

СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА В ПАТОГЕНЕЗЕ ФОРМИРОВАНИЯ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА

Альвар Альфредович Мустафин³, Леонид Михайлович Миролюбов^{2,3},
Рафина Рамазановна Нигматуллина¹

¹ Кафедра нормальной физиологии (зав. — проф. А.Л. Зефирова), ² кафедра детской хирургии (зав. — проф. Л.М. Миролюбов) Казанского государственного медицинского университета, ³ Детская республиканская клиническая больница (главрач — к.м.н. Е.В. Карпунин) МЗ РТ, г. Казань, e-mail: mustafinnn@mail.ru

Реферат

У детей с врожденным пороком сердца и легочной артериальной гипертензией выявлены повышенные уровни серотонина и 5-оксииндолуксусной кислоты в плазме крови. Отмечена корреляция между степенью легочной артериальной гипертензией и плазменной концентрацией 5-оксииндолуксусной кислоты.

Ключевые слова: серотонин, 5-оксииндолуксусная кислота, врожденные пороки сердца, легочная артериальная гипертензия.

Легочная артериальная гипертензия (ЛАГ) определяется как группа заболеваний, характеризующихся прогрессирующим повышением легочного сосудистого сопротивления (ЛСС), что ведёт к правожелудочковой недостаточности и преждевременной смерти. Средняя продолжительность жизни детей от момента постановки диагноза при естественном течении составляет 2–3 года. В 60% случаев дети умирают от сердечной декомпенсации или внезапно. ЛАГ развивается на фоне первичного легочного заболевания сосудов, врожденных или приобретенных пороков сердца, альвеолярной гипоксии. При всех этих состояниях происходят схожие обструктивные изменения в системе легочной микроциркуляции, что предполагает равнозначные патофизиологические процессы при всех заболеваниях, сопровождаемых ЛАГ [7].

Естественное подавление пролиферации эндотелиальных клеток сосудов и взаимодействие эндотелиальных с гладкомышечными клетками при ЛАГ нарушены. ЛАГ определяется таким образом как заболевание васкулярного ремоделирования, при котором утрачивается контроль за клеточной пролиферацией [20]. Патологические изменения при легочной гипертензии характеризуются гиперплазией интимы, гипертрофией меди,

пролиферацией адвентиции, облитерацией мелких артерий и иногда васкулитом. Трансплантация комплекса *сердце-легкие* в настоящее время является единственной возможностью предотвращения декомпенсации пациентов с ЛАГ. Ситуация неудовлетворительных результатов трансплантации, особенно при первичной ЛАГ, в совокупности с дефицитом донорских органов объясняет поиск во всем мире альтернативных методов лечения.

Нейрогормон серотонин (5-гидрокси-триптамин — 5-НТ) — представитель биогенных аминов, синтезируется серотонинергическими нейронами в ЦНС и на периферии клетками APUD системы кишечника. Содержание 5-НТ в плазме крови незначительно, основное депо — тромбоциты, где его концентрация в сотни раз выше [7, 10]. 5-НТ выделяется под влиянием стимулов, активирующих тромбоциты: тромбин, коллаген, сам 5-НТ. Активация тромбоцита обуславливает выброс серотонина, который через 5-НТ_{2A} рецептор, находящийся на мембране, приводит к активации функции других тромбоцитов [5]. На мембране эндотелиальных клеток, как и у тромбоцитов, имеется белок-переносчик (SERT), способный захватывать и накапливать серотонин в клетке. 5-НТ_{2A} рецептор опосредует митогенное действие на эндотелиальные клетки, а 5-НТ_{2B} рецептор — на гладкомышечные клетки сосудов. Хроническая агрегация тромбоцитов и накопление серотонина в местах сосудистого повреждения ведут к избыточной пролиферации эндотелия и гладкомышечных клеток, что служит неотъемлемым звеном артериальной гипертензии, атеросклероза, ишемической болезни сердца [17,18].

Основным органом, метаболизирую-

щим серотонин, является легкое. В эндотелиальных клетках сосудов легких под действием фермента моноаминоксидазы (МАО) серотонин превращается в 5-оксииндолуксусную кислоту (5-ОИУК), которая впоследствии выводится с мочой [8].

В нескольких предыдущих исследованиях предположена роль серотонина в патогенезе легочной гипертензии. Корреляцию между высокими уровнями серотонина и легочным сосудистым сопротивлением наблюдали сначала у пациентов с патологией тромбоцитов [9], а затем более чем у 80% больных с легочной гипертензией [6, 10, 12, 14]. Еще одним доказательством участия серотонина в патогенезе легочной гипертензии является эпидемия первичной легочной гипертензии в 90-х годах в Европе у группы пациентов, принимавших дериваты фенфлурамина, анорексического препарата, относящегося к группе блокатора обратного захвата серотонина [10]. Также выявлена зависимость между материнским использованием антидепрессантов — селективных блокаторов обратного захвата серотонина в конце III триместра беременности и риском развития персистирующей легочной гипертензии у новорожденных [19].

В недавних исследованиях на крысах французские ученые доказали, что 5-НТ_{2b} рецепторы и SERT участвуют в регуляции концентраций серотонина в плазме крови и показали, что у крыс, получавших 5-НТ_{2b} блокаторы, в отличие от контроля, не происходит формирования ЛАГ в условиях хронической гипоксии [4].

Таким образом, роль серотонина в патогенезе легочной гипертензии доказана, но не определена окончательно.

У детей с врожденными пороками сердца (ВПС) со значимыми лево-правыми шунтами ЛАГ прогрессирует с большой скоростью. На данном контингенте мы имеем возможность изучить ЛАГ в динамике развития и выявить её связь с активностью серотонинергической системы, что до сих пор не было сделано.

Цель исследования: определить концентрации серотонина и 5-ОИУК в плазме и тромбоцитах у детей с ВПС, оценить их связь со степенью ЛАГ.

47 пациентов в возрасте от 2 месяцев до 17 лет (средний возраст — 7,1 года) были подразделены на три группы: 1-я (21

чел.) — больные ВПС с ЛАГ (средний возраст — 5,6 года), 2-я (16) — с ВПС без ЛАГ (средний возраст — 7,4 года), 3-я (10) — контрольная (средний возраст — 8,3 года) — дети без ВПС.

Степень ЛАГ определяли по величине систолического давления в легочной артерии (ДЛА), по данным эхокардиографии, зондирования полостей сердца, послеоперационного инвазивного мониторинга давления в легочной артерии и регистрировали как процент систолического ДЛА от системного систолического АД. В 1-й группе ДЛА варьировала от 35 до 100% от системного АД (среднее 66,5%), во 2-й — от 18 до 33% (среднее 25,1%), в 3-й — от 14 до 27% (среднее 21%).

Взятие крови производили во время наркоза при стабильной гемодинамике, непосредственно перед оперативным вмешательством, у неоперируемых — утром, после сна, в положении лежа из заранее установленного катетера локтевой вены. Кровь в объеме 10 мл собирали в охлажденную льдом пластиковую пробирку, содержащую 50 мкл гепарина, и центрифугировали при температуре +4°C, 1000 об/мин в течение 10 минут. Надосадок (плазма, обогащенная тромбоцитами) центрифугировали при 3000 об/мин 15 мин для осаждения тромбоцитов. Плазма и тромбоциты в отдельных пробирках были заморожены при -80°C до момента исследования. Для определения концентраций серотонина и его метаболита был выбран метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, который является одним из самых эффективных методов разделения и анализа сложных смесей [1]. Для разделения и количественной оценки содержания серотонина и 5-ОИУК в плазме использовали хроматографическую систему с насосом РМ-80 (BAS, США) и электрохимическим детектором LC-4В (BAS, США). Для разделения компонентов использовали аналитическую колонку HYPERSIL BDS-C18, 3 мкм, 4,0x100 мм (Phenomenex, США).

Разделение серотонина и 5-ОИУК происходило при температуре 23±1°C в условиях постоянного давления на колонке с обратимой фазой. Объем петлинжекатора — 20 мкл. Мобильная фаза: 0,1 М цитратно-фосфатный буфер, содержащий 1,1 мМ октансульфоновой кислоты, 0,1 мМ ЭДТА

Таблица 1

Концентрации серотонина и 5-ОИУК в плазме и тромбоцитах больных

| Группы | Плазма | | Тромбоциты | |
|-------------|----------|-----------------|---------------|---------|
| | 5-НТ | 5-ОИУК | 5-НТ | 5-ОИУК |
| ВПС с ЛАГ | 33,6±7,7 | 166,7±10,5***^^ | 1173,0± 158,3 | 7,6±2,4 |
| ВПС без ЛАГ | 16,5±3,0 | 50,0±4,2* | 1294,5±184,7 | 4,7±1,1 |
| Контрольная | 18,5±2,6 | 29,9±5,3 | 1513,5±246,1 | 6,2±2,8 |

Примечание: * сравнение средних различий с контролем, ^ с группой ВПС без ЛАГ, достоверность различий: один знак – $p < 0,05$, два – $p < 0,001$.

и 9% ацетонитрила (рН 3,0). Измерение производили на стеклоугольном электроде (+0,8 V) против электрода сравнения Ag/AgCl. Концентрацию каждого компонента вычисляли путем сравнения величины пика в пробе с величиной пика в стандарте. Достоверность различий между средними величинами оценивалась по Стьюденту. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$. Корреляционный анализ между рассматриваемыми признаками проводился по методу Пирсона.

Плазменные концентрации серотонина в группе пациентов с ЛАГ были выше, чем в других группах (табл. 1). Корреляция концентрации серотонина плазмы со степенью ЛАГ не определялась.

Выраженные достоверные различия отмечались в концентрации 5-ОИУК — основного метаболита серотонина. У пациентов с ЛАГ они были максимальными и отличались от показателей во 2 и 3-й (контрольной) группах ($p < 0,001$). У детей с ВПС без ЛАГ уровень 5-ОИУК в плазме был повышен относительно контроля, но с более низкой ($p < 0,05$) степенью достоверности (табл.1).

При анализе корреляции исследуемых величин с клиническими показателями выявлена высокая степень корреляции между концентрацией 5-ОИУК в плазме и степенью ЛАГ у пациентов с коэффициентом корреляции (по Пирсону), равным 0,84, за исключением только одного пациента с ЛАГ, у которого уровень 5-ОИУК был повышен, но не соответствовал степени ЛАГ — это был неоперабельный больной ВПС со 100% ЛАГ, единственный из пациентов, получавших терапию прямыми антикоагулянтами (рис.1, в круге).

Настоящая работа посвящена исследованию роли серотонинергической системы в процессе формирования ЛАГ у детей с ВПС. Впервые концентрацию

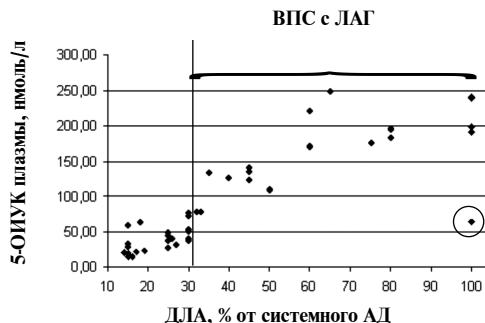


Рис.1. Зависимость концентрации 5-ОИУК в плазме детей от систолического давления в легочной артерии (% от системного систолического АД). Представлены индивидуальные концентрации 5-ОИУК у пациентов трех групп. Вертикальной линией отделены показатели пациентов с ВПС, имеющих ЛАГ, с давлением в легочной артерии выше 30% от системного АД.

серотонина и его метаболитов в плазме и тромбоцитах изучали у пациентов с ВПС в возрасте от 2 месяцев до 17 лет — периода, в котором можно проследить реакцию организма на патологию начиная с формирования адаптационных процессов и до появления признаков декомпенсации. Нами был проведен сравнительный анализ групп детей с ВПС, имеющих признаки ЛАГ, и без ЛАГ между собой и контрольной группой. Достоверно выявлено, что у больных с ВПС, имеющих ЛАГ, значительно повышены концентрации 5-ОИУК в плазме в сравнении с контролем и с данными больных с ВПС без ЛАГ даже при нормальных уровнях серотонина в плазме. Исходя из этого, можно утверждать, что при ВПС с ЛАГ концентрации серотонина в 5 раз более высокие, чем в норме, судя по степени увеличения 5-ОИУК относительно данных контрольной группы и достигаются локально в легких на уровне микроциркуляторного русла и там же метаболизируются. В пользу того, что первоначальной причиной развития ЛАГ при ВПС со значимыми лево-правыми шунтами является повы-

шенное гидростатическое давление в легочных артериях, выступают регресс ЛАГ при своевременной радикальной коррекции ВПС и отсутствие выраженных признаков ЛАГ при ВПС со значимым стенозом легочной артерии [1]. Стеноз клапана и ствола легочной артерии ограничивает поток крови в легочные артерии и даже при больших лево-правых шунтах предотвращает развитие ЛАГ. Можно предполагать, что травма повышенным гидростатическим давлением эластичных легочных артерий, генетически к нему не приспособленных, запускает активацию агрегации тромбоцитов — основного депо серотонина (в тромбоцитах содержится более 99% серотонина крови) и приводит к локально высоким концентрациям серотонина в легких. Кроме прямого вазоконстрикторного эффекта, серотонин обладает высоким митогенным действием, увеличивающим пролиферацию эндотелиальных клеток [15, 16], приводя к тем изменениям, которые мы наблюдаем патоморфологически. Ранее выявлено, что у больных с ЛАГ имеются протромботические сдвиги [3], и тромбы присутствуют как в микроциркуляторном русле, так и в эластических легочных артериях [7]. В пользу участия тромбоцитов в патогенезе ЛАГ свидетельствуют и наблюдаемые случаи ЛАГ у пациентов с патологией тромбоцитов [9]. В настоящее время пероральные антикоагулянты эффективно используются в целях уменьшения прогрессирования ЛАГ. В наших наблюдениях пациент с ЛАГ, единственный из обследованных получавший терапию антикоагулянтами, имел высокие, но не соответствовавшие степени ЛАГ концентрации 5-ОИУК. Можно предполагать, что антикоагулянты, уменьшая процесс выделения серотонина из тромбоцитов, за счет снижения их активации снижают соответственно и уровень 5-ОИУК. Конечно, на основании одного случая нельзя делать окончательные выводы — необходимо дополнительное обследование группы пациентов, а именно определение концентраций 5-ОИУК до и после назначения антикоагулянтов. Однако исходя из данных нашего исследования, согласно которым концентрация 5-ОИУК характеризует степень активности патогенетических процессов при ЛАГ, правомочно

определение концентрации 5-ОИУК в плазме или моче для оценки эффективности терапии при ЛАГ.

При лечении пациентов с ЛАГ никак не учитывается влияние серотонинергической системы, хотя доказана, по данным литературы, её существенная роль в развитии ЛАГ, и на животных показано, что применение 5-НТ блокаторов предупреждает развитие легочной артериальной гипертензии. Имеется опыт терапевтического применения ингибиторов рецепторов серотонина у людей: частота рестеноза после коронарного шунтирования значительно уменьшается при предварительном приеме ингибитора 5-НТ_{2а} рецептора серотонина — сарпогрелата за счет блокады серотонинзависимой пролиферации миоцитов аорты [11, 13]. По нашему мнению, на данном этапе имеются все возможности, для того чтобы начать использование блокаторов рецепторов серотонина в лечении и для профилактики развития легочной артериальной гипертензии.

ВЫВОДЫ

1. Концентрация серотонина в плазме крови у детей с ВПС и легочной артериальной гипертензией достоверно выше, чем в группе с ВПС без легочной гипертензии и у детей без ВПС.
2. Концентрация 5-ОИУК в плазме крови у детей с ВПС и ЛАГ повышена и достоверно коррелирует со степенью легочной артериальной гипертензии, что может служить маркером для оценки тяжести и эффективности терапии.
3. Достоверного изменения тромбоцитарной концентрации серотонина и его метаболита 5-ОИУК у детей с ВПС не выявлено.

Исследование выполнено при поддержке грантов РФФИ № 04-04-49055, № 07-04-01350.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бауэр Г., Энгельгард Х., Хеншен А. Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии. — М.: Мир, 1988. — 688 с.
2. Горбачевский С.В., Шмальц А.А., Горчакова А.И. Причины и темпы развития легочно-сосудистой болезни при функционально единственном желудочке // Дет. бол. серд. и сосуд. — 2006. — № 4. — С.44-50.
3. Климович Л.Г., Белкина М.В., Самсонова Н.Н., Горбачевский С.В. Физиологические антикоагулянты, маркеры фибринолиза и реологические свойства крови у

больных с ВПС, осложненные легочной гипертензией // Дет. бол. серд. и сосуд. — 2006. — № 4. — С.28-32.

4. *Callebert J., Esteve J.M., Herve P. et al.* Evidence for a control of plasma serotonin levels by 5-hydroxytryptamine(2B) receptors in mice // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 2006. — Vol.317(2). — P.724-731.

5. *Cote F., Fligny C., Fromes Y.* Recent advances in understanding serotonin regulation of cardiovascular function // Trends Mol. Med. — 2004. — Vol.10. — P. 232-238.

6. *Egermayer P., Town G.I., Peacock A.J.* Role of serotonin in the pathogenesis of acute and chronic pulmonary hypertension // Thorax. — 1999. — Vol.54(2). — P.161-168.

7. *Galie N., Torbicki A., Barst et al.* Guidelines on diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension // Eur. Respir. J. — 2004. — Vol.25. — P.2243-2278.

8. *Gillis C.N., Pitt B.R.* The fate of circulating amines within the pulmonary circulation. // Ann. Rev. Physiol. — 1982. — Vol.44. — P.269-281.

9. *Herve P., Drouet L., Dosquet C. et al.* Primary pulmonary hypertension in a patient with a familial platelet storage pool disease: role of serotonin // Am. J. Med. — 1990. — Vol.89(1). — P.117-120.

10. *Herve P., Launay J.M., Scrobohaci M.L. et al.* Increased plasma serotonin in primary pulmonary hypertension // Am. J. Med. — 1995. — Vol.99(3). — P.249-254.

11. *Horibe E., Nishigaki K., Minatoguchi S., Fujiwara H.* Sarpogrelate, a 5-HT₂ receptor blocker, may have a preconditioning-like effect in patients with coronary artery disease // Circ. J. — 2004. — Vol.68(1). — P.68-72.

12. *Hosoda Y.* Pathology of pulmonary hypertension: a human and experimental study // Pathol. Int. — 1994. — Vol.44(4). — P.241-267.

13. *Houkin K., Nakayama N., Nonaka T., Koyanagi I.* The 5-hydroxytryptamine_{2A} receptor antagonist sarpogrelate hydrochloride inhibits acute platelet aggregation in injured endothelium // J. Int. Med. Res. — 2006. — Vol. 34(1). — P.65-72.

14. *Kereveur A., Callebert J., Humbert M et al.* // Arteriosclerosis, thrombosis, vascular biology. ж 2000. — № 20. — P.2233-2240.

15. *Michel P., Hu F., Meyrick B.O.* Myoendothelial

junctional complexes in postobstructive pulmonary vasculopathy: a quantitative electron microscopic study // Exp. Lung Res. — 1995. — Vol.21(3). — P.437-452.

16. *Pakala R., Willerson J.T., Benedict C.R.* Mitogenic effect of serotonin on vascular endothelial cells // Circulation. — 1994. — Vol.90(4). — P.1919-1926.

17. *Pakala R., Benedict C.R.* Effect of serotonin and thromboxane A₂ on endothelial cell proliferation: effect of specific receptor antagonists // J. Lab. Clin. Med. — 1998. — Vol.131. — P.527-537.

18. *Pakala R., Willerson J.T., Benedict C.R.* Effect of serotonin, thromboxane A₂, and specific antagonists on vascular smooth muscle cell proliferation // Circ. — 1997. — Vol. 96. — P.2280-2286.

19. *Reefhuis J., Rasmussen S. A., Friedman J. M. et al.* Selective Serotonin-Reuptake Inhibitors and Persistent Pulmonary Hypertension of the Newborn // N. Engl. J. Med. — 2006. — Vol. 354. — P. 2188-2190.

20. *Schranz D.* Pulmonale Hypertension im Kindes und Jugendalter // Monatsschr. Kinderheilkd. — 2003. — Vol.151. — P.424-441.

Поступила 11.11.08.

THE SEROTONINERGIC SYSTEM IN THE PATHOGENESIS OF PULMONARY HYPERTENSION FORMATION IN CHILDREN WITH CONGENITAL HEART DISEASE

A.A. Mustafin, L.M. Mirolubov, R.R. Nigmatullina

Summary

Revealed were elevated levels of serotonin and 5-oxyindol acetic acid in blood plasma in children with congenital heart disease and pulmonary arterial hypertension. Noted was a correlation between the degree of pulmonary arterial hypertension and plasma concentrations of 5-oxyindol acetic acid.

Key words: serotonin, 5-oxyindol acetic acid, congenital heart disease, pulmonary arterial hypertension.

УДК 616.24-008.4-07:612.521.2

ДЫХАТЕЛЬНОЕ МЕРТВОЕ ПРОСТРАНСТВО И РЕАЛИЗАЦИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ВЫСОКОЧАСТОТНОЙ СТРУЙНОЙ ВЕНТИЛЯЦИИ ЛЕГКИХ

*Михаил Борисович Конторович¹, Борис Давидович Зислин²,
Алексей Владимирович Чистяков³, Александр Владимирович Марков³*

¹Областной пульмонологический центр (главрач — Н.С. Милицина), ² кафедра анестезиологии и реаниматологии (зав. — проф. Н.С. Давыдова) Уральской государственной медицинской академии,

³ООО фирма «Тритон-ЭлектроникС» (ген. директор — И.Э. Лившиц), г. Екатеринбург,
e-mail: kochev@triton.ru

Реферат

Приведены результаты исследования дыхательного мертвого пространства при высокочастотной струйной вентиляции легких оригинальным респиратором фирмы «Тритон-ЭлектроникС» (г. Екатеринбург), обеспечивающим мониторинг всех параметров респираторной механики и кинетики дыхательных газов у 33 больных, перенесших операции на легких и

средостении по поводу туберкулеза и онкологических заболеваний. Установлены значительная роль и одно из приоритетных мест дыхательного мертвого пространства, обусловленного своеобразием респираторной механики, в реализации особенностей газообмена при высокочастотной струйной вентиляции легких.

Ключевые слова: высокочастотная вентиляция легких, дыхательное мертвое пространство.