

УДК: 616.12-008.331.1-092: 616-056. 52:547.857.5:616.153.915-39:616.153.857

**ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ АЛЬФА
И АКТИВНОСТИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У ПАЦИЕНТОВ
С ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ, АССОЦИИРОВАННОЙ
С ОЖИРЕНИЕМ И ГИПЕРУРИКЕМИЕЙ**

МОЛОДАН Д.В.

Харьковский национальный медицинский университет

Введение. На сегодняшний день неспецифическое воспаление в сочетании с перекисным окислением липидов рассматриваются как важные патогенетические механизмы развития сердечно-сосудистых поражений [3].

Недавние исследования показали, что при гипертонической болезни и ожирении происходит повышение уровня такого провоспалительного цитокина как фактор некроза опухоли альфа (ФНО α), нарушается оксидантный баланс, увеличивается уровень маркера воспаления – С реактивный белок (СРБ). Как правило, рост активности указанных факторов происходит по мере нарастания тяжести заболевания. В ряде исследований было показано, что у больных с гипертонической болезнью в сочетании с ожирением, увеличение ФНО α происходит по мере нарастания артериального давления, индекса массы тела, абдоминального ожирения. Уровень ФНО α был выше у больных имеющих более длительный анамнез заболевания, большую массу миокарда левого желудочка и сниженную фракцию выброса [1].

Кроме того, ФНО α способствовал развитию воспаления и ремоделированию сосудов. В свою очередь, СРБ может рассматриваться, как прогностический маркер повышенного риска сосудистых осложнений, он является независимым фактором риска гипертонической болезни [6] и маркером ранних стадий атеросклероза [7]. Повышение СРБ при гипертонической болезни и ожирении, как правило, связано с факторами, которые индуцируют воспаление, такими как инсулинорезистентность и дислипидемия [3].

У больных с гипертонической болезнью в сочетании с ожирением развитие низкоинтенсивного воспаления протекает одновременно с оксидантным стрессом. Например, ФНО α может увеличить продукцию окислителей, в виде активных кислородных радикалов, таких как НАДФ-оксидаза и ксантиноксидаза, а те в свою очередь могут индуцировать развитие воспаления [18].

Учитывая патогенетическую взаимосвязь воспалительных реакций и оксидантных процессов у больных с гипертонической болезнью и ожирением, представляется целесообразным провести изучение факторов, которые могут

усилить развитие воспаления и активацию перекисного окисления липидов. В частности речь может идти о мочевой кислоте. Выбор мочевой кислоты неслучаен, ее уровень часто повышен при гипертонии и у больных с метаболическим синдромом. Являясь по своей природе антиоксидантом, мочевая кислота может изменять свои свойства и становиться фактором, повышающим выработку провоспалительных веществ и вызывать оксидантный стресс. В ряде исследований на культурах клеток было установлено, что мочевая кислота повышала выработку интерлейкинов (ИЛ 1- β , ИЛ-6 и ФНО α) [11, 19], усиливала активность циклооксигеназы-2 и СРБ [8, 12], влияла на образование реактивных форм кислорода [17, 14, 9].

В тоже время есть работы, в которых повышение уровня мочевой кислоты расценивается, как защитная (антиоксидантная) реакция в ответ на более тяжелое течение заболевания [20].

Таким образом, можно говорить о том, что развитие гипертонической болезни и ожирения сопровождается низкоинтенсивным хроническим воспалением и оксидантным стрессом. Так же существуют противоречивые данные о свойствах мочевой кислоты. Потенциально мочевая кислота антиоксидант, но в тоже время достаточно много сообщений о ее оксидантном и провоспалительном действии.

Цель исследования. Изучить изменения активности ФНО α и СРБ, а также динамику показателей перекисного окисления липидов у пациентов с гипертонической болезнью, ассоциированной с ожирением и гиперурикемией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В процессе выполнения работы было обследовано 45 больных гипертонической болезнью I-II стадии. У больных наблюдалось повышение артериального давления 1-3 степени, ассоциированное с ожирением I-II степени. Возраст исследуемых составил (58,13 \pm 1,95 лет). Мужчин было 19 (41,81%), женщин – 26 (58,19%). В зависимости от уровня урикемии больные были разделены на две группы. В 1-ю вошли пациенты с нормоурикемией (НУ) (n=21), во 2-ю - с бессимптомной гиперурикемией (БГУ) (n=24). Группу контроля составили 12 нормотензивных пациента, которые были сопоставимы с боль-

ними основной группы по полу и возрасту. Пациенты проходили обследование и лечение в ГУ «Национальный институт терапии им. Л.Т. Милой НАМН Украины».

Для отбора больных использовались модифицированные критерии Adult Treatment Panel III (АТР III) (2005 г.), одобренные в Европейских рекомендациях по лечению артериальной гипертензии (2007) и рекомендованные Украинской ассоциацией кардиологов по профилактике и лечению артериальной гипертензии (2008). Уровень мочевой кислоты оценивался согласно рекомендаций Европейской антиревматической лиги (EULAR) по диагностике и лечению подагры (2006). Для мужчин повышенным был уровень > 420 мкмоль /л, для женщин > 360 мкмоль /л.

В исследование не включались больные с симптоматической артериальной гипертензией, сахарным диабетом, пациенты, имевшие активные воспалительные процессы, ишемическую болезнь сердца, сердечную недостаточность высоких градаций (III-IV функционального класса по NYHA), подагру, заболевания почек, печени, крови, больные злоупотребляющие алкоголем.

Всем больным проводились общепринятые клинико-лабораторные и инструментальные обследования. Уровень артериального давления (АД) определяли по стандартной методике. Обследуемым измеряли рост, массу тела, окружность талии (ОТ). Определяли индекс массы тела (ИМТ) по формуле $ИМТ = \frac{масса\ тела(кг)}{рост(м)^2}$. При $ИМТ > 30,0\text{ кг/м}^2$ диагностировали ожирение. Для оценки абдоминального ожирения проводилось измерение окружности талии (ОТ), показатель считался повышенным если превышал 94 см у мужчин и 80 см у женщин.

Содержание мочевой кислоты в крови исследовали ферментным способом на фотометре - анализаторе Humareader N 2106 (Гер-

мания). Показатели ФНО α и СРБ определяли в сыворотке крови иммуноферментным методом, для этого применялись наборы «Вектор - Бест» (Россия) и «DRG» (Германия).

Для изучения состояния перекисного окисления липидов исследовалась активность диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА) и общая антиоксидантная активность сыворотки крови (АОА). Экстракция ДК из сыворотки крови осуществлялась гептан-изопропанольной смесью, с последующим измерением оптической плотности на спектрофотометре в диапазоне длинны волны 233 нм [4]. Для оценки уровня МДА проводилось определение оптической плотности (при длинах волн 535 нм и 580 нм) хромогенного комплекса между МДА и тиобарбитуровой кислоты [5]. АОА плазмы крови оценивали по её способности угнетать образование продуктов перекисного окисления липидов [2].

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета программ Statistica, версия 8.0. Для оценки различий средних показателей в независимых выборках использовался t-критерий Стьюдента. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего ($M \pm m$). Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем исследовании пациенты были разделены на три группы (контрольная, больные с НУ и БГУ). Сравнение групп показало, что между ними не было достоверных отличий по полу и возрасту ($p > 0,05$). Что касается таких показателей как АД, ИМТ, ОТ и уровня мочевой кислоты, то они статистически достоверно были выше в группах больных с НУ и БГУ ($p < 0,05$) (табл. 1).

Таблица 1.

Антропометрические показатели, уровень АД и мочевой кислоты у больных ГБ+ОЖ и контрольной группы ($M \pm m$)

Показатели	Больные ГБ + ОЖ (основная группа)		Контрольная группа (n= 12)
	Группа с НУ (n= 21)	Группа с БГУ (n= 24)	
Пол (м/ж)	9/12	10/14	5/7
Возраст, лет	57,1 \pm 1,56	58,90 \pm 1,49	56,30 \pm 2,54
САД, мм рт.ст.	160,75 \pm 2,13*	165,30 \pm 2,05*..**	115,3 \pm 1,33
ДАД, мм рт.ст.	97,90 \pm 1,10*	100,75 \pm 0,75*	76,0 \pm 1,8
ИМТ, кг/м ²	33,39 \pm 0,42*	36,30 \pm 0,69*..**	22,59 \pm 0,74
ОТ, см	96,05 \pm 1,65*	115,37 \pm 2,48*..**	82,35 \pm 2,8
МК, мкмоль/л	294,25 \pm 10,76*	474,50 \pm 14,62*..**	255,40 \pm 10,98

* - достоверность различий по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$),

** - достоверность различий в основной группе, между больными с БГУ и НУ ($p < 0,05$)

Изучение активности ФНО α и СРБ показало рост их значений у больных с гипертонической болезнью в сочетании с ожирением по сравнению с контрольной группой. Этот процесс сопровождался увеличением уровня метаболитов перекисного окисления липидов ДК и МДА, снижением АОА и изменением баланса оксидантов-антиоксидантов в сторону оксидантного компонента ($p < 0,05$) (таб. 1)

При сравнении показателя ФНО α у больных гипертонической болезнью в сочетании с ожирением было выявлено, что в группе НУ этот показатель составил $20,4 \pm 5,2$ нг/мл, в группе БГУ $21,2 \pm 6,24$ нг/мл при этом разница была недостоверной ($p > 0,05$). Уровень СРБ у больных с НУ составил $7,08 \pm 1,06$ мг/л, а в группе БГУ $7,88 \pm 0,83$ мг/л, что было достоверно выше ($p < 0,05$). Повышение уровня провоспалительного цитокина - ФНО α и маркера неспецифического воспаления СРБ свидетельствует о наличии у больных с ГБ+ОЖ признаков низкоинтенсивного воспаления. По мере увеличения значений мочевой кислоты происходил рост изучаемых показателей. При этом СРБ увеличивался больше, чем ФНО α . Объяснением этому может быть тот факт, что СРБ дольше циркулирует в кровотоке, он имеет больший период

инактивации и для него характерна системная циркуляция [16]. В отличие от СРБ уровень ФНО α , определяемый в крови, не всегда достоверно соответствует его активности, так как этот цитокин определяется и оказывает свое действие больше паракринно [13].

Как уже указывалось выше, у больных с гипертонической болезнью в сочетании с ожирением нарастала активность перекисного окисления липидов, о чем можно судить по увеличению промежуточных и конечных метаболитов оксидантного стресса ДК и МДА. Одновременно снижалась активность оксидантной защиты (АОА, АОА/ДК, АОА/МДА). Выявленные нарушения были больше у больных с БГУ, по сравнению с НУ. Так у больных с БГУ уровень ДК составил $31,61 \pm 1,02$ мкмоль/л, МДА $9,21 \pm 0,24$ мкмоль/л, у больных с НУ эти показатели были меньше $26,23 \pm 0,35$ мкмоль/л и $7,31 \pm 0,16$ мкмоль/л соответственно ($p < 0,05$). Показатель АОА в группе БГУ был меньше, по сравнению, с группой НУ. Уровень АОА при БГУ составил $42,26 \pm 1,01\%$, отношение АОА/ДК было $1,35 \pm 0,04\%$ и АОА/МДА $4,27 \pm 0,15\%$. У больных с НУ АОА была $49,48 \pm 1,80\%$, АОА/ДК – $1,90 \pm 0,08\%$, АОА/МДА – $6,93 \pm 0,39\%$ ($p < 0,05$) (табл.2).

Таблица 2

Показатели ФНО α , СРБ и перекисного окисления липидов у больных ГБ+ОЖ и контрольной группы (M \pm m)

Показатели	Больные ГБ + ОЖ (основная группа)		Контрольная группа (n= 12)
	Группа с НУ (n= 21)	Группа с БГУ (n= 24)	
ФНО α , нг/мл	$20,4 \pm 5,2^*$	$21,2 \pm 6,24^*$	$5,22 \pm 3,24$
СРБ, мг/л	$7,08 \pm 1,06^*$	$7,88 \pm 0,83^*..**$	$1,35 \pm 0,17$
ДК, ммоль/л	$26,23 \pm 0,35^*$	$31,61 \pm 1,02^*..**$	$19,25 \pm 0,63$
МДА, мкмоль/л	$7,31 \pm 0,16^*$	$9,21 \pm 0,24^*..**$	$5,32 \pm 0,23$
АОА, %	$49,48 \pm 1,80^*$	$42,26 \pm 1,01^*..**$	$66,44 \pm 1,27$
АОА/ДК	$1,90 \pm 0,08^*$	$1,35 \pm 0,04^*..**$	$3,49 \pm 0,16$
АОА/МДА	$6,93 \pm 0,39^*$	$4,27 \pm 0,15^*..**$	$12,74 \pm 0,67$

* - достоверность различий по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$),

** - достоверность различий в основной группе, между больными с БГУ и НУ ($p < 0,05$)

Таким образом, полученные нами данные совпадают по целому ряду положений с результатами исследований, которые показывают, что, повышение уровня мочевой кислоты может сопровождаться нарастанием активности низкоинтенсивного воспаления и перекисного окисления липидов.

Есть исследования, которые указывают на то, что, несмотря на антиоксидантные свойства мочевой кислоты ее увеличение приводит к ухудшению прогноза у пациентов, особенно у больных имеющих патологию сердечно-сосудистой системы, у пожилых пациентов и женщин в менопаузальном и постменопаузальном периодах [21, 15, 10].

ВЫВОДЫ

1. Полученные в нашем исследовании результаты свидетельствуют о том, что у больных с гипертонической болезнью в сочетании с ожирением наблюдается увеличение значений ФНО α и СРБ, а так же показателей оксидантной активности крови по сравнению с пациентами контрольной группы.
2. По мере увеличения показателей мочевой кислоты у больных с гипертонической болезнью и ожирением происходит нарастание активности ФНО α и СРБ, что свидетельствует об увеличении воспалительного процесса. При этом увеличение СРБ носило статистически достоверный характер, а повышение ФНО α имело характер тенденции, что очевидно связано с преимущественно паракринным действием цитокина и меньшим уровнем его системной циркуляции.
3. Изучение баланса оксидантных и антиоксидантных факторов показало, что при гипертонической болезни в сочетании с ожирением вместе с ростом мочевой кислоты происходит более выраженное нарушение баланса перекисного окисления липидов, о чем свидетельствует увеличение показателей ДК, МДА и снижение значений АОА, а так же АОА/ДК и АОА/МДА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беловол А.Н. Ожиріння в практиці кардіолога та ендокринолога / [А.Н. Беловол, О.Н. Ковалева, С.С. Попова]. – Т.: ТДМУ «Укрмедкнига», 2009. – 620 с.
2. Буланкина Н. И. Определение общей антиоксидантной активности плазмы крови Методы исследования липидов и углеводов: Методические рекомендации для спецпрактикума по биохимии / Н. И.Буланкина, С. Н.Охрименко, Г. В. Ганусова. – Харьков, 2005. - С. 35-36
3. Коваленко В. Н. Роль системных метаболических нарушений в патогенезе гипертонической болезни и ее исходов / [В.Н.Коваленко, Т.В. Талаева и др.]. – Український кардіологічний журнал. – 2011 р. – № 2. – С. 15-31.
4. Скорняков В.И. Продукты перекисного окисления липидов в спинномозговой жидкости у больных с черепномозговой травмой / В.И. Скорняков, Л.А. Кожемякин, В.В. Смирнов. – Лаб. дело. – 1988. – N 8. – С.14-16.
5. Спектрофотометрическое определение продуктов перекисного окисления липидов: [Медицинская лабораторная диагностика (программы и алгоритмы) / ред. проф. Карпищенко А.И.]. – Санкт-Петербург: Интермедика, 1997. – С. 48-52.
6. Abbate A. C-reactive protein and other inflammatory biomarkers as predictors of outcome following acute coronary syndromes / [A Abbate, GG Biondi-Zoccai et al.]. – Semin Vasc Med. – 2003. – Nov;3(4):375-84.
7. Bautista LE. Is C-reactive protein an independent risk factor for essential hypertension? / [LE Bautista, P López-Jaramillo et al.]. – J Hypertens. – 2001 May;19(5):857-61.
8. Johnson RJ. Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease? / [RJ Johnson, DH Kang et al.]. – Hypertension. – 2003. – 416:1183-1190.
9. Hayden RM. Uric acid: A new look at an old risk marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus: The urate redox shuttle / RM Hayden, SC Tyagi. – Nutr Metab (Lond). – 2004 Oct 19;1(1):10.
10. Holme I. Uric acid and risk of myocardial infarction, stroke and congestive heart failure in 417,734 men and women in the Apolipoprotein MORTALITY RISK study (AMORIS) / [I Holme, AH Aastveit et al.]. – J Intern Med. – 2009. – 266(6):558-570.
11. Kanellis J. Uric acid as a mediator of endothelial dysfunction, inflammation, and vascular disease / J Kanellis, DH Kang. – Seminars in Nephrology. – 2005. – 25(1):39-42.
12. Kanellis J. Uric acid stimulates monocyte chemoattractant protein-1 production in vascular smooth muscle cells via mitogen-activated protein kinase and cyclooxygenase-2 / [J Kanellis, S Watanabe et al.]. – Hypertension. – 2003. – 416:1287-1293.
13. Kern PA. Adipose tissue tumor necrosis factor and IL-6 expression in human obesity and insulin resistance / [PA Kern, S Ranganathan et al.]. – American Journal of Physiology. – 2001. – 280:E745-E751.
14. Khosla UM. Hyperuricemia induces endothelial dysfunction / UM Khosla, S Zharikov, JL Finch. – Kidney Int. – 2005. – 67: 1739-42.
- Kim SY, Guevara JP. Hyperuricemia and risk of stroke: a systematic review and meta-analysis / [SY Kim, JP Guevara et al.]. – Arthritis Rheum. – 2009. – 61(7):885-892.
15. Pradhan AD. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus / [AD Pradhan, JE Manson et al.]. – Journal of the American Medical Association. – 2001. – 286(3):327-334.
16. Strazzullo P. Uric acid and oxidative stress: Relative impact on cardiovascular risk / P Strazzullo, JG Puig. – Nutrition Metab Cardiovasc Dis. – 2007. – 17: 409-41.

17. *Sturm W.* Influence of visceral obesity and liver fat on vascular structure and function in obese subjects / [W. Sturm, A Sandhofer et al.]. – Obesity. – 2009. – 17: 1783-1788.
18. *Waring WS.* Uric acid as a risk factor for cardiovascular disease / WS Waring, DJ Webb, SRJ Maxwell. – QJM. – 2000. – 93(11):707-713.
19. *Yang W-S.* Plasma adiponectin levels in overweight and obese Asians / [W-S Yang, W-J Lee et al.]. – Obesity Research. – 2002. – 10(11):1104-1110.
20. *Zoppini G.* Elevated serum uric acid concentrations independently predict cardiovascular mortality in type 2 diabetic patients / [G Zoppini, G Targher et al.]. – Diabetes Care. – 2009. – 32(9):1716-1720.

РЕЗЮМЕ

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ФАКТОРУ НЕКРОЗУ ПУХЛИНИ АЛЬФА І АКТИВНОСТІ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ У ПАЦІЄНТІВ З ГІПЕРТОНІЧНОЮ ХВОРОБОЮ, АСОЦІЙОВАНОЮ З ОЖИРІННЯМ І ГІПЕРУРИКЕМІЄЮ

Молодан Д.В.

Харьковский национальный медицинский университет

В роботі досліджено зміну показників ФНП α і СРБ та динаміку активності перекисного окислення ліпідів

у пацієнтів з гіпертонічною хворобою, асоційованою з ожирінням і гіперурикемією. Обстежено 45 хворих (основна група), групу контролю склали 12 пацієнтів. Було встановлено підвищення рівню ФНП α і СРБ, збільшення факторів оксидантного стресу. Виявлені порушення наростали разом із збільшенням рівня сечової кислоти в крові.

Ключові слова: ФНО α , СРБ, перекисне окислення ліпідів, гіпертонічна хвороба, ожиріння, гіперурикемія.

SUMMARY

THE DYNAMICS OF INDICATORS OF TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA ACTIVITY AND LIPID PEROXIDATION IN PATIENTS WITH ESSENTIAL HYPERTENSION ASSOCIATED WITH OBESITY AND HYPERURICEMIA

Molodan D.V.

Kharkov National Medical University

Changes in activity of TNF α and CRP, dynamics of lipid peroxidation in patients with essential hypertension associated with obesity and hyperuricemia, have been studied in this work. The study involved 45 patients, the control group consisted of 12 patients. It was found an increase in the level of CRP and TNF α , an increase of oxidative stress factors. Identified disorders were increasing according to increase of uric acid level in blood.

Keywords: TNF α , CRP, lipid peroxidation, hypertension, obesity, hyperuricemia.

УДК: 611.018.83:615.373]-092.4

ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕРИРОВАННЫХ IN VITRO ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ АКТИВАЦИИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОМ И ИНТЕРФЕРОНОМ- α

ХРАНОВСКАЯ Н.Н., СКАЧКОВА О.В., СВЕРГУН Н.Н., НИКУЛИНА В.В., ЗЕМСКОВ С.В., ГОРБАЧ А.И., СИДОР Р.И.

Национальный институт рака, Киев

Дендритные клетки (ДК), как наиболее активные специализированные антигенпрезентирующие клетки (АПК), обладают способностью активировать все клетки, относящиеся к основным эффекторам противоопухолевого иммунитета, такие как CD8⁺ Т-клетки, Т-хелперы 1 типа (Th1), натуральные киллерные клетки (НКК) и НКТ. Поэтому вакцины на основе ДК рассматривают как весьма перспективное направление адаптивной иммунотерапии в онкологии [1].

На сегодняшний день, благодаря бурному развитию методов клеточной биотехнологии, стало возможным получение ДК *in vitro* в достаточных количествах для их использования в составе вакцин. Традиционно ДК получают

путем культивирования прилипающей фракции мононуклеарных клеток (МНК) в присутствии двух ключевых цитокинов – гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) и интерлейкина-4 (IL-4) [2,3]. Генерируемые таким образом незрелые миелоидные ДК, так называемые IL4-ДК, характеризуются высокой способностью к захвату антигена, но слабой способностью к активации Т-клеток, низкой миграционной активностью и нестабильностью в условиях дефицита ростовых факторов [4]. Следует отметить, что в настоящее время целесообразность использования IL-4 совместно с ГМ-КСФ для генерации ДК требует критической переоценки [5].