

© Топчій І. І., Кірієнко О. М., Циганков О. І., Бондар Т. М., Щенявська О. М., 2013

УДК 616.005.4-076.5:616.61:611.13/16-018.74

І. І. ТОПЧІЙ, О. М. КІРІЄНКО, О. І. ЦИГАНКОВ, Т. М. БОНДАР, О. М. ЩЕНЯВСЬКА
МОРФОЛОГІЧНИЙ І ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЕНДОТЕЛІУ У ХВОРИХ
З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ ТА ХРОНІЧНИМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ

I. I. TOPCHII, O. M. KIRIENKO, A. I. TSYGANKOV, T. M. BONDAR, O. M. SCHENYAVSKAYA

MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL STATE OF ENDOTHELIUM AT PATIENTS
WITH CORONARY ARTERY DISEASE AND CHRONIC GLOMERULONEFRITIS

ДУ «Інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України»
SI «Institute of therapy behalf of L.T. Malaya NAMS of Ukraine»

Ключові слова: хронічний гломерулонефрит, ішемічна хвороба серця, товщина комплексу інтима-медія, VE-кадгерин, оксид азоту.

Key words: chronic glomerulonephritis, ischemic heart disease, intima-media thickness, VE-cadherin, nitric oxide.

Резюме. Матеріали і методи. Изучена взаємозв'язь морфологічних і біохімічних маркерів атеросклеротических змін у 41 хворого з ішемічною хворобою серця (ИБС) (1 група) і 62 – з ІБС в поєднанні з хронічним гломерулонефритом (2 група). Стан екстракраніальних відділів сонної артерії (СА) досліджували методом ультразвукового дуплексного сканування. Вміст VE-кадгеріна визначали імуноферментним методом. Стан про- і антиоксидантної системи оцінювали по концентрації малонового діальдегіду (МДА) і сульфгідрильних груп (SH-груп) в плазмі крові фотометричним методом. Вміст стабільних метаболітів оксиду азоту (NO₂) і сумми нитрит + нитрат (NO₂+NO₃) в плазмі визначали фотометричним методом.

Результати і обговорення. Установлено, що по частоті виявлення бляшок в СА 1 і 2 групи не відрізнялися (27,6% і 31,0%, відповідно), однак хворі 2 групи були достовірно молодше. У пацієнтів 2 групи на фоні погіршення функціонального стану нирок (зменшення швидкості клубочкової фільтрації (СКФ) в 2,24 рази, екскреція білка з мочою досягала (0,98±0,20) г/сутки) помітно підвищено вміст VE-кадгеріна (в 3,6 рази, p<0,01). Вміст NO₂ у хворих 2 групи був суттєво нижче, ніж в контролі, а сумми (NO₂+NO₃) – вище як порівняно з контролем (в 2,40 рази; p<0,01), так і з хворими 1 групи (в 1,86 рази, p<0,05). Підвищення рівня МДА у хворих 2 групи (в 2,61 рази, P<0,01) супроводжувалося зниженням вмісту SH-груп – на 25,2% (P<0,05) порівняно з контролем.

Висновки. У хворих з поєднаною патологією виявлені порушення цілості і функціонального стану ендотелію, поглибленню яких сприяв дисбаланс в антиоксидантній системі. Прискорені атеросклеротическі зміни судинної стінки у цих пацієнтів обумовлені наявністю хронічного запального процесу.

Summary. Materials and methods. The interrelation of morphological and biochemical markers of atherosclerotic lesions were studied in 41 patients with coronary artery disease (CAD) (group 1) and 62 - with CAD and chronic glomerulonephritis (CGN) (group 2). An extracranial carotid artery (CA) status was investigated by duplex ultrasonography. VE-cadherin content determined by ELISA. States of the antioxidant system was evaluated by the concentration of malondialdehyde (MDA) and sulfhydryl groups (SH-groups) in the blood plasma by the photometric method. The levels of nitric oxide stable metabolites – NO₂ and total (NO₂+NO₃) in plasma was determined by the photometric method.

Result. There was found that the frequency of CA plaques detection in groups 1 and 2 did not differ (27,6% and 31,0%, respectively), but patients of group 2 were reliably younger. Pronounced VE-cadherin increase (3,6-fold, p<0,01) at the background of the deterioration of renal function (2,24-fold GFR decrease, and urinary protein excretion reaches (0,20±0,98) g / day) was observed in group 2. The content of NO₂ in group 2 was significantly lower than in controls, and total (NO₂+NO₃) was increased as compared with control (2,40-fold, P<0,01), and with patients of group 1 (in 1,86-fold, p<0,05). Increase of MDA level in patients of group 2 (2,61-fold, P<0,01) accompanied by reduction of SH groups content – by 25,2% (P<0.05) compared with control.

Conclusion. Thus, in patients with combined pathology revealed the most pronounced disorders of endothelial integrity and function, which was worsening by imbalance in the pro-antioxidant system. Accelerated atherosclerotic vascular changes in these patients are probably related to the chronic inflammatory process.

Топчій Іван Іванович
itopchiy@yandex.ua

ВСТУП. З кожним роком як в Україні, так і в усьому світі спостерігається зростання кількості пацієнтів, у яких на тлі хронічних запальних захворювань нирок розвиваються судинні види патології [1, 10]. Збільшення частоти розвитку

ішемічної хвороби серця (ІХС) та її ускладнення у осіб з хронічними запальними захворюваннями нирок пов'язують з порушенням цілісності та функціонального стану судинного ендотелію за умов хронічного ендотоксичного дістресс-синдрома у поєднанні з дисліпідемією [3]. Важливим чинником порушення функціональної активності судинного ендотелію є активація процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) у мембранах ендотеліальних клітин, яка призводить до змін активності систем трансмембранної регуляції клітинних функцій та є одним з механізмів розвитку серцево-судинних та ниркових захворювань. Оксидативний стрес, обумовлений хронічними запальними захворюваннями нирок, сприяє поглибленню ендотеліальної дисфункції за рахунок порушення балансу між конститутивною та індукційною ланками синтезу оксиду азоту, що обумовлює втрату вазодилаторної та антиагрегаційної активності останнього та виявлення цитотоксичних ефектів пероксинітриду.

Однак вплив імунізапальних захворювань нирок на маркери, що характеризують морфологічні зміни (на клітинному й органному рівні) та функціональний стан ендотелію, за наявності атеросклеротичного ураження судин залишається недостатньо дослідженим.

Тому метою дослідження було вивчення взаємозв'язку морфологічних та біохімічних маркерів атеросклеротичних змін у хворих з ішемічною хворобою серця у поєднанні з хронічним гломерулонефритом (ХГН).

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ. Комплексно обстежено 103 пацієнти (56 жінок та 47 чоловіків) з ІХС у віці від 19 до 70 років, у 62 з яких ІХС поєднувався з ХГН. Хворі були розподілені на дві групи: у першу групу увійшов 41 хворий з ІХС (20 чоловіків та 21 жінка) в віці від 45 до 69 років, середній вік – $(55,8 \pm 1,9)$ років. У другу – 62 хворих з ІХС у поєднанні з ХГН (27 чоловіків та 35 жінок) в віці від 36 до 62 років, середній вік склав $(47,7 \pm 1,3)$ років.

Усі хворі знаходились на лікуванні у відділенні гіпертензії та захворювань нирок ДУ «Інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України». Контрольну групу склали 15 умовно здорових пацієнта відповідного віку та статі.

Діагноз соматичної патології (ІХС, ХГН) та гіпертонічною хворобою (ГХ) встановлювали за класифікацією МКХ-10 (43-тя Всесвітня Асамблея Охорони Здоров'я, 1998). Діагноз ХГН встановлювали у відповідності з класифікацією, запропонованою ДУ «Інститут нефрології НАМН України» та прийнятої II національним з'їздом нефрологів України (м. Харків, 23-24 вересня 2005 р.), та узгодженої з МКХ-10. В процесі діагностики використовували стандартні методи опитування та обстеження хворих з урахуванням скарг, анамнезу захворювання, даних

об'єктивного обстеження, лабораторних і інструментальних досліджень. Усім хворим проведено ультразвукове дослідження (УЗД) серця, рентгенографію грудної клітини.

Для отримання інформації про стан судин (товщина стінки, наявність атеросклеротичних бляшок) 58 пацієнтам (29 хворих на ІХС та 29 хворих на ІХС у поєднанні з ХГН) було проведено дослідження екстракраніальних відділів сонної артерії (СА) методом ультразвукового дуплексного сканування на апараті Ultima PA (Україна). Для оцінки гемодинамічних феноменів застосовували імпульсний доплер і лінійний датчик з частотою 10 МГц. Товщину комплексу інтима-медія (ТКІМ) вимірювали за методикою Р. Pignoli et al. [7] як відстань між характерною ехозоною, утвореною поверхнями просвіт-інтими і медіа-адвентиції, в подовжньому перерізі за допомогою електронного курсору. Крім ТКІМ у обстежених хворих визначали наявність або відсутність атеросклеротичних бляшок у СА з обох сторін. ТКІМ та атеросклеротичні бляшки вимірювали в типових місцях, які відповідають максимальним змінам судинної стінки [6]. Експертами Європейського товариства з гіпертонічної хвороби і Європейського товариства кардіологів (2007 р.) запропоновано вважати значення товщини стінки сонної артерії менш 0,9 мм нормою, ТКІМ від 0,9 мм до 1,3 мм – потовщенням КІМ СА, а ТКІМ СА висотою більше 1,3 мм або така, що на 0,5 мм чи на 50% перевищує ТКІМ прилеглих сегментів артерії – критерієм бляшки.

У якості раннього біохімічного маркера цілісності ендотелію на клітинному рівні був обраний VE-кадгерин (CD-144), який є ендотеліальною молекулою адгезії, розташованою в з'єднаннях між ендотеліальними клітинами [9]. Концентрацію VE-кадгерина (CD-144) в плазмі крові хворих визначали імуноферментним методом з використанням наборів виробництва Bender MedSystems (Австрія).

Стан про- та антиоксидантної системи оцінювали за вмістом кінцевого продукта ПОЛ – малонового діальдегіда (МДА) та сульфгідрильних груп (SH-груп) в плазмі крові. Концентрації МДА і SH-груп визначали фотометричним методом за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) та реакцією тіолдісульфідного обміну, відповідно [2]. Вміст стабільних метаболітів оксиду азоту у плазмі венозної крові визначали фотометричним методом за реакцією Грися: нітриду (NO_2) – безпосередньо, а суми нітриду та нітрату ($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$) – після відновлення нітрату до нітриду цинковим пилом.

Статистичну обробку проводили за допомогою комп'ютерних програм "SPSS 13", "Microsoft Excel 2000". Статистичні гіпотези про різницю середніх показників перевіряли за допомогою критерію Ст'юдента для рівня значимості $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.

Для дослідження зв'язку між порушенням функціонального стану ендотелію та його ранніми морфологічними змінами частини хворих обох груп було проведено дослідження ТКІМ СА, яка за даними літератури визнана одним з ранніх ультразвукових маркерів атеросклеротичного ураження судинної стінки та може свідчити не тільки про місцеві зміни сонних артерій, а і про поширеність атеросклерозу взагалі [8].

В результаті ультразвукового дослідження екстракраніальних відділів СА нами встановлено, що у 27,6% хворих 1 групи (ІХС) наявні атеросклеротичні зміни судинної стінки (8 хворих із 29 пацієнтів) різної кількості та величини. ТКІМ у хворих 1 групи з наявністю в СА атеросклеротичних змін і без них достовірно не відрізнялася.

У хворих 2 групи (ХГН з ІХС) атеросклеротичні зміни судинної стінки виявлено у 31, 0 % пацієнтів (9 хворих з 29 пацієнтів). ТКІМ у хворих 2 групи з наявністю атеросклеротичних змін у СА склала $(0,80 \pm 0,01)$ мм, що було достовірно більше, ніж у хворих без атеросклеротичних бляшок $(0,60 \pm 0,01)$ мм ($p < 0,01$).

Враховуючи однаковий відсоток хворих з атеросклеротичними змінами судинної стінки в обох групах та молодший вік хворих 2 групи можна вважати, що атеросклеротичне ремоделювання судинної стінки в групі хворих з ХГН має більш швидкий перебіг і, ймовірно, пов'язано з наявністю хронічного запального процесу, що порушує цілісність ендотелію та його функціональний стан.

При дослідженні раннього біохімічного маркера цілісності ендотелію VE-кадгерину в обох групах хворих відзначено суттєве підвищення його рівня, найбільш виразне у пацієнтів з поєднаною патологією (в 3,6 рази, $p < 0,01$) (табл. 1). Виявлене підвищення вмісту VE-кадгерину свідчить про порушення цілісності ендотелію в обстежених групах хворих та може відігравати важливу роль в прогресуванні атеросклерозу у цих пацієнтів.

Порушення цілісності ендотелію у хворих обох груп відбувається на тлі погіршення функціонального стану нирок: швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) у хворих 1 та 2 груп виявилась у 1,39 та 2,24 рази, відповідно, меншою за контрольні значення ($p < 0,01$); вміст креатиніну в крові був в 1,25 та 2,29 рази, відповідно, вищим від контролю ($p < 0,01$) (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст VE-кадгерину та показники функціонального стану нирок ($M \pm m$)

Показники	Групи хворих		
	Контрольна група (n = 15)	1 група ІХС (n = 41)	2 група ІХС з ХГН (n = 62)
VE-кадгерин (нг/мл)	$0,309 \pm 0,120$	$0,810 \pm 0,122^*$	$1,112 \pm 0,246^*$
Протеїнурія, г/добу	0	$0,03 \pm 0,01$	$0,98 \pm 0,20^{*#}$
ШКФ, мл/хв	$105,8 \pm 9,8$	$75,7 \pm 3,0^*$	$47,3 \pm 3,5^{*#}$
Креатинін крові, мкмоль/л	$73,9 \pm 5,8$	$92,6 \pm 4,7^*$	$169,7 \pm 13,1^{*#}$

Примітки: * – вірогідно у порівнянні з показниками контрольної групи ($p < 0,01$);

- вірогідно у порівнянні з показниками 1 групи ($p < 0,05$).

У хворих 1 групи виявляються сліди білку у сечі, тоді як екскреція білку з сечею у 2 групі досягає $(0,98 \pm 0,20)$ г/добу. При цьому зміни зазначених показників були найбільшими у хворих з поєднаною патологією та вірогідно відрізнялись не тільки від контролю, але й від значень у 1 групі. Слід відзначити, що отримані дані відповідають результатам інших досліджень, у яких протеїнурію розглядають як маркер запального процесу, порушення цілісності ендотелію та тяжкості ураження органів-мішеней [4]. Так, у пацієнтів з мікроальбумінурією та протеїнурією

було виявлено суттєве збільшення частоти розвитку інсульту, інфаркту міокарда, а у пацієнтів з хронічними хворобами нирок наявність протеїнурії корелювала з підвищенням ризику розвитку ІХС та погіршенням прогнозу розвитку ускладнень ІХС [5].

При дослідженні вмісту в плазмі крові одного з маркерів функціонального стану ендотелію – стабільного метаболіту оксиду азоту (NO) – NO_2 встановлено, що зазначений показник був вірогідно нижчим, ніж у контролі в обох групах пацієнтів (табл. 2).

Таблиця 2

**Вміст NO₂ та суми (NO₂+NO₃) в плазмі крові хворих на ІХС (1 група)
та ІХС у поєднанні з ХГН (2 група) (M ± m).**

Група пацієнтів	NO ₂ , мкмоль/л	(NO ₂ +NO ₃), мкмоль/л
Контроль (n=15)	3,32±0,15	27,36±2,21-
1 група (n=41)	2,23±0,18 *	35,07±2,17 *
2 група (n=62)	1,77±0,09 *	65,48±6,25 * #

Примітки: * - p<0,05 вірогідно у порівнянні з показниками контрольної групи;
- вірогідно у порівнянні з показниками 1 групи (p < 0,05).

Оскільки відомо, що основним джерелом нітриту є окислений NO, синтезований NO-синтазами, причому більше 70 % плазменого нітриту утворюється при участі саме ендотеліальної NO-синтази (eNOS), зниження рівня NO₂ можна розглядати як свідчення зниження NO-продукуючої здатності ендотелію. Виявлені зміни відбивають послаблення регіональної активності eNOS під впливом зростаючого навантаження на ендотелій у хворих з ІХС (дисліпідемії, оксидативний стрес, гемодинамічне навантаження підвищеним артеріальним тиском), які призводять до порушення в системі NO-опосередкованої регуляції судинного тону.

В той же час, концентрація в плазмі суми (NO₂+NO₃) в 1 та 2 групах виявилась в 1,28 (p<0,05) й 2,40 (p<0,01) рази вище, ніж в контрольній групі, відповідно. Показник в 2 групі хворих вірогідно перевищував його значення в 1 групі (в 1,86 рази, p<0,05). Підвищення вмісту (NO₂+NO₃) в плазмі, вірогідно, обумовлено зростанням утворення NO внаслідок активації індукційної ланки синтезу останнього на тлі підвищеної прозапальної активності у цих груп пацієнтів. Підвищення вмісту суми (NO₂+NO₃) в плазмі крові хворих з ІХС та з ІХС у поєднанні з ХГН відбувалося паралельно зі зростанням концентрації маркера оксидативного стресу – МДА (табл. 3).

Таблиця 3

**Вміст МДА та SH-груп в плазмі крові хворих на ІХС (1 група)
та ІХС у поєднанні з ХГН (2 група)(M ± m).**

Група пацієнтів	МДА, мкмоль/л	SH-групи, ммоль/л	МДА/SH
Контроль (n = 15)	3,11±0,21	1,53±0,11	2,03 ± 0,18
1 група (n = 41)	6,47 ± 0,28 [□]	1,42 ± 0,13	4,56 ± 0,35 [□]
2 група (n = 62)	8,12 ± 0,51 ^{□*}	1,15 ± 0,12 [□]	7,06 ± 0,65 ^{□*}

Примітки: [□] - p< 0,05 вірогідно у порівнянні з показниками контрольної групи
* - p< 0,05 вірогідно у порівнянні з показниками 1 групи (p < 0,05).

У відповідності до отриманих результатів, рівень кінцевого продукту ПОЛ – МДА в плазмі крові хворих 2 групи був в 2,61 рази вище у порівнянні з пацієнтами контрольної групи (p<0,01), та в 1,26 – порівняно з хворими 1 групи (p<0,05), відповідно (табл. 3). У хворих 2 групи також виявлено зниження вмісту в плазмі SH-груп – на 25,2% у порівнянні з контролем (p<0,05), що може бути пов'язано з їх підвищеним витрачанням в умовах активації ПОЛ. Зростання співвідношення МДА/SH у хворих 1 та особливо 2 групи свідчить про те, що пов'язані з ХГН імунні механізми сприяють більш виразному порушенню балансу в про-антиоксидантній системі й тим самим спроможні індукувати більш глибокі ураження судинного ендотелію.

Отримані нами дані щодо взаємообтяжуючих клінічних проявів, більш високі показники протеїнурії та артеріального тиску, виразніші зміни морфологічного та функціонального стану ендотелію у хворих з поєднаною патологією, вірогідно, обумовлені загальними ланками патогенетичних механізмів обох захворювань.

ВИСНОВКИ:

1. Підвищення вмісту VE-кадгерину у пацієнтів з ІХС та ІХС у поєднанні з ХГН свідчить про порушення цілісності ендотелію та може бути важливим чинником розвитку атеросклерозу у цих пацієнтів.

2. У хворих з поєднаною патологією відбуваються найбільш виразні порушення балансу в системі ПОЛ/АОС, які індукують більш глибокі ураження судинного ендотелію.
3. Порушення функціонального стану ендотелію у хворих з ІХС у поєднанні з ХГН характеризується зниженням ендотеліального на тлі зростання системного синтезу NO, обумовленого підвищеною прозапальною активністю.
4. Атеросклеротичне ремоделювання судинної стінки в групі хворих з ІХС у поєднанні з ХГН має більш швидкий перебіг й пов'язано з наявністю хронічного запального процесу, що порушує цілісність та функціональний стан ендотелію.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Колесник М.О. Кардіоваскулярні ускладнення у хворих на хронічну хворобу нирок ./ Колесник М.О., Лапчинська І.І., Ташук В.К., Дядик О.І., Кулизський М.В. – Київ.- 2010.- 224 с.
2. Практикум по біохимії /Под ред. С.Е. Северина, Т.А.Соловьевой.- М.: МГУ. – 1989 г.
3. Синяченко О.В., Зяблицев С.В., Чернобривцев П.А. Роль ендотеліальної дисфункції в патогенезі мезангіальних гломерулонефритів / О.В. Синяченко, С.В. Зяблицев, П.А. Чернобривцев // Укр. журнал нефрології та діалізу. – 2007. – №2(14) . – С. 36-38.
4. Chronic uremia stimulates LDL carbamylation and atherosclerosis / E.O. Apostolov, D. Ray, A.V. Savenka [et al.] // J. Am. Soc. Nephrol. – 2010. – Vol. 21. – P. 1852-1857.

5. Increased risk of cardiovascular events and mortality among non-diabetic chronic kidney disease patients with hypertensive nephropathy: the Gonryo study / M. Nakayama, T. Sato, M. Miyazaki [et al.] // Hypertens. Res. – 2011. – Vol. 34(10). – P. 1106-1110.
6. Peters S. A. E. Improvements in risk stratification for the occurrence of cardiovascular disease by imaging subclinical atherosclerosis: a systematic review /S. A. E. Peters, H. M. den Ruijter, M. L. Bots, and K. G. M. Moons //Heart. – 2012. - № 98(3). – P. 177-184.
7. Pignoli P. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging / P.Pignoli, E.Tremoli, A.Poli, P.Oreste, R.Paoletti // Circulation. – 1986. – Vol. 74. – P. 1399-1406.
8. Stein J.H. Use of Carotid Ultrasound to Identify Subclinical Vascular Disease and Evaluate Cardiovascular Risk: A Consensus Statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force Endorsed by the Society for Vascular Medicine / J.H.Stein, C.E.Korcarz, R.T. Hurst et al. // Journal of the American Society of Echocardiography. - 2008. - Vol. 48.- P. 93-111.
9. Cell adhesion dynamics at endothelial junctions: VE-cadherin as a major player / D. Vestweber, M. Winderlich, G. Cagna, A.F. Nottebaum // Trends Cell Biol. – 2009. – Vol. 19(1). – P. 8-15.
10. Yamamoto S. Mechanisms for increased cardiovascular disease in chronic kidney dysfunction / S. Yamamoto, Valentina Kon // Curr. Opin. Nephrol. Hypertens. – 2009. – Vol. 18(3). – P.181–188.

Надійшла до редакції 12.12.2012

Прийнята до друку 20.02.2013