

СООТНОШЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ АПОПТИЧЕСКИХ МИКРОЧАСТИЦ И ПРОГЕНИТОРНЫХ ПРОАНГИОГЕННЫХ МОНОНУКЛЕАРОВ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЕЛИЧИНЫ ИНДЕКСА МАССЫ ТЕЛА

Березин А.Е., Кремзер А.А.

*Запорожский государственный медицинский университет, Запорожье, Украина
dr_berezin@mail.ru*

Мета: оцінка взаємозв'язку співвідношення кількості циркулюючих ендотеліальних апоптичних мікрочастинок і ендотеліальних прогеніторних мононуклеаров залежно від маси тіла пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю.

Матеріали і методи. У дослідження було включено 302 пацієнта віком 42-65 років з хронічною серцевою недостатністю I-IV функціональних класів. Вміст NT-про-МНУП (мозкового натрійуретичного пептиду) було виміряно імуоелектрохемолюмінісцентним методом. Фенотипування популяції ендотеліальних апоптичних мікрочастинок і ендотеліальних прогеніторних мононуклеарів здійснювалося методом проточної цитофлуориметрії.

Результати. Медіана співвідношення ендотеліальних апоптичних мікрочастинок до ендотеліальних прогеніторних мононуклеарів у пацієнтів з індексом маси тіла менше 21 кг/м², 21-24,9 кг/м², а також більше 25 кг/м² складала 2,67×10 од. (95% ДІ=1,80×10 од.-4, 56×10 од.), 2,54×10 од. (95% ДІ = 1,86×10 од.-2,96 × 10 од.) та 1,86×10 од. (95% ДІ = 0,96×10 од.-2, 42×10 од.), відповідно (p = 0,001 для всіх випадків). За даними мультиваріантного регресійного аналізу, основними факторами, що зберігають незалежний вплив на величину співвідношення ендотеліальних апоптичних мікрочастинок до ендотеліальних прогеніторних мононуклеарів, з'явилися індекс маси тіла (γ = -0418, Wald χ² = 9,11, p = 0,001), рівень циркулюючих NT-про-МНУП (γ = 0412, Wald χ² = 4,56, p = 0,003), функціональний клас хронічної недостатності (γ = 0404, Вальд χ² = 4,31, p = 0,001), фракція викиду лівого шлуночка (γ = -0395, Wald χ² = 1,27, p = 0,002), цукровий діабет 2 типу (γ = 0312, Вальд χ² = 1,18; p = 0,001), а також багатосудинне ураження коронарних артерій (γ = 0366, Вальд χ² = 1,04, p = 0,001).

Висновок: для пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю різна величина індексу маси тіла тісно асоціюється з співвідношенням ендотеліальних апоптичних мікрочастинок до ендотеліальних прогеніторних мононуклеарів, яке розглядається як досить чутливий біомаркер дисфункції ендотелію та виникнення несприятливих клінічних наслідків.

Ключові слова: ендотеліальні апоптичні мікрочасточки; ендотеліальні прогеніторні мононуклеари; хронічна серцева недостатність.

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) продолжает рассматриваться как ведущая причина кардиоваскулярной смертности [13]. В патогенезе ХСН повреждение монослоя эндотелиоцитов, вызванное различными причинами и приводящее к возникновению эндотелиальной дисфункции (ЭД), играет важную роль [11]. Предшествующие исследования показали, что ЭД сопровождается значительным повышением уровня циркулирующих эндотелиальных апоптических микрочастиц (ЭАМ), которые высвобождаются из эндотелиоцитов в ответ на их активацию или вследствие апоптоза [3]. Установлено, что ЭАМ участвуют в межклеточном взаимодействии преимущественно путем трансфера биологически активных мессенджеров и сигнальных молекул, модулируя широкий спектр биологических процессов, таких как воспаление, иммунный ответ, коагуляция, атерогенез [10]. Циркулирующие эндо-

телиальные прогениторные мононуклеары (ЭПМ), экспрессирующие антигены CD34+ и VEGFR-2+ (*Vascular Endothelial Growth Factor Rreceptor-2*), CD133+, CD14+, Tie2+ (специфические лиганды для тирозинкиназы), также как ЭАМ, участвуют в репаративных процессах, включая реэндотелизацию фрагментов васкулярного повреждения, ремоделирование внеклеточного матрикса, неоваскуляризацию и ангиогенез [5]. Установлено, что соотношение ЭАМ и ЭПМ является более надежным индикатором дисбаланса между про- и антиангиогенным ответом при реализации кардиоваскулярного ремоделирования с возможным прогностическим потенциалом [2]. В то же время не установлены уровни ЭПМ, ЭАМ и их соотношение у пациентов с ХСН с различной величиной массы тела.

Целью настоящего исследования явилась оценка взаимосвязи соотношения количества циркулирую-

щих эндотелиальных апоптических микрочастиц и эндотелиальных прогениторных мононуклеаров в зависимости от массы тела пациентов с ХСН.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 302 пациента в возрасте 42–65 лет с ХСН I–IV функциональных классов (ФК) в соответствии с классификацией *New York Heart Association (NYHA)*. Все пациенты дали письменное информированное согласие на участие в исследовании. В качестве критериев исключения использовались Q-инфаркт миокарда или нестабильная стенокардия на протяжении 30 суток до включения в исследование, стенокардия напряжения IV ФК, неконтролируемая артериальная гипертензия (АГ), декомпенсированный сахарный диабет, необходимость в проведении инсулинотерапии, тяжелые заболевания печени и почек, онкологические заболевания, симптоматическая АГ, индекс массы тела (ИМТ) более 30 кг/м² и менее 15 кг/м², инфекционные заболевания в течение 3 недель до скринирования, перенесенный мозговой инсульт, черепно-мозговая травма в течение 3 месяцев; критические стенозы / окклюзии уязвимых участков коронарных артерий, включая ствол левой и правой коронарной артерии (КА), требующие немедленного проведения аортокоронарного шунтирования (АКШ) и чрезкожного коронарного вмешательства (ЧКВ); уровень креатинина плазмы крови более 440 мкмоль/л, скорость клубочковой фильтрации (СКФ) менее 35 мл/мин/м², а также любые другие нарушения, которые, по мнению исследователей, могли препятствовать участию пациентов в исследовании, а также отказ от участия в исследовании по любым причинам.

Ишемическая природа ХСН устанавливалась в случае ее непосредственной связи с ранее документированным инфарктом миокарда, а также при наличии позитивного результата мультиспиральной компьютерной томографии-ангиографии (n=54) и/или рентгенконтрастного ангиографического исследования коронарных артерий (n=73).

Оценка показателей систолической и диастолической функции осуществлялась с помощью трансторакальной эхокардиографии по общепринятому методу [14] на аппарате *ACUSON (SIEMENS)*, Германия) в В-режиме эхолокации и режиме тканевой доплерографии. Конечного-диастолический и конечного-систолический объемы левого желудочка (ЛЖ) измерялись методом Симпсона. Тканевая доплерография проводилась в 4-, 3- и 2-камерной проекциях в каждом из 16 сегментов ЛЖ и в четырех точках митрального кольца: у основания заднеперегородочной, боковой, нижней и передней стенок ЛЖ [12]. Изменялись пиковые систолическая миокардиальная скорость (Sm), ранняя диастолическая миокар-

диальная скорость (Em) и поздняя диастолическая миокардиальная скорость (Am) митрального кольца с последующим расчетом отношения пиковой скорости раннего диастолического наполнения ЛЖ (E) к Am (E/Am) и Em (E/Em).

Вычисление СКФ проводилось с использованием формулы CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) [8].

Содержание NT-pro-MHUP (мозгового натрийуретического пептида) было измерено иммуноэлектрохемоллюминисцентным методом с использованием наборов фирмы *R&D Systems* (США) на анализаторе *Elecsys 1010 (Roche, Mannheim)*, Германия). Концентрация общего холестерина (ХС) и ХС липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) измерялись ферментативным методом. Содержание липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) рассчитывали по формуле *Friedewald W.T.*

Фенотипирование популяций эндотелиальных апоптических микрочастиц и мононуклеарных клеток осуществлялось методом проточной цитофлуориметрии с помощью моноклональных антител, меченными флуорохромами FITC (флуоресцеин изотиоцианат) или двойной меткой FITC/PE (фикоэритрин) (*BD Biosciences*, США), к антигенам CD31, annexin V⁺, CD45, CD34, CD14, Tie-2 и CD309(VEGFR2) по методологии HD-FACS (*High-Definition Fluorescence Activated Cell Sorter*) с удалением эритроцитов лизирующим буфером в соответствии с протоколом гейтирования *ISHAGE (International Society of Hematotherapy and Graft Engineering sequential)* [15]. Для каждой из проб анализировалось 500 тыс. событий. ЭАМ фенотипировались как CD31⁺/annexin V⁺ микрочастицы [7]. Проангиогенный фенотип циркулирующих ЭПМ идентифицировался как экспрессия CD14+CD309(VEGFR2)+Tie-2+ антигенов. Результаты скатерограмм, полученные при продольном и поперечном рассеивании лазерного луча в проточном цитофлуориметре, подвергались анализу с использованием принципа Булина (*Boolean principles*) для двойных или тройных позитивных событий.

Исследователи строго придерживались всех требований, предъявляемых к клиническим испытаниям, в соответствии с Хельсинской декларацией прав человека (1964), с Конференцией по гармонизации надлежащей клинической практики (GCP-ICH), с Конвенцией Совета Европы о защите прав и достоинства человека в связи с использованием достижений биологии и медицины, с Конвенцией о правах человека, с Дополнительным протоколом к Конвенции о биомедицинских исследованиях и с законодательством Украины.

Статистическую обработку результатов проводили в системе SPSS для Windows, версия 22. Все данные представлены как среднее (M) и ошибка средней ($\pm m$) или 95% доверительный интервал

(ДИ); медиана (Me) и межквартильный интервал. Гипотезу о нормальности распределения исследуемых показателей проверяли с использованием критерия Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова. При сравнении групп больных по основным показателям использовали непарный t-критерий Стьюдента или U-критерий Манна–Уитни. При проведении парных сравнений уровней показателей внутри групп применяли парный критерий Вилкоксона. Сравнения категориальных переменных между группами проводили с использованием χ^2 теста и точного критерия Фишера F. Концентрации циркулирующих ЭАМ, ЭПМ, NT-pro-MHUP не имели нормального распределения, тогда как распределение содержания общего холестерина и его фракций отличалось нормальным характером. Потенциальные факторы, которые могли бы быть связаны с изменением соотношения ЭАМ / ЭПМ, первоначально были определены с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), а затем все идентифицированные факторы с уровнем $P < 0,1$ были дополнительно изучены в многофакторном дисперсионном анализе. Величина отношения шансов (ОШ) и 95% ДИ были рассчитаны для всех независимых предикторов увеличения соотношения ЭАМ / ЭПМ. Результаты считались достоверными при уровне $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Все пациенты с ХСН были распределены на три когорты в зависимости от величины индекса массы тела. Как видно из таблицы 1, не было отмечено существенных различий между когортами пациентов с ХСН в зависимости от возраста, гендерной принадлежности, скорости клубочковой фильтрации, содержания гликозилированного гемоглобина (HbA1c), уровней глюкозы натощак, креатинина крови, общего холестерина, холестерина ЛПНП и холестерина ЛПВП, количества пораженных коронарных артерий, уровней офисного артериального давления (АД), частоты сердечных сокращений (ЧСС). Частота встречаемости кардиоваскулярных факторов риска, таких как курение, АГ, дислипидемия, сахарный диабет 2 типа, в трёх когортах больных также достоверно не различалась. Обращает на себя внимание отсутствие достоверных различий между значениями показателей E/Am и E/Em в трёх когортах больных, хотя статистически значимое снижение фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) было обнаружено в когорте пациентов с ИМТ менее 21 кг/м^2 по сравнению с лицам, у которых ИМТ имел более высокие значения. Кроме того, циркулирующий уровень NT-pro-MHUP был достоверно выше у лиц с ИМТ менее 21 кг/м^2 , чем у пациентов с ХСН, включенных в остальные когорты наблюдения. Каких-либо отличий между сформированными

когортами пациентов по отношению к проводимой фармакотерапии обнаружено не было.

Анализ полученных данных показал, что медиана циркулирующего уровня ЭАМ в когортах пациентов с ИМТ менее 21 кг/м^2 , $21\text{--}24,9 \text{ кг/м}^2$, а также более 25 кг/м^2 составляла $0,686 \text{ клеток/мл}$ (95% ДИ= $0,645\text{--}0,784 \text{ клеток/мл}$); $0,588 \text{ клеток/мл}$ (95% ДИ= $0,545\text{--}0,712 \text{ клеток/мл}$) и $0,298 \text{ клеток/мл}$ (95% ДИ= $0,271\text{--}0,322 \text{ клеток/мл}$) ($P < 0,001$ для всех случаев). Количество ЭАМ в крови позитивно ассоциировалось с ФК ХСН ($r=0,514$, $P=0,001$), NT-pro-MHUP ($r=0,416$, $P=0,001$), наличием сахарного диабета 2 типа ($r=0,402$, $P=0,003$) и наличием многососудистого поражения коронарных артерий ($r=0,362$, $P=0,001$), ИМТ ($r=-0,358$, $P=0,001$), E/Am ($r=0,360$, $P=0,001$), E/Em ($r=0,344$, $P=0,001$), гендерной принадлежностью ($r=0,318$, $P < 0,001$ для мужчин), общим холестерином ($r=0,313$, $P=0,001$), возрастом пациентов ($r=0,275$, $P=0,001$), приверженностью к курению ($r=0,212$, $P=0,001$) и негативно – с ФВ ЛЖ ($r=-0,496$, $P=0,001$) и СКФ ($r=-0,408$, $P=0,003$).

Медиана циркулирующего уровня ЭПМ в когортах пациентов с ИМТ менее 21 кг/м^2 , $21\text{--}24,9 \text{ кг/м}^2$, а также более 25 кг/м^2 составила $0,22 \text{ клеток/мкл}$ (95% ДИ= $0,16\text{--}0,25 \text{ клеток/мкл}$); $0,27 \text{ клеток/мкл}$ (95% ДИ= $0,24\text{--}0,32 \text{ клеток/мкл}$) и $0,16 \text{ клеток/мкл}$ (95% ДИ= $0,108\text{--}0,189 \text{ клеток/мкл}$), соответственно ($P=0,001$ для всех случаев). Обнаружена позитивная ассоциация между количеством ЭПМ и ФВ ЛЖ ($r=0,639$; $P=0,001$), E/Em ($r=0,52$; $P=0,001$), ИМТ ($r=-0,316$, $P=0,001$), СКФ ($r=0,486$; $P=0,002$) и негативная ассоциация с ФК ХСН ($r=-0,657$; $P=0,001$), наличием сахарного диабета 2 типа ($r=-0,610$; $P=0,001$), возрастом ($r=-0,398$; $P=0,001$), креатинином ($r=-0,394$; $P=0,001$), NT-pro-MHUP ($r=-0,473$; $P=0,001$), ХС ЛПНП ($r=-0,354$; $P=0,001$), общим холестерином ($r=-0,258$; $P=0,043$), приверженностью к курению ($r=-0,285$; $P=0,042$), ИМТ ($r=-0,272$; $P=0,046$).

Медиана соотношения ЭАМ / ЭПМ у пациентов с ИМТ менее 21 кг/м^2 , $21\text{--}24,9 \text{ кг/м}^2$, а также более 25 кг/м^2 составила $2,67 \times 10 \text{ ед.}$ (95% ДИ= $1,80 \times 10 \text{ ед.}$ – $4,56 \times 10 \text{ ед.}$), $2,54 \times 10 \text{ ед.}$ (95% ДИ= $1,86 \times 10 \text{ ед.}$ – $2,96 \times 10 \text{ ед.}$) и $1,86 \times 10 \text{ ед.}$ (95% ДИ= $0,96 \times 10 \text{ ед.}$ – $2,42 \times 10 \text{ ед.}$), соответственно ($P=0,001$ для всех случаев). Соотношение ЭАМ / ЭПМ позитивно ассоциировалось с ФК ХСН ($r=0,62$, $P=0,001$), NT-pro-MHUP ($r=0,513$, $P=0,001$), ИМТ ($r=-0,422$, $P=0,001$), наличием сахарного диабета 2 типа ($r=0,422$, $P=0,001$), многососудистым поражением коронарных артерий ($r=0,432$, $P=0,001$), E/Am ($r=0,387$, $P=0,002$), E/Em ($r=0,356$, $P=0,002$), гендерной принадлежностью ($r=0,396$, $P < 0,001$ для мужчин), общим холестерином ($r=0,322$, $P=0,001$), возрастом ($r=0,301$, $P=0,001$), приверженностью к курению ($r=0,287$, $P=0,001$) и негативно – с ФВ ЛЖ ($r=-0,506$, $P=0,001$) и СКФ ($r=-0,502$, $P=0,001$). Не

было обнаружено существенной взаимосвязи между соотношением ЭАМ / ЭПМ и уровнем глюкозы натощак, HbA1c, уровнем офисного АД, отягощенным семейным анамнезом по возникновению преждевременной ишемической болезни сердца (ИБС), а также

особенностями медикаментозного лечения.

Мультивариантный регрессионный анализ показал, что основными факторами, сохраняющими независимое влияние на величину соотношения ЭАМ / ЭПМ, явились ИМТ ($r=-0,418$, Wald $\chi^2=9,11$;

Таблица 1

Общая характеристика пациентов, принявших участие в исследовании

Показатели	ИМТ <21 кг/м ² (n=42)	ИМТ 21-24,9 кг/м ² (n=148)	ИМТ >25 кг/м ² (n=112)	P
Возраст, годы	57,80±6,20	58,20±7,70	58,10±6,80	0,26
Мужчины, n (%)	24 (57,1%)	77 (52,0%)	60 (53,6%)	0,66
АГ, n (%)	25 (59,5%)	71 (48,0%)	58 (51,9%)	0,24
Дислипидемия, n (%)	16 (38,1%)	58 (39,1%)	46 (41,1%)	0,26
СД 2 типа, n (%)	14 (33,3%)	49 (33,1%)	36 (32,1%)	0,76
Курение, n (%)	14 (33,3%)	45 (30,4%)	31 (27,7%)	0,18
I ФК ХСН NYHA	13 (31,0%)	43 (29,1%)	33 (29,5%)	0,84
II ФК ХСН NYHA	11 (26,2%)	38 (25,7%)	30 (26,8%)	0,73
III ФК ХСН NYHA	9 (21,4%)	34 (23,0%)	27 (24,1%)	0,66
IV ФК ХСН NYHA	9 (21,4%)	33 (22,3%)	22 (19,6%)	0,82
СКФ, мл/мин/м ²	88,3 95% ДИ=69,5–103,8	86,1 95% ДИ=70,6–110,1	87,5 95% ДИ=64,9–108,6	0,42
HbA1c, %	6,0 95% ДИ=4,3-7,0	6,3 95% ДИ=4,1-8,2	6,5 95% ДИ=4,3-8,6	0,12
Глюкоза натощак, ммоль/л	4,80 95% ДИ=3,6-8,5	5,25 95% ДИ=3,3-8,0	5,40 95% ДИ=3,4-9,1	0,058
Креатинин, мкмоль/л	70,5 95% ДИ=57,6–108,2	74,9 95% ДИ=65,1–90,3	72,5 95% ДИ=68,1–100,3	0,42
Общий ХС, ммоль/л	5,0 95% ДИ=4,2-5,8	5,3 95% ДИ=4,6-6,0	5,2 95% ДИ=4,1-5,9	0,36
ХС ЛПНП, ммоль/л	3,12 95% ДИ=2,30–3,90	3,43 95% ДИ=2,80–4,10	3,60 95% ДИ=3,13–4,16	0,058
ХС ЛПВП, ммоль/л	0,86 95% ДИ=0,81–0,96	0,88 95% ДИ=0,82–1,07	0,94 95% ДИ=0,92–1,06	0,46
NT-pro-MHUP, пг/мл	1533,6 (95% ДИ=644,5 – 2560,6)	1243,1 (95% ДИ=984,8 – 1690,7)	1031,2 (95% ДИ=704,8 – 1960,5)	0,046
АД сист., мм рт.ст.	130±3	134±6	133±4	0,76
АД диаст., мм рт.ст.	77±6	76±5	76±6	0,74
ЧСС, уд. в 1 мин.	74±6	69±6	70±3	0,77
ФВ ЛЖ, %	42,80±0,76	55,40±0,80	51,20±1,65	0,046
Е/Am, ед.	16,6±0,94	16,5±1,20	16,6±1,14	0,52
Е/Em, ед.	16,6±1,00	16,6±0,84	16,5±1,20	0,58
Однососудистое поражение КА, n (%)	10 (23,8%)	29 (19,6%)	25 (22,3%)	0,64
Двухсосудистое поражение КА, n (%)	14 (33,3%)	55 (37,1%)	37 (33,0%)	0,60
Многососудистое поражение КА, n (%)	18 (42,9%)	64 (43,2%)	50 (44,6%)	0,66
ИАПФ / АРА, n (%)	42 (100%)	148 (100%)	112 (100%)	1,0
Ацетилсалициловая кислота, n (%)	38 (90,5%)	131 (88,5%)	102 (91,1%)	0,62
Другие антиагреганты, n (%)	4 (9,5%)	17 (11,5%)	10 (8,9%)	0,22
Статины, n (%)	25 (59,5%)	80 (60,2%)	68 (60,7%)	0,84
Метформин, n (%)	14 (33,3%)	45 (33,8%)	36 (32,1%)	0,92
Диуретики, n (%)	42 (100%)	121 (91,0%)	108 (96,4%)	0,88
Антагонисты минералокортико- идных рецепторов, n	18 (42,9%)	70 (52,6%)	47 (42,0%)	0,66

Примечание: ИАПФ – ингибитор ангиотензин-превращающего фермента, АРА – антагонисты рецепторов к ангиотензину-2.

Предсказуемая ценность различных факторов в отношении снижения соотношения эндотелиальных апоптических микрочастиц к эндотелиальным прогениторным мононуклеарам у больных с хронической сердечной недостаточностью

Фактор	ОШ	95% ДИ	P
Снижение ИМТ на 1 кг/м ²	1,52	1,18 – 2,06	0,001
NT-pro-MHUP	1,45	1,09 – 1,88	0,003
ИМТ + NT-pro-MHUP	1,47	1,12 – 1,89	0,001
ФК ХСН	1,23	1,07 – 1,45	0,003
ИМТ + NT-pro-MHUP +ФК ХСН	1,39	1,05 – 1,73	0,001

P=0,001), циркулирующий уровень NT-pro-MHUP ($r=0,412$, Wald $\chi^2=4,56$; P=0,003), ФК ХСН ($r=0,404$, Wald $\chi^2=4,31$; P=0,001), ФВ ЛЖ ($r=-0,395$, Wald $\chi^2=1,27$; P=0,002), сахарный диабет 2 типа ($r=0,312$, Wald $\chi^2=1,18$; P=0,001), а также многососудистое поражение коронарных артерий ($r=0,366$, Wald $\chi^2=1,04$; P=0,001). С помощью многофакторной предсказывающей модели было установлено, что наиболее значимыми независимыми факторами риска снижения соотношения ЭАМ / ЭПМ явились ИМТ, NT-pro-MHUP, ФК ХСН, ФВ ЛЖ (табл. 2).

Таким образом, для пациентов с ХСН различная величина ИМТ тесно ассоциируется с соотношением ЭАМ / ЭПМ, которое рассматривается как достаточно чувствительный биомаркер дисфункции эндотелия и возникновения неблагоприятных клинических исходов.

Циркулирующие ЭАМ занимают центральное место в регуляции репаративных процессов, реализации провоспалительной активации, поддержании коагуляционного потенциала крови при различных кардиоваскулярных заболеваниях [4]. Предшествующими исследованиями установлена триггерная роль ЭАМ при формировании дисфункции эндотелия, которая реализуется посредством супрессии продукции оксида азота, повышения его деградации и непосредственного влияния на механические качества эндотелия сосудов [6]. ЭПМ также активно участвуют в воспалительных и репаративных процессах, а также модулируют ангиогенез и апоптоз эндотелиоцитов [9]. В этой связи ЭАМ и ЭПМ рассматриваются как маркеры активации эндотелия и формирования эндотелиальной дисфункции, а изменение их соотношения, возможно, имеет определенную предсказуемую ценность для пациентов с ХСН [3]. В настоящем исследовании установлено, что в популяции пациентов с ХСН с различной величиной ИМТ (менее 21 кг/м², 21-24,9 кг/м² и более 25 кг/м²) соотношение ЭАМ / ЭПМ возрастает пропорционально снижению величины ИМТ. При этом потеря массы тела на каждые 1 кг/м² сопровождается повышением риска снижения ЭАМ / ЭПМ почти в 1,5 раза (ОШ=1,52, 95% ДИ = 1,18-2,06; P=0,001) преимущественно за счет повышения эндогенной продукции проапоптических микровезикул. Ранее

мы уже сообщали о существовании различий выживаемости между когортами пациентов с ХСН с величиной соотношения ЭАМ / ЭПМ в пределах нижних и верхних квартилей [1]. Однако эти данные были получены без учета исходной величины ИМТ у этих пациентов. Мы полагаем, что повышение соотношения ЭАМ / ЭПМ может отражать степень снижения васкулярного репаративного потенциала и тяжесть дисфункции эндотелия у пациентов с ХСН. Это, в свою очередь, можно рассматривать как объективизацию стадии в развитии заболевания, несмотря на то, что клеточные механизмы реализации этого эффекта остаются не вполне понятными. Полученные данные хорошо ассоциируются с современными представлениями о негативном влиянии ИМТ менее 21 кг/м² в отношении ближайшего и отдаленного прогноза у пациентов с ХСН. При этом для пациентов с избыточной массой тела характерным является менее высокие показатели циркулирующих прогностических биомаркеров ХСН, таких как натрийуретические пептиды. Результаты настоящего исследования позволяют связать между собой снижение массы тела и недостаточный уровень мобилизованных из депо циркулирующих ЭПМ с интенсивностью эндотелиального повреждения. Вероятно, требуются дополнительные исследования с большей статистической мощностью, позволяющие установить клиническое значение изменения соотношения ЭАМ / ЭПМ в популяции пациентов с ХСН ишемического генеза.

ВЫВОДЫ

1. В популяции пациентов с ХСН ишемического генеза снижение величины соотношения ЭАМ / ЭПМ тесно ассоциируется с ФК ХСН, NT-pro-MHUP, ИМТ, наличием сахарного диабета 2 типа, многососудистым поражением коронарных артерий, ФВ ЛЖ и скоростью клубочковой фильтрации.

2. Основными независимыми предикторами снижения величины соотношения ЭАМ / ЭПМ явились ИМТ, циркулирующий уровень NT-pro-MHUP, ФК ХСН, ФВ ЛЖ.

3. Снижение индекса массы тела на 1 кг/м² способствует повышению риска повышения соот-

ношення ЭАМ / ЭПМ в 1,5 раза (ОШ=1,52, 95% ДИ=1,18 -2,06; P=0,001)

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організації.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березин А.Е. Прогностическое значение соотношения количества циркулирующих эндотелиальных апоптотических микрочастиц и прогениторных проангиогенных моноклеаров у пациентов с хронической сердечной недостаточностью [Текст] / А.Е. Березин, А.А. Кремзер, Т.А. Самура, Ю.В. Мартовицкая // Серце та судини. – 2014. – № 2. – С. 34-42.
2. Berezin A.E. Circulating endothelial progenitor cells as markers for severity of ischemic chronic heart failure [Text] / A.E. Berezin, A.A. Kremzer // J Card Fail. – 2014. – Vol. 20, No. 6. – P. 438-447.
3. Berezin A.E. Circulating Endothelial-Derived Apoptotic Microparticles in the Patients with Ischemic Symptomatic Chronic Heart Failure: Relevance of Pro-Inflammatory Activation and Outcomes [Text] / A.E. Berezin, A.A. Kremzer, T.A. Samura, Yu.V. Martovitskaya // Int Cardiovasc Res J. – 2014. – Vol. 8, No. 3. – P.116-123.
4. Exosomes/microvesicles as a mechanism of cell-to-cell communication [Text] [Text] / G. Camussi, M.C. Deregibus, S. Bruno [et al.] // Kidney Int. – 2010. – Vol. 78, No. 9. – P. 838-848.
5. Fadini G.P. Circulating progenitor cell count for cardiovascular risk stratification: a pooled analysis [Text] / G.P. Fadini, S. Maruyama, T. Ozaki [et al.] // PLoS ONE. – 2010. – Vol. 5, No. 7. – P. e11488.
6. Horstman L.L. Endothelial microparticles as markers of endothelial dysfunction [Text] / Horstman L.L., Jy W., Jimenez J.J., Ahn Y.S. // Front. Biosci. – 2004. – Vol. 9. – P. 1118-1135.
7. Lacroix R. The ISTH SSC Workshop. Standardization of pre-analytical variables in plasma microparticle determination: results of the International Society on Thrombosis and Haemostasis SSC Collaborative workshop [Text] / R. Lacroix, C. Judicone, M. Mooberry [et al.] // J. Thromb. Haemost. – 2013.
8. Levey A.S. For the CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate [Text] / A.S. Levey, L.A. Stevens, C.H. Schmid [et al.] // Ann. Intern. Med. – 2009. – Vol. 150, No. 9. – P. 604-612.
9. Lovren F. Evolving role of microparticles in the pathophysiology of endothelial dysfunction [Text] / F. Lovren, S. Verma // Clin. Chem. – 2013. – Vol. 59, No. 8. – P. 1166-1174.
10. Mallat Z. Elevated levels of shed membrane microparticles with procoagulant potential in the peripheral circulating blood of patients with acute coronary syndromes [Text] / Z. Mallat, H. Benamer, B. Hugel [et al.] // Circulation. – 2000. – Vol. 101. – P. 841-843.
11. Matsuzawa Y. Peripheral endothelial function and cardiovascular events in high-risk patients [Text] / Y. Matsuzawa, S. Sugiyama, H. Sumida [et al.] // J. Am. Heart Assoc. – 2013. – Vol. 2, No. 6. – P. e000426
12. Pellerin D. Tissue Doppler, strain, and strain rate echocardiography for the assessment of left and right systolic ventricular function [Text] / D. Pellerin, R. Sharma, P. Elliott, C. Veyrat // Heart. – 2003. – Vol. 89. – P. 9-17.
13. Roger V.L. The Heart Failure Epidemic [Text] / V.L. Roger // Int. J. Environ Res. Public Health. – 2010. – Vol. 7, No. 4. – P. 1807-1830.
14. Schiller N.B. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms [Text] / N.B. Schiller, P.M. Shah, M. Crawford [et al.] // J. Am. Soc. Echocardiogr. – 1989. – Vol. 2. – P. 358-367.
15. Tung J.W. New approaches to fluorescence compensation and visualization of FACS data [Text] / J.W. Tung, D.R. Parks, W.A. Moore [et al.] // Clin. Immunol. – 2004. – Vol. 110, No. 3. – P. 277-283.

Отримано: 20.06.14.

СООТНОШЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ АПОПТИЧЕСКИХ МИКРОЧАСТИЦ И ПРОГЕНИТОРНЫХ ПРОАНГИОГЕННЫХ МОНОНУКЛЕАРОВ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЕЛИЧИНЫ ИНДЕКСА МАССЫ ТЕЛА

Березин А.Е., Кремзер А.А.

Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, Україна

Цель: оценка взаимосвязи соотношения количества циркулирующих эндотелиальных апоптических микрочастиц и эндотелиальных прогениторных моноклеаров в зависимости от массы тела пациентов с хронической сердечной недостаточностью.

Материалы и методы. В исследование было включено 302 пациента в возрасте 42-65 лет с хронической сердечной недостаточностью I-IV функциональных классов. Содержание NT-pro-MHUP (мозгового натрийуретического пептида) было измерено иммуноэлектрохемолуминисцентным методом. Фенотипирование популяций эндотелиальных апоптических микрочастиц и эндотелиальных прогениторных моноклеаров осуществлялось методом проточной цитофлуориметрии.

Результаты. Медиана соотношения эндотелиальных апоптических микрочастиц к эндотелиальным прогениторным моноклеарам у пациентов с индексом массы тела менее 21 кг/м², 21-24,9 кг/м², а также более 25 кг/м² составила 2,67 × 10 ед. (95% ДИ=1,80 × 10 ед.-4,56 × 10 ед.), 2,54 × 10 ед. (95% ДИ = 1,86 × 10 ед. -2,96 × 10 ед.) и 1,86 × 10 ед. (95% ДИ = 0,96 × 10 ед.-2,42 × 10 ед.), соответственно (P=0,001 для всех случаев). По данным мультивариантного регрессионного анализа, основными факторами, сохраняющими независимое влияние на величину соотношения эндотелиальных апоптических микрочастиц к эндотелиальным прогениторным моноклеарам, явились индекс массы тела (r=-0,418, Wald $\chi^2=9,11$; P=0,001), циркулирующий уровень NT-pro-MHUP (r=0,412, Wald $\chi^2=4,56$; P=0,003), функциональный класс хронической сердечной недостаточности (r=0,404, Wald $\chi^2=4,31$; P=0,001), фракция выброса левого желудочка (r=-0,395, Wald $\chi^2=1,27$; P=0,002), сахарный диабет 2 типа (r=0,312, Wald $\chi^2=1,18$; P=0,001), а также многососудистое поражение коронарных артерий (r=0,366, Wald $\chi^2=1,04$; P=0,001).

Выводы: для пациентов с хронической сердечной недостаточностью различная величина индекс массы тела тесно ассоциируется с соотношением эндотелиальных апоптических микрочастиц к эндотелиальным прогениторным моноклеарам, которое рассматривается как достаточно чувствительный биомаркер дисфункции эндотелия и возникновения неблагоприятных клинических исходов.

Ключевые слова: эндотелиальные апоптические микрочастицы; эндотелиальные прогениторные моноклеары; хроническая сердечная недостаточность.

THE CIRCULATING ENDOTHELIAL APOPTOTIC MICROPARTICLES AND PROGENITOR PROANGIOGENIC MONONUCLEARS RATIO IN PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE DEPENDING ON THE BODY MASS INDEX

Berezin A.E., Kremser A.A.

Zaporozhye Medical University, Zaporozhye, Ukraine

Aim: to evaluate the relationship of the ratio of circulating endothelial apoptotic microparticles and endothelial progenitor mononuclear cells depending on the body weight of patients with chronic heart failure (CHF).

Materials and methods. The study included 302 patients aged 42-65 years with CHF of the I-IV functional classes. The level of NT-pro-BNP (brain natriuretic peptide) was measured by ELISA. The population of the endothelial apoptotic microparticles (EAM) and endothelial progenitor mononuclear cells (EPM) was labeled by flow cytometry.

Results. The median of the EAM/EPM ratio in patients with a body mass index (BMI) < 21 kg/m² was 2.67 × 10 Unit (U) (95% CI=1.80 × 10 U-4.56 × 10 U), in patients with a BMI 21 - 24.9 kg/m² it was 2.54 × 10 U (95% CI = 1.86 × 10 U-2.96 × 10 U), and in patients with BMI > 25 kg/m² this parameter was 1.86 × 10 U (95% CI = 0.96 × 10 U-2.42 × 10 U), (P = 0,001 for all cases). According to multivariate regression analysis, the main independent factors effecting the EAM/EPM ratio were BMI (r = -0.418, Wald $\chi^2 = 9.11$; P = 0.001), circulating levels of NT-pro-BNP (r = 0.412, Wald $\chi^2 = 4.56$; P = 0.003), CHF class (r = 0.404, Wald $\chi^2 = 4.31$; P = 0.001), left ventricular ejection fraction (r = -0.395, Wald $\chi^2 = 1.27$; P = 0.002), diabetes mellitus type 2 (r = 0.312, Wald $\chi^2 = 1.18$; P = 0.001) and polyvascular damage to coronary arteries (r = 0.366, Wald $\chi^2 = 1.04$; P = 0.001).

Conclusion. Various body mass index values are closely associated with the EAM/EPM ratio, which is considered to be sufficiently sensitive biomarker of endothelial dysfunction and the occurrence of adverse clinical outcomes in patients with chronic heart failure.

Keywords: endothelial apoptotic microparticles; endothelial progenitor mononuclear cells; chronic heart failure.