление микроорганизмов и их токсинов в кровоток, минуя биологические барьеры, с одной стороны, обуславливает снижение критической дозы инфекционного агента, необходимой и достаточной для генерализации инфекции, а с другой стороны, обеспечивает сокращение временного интервала от момента возникновения первичного очага до появления развернутой картины сепсиса [2, 6]. Именно повреждение эндотелия

с развитием ЭД может служить одним из факторов генерализации инфекции и развития ангиогенного сепсиса. Однако эта сторона патофизиологических механизмов развития ангиогенного сепсиса и ИЭ как одного из его тяжелых проявлений изучена в настоящее время недостаточно.

Цель исследования

С целью оценки значения ЭД и характера патологических изменений со стороны реакции эндотелия мы изучили динамику ряда маркеров ЭД у больных ИЭ и у пациентов без признаков внутрисердечной инфекции и развернутой картины ангиогенного сепсиса.

Методы исследования

В настоящем исследовании изучены результаты комплексного клинического обследования 35 пациентов с приобретенными пороками сердца, находившихся на лечении в Национальном центре грудной и сердечно-сосудистой хирургии им. Святого Георгия НМХЦ им. Н.И. Пирогова в период с 2008 по 2010 годы.

Возраст пациентов колебался от 24 до 72 лет и в среднем составил $32,6 \pm 14,8$ года.

По нозологическим формам пациенты были разделены на основные группы:

I (основная) группа (n=23) – пациенты с ИЭ;

II (контрольная) группа (n=12) – пациенты с приобретенными пороками неинфекционной этиологии.

Среди пациентов с ИЭ средний возраст составил $37,0 \pm 13,7$ года, из них с первичным ИЭ – 72,7%, со вторичным ИЭ – 27,3%.

Всем пациентам выполнена оперативная коррекция порока сердца. С целью коррекции нарушений внутри-

сердечной гемодинамики всем пациентам выполняли санацию камер и протезирование пораженных клапанов сердца (использовали протезы «МЕДИНЖ», «РОСКАР-ДИКС»). Все вмешательства осуществляли в условиях искусственного кровообращения и фармакохолодовой кардиopleгии с общей гипотермией 28–29° С.

Больным определяли показатели, отражающие функциональное состояние эндотелия сосудов: количество десквамированных эндотелиоцитов (ДЭ) в крови. Определение количества ДЭ в плазме проводилось по методу J. Hladovec (1973). Кровь, полученную путем пункции локтевой вены, в объеме 5 мл отбирали в пробирку и стабилизировали 3,8%-ным раствором цитрата натрия в соотношении 9:1. Тромбоцитарную массу отделяли путем центрифугирования (1000 оборотов, 10 минут). Тромбоциты осаждали с помощью раствора АДФ из расчета 0,4 мл раствора на 1 мл супернатанта путем перемешивания полученной смеси в течение 10 минут и последующего центрифугирования (1000 оборотов, 15 минут). Бестромбоцитарную плазму осторожно отделяли от тромбоцитов и центрифугировали (1000 оборотов, 20 минут). Надосадочную жидкость сливали. К осадку добавляли 0,1 мл 0,9%-ного раствора хлорида натрия, а затем его осторожно отделяли стеклянной палочкой от стенок и дна пробирки. Подсчет числа ДЭ проводили под микроскопом в камере Горяева (не менее двух измерений) (рис. 1)

При количестве эндотелиоцитов от 6 до 10 клеток степень повреждения стенок сосудов расценивали как умеренную, от 11 до 25 – как среднюю, а от 26 и выше – как выраженную. Также определяли концентрацию фактора Виллебранда методом иммуноферментного анализа с использованием моноклональных антител, уровень фибриногена плазмы крови – гравиметрическим методом [3]. С целью оценки функции эндотелия всем больным в утренние часы до очередного приема антиангинальных препаратов была выполнена проба с постокклюзионной вазодилатацией (ПОВД) плечевой артерии (ПА)



Рис. 1. Эндотелиоциты в камере Горяева

(рис. 2, 3). В ходе проведения пробы каждому пациенту было выполнено 2 измерения диаметра ПА: исходно в покое, на пике реактивной гиперемии (РГ). Измерение ПА выполняли на ультразвуковой системе SSA-550A n237700-13859 (TOSHIBA MEDICAL SYSTEMS, Япония) в режиме двумерного ультразвукового сканирования датчиком с частотой 7,5 МГц. По результатам измерений рассчитывали процент расширения ПА в ответ на РГ. Признаком умеренной ЭД считали расширение ПА менее 10% [11]. Признаком выраженной дисфункции эндотелия считали сужение диаметра ПА.

Проба с РГ проводилась по методике D.S. Celermajer (1992) в модификации О.В. Ивановой (1997). ПА лоцировали в продольном сечении на 2–5 см выше локтевого сгиба, изображение синхронизировали с зубцом R ЭКГ. Диаметр артерии измеряли в В-режиме от ближней до дальней границы кровь – стенка сосуда, что соответствует линии интима-медиа стенки артерии. После измерения диаметра ПА в покое проводили пробу с РГ. На плечо выше места визуализации накладывали манжету сфигмоманометра и создавали в ней давление, на 50 мм рт. ст. превышающее систолическое артериальное давление. Ок-

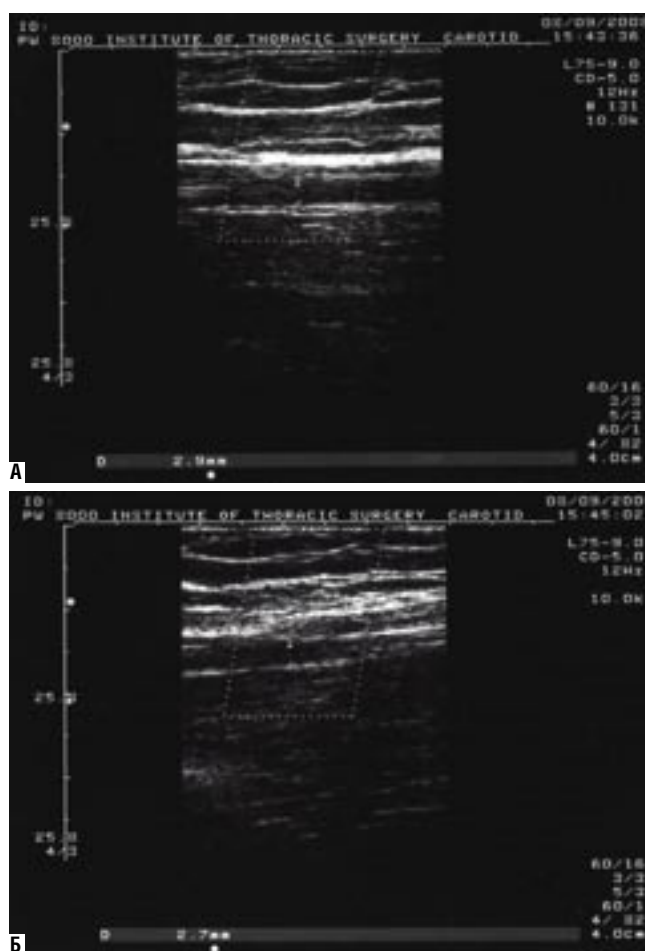


Рис. 2. Результаты пробы с постокклюзионной вазодилатацией у пациента с выраженной ЭД. А – диаметр плечевой артерии до пережатия 2,9 мм. Б – диаметр плечевой артерии после пережатия 2,7 мм

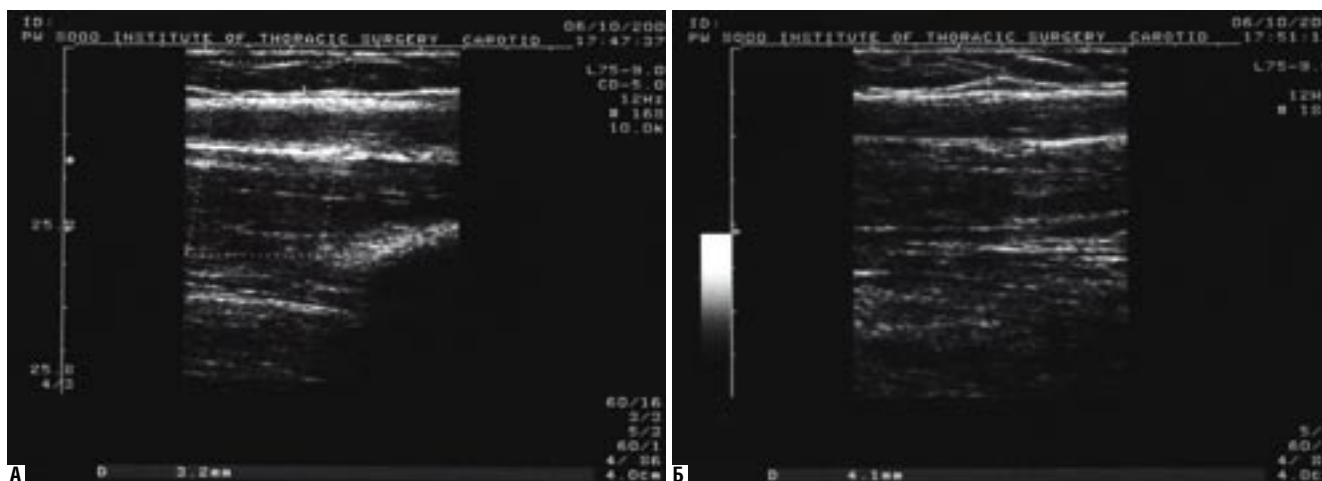


Рис. 3. Результаты пробы с постокклюзионной вазодилатацией у пациента с нормальной функцией эндотелия. А – диаметр плечевой артерии до пережатия 3,2 мм; Б – диаметр плечевой артерии после пережатия 4,1 мм

клюзия артерии длилась 1,5 минуты. Через 30–60 секунд после декомпрессии манжеты, что соответствует пику РГ, измерение диаметра ПА повторяли.

Анализ состояния функции эндотелия у больных ИЭ до операции проводили по данным исследования маркеров ЭД в венозной крови, результатам оценки постокклюзионной вазодилатации ПА. Полученные показатели сравнивали с данными контрольной группы. В таблице 1 представлены параметры ЭД и состояния свертывающей системы в зависимости от локализации инфекционного процесса в сердце.

Таким образом, в группе больных ИЭ отмечено статистически значимое повышение количества ДЭ в крови вне зависимости от локализации инфекционного процесса, что, вероятно, свидетельствует о выраженном повреждении сосудистой стенки и, в частности, эндотелиальной выстилки.

При статистическом анализе t-критерий составил 2,8, что свидетельствует о значимой разнице в количестве ДЭК в исследуемой и контрольной группах (рис. 4).

Преобладание вазоконстрикции в группе больных ИЭ свидетельствует о нарушении синтеза NO в сосудистой стенке и регуляции сосудистого тонуса. Следовательно, можно считать доказанной выраженность ЭД у пациентов с ИЭ по сравнению с контрольной группой.

В качестве примера приведем клиническое наблюдение.

Больной Р. поступил во 2-е кардиохирургическое отделение НЦГССХ им. Св.Георгия для хирургического лечения с диагнозом: Хроническая ревматическая болезнь сердца. Недостаточность МК III ст. ИБ, стенокардия II ФК. Артериальная гипертензия 3 ст. риск 4. НК IIа. Подагра.

При ЭхоКГ выявлены признаки митрального порока с увеличением левого предсердия до 5,0 см, отрывом хорд к задней створке МК, регургитацией на МК 3 степени (рис. 5).

Табл. 1. Эндотелиальная дисфункция у больных ИЭ до операции

Группы	ИЭ АК*	ИЭ МК**	Сочетанное поражение нескольких клапанов	Контрольная группа
Показатели				
ДЭ	$1,93 \pm 0,6 \times 10^5$	$1,43 \pm 0,7 \times 10^5$	$2,2 \pm 0,3 \times 10^5$	$9,2 \pm 7 \times 10^4$
ПОВД	$-5,2 \pm 8,7$	$-3,5 \pm 8,5$	$-10 \pm 5,6$	$5,9 \pm 6,2$

Примечание: * АК – аортальный клапан; ** МК – митральный клапан.

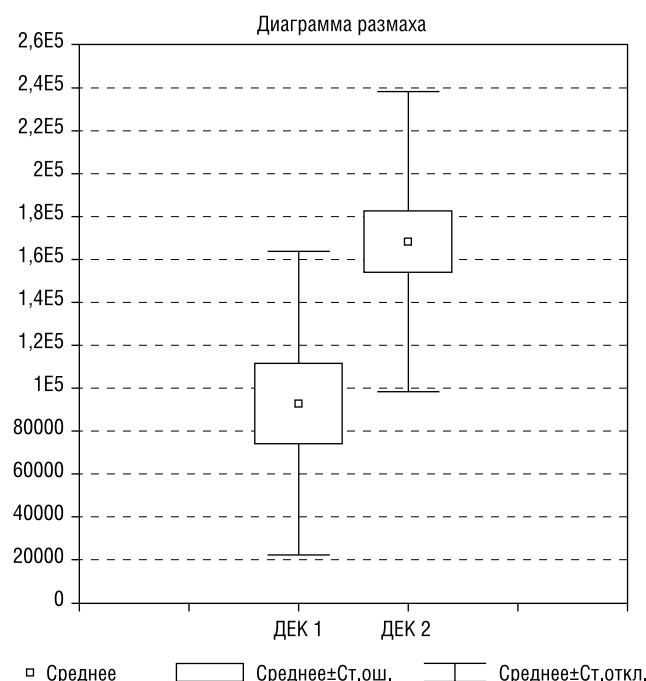


Рис. 4. Сравнение количества ДЭК в контрольной и исследуемой группах

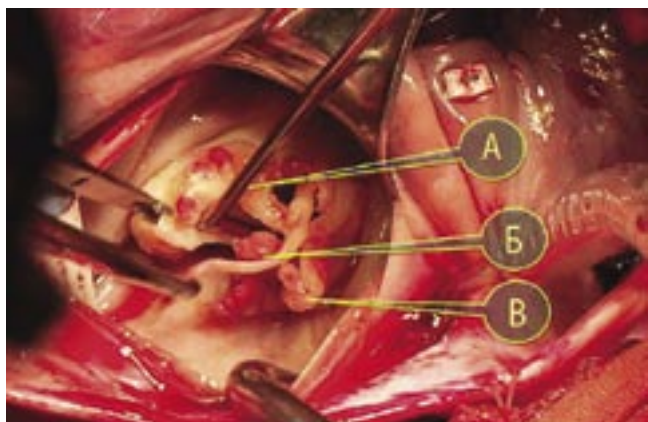


Рис. 5. Интраоперационный вид пораженного МК у больного Р. (А – вегетации; Б – отрыв хорды; В – вскрывшийся абсцесс)

Проведены исследования, направленные на оценку ЭД: ПОВД – выявлена вазоконстрикция (13%), ДЭК $1,8 \times 10^5$ клеток, фибриноген 4,06 г/л.

Интраоперационно выявлены признаки перенесенного ИЭ: рубцово-язвенные изменения задней и передней створок с наличием множества мелких вегетаций, а также вскрывшаяся полость абсцесса в ее основании, отрыв опорных хорд к задней створке МК. Кроме того, обнаружено расщепление передней створки на 2/3 ее ширины. Пациенту выполнена операция – санация камер сердца и протезирование МК механическим протезом МедИнж-27 в условиях ИК, ФХКП.

После операции установлен диагноз: ВПС: трехстворчатый МК. Вторичный ИЭ, ремиссия. Недостаточность митрального клапана 3 ст. ИБС стенокардия II ФК. Артериальная гипертензия 3 ст. риск 4. НК II а.

Послеоперационный период протекал гладко. Пациент выписан под наблюдение по месту жительства. При исследовании маркеров ЭД перед выпиской отмечена их нормализация (ПОВД – вазодилатация 7%, ДЭК $2,3 \times 10^4$ клеток, фибриноген 2,4 г/л).

Данный клинический пример демонстрирует диагностическую ценность определения ЭД в предоперационном периоде, так как установление диагноза ИЭ позволяет более четко определиться с тактикой планируемой операции, а также раньше назначить препараты, обладающие эндотелиопротективной активностью, и антибактериальную терапию.

Установлено, что выраженность ЭД зависит от варианта течения ИЭ [1]. Однако только длительностью нахождения повреждающего фактора в сосудистом русле и истощением защитных резервов эндотелия разницу в выраженности ЭД объяснить не удастся.

В своем исследовании Аль-Ганади (2008) показал, что при остром и молниеносном течении ИЭ ЭД более выражена, чем при хроническом [5].

В нашем исследовании ЭД у пациентов с разными формами ИЭ распределилась аналогичным образом. Зависимость показателей ЭД от форм ИЭ представлена в таблице 2.

Табл. 2. Эндотелиальная дисфункция в зависимости от формы ИЭ

	Острое течение	Хроническое вялотекущее
ДЭК	$1,7 \pm 0,7 \times 10^5$	$1,6 \pm 0,7 \times 10^5$
ПОВД	$-6,4 \pm 9$	$-3,5 \pm 6$

В контрольной группе пациентов также отмечено некоторое повышение маркеров ЭД (табл. 3).

Табл. 3. Дисфункция эндотелия в контрольной группе

	ДЭК, 10^4 /л	Вазодилатация
Контрольная группа	$9,2 \pm 7 \times 10^4$	$5,9 \pm 6,2$
Норма 1	$2-4 \times 10^4$ *	$10-12$ *

Примечание: * – по данным Петрищева Н.Н., 2003 [3].

Контрольная группа представлена пациентами с различными пороками сердца: 80% – ревматические пороки, 20% – различные врожденные пороки сердца. В таблице 4 представлено распределение показателей ЭД в контрольной группе в зависимости от этиологии порока.

Табл. 4. Показатели ЭД в контрольной группе пациентов

	ДЭК	Вазодилатация
ВПС	$9,2 \pm 8,6 \times 10^4$	$5,3 \pm 10$
Ревматическая болезнь сердца	$9,3 \pm 7 \times 10^4$	$6 \pm 5,4$

ЭД у пациентов контрольной группы с врожденными пороками сердца, по-видимому, связана с сердечной недостаточностью. Также одним из факторов повреждения эндотелия может быть турбулентный ток крови [3]. Повышение маркеров ЭД у больных ревматизмом, вероятно, связано с повышением метаболической активности нейтрофилов.

Влияние санирующей операции на функцию эндотелия

Всем исследуемым пациентам выполнено оперативное вмешательство, включавшее в обязательном порядке санацию камер сердца. В двух случаях зарегистрирован летальный исход в раннем послеоперационном периоде, в остальных случаях после нахождения в отделении реанимации ($3 \pm 2,3$ сут.) пациенты были переведены в профильное отделение, где получали плановую терапию.

На 3–5 сутки после операции пациентам повторно выполняли исследование маркеров ЭД. В раннем послеоперационном периоде отмечено повышение всех маркеров ЭД (табл. 5, рис. 6).

Табл. 5. Сравнительный анализ дисфункции эндотелия до и после операции

	Постокклюзионная вазодилатация	Десквамированные эндотелиоциты
Группа ИЭ до операции	$-4,7 \pm 8$	$1,68 \pm 0,7 \times 10^5$
Контрольная группа	$5,9 \pm 6,7$	$8,2 \pm 5 \times 10^4$
Группа ИЭ после операции	$-5,87 \pm 5$	$1,97 \pm 0,5 \times 10^5$

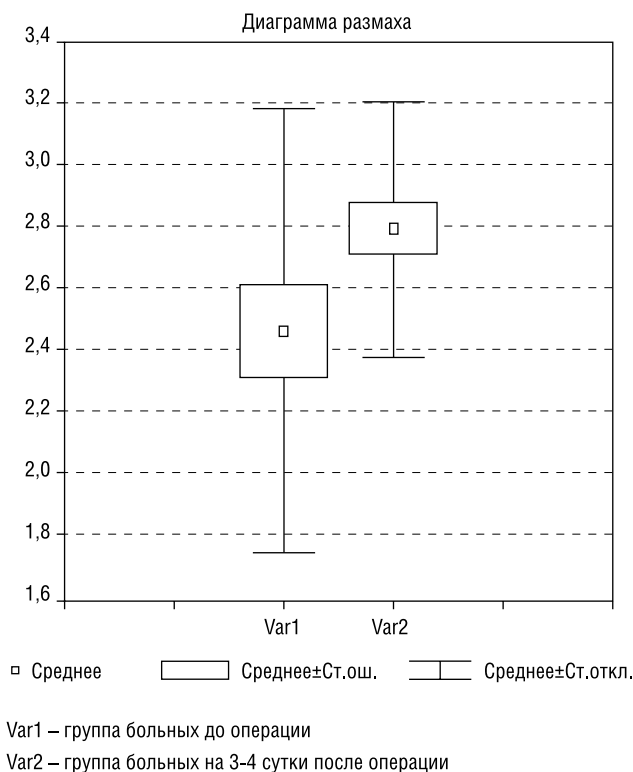


Рис. 6. Увеличение показателей дисфункции эндотелия на 3–5 сутки после операции

Также при анализе распределения пациентов по выраженности дисфункции эндотелия отмечается сдвиг распределения в сторону выраженной ЭД. Для оценки изменения использован критерий Вилкоксона, который в исследуемой группе составил $P=0,033$, что соответствует статистически значимому ухудшению функции эндотелия.

В контрольной группе также отмечено возрастание маркеров эндотелиальной дисфункции по сравнению с дооперационным этапом (табл. 6).

По-видимому, усиление ЭД связано с повреждающим воздействием на эндотелий искусственного кровообращения, а также агрессивным воздействием на сосудистую стенку ряда веществ (катехоламинов, антибактериальных препаратов) в сочетании с неблагоприятным воздействием веществ провоспалительного плана, концентрация которых возрастает после операции.

Ряду пациентов ($n=12$) маркеры ЭД были исследованы в более отдаленные сроки – на 12–15 суток после операции. Оказалось, в эти сроки ситуация меняется

Табл. 6. Показатели ЭД после операции в контрольной группе больных

	Постокклюзионная вазодилатация	Десквамированные эндотелиоциты
Контрольная группа до операции	$5,9 \pm 6,6$	$9,3 \pm 7,2 \times 10^4$
Контрольная группа после операции	$4,1 \pm 6,2$	$1,1 \pm 1,4 \times 10^5$

коренным образом с выраженной тенденцией к нормализации показателей функции эндотелия (табл. 7).

Табл. 7. Показатели ЭД у больных ИЭ через 12–15 суток после операции

	ПОВД	ДЭ
Группа ИЭ до операции	$-4,7 \pm 8,3$	$1,7 \pm 0,6 \times 10^5$
Группа ИЭ, 3–5 сут. после операции	$-5,9 \pm 5,8$	$1,97 \pm 0,57 \times 10^5$
Группа ИЭ, 12–15 сут. после операции	$-2,1 \pm 3,8$	$4,6 \pm 1,1 \times 10^4$

Таким образом, у больных ИЭ в предоперационном периоде наблюдается стойкое нарушение функции эндотелия, вероятно, имеющее определенное значение в патогенезе ИЭ как одной из форм ангиогенного сепсиса. В первые сутки после операции наблюдается усиление ЭД, что, по-видимому, связано с повреждением эндотелия во время кардиохирургической операции, искусственного кровообращения, и вызвано системным воспалительным ответом – неспецифической реакцией, развивающейся в ответ на повреждающие факторы. Однако уже к 12–15 суткам после операции функциональное состояние эндотелия больных ИЭ значительно улучшается, хотя и не достигает нормального состояния. Десквамированные эндотелиоциты являются наиболее специфичным маркером ЭД и могут, таким образом, служить показателем эффективности санлирующей операции. Динамика изменения функции эндотелия представлена на рис. 7.

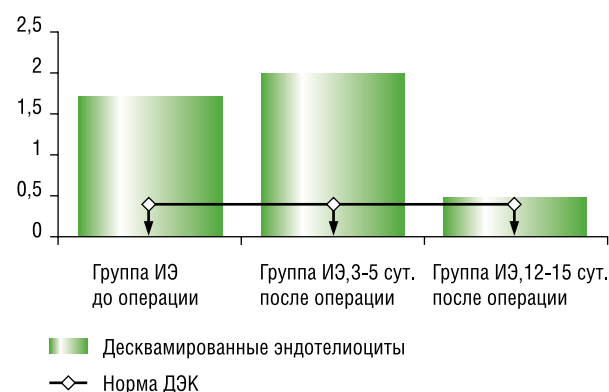


Рис. 7. Динамика изменения ДЭК

ПОВД также очень точно отражает состояние функции эндотелия и с учетом простоты и невысокой себестоимости данного метода может быть предложена как критерий выбора для оценки эффективности хирургического лечения больных ИЭ (рис. 8).

Выводы

1. Наличие внутрисердечного очага инфекции является фактором, повреждающим эндотелий и приводящим к ЭД.
2. В раннем послеоперационном периоде происходит повышение уровня всех маркеров ЭД вне зависимости

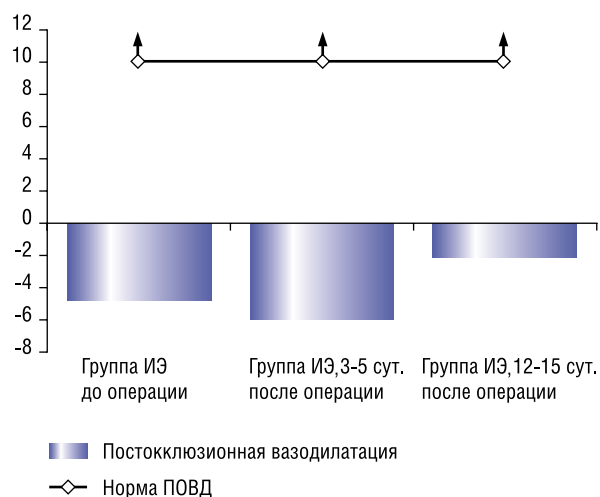


Рис. 8. Динамика изменения ПОВД

от характера патологии, что, по-видимому, связано с повреждающим воздействием на эндотелий операции и искусственного кровообращения. Это диктует необходимость усиленной профилактики инфекционных осложнений и назначения эндотелиопротекторов именно в этот период.

3. При радикальной санации очага инфекции происходит снижение показателей ЭД в сроки 12–15 суток после выполнения операции.
4. Нарастание маркеров ЭД в послеоперационном периоде наряду с клиническими проявлениями может служить первым сигналом о развитии ИЭ протеза клапана.

Литература

1. Аль-Ганади Абудар Абдо. Значение исследования экспрессии CD59 в оценке активности воспалительного процесса у больных инфекционным эндокардитом // Сборник тезисов межгородской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии» — СПб., 2007. — С. 5.
2. Белобородов В.Б., Белокрылинская И.Ю. Сепсис: Что делать? // Медицина для всех. — 1998. — Т. 11, № 5. — С. 5–10.
3. Петрищев Н.Н. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция / Под. ред. Н.Н. Петрищева. — СПб: Изд-во СПбГМУ, 2003. — 184 с.
4. Поливода С.Н., Черепок А.А., Сычев Р.А. Влияние амлодипина на функцию эндотелия у больных с гипертонической болезнью: клинические эффекты и патофизиологические механизмы // Укр. кардіол. журн. — 2007. — № 4. — С. 46–49.
5. Тюрин В.П. Инфекционный эндокардит: современное течение, диагностика и лечение: Автореф. дис. докт. мед. наук. — М., 1998. — 48 с.
6. Ханджян А.М. Связь внутриклеточной инфекции и дисфункции эндотелия с кардиоваскулярными событиями у больных сердечно-сосудистой патологией / Автореф. дис.... канд. мед. наук. — СПб., 2008. — 20 с.
7. Шевченко Ю.Л. Хирургическое лечение инфекционного эндокардита. — СПб.: Наука, 1995. — 230 с.
8. Azurna H., Ishikawa M., Sekizaki S. Endothelium-dependent inhibition of platelet aggregation. // Brit. J. Pharmacol. — 1986. — Vol. 88, № 3. — P. 411–415.
9. Bogdan C., Röllinghoff M., Diefenbach A. The role of nitric oxide in innate immunity // Immunol. Rev. — 2000. — Vol. 173, № 1. — P. 17–26.
10. Hladovec J. Circulating endothelial cells as a sign of vessel wall lesions // Physiol. Bohemoslov. — 1978. — Vol. 27, № 2. — P. 140–144.
11. Vogel R.A. Head and hearts: the endothelial connection. // Circulation. — 2003. Vol. 107, № 22. — P. 2766–2768.

Контактная информация

Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова
105203, г. Москва, ул. Нижняя Первомайская, 70
e-mail: nmhc@mail.ru