

ОСОБЕННОСТИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ АЛКОГОЛИЗМОМ

А.М. Корякин, Л.А. Ещёва, Л.А. Дементьева, А.В. Екимовских, В.М. Коваленко

ГОУ ДПО Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей Росздрава
E-mail: rgkuz@online.nkz.ru

THE FEATURES OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN CHRONIC ALCOHOLISM

A.M. Koryakin, L.A. Eshchyova, L.A. Demytyeva, A.V. Ekimovskikh, V.M. Kovalenko

Novokuznetsk Institute of Continuing Medical Education

Эндотелиальную дисфункцию изучали у 34 больных хроническим алкоголизмом. Оксид азота (NO) определяли в плазме крови ферментативным фотометрическим методом набором реактивов фирмы "BCM Diagnostics", США. Эндотелин-1 (ЭТ-1) исследовали твердофазным методом набором реагентов "Biomedica", Австрия. Эндотелийзависимую вазодилатацию исследовали по методике D. Celermajer с соавт. Выявили повышение уровня оксида азота и эндотелина-1 у 76,5% больных хроническим алкоголизмом, у 8,8% больных одновременное снижение уровня оксида азота и эндотелина-1, у 5,9% больных снижен уровень оксида азота и повышен эндотелина-1. В исходном состоянии диаметр плечевой артерии у больных хроническим алкоголизмом не отличается от здоровых. В потокзависимой вазодилатации увеличение диаметра плечевой артерии составило 6%, что ниже, чем у здоровых ($p=0,012$). У 20,6% больных зарегистрировано уменьшение диаметра плечевой артерии. Показатель чувствительности эндотелия плечевой артерии к напряжению сдвига снижен у больных хроническим алкоголизмом, ($p<0,001$). Полученные результаты свидетельствуют об эндотелиальной дисфункции у больных хроническим алкоголизмом.

Ключевые слова: оксид азота, эндотелин-1, эндотелийзависимая вазодилатация, эндотелиальная дисфункция.

Endothelial dysfunction was studied in 34 patients with chronic alcoholism. The concentration of nitric oxide (NO) in blood serum was defined by enzymatic photometric method using a set of firm "BCM Diagnostics" reagents, USA. Endothelin-1 (ET-1) was examined by solid-phased method using "Biomedica" set of reagents, Austria. Endothelium vasodilatation was investigated by D. Celermajer's and coauthors' technique. They have revealed elevated levels of NO and ET-1 in 76.5% patients with chronic alcoholism and simultaneous decrease in level of NO and ET-1 in 8.8% patients, decrease in level of NO and increase of ET-1 in 5.9% patients. In the initial state the diameter of a humeral artery in patients with chronic alcoholism doesn't differ from healthy ones. In flow-dependent vasodilatation the increase in diameter of a humeral artery was 6% ($p=0.012$), what is lower, than in healthy ones. The decrease of a humeral artery diameter has been registered in 20.6% patients. The sensitivity indicator of endothelin of a humeral artery to pressure of shift is lowered in patients with chronic alcoholism ($p<0.001$). The received results testify to endothelial dysfunction in patients with chronic alcoholism.

Key words: nitric oxide, endothelin-1, endothelium vasodilatation, endothelial dysfunction.

Введение

В последние годы в России смертность от алкоголь-зависимой патологии вышла на третье место, уступая лишь сердечно-сосудистым заболеваниям и злокачественным новообразованиям [5]. При хронической алкогольной интоксикации в эндотелии мелких сосудов отмечаются как дистрофические, так и атрофические изменения [6], что клинически может проявляться эндотелиальной дисфункцией. На сегодняшний день эндотелиальная дисфункция присутствует в патогенезе практически любого сердечно-сосудистого заболевания. В физиологическом состоянии эндотелий поддерживает сосудистый тонус и структуру сосуда синтезом и выделением противоположных факторов, расширяющих и суживающих сосуды. Оксид азота (NO) является основным эндогенным вазодилататором [9].

Турбулентное движение крови вызывает активацию эндотелиальной синтетазы оксида азота (e-NOS), увеличивает продукцию оксида азота и расслабление мышечного слоя сосудов. Эндотелин-1 относится к основным эндогенным вазоконстрикторам. Большая часть (70–75%) его секретируется эндотелиальными клетками в направлении гладкомышечных клеток сосудистой стенки. Главным стимулом образования и секреции эндотелина являются гипоксия, ишемия или острый стресс. В физиологических концентрациях эндотелин-1 действует на эндотелиальные рецепторы, вызывая высвобождение факторов релаксации, а в высоких концентрациях активирует рецепторы гладкомышечных клеток, стимулируя вазоконстрикцию и пролиферацию меди. Высокий уровень эндотелина-1 в плазме наблюдается при различных состояниях: артериальной гипертензии, ишемии, после трансплантации органов. В эксперименте на крысах хроническое потребление спирта приводило к повышению уровня эндотелина-1, что способствовало вазоконстрикции изолированных артерий [15]. У сильно пьющих алкоголиков через 2 недели после воздержания от приема алкоголя в крови и клетках эндотелия оставались повышенными уровень оксида азота и эндотелина-1 [13]. Низкие дозы алкоголя оказывают благоприятный эффект на эндотелиальную функцию, высокие дозы индуцируют эндотелиальную дисфункцию [13]. В настоящее время к наиболее доступным методам исследования эндотелиальной дисфункции относятся методика оценки функционального состояния эндотелия по вазомоторному ответу плечевой артерии на реактивную гиперемии (РГ) и определение уровня оксида азота, эндотелина-1 в крови. В отечественной литературе отсутствуют работы по комплексному исследованию дисфункции эндотелия у больных хроническим алкоголизмом.

Цель исследования: изучение вазорегулирующей функции эндотелия по содержанию в крови оксида азота, эндотелина-1 и в пробе с реактивной гиперемией и нитроглицерином у больных хроническим алкоголизмом.

Материал и методы

Обследованы 34 больных хроническим алкоголизмом в возрасте от 28 до 42 лет, медиана – 38,0 (34,0–40,0) лет, со “стажем” алкоголизации от 5 до 20 лет, медиана –

12,0(10,0–15,0) лет. Все больные курящие, длительность курения – 19 (15,2–23,0) лет.

Критериями исключения из исследования были наличие острых инфекционных и хронических соматических заболеваний, артериальной гипертензии. Кровь для исследования забиралась не ранее, чем через 24 ч после употребления алкоголя, с исключением из рациона экзогенных нитратов.

Контрольную группу составили 20 здоровых мужчин, сопоставимых по возрасту – медиана 36,0 (29,5–39,5) лет; $p=0,47$, не злоупотребляющих алкоголем, курящих. Длительность курения – 16 (2,0–11,0) лет. Статистически значимого различия стажа курения здоровых и больных не выявлено ($p=0,15$).

Оксид азота определяли по суммарному количеству его стабильных метаболитов – нитратам и нитритам в депротеинизированной плазме крови ферментативным фотометрическим методом с использованием наборов реагентов фирмы “BCM Diagnostics”, США. Депротеинизацию плазмы осуществляли с помощью систем для депротеинизации биоматериалов фирмы “PALL”, США. Результаты выражали в мкмоль/л. Эндотелин-1 в плазме исследовали твердофазным иммуноферментным методом набором реагентов фирмы “Biomedica”, Австрия. Результаты выражали в фмоль/мл.

Эндотелийзависимую (ЭЗВД) и эндотелийнезависимую вазодилатацию (ЭНВД) исследовали с использованием проб потокзависимой вазодилатации и нитроглицериновой по методике Celermajer D. с соавт. [8]. Измерение плечевой артерии оценивали с помощью линейного датчика 7 МГц с фазированной решеткой ультразвуковой системы “Acuson 128 P10” (США). В исходном состоянии измерялись диаметр плечевой артерии и максимальная скорость артериального кровотока. ЭЗВД рассчитывали как разницу между максимальным диаметром плечевой артерии на фоне реактивной гиперемии (Dpr) и в покое (Дисх.), соотнесенную к диаметру в покое, и выражали в процентах по следующей формуле: $ЭЗВД = [(max Dpr - Дисх.) / Дисх.] \times 100$. Нормальной реакцией принято считать дилатацию артерии на фоне реактивной гиперемии более чем на 10% от исходного диаметра, меньшее ее значение или вазоконстрикция считается патологической.

Напряжение сдвига на эндотелий вычисляли по формуле: $\tau = 4\eta V/D$, где η – вязкость крови (в среднем 0,05 Пз), V – максимальная скорость кровотока, D – диаметр плечевой артерии.

Чувствительность плечевой артерии к напряжению сдвига рассчитывали по формуле: $K = (\Delta D/D_0) / (\Delta \tau / \tau_0)$, где ΔD и $\Delta \tau$ величины изменения диаметра плечевой артерии и напряжения сдвига до и после стимула [2].

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета программ Statistica 6.0. Проверка нормальности распределения осуществлялась методом Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилки. В случае отсутствия нормального распределения средних групповых количественных признаков применялся непараметрический метод Манна–Уитни. Оценка интенсивности корреляционной связи осуществлялась с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмена. Во всех процедурах

статистического анализа различия значений и корреляция считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Исследование выполнено с информационного согласия пациентов в соответствии с нормами Хельсинкской Декларации (2000).

Результаты и обсуждение

У 26 (76,5%) больных хроническим алкоголизмом в исходном состоянии повышен уровень оксида азота в крови по сравнению со здоровыми ($p=0,003$). У 3 (8,8%) больных одновременно снижен уровень оксида азота и эндотелина-1, уменьшен исходный диаметр плечевой артерии, прирост его в реактивной гиперемии был меньше среднего. У 2 (5,9%) со сниженным уровнем оксида азота и повышенным эндотелина-1 исходный диаметр плечевой артерии не отличался от среднего значения, однако прирост его в пробе с реактивной гиперемией был незначительным (таблица).

Известно, что низкие концентрации оксида азота обеспечивают защиту эндотелиальных клеток от повреждения, в то время как высокие концентрации в комбинации с реактивными метаболитами кислорода образуют токсический пероксинитрит, способный вызвать повреждение эндотелия и участвовать в реализации окислительного стресса [12]. Ранее нами показано повышение уровня и активности фактора Виллебранда как маркера повреждения сосудистого эндотелия у больных хроническим алкоголизмом [3]. Одним из механизмов увеличения уровня оксида азота является повышение активности эндотелиальной e-NOS. В эксперименте при обработке спиртом клеток эндотелия человека выявляли дозозависимое увеличение активности e-NOS и уровня оксида азота, причем высокие дозы этанола значительно уменьшали синтез оксида азота [11]. Длительное воздействие различных повреждающих факторов (гипоксия, воспаление, гемодинамические перегрузки и хроническая алкогольная интоксикация) приводят к истощению компенсаторной “дилатирующей” способности эндотелия и преимущественным “ответом” эндотелиальных клеток на обычные же стимулы становится вазоконстрикция и пролиферация [1].

У 26 (76,5%) больных хроническим алкоголизмом, по сравнению со здоровыми, повышен уровень эндотелина-1 в крови ($p < 0,001$). Выявлена положительная корреляция

оксида азота и эндотелина-1 ($r=0,48$; $p=0,006$), что подтверждает взаимосвязь этих вазоактивных факторов.

Известно, что функциональная перестройка эндотелия при воздействии патологических факторов проходит несколько стадий:

- I стадия – повышение активности клеток эндотелия (эндотелий работает как “биосинтетическая машина”);
- II стадия – нарушение сбалансированной секреции факторов, регулирующих тонус сосудов, систему гемостаза, процессы межклеточного взаимодействия. В этой стадии нарушается естественная барьерная функция эндотелия, повышается его проницаемость для различных компонентов плазмы;
- III стадия – истощение эндотелия, сопровождающееся гибелью клеток и замедлением процессов регенерации.

Согласно представленной классификации функциональной перестройки сосудистого эндотелия в исходном состоянии у 76,5% больных повышена оксид азота- и эндотелин-1 синтетическая функция сосудистого эндотелия, что соответствует I стадии функциональных нарушений. У 8,8% больных снижен уровень оксид азота и эндотелина-1, определяется истощение функциональной активности сосудистого эндотелия – III стадия.

Определенные трудности вызывает интерпретация термина “дисфункция эндотелия у больных хроническим алкоголизмом”. Дисфункция эндотелия – это, прежде всего, дисбаланс между продукцией вазодилатирующих, ангиопротективных, ангиопротективных факторов с одной стороны и вазоконстрикторных, протромботических, пролиферативных факторов – с другой [10]. В узком смысле эндотелиальная дисфункция ассоциирует со снижением уровня оксида азота и вазоконстрикцией. Однако у большинства больных хроническим алкоголизмом определяется гиперсекреция одновременно оксида азота и эндотелина-1 и отсутствует вазоконстрикция. В связи с этим логичнее называть выявленные нарушения вазорегулирующей функции у больных хроническим алкоголизмом эндотелиальной дисфункцией с повышенной секрецией оксида азота и эндотелина-1. У больных со сниженным уровнем оксида азота использовать общепринятый термин – дисфункция эндотелия.

Таким образом, у больных хроническим алкоголизмом имеется дисфункция сосудистого эндотелия, прояв-

Таблица

Показатели оксида азота, эндотелина-1 и пробы с реактивной гиперемией

Показатели	Основная группа		Контрольная группа		p
	n	Me(LQ-UQ)	n	Me(LQ-UQ)	
Оксид азота, ммоль/л	31	26,3 (21,3–34,3)	11	20,4 (15,5–22,6)	0,003
Эндотелин-1, фмоль/мл	31	0,68 (0,51–0,98)	11	0,35 (0,20–0,38)	<0,001
Исходный диаметр плечевой артерии, см	34	0,42 (0,38–0,46)	20	0,39 (0,36–0,43)	0,081
Потокзависимая вазодилатация, %	34	0,45 (0,4–0,49)	20	0,45 (0,4–0,48)	0,993
Потокзависимая дилатация, %	34	106 (110–114)	20	111,8 (107–118)	0,012
Дилатация на нитроглицерин, см	34	0,51 (0,48–0,56)	20	0,47 (0,44–0,51)	0,039
Скорость кровотока в ответ на реактивную гиперемию, %	34	126,0 (118–149)	20	136,5 (129,8–148,7)	0,281
Напряжение сдвига на эндотелий τ 1, дин/см	34	21,9 (18,0–25,7)	20	21,6 (18,5–24,3)	0,472
Чувствительность плечевой артерии к напряжению сдвига (К)	34	0,13 (0,12–0,52)	20	0,64 (0,38–1,04)	<0,001

Примечание: p – достигнутый уровень статистической значимости; n – количество обследуемых.

ляющаяся повышением уровня оксида азота и эндотелина-1 в крови. Этанол и продукты его метаболизма стимулируют синтез вазоактивных веществ эндотелиальными клетками. Однако, несмотря на увеличение уровня мощного вазодилатора оксида азота и мощного вазоконстриктора эндотелина-1, у больных хроническим алкоголизмом клинически не наблюдается ни системного, ни локального действия этих веществ: артериальное давление остается в пределах нормы, отсутствует симптоматика сердечно-сосудистых заболеваний. По-видимому, оксид азота и эндотелин-1 находятся в таких концентрациях, когда результирующий их эффект (сосудосуживающий или сосудорасширяющий) взаимно нейтрализуется. Вместе с тем у ряда больных оксид азота в повышенной концентрации может выполнять роль одного из многочисленных факторов повреждения сосудистого эндотелия с истощением секреции вазоактивных веществ.

Исследование вазорегулирующей функции эндотелия в пробе с реактивной гиперемией и нитроглицерином.

Исходный диаметр плечевой артерии у больных хроническим алкоголизмом не отличается от здоровых. Это подтверждает предположение о взаимной нейтрализации вазоактивного действия повышенного уровня оксида азота и эндотелина-1 в крови. Увеличение диаметра плечевой артерии в потокзависимой вазодилатации у больных хроническим алкоголизмом ниже, чем у здоровых, не превышает 6% ($p=0,012$), что свидетельствует о нарушении сосудорегулирующей функции эндотелия. Исходный диаметр плечевой артерии коррелирует с диаметром плечевой артерии и процентом его увеличения в эндотелийзависимой вазодилатации, соответственно ($r=0,38$; $p=0,028$; $r=0,35$; $p=0,043$). У 7 (20,6%) больных в пробе с реактивной гиперемией зарегистрировано уменьшение диаметра плечевой артерии. Причем у 6 (17,7%) больных в исходном состоянии определялась дилатация плечевой артерии. Уровень оксида азота и эндотелина-1 у этих больных был повышен. Следовательно в этой группе больных возникла парадоксальная вазоконстрикторная реакция плечевой артерии. Она свидетельствует о напряженном состоянии NO-секреторной функции сосудистого эндотелия и неспособности его адекватно реагировать на механический стимул потоком крови. У 1 (2,9%) больного исходно определялось уменьшение диаметра плечевой артерии при повышенном уровне оксида азота и сниженном эндотелина-1. При реактивной гиперемии диаметр плечевой артерии уменьшился. В данном случае также имеет место парадоксальная вазоспастическая реакция плечевой артерии.

Скорость кровотока в ответ на реактивную гиперемию увеличивалась в обеих группах без статистической достоверности. Известно, что при изменении скорости кровотока изменяется просвет крупных артерий: артерии расширяются при увеличении кровотока и суживаются при его уменьшении [7]. Одинаковая скорость кровотока вызывает разную реакцию плечевой артерии в исследуемых группах: у больных хроническим алкоголизмом недостаточную вазодилатацию, у здоровых – в пределах физиологической нормы. Эта регуляция диаметра артериальных сосудов является локальной. Доказано, что расширение артерии под действием ускоренного тока кро-

ви и соответственно повышенного напряжения сдвига вызвано выделением эндотелием вазорелаксирующих субстанций, в частности оксида азота.

Сила, действующая на движущиеся слои жидкости, которая преодолевает силу трения между ними и определяет скорость кровотока, обозначается как напряжение сдвига на эндотелий. Поскольку напряжение сдвига пропорционально произведению кровотока на вязкость крови, повышение либо вязкости крови, либо кровотока должно, увеличивая напряжение сдвига, вызывать расширение артерий [4]. Показатель напряжения сдвига у больных хроническим алкоголизмом не отличается от здоровых как в исходном состоянии, так и в пробе с реактивной гиперемией.

Чувствительность плечевой артерии к напряжению сдвига (K), то есть ее способность к вазодилатации, оказалась ниже у больных хроническим алкоголизмом ($p<0001$), коррелирует с процентом прироста диаметра плечевой артерии в эндотелийзависимой вазодилатации ($r=0,36$; $p=0,035$). Чем больше K, тем лучше регуляция тонуса артерии. Чувствительность артерий к скорости течения крови объясняет способность эндотелиальных клеток воспринимать действующее на них со стороны текущей крови напряжение сдвига, которое вызывает “сдвиговую” деформацию эндотелиальных клеток, воспринимаемую чувствительными к растяжению ионными каналами эндотелия, что ведет к увеличению содержания кальция в цитоплазме и выделению вазоактивных веществ, в частности оксида азота [7]. Этанол и продукты его метаболизма, по-видимому, снижают деформируемость эндотелиальных клеток, эффективность действия ионных каналов и “притупляют” механочувствительность эндотелиальных клеток.

В эндотелийнезависимой вазодилатации плечевая артерия дилатирована в большей степени у больных хроническим алкоголизмом ($p=0,039$), что указывает на повышенную чувствительность к нитроглицерину гладкомышечных клеток артерии.

Таким образом, у больных хроническим алкоголизмом определяется дисфункция сосудистого эндотелия, проявляющаяся одновременным повышением уровня оксида азота и эндотелина-1 у 76,5% больных, снижением уровня оксида азота и эндотелина-1 у 8,8% больных и снижением уровня оксида азота и повышением эндотелина-1 у 6,4%. Эндотелиальная дисфункция подтверждается потокзависимой вазодилатацией – определяется недостаточная дилатация плечевой артерии, что обусловлено снижением секреции оксида азота на механический стимул. У 20,6% больных выявляется парадоксальная вазоспастическая реакция.

Снижение реакции дилатации плечевой артерии в пробе с реактивной гиперемией, парадоксальная вазоспастическая реакция ее у части больных указывает на истощение синтеза оксида азота сосудистым эндотелием. Эндотелиальная дисфункция может служить основой формирования протромботических условий и способствовать развитию атеросклеротического поражения сосудов, что является непосредственной причиной возникновения сердечно-сосудистых осложнений у хронических алкоголиков.

Выводы

1. У больных хроническим алкоголизмом имеется эндотелиальная дисфункция, проявляющаяся повышением уровня оксида азота и эндотелина-1 в крови и недостаточной вазодилатацией плечевой артерии в пробе с реактивной гиперемией.
2. У 20,6% пациентов выявляется парадоксальная вазостатическая реакция плечевой артерии в пробе с реактивной гиперемией.
3. Определяется снижение чувствительности эндотелия плечевой артерии к напряжению сдвига.

Литература

1. Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т. Эндотелиальная дисфункция при сердечной недостаточности: возможности терапии ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента // Кардиология – 2001. – № 5. – С. 100–104.
2. Иванова О.В., Рогоза А.Н., Балахонова Т.В. и др. Определение чувствительности плечевой артерии к напряжению сдвига на эндотелий как метод оценки состояния эндотелийзависимой вазодилатации с помощью ультразвука высокого разрешения у больных артериальной гипертензией // Кардиология. – 1998. – № 3. – С. 37–42.
3. Корякин А.М., Ещёва Л.А., Дементьева Л.А. Изменения сосудисто-тромбоцитарного гемостаза и фактора Виллебранда у больных опийной наркоманией и алкоголизмом II стадии в алкогольной абстиненции // Сибирский медицинский журнал (Томск). – 2010. – № 4, вып. 1. – С. 88–91.
4. Мелькумянц А., Балашов С.А., Хаютин В.М. Регуляция просвета магистральных артерий в соответствии с напряжением сдвига на эндотелий // Физиол. журн. – 1992. – № 6 – С. 70–78.
5. Пауков В.С., Ерохин Ю.А. Патологическая анатомия пьян-

ства и алкоголизма // Архив патологии. – 2004. – № 4. – С. 3–9.

6. Скворцов Ю.И. Поражение сердца при алкоголизме // Российский кардиологический журнал. – 2000. – № 5. – С. 41–44.
7. Хаютин В.М. Механорецепция эндотелия артериальных сосудов и механизмы защиты от развития гипертонической болезни // Кардиология. – 1996. – № 7. – С. 27–35.
8. Celermajer D.S., Sorensen K., Gooch V.M. et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and risk of atherosclerosis // Lancet. – 1992. – No. 340. – P. 1111–1115.
9. Dyke C.K., Proctor D.N., Dietz N.M. et al. Role of nitric oxide in exercise hyperemia during prolonged rhythmic handgripping in human // J. Physiol. Lond. – 1995. – No. 488 (Part 1). – P. 259–265.
10. Endemann D.H., Schiffrin E.L. Endothelial dysfunction // J. Am. Soc. Nephrol. – 2004. – No. 15. – P. 1983–1992.
11. Kuhlmann C.R., Li F., Ludders D.W. et al. Dose-dependent activation of Ca²⁺-activated K⁺ channels by ethanol contributes to improved endothelial cell functions // Alcohol. Clin. Exp. Res. – 2004. – No. 28. – P. 1005–1011.
12. McQuaid K.E., Keenan A.K. Endothelial barrier dysfunction and oxidative stress: roles for nitric oxide? // Exp. Physiol. – 1997. – Vol. 82, No. 2. – P. 369–376.
13. Puddey I.B., Zilkens R.R., Croft K.D., Beilin L.J. Alcohol and endothelial function: a brief review // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2001. – No. 28. – P. 1020–1024.
14. Stampfer M., Rimm E. Why heart disease mortality is low in France. Commentary: alcohol and dietary factor may be important // BMJ. – 1999. – No. 318. – P. 1476–1477.
15. Tirapelli C.R., Legos E., Brochu I. et al. Chronic ethanol intake modulates vascular levels of endothelin-1 receptor and enhances the pressor response to endothelin-1 in anesthetized rats // Br. J. Pharmacol. – 2008. – Vol. 154, No. 5. – P. 971–981.

Поступила 02.02.2011