

© Гоженко А. І., Мисула І. Р., Сусла О. Б., 2009

УДК 616.126.3+616.61-78]-06:611.018.74

А. І. ГОЖЕНКО¹, І. Р. МИСУЛА², О. Б. СУСЛА²**ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ЕНДОТЕЛІУ У ХВОРИХ ІЗ КАЛЬЦИНОЗОМ КЛАПАНІВ
СЕРЦЯ НА ПРОГРАМНОМУ ГЕМОДІАЛІЗІ**A. I. GOZHENKO¹, I. R. MYSULA², O. B. SUSLA²**THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF ENDOTHELIUM IN PATIENTS WITH HEART VALVE CALCINOSIS
ON MAINTENANCE HEMODIALYSIS**¹Одеський державний медичний університет;²Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

Ключові слова: гемодіаліз, кальциноз клапанів серця, дисфункція ендотелію, оксид азоту, циркулюючі ендотеліоцити.

Резюме. В статье приведены данные исследований показателей функциональной активности эндотелия у больных с кальцинозом клапанов сердца на программном гемодиализе. Показано, что клапанная кальцификация в условиях диализной стадии хронической болезни почек сочетается с нарушением сосудодвигательной функции эндотелия, снижением пула нитритов и одновременным возрастанием количества десквамированных эндотелиоцитов, что указывает на повреждение эндотелия и определенную роль дефекта системы оксида азота в механизмах указанных поражений сердца.

Summary. The investigation data of indexes of functional activity of the endothelium in patients with heart valve calcinosis on maintenance hemodialysis have been presented in the article. It has been shown that a valvular calcification in the conditions of the dialysis stage of chronic kidney disease combines with disturbances of vasomotional function of endothelium, decrease of nitrites pool and simultaneous increase of the desquamated endotheliocytes, that point to endothelial lesion, and also on certain role of the defect of nitric oxide system in the process of indicated damages of the heart.

Вступ

З'ясування патогенетичних основ формування кальцифікації серцево-судинної системи і, зокрема кальцинозу клапанів серця (ККС), у хворих на програмному гемодіалізі (ГД) є одним із актуальних напрямків сучасної нефрології. Актуальність проблематики ККС зумовлена тим, що останній відіграє особливу роль у формуванні, перебігу серцево-судинної патології і виникненні фатальних подій — розвитку тяжких серцевих дисфункцій, порушень серцевого ритму, серцевої недостатності, артеріальних емболій і раптової смерті [14]. Відповідно до сучасних тенденцій, ендотеліальна дисфункція (ЕД), яка характерна для термінальної ниркової недостатності (ТНН), є ключовим компонентом кардіоваскулярних ускладнень і реалізує свій вплив, головним чином, через механізми атерогенезу, кальцинозу [6]. Проте, повідомлення щодо характеру зв'язку клапанної кальцифікації і функціональної активності ендотелію поодинокі і стосуються загальної популяції [10].

Неабияку роль в ініціації і розгортанні дисфункції ендотелію відіграють порушення в системі оксиду азоту (NO), що є предметом особливої уваги дослідників останніх років. Справді, окрім вазорегулюючої функції, NO як універсальна сигнальна молекула справляє значний вплив на багато типів клітин — інгібує агрегацію тромбоцитів і адгезію лейкоцитів до ендотелію, регулює синтез і розпад внутріклітинного матриксу, контролює експресію генів. Більше того, NO діє як вторинний месенджер для ефектів багатьох ростових факторів, пептидів, факторів згортання крові і гормонів, а, згідно з останніми даними, контролює трансендотеліальну міграцію попередників ендотеліальних клітин [6, 8]. Дослідження циркулюючих ендотеліальних клітин (ЦЕК) як маркера пошкодження ендотелію у хворих із ТНН викликає надзвичайний інтерес [11], проте даних про характер змін останніх у гемодіалітичних пацієнтів із ККС ми не зустріли.

Мета дослідження - оцінити структурно-функціональний стан ендотелію у хворих на програмному ГД за результатами дослідження його судинорухової функції, вмісту стабільних метаболітів NO, кількості ЦЕК, а також визначити за цих умов роль дисфункції ендотелію в механізмах ККС.

Матеріали та методи

У дослідження включено 74 хворих (чоловіків — 41, жінок — 33), які знаходились на лікуванні хронічним ГД у відділенні гемодіалі-

Сусла Олександр Богданович
0352273348 (роб.)
0352233230 (дом.)

зу Тернопільської обласної клінічної лікарні. Середній вік пацієнтів становив 47 [40; 56] років (24-66), тривалість ГД – 23,5 [7; 50] міс. (3-110). Хворих хронічним гломерулонефритом було 51,4 %, хронічним пієлонефритом – 18,9 %, діабетичною нефропатією – 17,6 %, полікістозом нирок – 12,2 %. Стан мітрального, аортального клапанів (норма, ущільнення, кальциноз), наявність клапанних дисфункцій, морфометричні та функціональні параметри серця вивчали доплер-ЕхоКС дослідженням на апараті “Aloka SSD 2000”. Залежно від наявності/відсутності ККС було сформовано дві групи: 1-а група – кальцинозу немає – (n=41); 2-а – кальциноз є – (n=33).

Всім хворим проводили загальноклінічне обстеження, включаючи вивчення анамнезу, клінічної симптоматики, стандартні лабораторні і інструментальні тести. Продукцію монооксида азоту в організмі оцінювали за вмістом його стабільних метаболітів – нітритів (NO_2^-) і нітратів (NO_3^-). Їх визначали в безбілкових аліквотах плазми крові спектрофотометричним методом: нітрити – методом Гріна з використанням реактиву Гріса (Green L.C. et al., 1982), нітрати – після їх відновлення в нітрити (Орлова Е.А., 2002) і виражали в ммоль/л. Кількість ЦЕК плазми крові хворих вивчали за методикою, що базується на ізоляції клітин ендотелію разом із тромбоцитами з наступним осадженням кров'яних пластинок за допомогою АДФ (Hladovec J. et al., 1978). Вміст десквамованих ендотеліоцитів підраховували у двох сітках камери Горяєва методом фазово-контрасної мікроскопії, результат перемножували на $10^4/\text{л}$.

Судинорухову функцію плечової артерії (ПА) визначали шляхом дуплексного ультразвукового сканування, застосовуючи пробу з реактивною гіперемією (РГ) (ендотеліязалежна вазодилатація – ЕЗВД) на ультразвуковій системі “ESAOTE Megas CVX” з використанням датчика 7,5 МГц (Celermajer D.S. et al., 1992). ПА локували в поздовжньому розрізі на 2-15 см вище локтевого згину, зображення синхронізували з ЕКГ. У вихідному стані вимірювали діаметр ПА і швидкість кровотоку. Далі, навколо плеча накладали манжету сфігмоманометра і нагнітали її до тиску, який на 50 мм рт. ст. перевищував систолічний артеріальний тиск. Тривалість фази оклюзії становила 5 хвилин. Відразу після декомпресії вимірювали швидкість кровотоку і впродовж 60 с визначали діаметр артерії. Зміни діаметра судини через 60 с (час максимальної дилатації артерії) під час РГ (ЕЗВД) оцінювали в процентному відношенні до вихідного рівня. Нормою вважався приріст діаметра ПА на фоні РГ 10 % і більше. Менше значення дилатації, вазоконстрикцію або ж відсутність динаміки показників ЕЗВД розцінювали як патологічну реакцію.

Напругу зсуву на ендотелії (τ) вираховували по формулі:

$$\tau = 4\eta V/D,$$

де η – в'язкість крові (в середньому 0,05 пуаз), V – швидкість кровотоку в артерії в см/с, D – діаметр судини в см (Іванова О.В. и соавт., 1998). Вираховували вихідну напругу зсуву на ендотелії (τ_0), напругу зсуву на ендотелії при РГ (τ_1) (V і D вимірювали впродовж перших секунд декомпресії). Знаючи зміну напруги зсуву ($\Delta\tau$) і зміну діаметра ПА (ΔD), визначали чутливість ПА до напруги зсуву, тобто здатність останньої до вазодилатації (K): $K = (\Delta D/D_0)/(\Delta\tau/\tau_0)$. Чим більше значення K , тим краща регуляція тонуса артерії залежно від зміни стимулу.

ГД хворим виконувався за стандартною програмою (3 рази на тиждень по 4 – 4,5 години) на апаратах “Штучна нирка” фірми “Gambro” (Швеція) з використанням напівсинтетичних діалізаторів і бікарбонатного буферу. Забезпечена доза діалізу (коефіцієнт Kt/V), розрахована за логарифмічною формулою (Daugirdas J.T., 1993), складала не менше 1,25.

Дослідження виконані із дотриманням положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину і рекомендацій Комітету з біоетики при Президії АМН України.

Для статистичного аналізу даних використовували пакет прикладних програм STATISTICA (StatSoft, USA, v6.0). Застосовували методи непараметричної статистики – U-критерій Манна-Уїтні для порівняння показників у двох групах, χ^2 -критерій Пірсона з поправкою Йетса для порівняння частотних величин. Статистично значимими вважали відмінності при $p < 0,05$. При описанні кількісних ознак були представлені медіани і межі інтерквартильного відрізка [25; 75 %], якісних – проценти.

Результати дослідження та їх обговорення

ККС виявлено в 44,6 % хворих: ізольований кальциноз мітрального клапана – у 23,0 %, аортального – у 4,1 %, обох клапанів – у 17,6 %. Проведення тесту Целермайера-Соренсена виявило значні порушення судинорухової функції ендотелію у гемодіалітичних пацієнтів (n=74). Встановлено, що лише у 13,5 % хворих на програмному ГД спостерігалась адекватна вазодилатація, а у 86,5 % відмічалась ЕД. З числа хворих із порушеною вазодилатаційною відповіддю у 17,6 % відмічалась парадоксальна вазоконстрикція (ЕЗВД<0), у 8,1 % була відсутня динаміка показників ЕЗВД під час РГ (ЕЗВД=0), у 60,8 % – неадекватна вазодилатація (ЕЗВД 0-9,9 %). Зазначений характер параметрів ендотеліальної функції за результатами проби з РГ узгоджується з даними [9, 13], однак глибина ураження ендотелію була більш виражена у гемодіалітичних хворих із клапанною кальцифікацією (табл.1), що підтверджувалось також динамікою вазокон-

стрикторних і адилаторних реакцій. Так, частота останніх у групі пацієнтів із ККС складала 42,5%, у групі без кальцинозу – 12,2 %, що значимо відрізнялось ($\chi^2=7,24$, $p=0,007$).

Імовірно, висока частота вазоконстрикторних і адилаторних реакцій у хворих із клапанним кальцинозом за умов ТНН пояснюється виснаженням і спотворенням компенсаторної “дилатуючої” реактивності ендотелію на звичайні стимули, дисбалансом між синтезом судинорозширюючих і судинозвужуючих субстанцій, на користь останніх, або ж повною втратою регуляції діаметра артерії по відношенню до напруги зсуву [1]. Цікавим є те, що при зіставних наростаннях величин τ_1 , Δt у пацієнтів обох груп, показник К у хворих із клапанною кальцифікацією був значимо нижчим відносно

хворих без кальцинозу (табл. 2), що опосередковано вказує на порушений синтез ендотелієм молекули NO [3].

Зниження генерації NO в ендотелії за вмістом нітритів у гемодіалітичних пацієнтів із ККС (табл. 1), очевидно, зумовлено як недостатньою його продукцією, так і надмірною інактивацією. До розвитку перших причин може призводити порушення експресії/транскрипції ендотеліальної NO-синтази (eNOS) шляхом накопичення у крові хворих з ТНН ендогенного інгібітора NO – асиметричного диметиларгініну і модифікованих ліпопротеїдів низької щільності [15], зниження доступності запасів L-аргініну для eNOS через зниження синтезу і втрату останнього під час ГД [5], до других – розвиток оксидативного стресу [4].

Таблиця 1

Параметри структурно-функціонального стану ендотелію у гемодіалітичних хворих залежно від наявності/відсутності кальцинозу клапанів серця, Me [Q₂₅; Q₇₅]

Параметр	Кальцинозу немає (n=41)	Кальциноз є (n=33)	Z (для U-критерію)	p
D артерії плеча вихідний, мм	4,3 [3,9; 4,8]	4,6 [4,1; 5,0]	Z=1,373	0,170
Швидкість кровотоку вихідна, см/с	67 [56; 78]	76 [64; 79]	Z=1,586	0,113
Потікзалежна дилатація, %	6,00 [3,92; 8,82]	3,39 [-2,13; 5,56]	Z=2,894	0,004
Гіперемія, % збільшення швидкості	225,0 [188,3; 306,9]	216,3 [188,6; 339,3]	Z=0,141	0,888
NO ₂ ⁻ , ммоль/л	0,078 [0,070; 0,096]	0,068 [0,062; 0,076]	Z=3,527	<0,001
NO ₃ ⁻ , ммоль/л	1,34 [1,14; 1,44]	1,24 [1,12; 1,34]	Z=1,444	0,149
ЦЕК, x104/л	15 [13; 17]	19 [16; 22]	Z=4,832	<0,001

Таблиця 2

Чутливість плечової артерії до напруги зсуву у гемодіалітичних хворих залежно від наявності/відсутності кальцинозу клапанів серця, Me [Q₂₅; Q₇₅]

Параметр	Кальцинозу немає (n=41)	Кальциноз є (n=33)	Z (для U-критерію)	p
τ_0 , дПа	30,53 [23,64; 38,50]	31,67 [26,80; 35,45]	Z=0,479	0,632
τ_1 , дПа	70,00 [63,04; 82,79]	70,00 [61,70; 87,22]	Z=0,517	0,605
Δt , дПа	41,54 [25,83; 49,59]	40,75 [27,42; 52,70]	Z=0,451	0,651
ΔD , см	0,02 [0,01; 0,03]	0,01 [-0,01; 0,02]	Z=2,804	0,005
К, ум. од.	0,034 [0,022; 0,055]	0,012 [-0,015; 0,037]	Z=2,807	0,005

Про системний характер пошкодження ендотелію у хворих із клапанним кальцинозом на програмному ГД свідчить наростання кількості циркулюючих десквамованих ендотеліоцитів (табл.1), які є показником кінцевого етапу життєдіяльності клітин ендотелію і відображають ступінь їх деструкції, причому збільшення кількості ЦЕК супроводжувалось дефіцитом NO. Формується замкнене коло: пошкодження ендотелію → кальциноз клапанів → пошкодження ендотелію. Роль кальцинозу в пошкодженні ендотелію серцевих клапанів показана в [2]. Імовірно, що мінералізація макрофагів і гладком'язових клітин за цих умов відбувається не без участі системи NO [7, 12].

ВИСНОВКИ

1. Кальциноз клапанів серця у хворих на програмному гемодіалізі поєднується з порушенням судинорухової функції ендотелію, частим розвитком вазоконстрикторних і адилаторних реакцій та зниженням чутливості плечової артерії до напруги зсуву.
2. Клапанний кальциноз тісно пов'язаний із пошкодженням ендотелію та зниженням секреції оксиду азоту, що виявляється у збільшенні кількості циркулюючих ендотеліальних клітин і зменшенні вмісту стабільного метаболіту оксиду азоту – нітриту відповідно.
3. Дефект системи оксиду може бути фактором формування клапанної кальцифікації.

Перспективи подальших досліджень – патогенетичне обґрунтування, розробка та вивчення ефективності медикаментозної корекції порушень функції ендотелію у хворих із кальцинозом клапанів серця на програмному гемодіалізі.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Беленков Ю. Н.* Эндотелиальная дисфункция при сердечной недостаточности: возможности терапии ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента / Ю. Н. Беленков, В. Ю. Мареев, Ф. Т. Агеев // Кардиология. – 2001. – № 5. – С. 100-104.
2. *Доценко Н. Я.* Пороки сердца у пожилых – преобладание дегенеративного кальцинированного стеноза аортального клапана / Н. Я. Доценко, С. С. Боев, И. А. Шехунова // Therapia. – 2008. – № 11. – Р. 49-52.
3. Кардиоренальный синдром при сахарном диабета 1-го типа : роль дисфункции эндотелия / М. В. Шестакова, И. Р. Ярек-Мартынова, Н. С. Иванишина [и др.] / Кардиология. – 2005. – № 6. – С. 35-41.
4. Метаболічна складова кальцифікації клапанного апарату серця у хворих на хронічному гемодіалізі / А. І. Гоженко, І. Р. Мисула,

- О. Б. Сусла [та ін.] // Медична хімія. – 2009. – Т. 11, № 2. – С. 15-19.
5. *Николаев А. Ю.* Лечение почечной недостаточности / А. Ю. Николаев, Ю. С. Милованов. – М. : Медицина. – 1999. – 362 с.
6. Особенности функции эндотелия при хронической болезни почек. Обзор литературы и собственные данные / И. Ю. Панина, А. Ш. Румянцев, М. А. Меншутина [и др.] // Нефрология. – 2007. – Т. 11, № 4. – С. 28-46.
7. Роль экстраклеточного и внутриклеточного оксида азота в регуляции клеточных ответов макрофагов / Е. В. Малышева, С. В. Круглов, И. П. Хоменко [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – Т. 141, № 4. – С. 386-388.
8. *Руда М. М.* Предшественники эндотелиальных клеток: роль в восстановлении функции эндотелия и перспективы терапевтического применения / М. М. Руда, Е. В. Парфенова, Ю. А. Карпов // Кардиология. – 2008. – № 1. – С. 66-73.
9. *Хайкал Д. У.* Стан кардіогемодинаміки і функції ендотелію судин у хворих із хронічною нирковою недостатністю, які знаходяться на програмному гемодіалізі / Д.У. Хайкал // Урологія. – 2005. – № 1. – С. 49-54.
10. Endothelin-1 and nitric oxide levels in patients with mitral annulus calcification / A. Camsari, H. Pekdemir, D. Cicek [et al.] // Jpn. Heart J. – 2004. – Vol. 45, № 3. – P. 487-495.
11. *Кос М.* Circulating endothelial cells as potential markers of the state of the endothelium in hemodialysis patients / М. Кос, А. Bihorac, M.S. Segal // Am. J. Kidney Dis. – 2003. – Vol. 42, № 4. – P. 704-712.
12. Nitric oxide regulates vascular calcification by interfering with TGF-signalling / Y. Kanno, T. Into, C.J. Lowenstein [et al.] // Cardiovasc. Res. – 2008. – Vol. 77, № 1. – P. 221-230.
13. *Sahin G.* Effect of N-acetylcysteine on endothelial dysfunction in dialysis patients / G. Sahin, A. U. Yalcin, N. Akcar // Blood Purif. – 2007. – Vol. 25, № 4. – P. 309-315.
14. *Strozecki P.* Cardiac valve calcification and left ventricular hypertrophy in hemodialysis patients / P. Strozecki, G. Odrowaz-Sypniewska, J. Manitus // Ren. Fail. – 2005. – Vol. 27, № 6. – P. 733-738.
15. The effects of renal replacement therapy on plasma, asymmetric dimethylarginine, nitric oxide and C-reactive protein levels / H. Uzun, D. Konukoglu, M. Besler [et al.] // Clin. Invest. Med. – 2008. – Vol. 31, № 1. – P. E1-E7.

Надійшла до редакції 21.09.2009
Прийнята до друку 23.10.2009