



А.В. Сафроненко

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ РЕЗЕРВЫ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ РЕФРАКТЕРНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

*Ростовский государственный медицинский университет
кафедра фармакологии и клинической фармакологии
Россия, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский 29. E-mail: andrejsaf@mail.ru*

Цель: оценить цитокиновый профиль и функциональные резервы эндотелия у больных рефрактерной артериальной гипертензией.

Материалы и методы: обследовано 42 пациента с рефрактерной АГ (30 мужчин и 12 женщин), контрольная группа – 32 пациента. Средний возраст $59,4 \pm 1,12$ лет. Метаболическую устойчивость эндотелия у пациентов оценивали при исследовании фармакологически потенцируемой эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД). В работе было определено также исходное содержание в крови провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.

Результаты: выявлено, что в 66,7% наблюдений метаболическая устойчивость эндотелиальных клеток к продуктам окислительного стресса сохранена, а в 33,3% происходит потеря резистентности к действию цитотоксических продуктов.

Выводы: у больных рефрактерной АГ с отсутствием метаболической устойчивости эндотелия способность к вазодилатации сосудов прогрессивно снижается, что ассоциировано с повышением уровня провоспалительных цитокинов в крови.

Ключевые слова: рефрактерная артериальная гипертензия, дисфункция эндотелия, вазодилатация, цитокины.

A.V. Safronenko

CYTOKINES AND FUNCTIONAL RESERVES OF ENDOTHELIUM IN PATIENTS WITH RESISTANT ARTERIAL HYPERTENSION

*Rostov State Medical University
Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology
Russia, 344022, Rostov-on-Don, Nakhichevan 29. E-mail: andrejsaf@mail.ru*

Purpose: To evaluate the cytokine profile and endothelial functional reserve in patients with refractory hypertension.

Materials and methods: 42 patients with refractory hypertension (30 men and 12 women), control group - 32 patients. The average age of $59,4 \pm 1,12$ years. The metabolic stability of endothelium in patients evaluated in the study are pharmacologically potentiруемой endothelium-dependent vasodilation (EDVD). The work has been defined as the original content in the blood of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines.

Results: It was found that in 66.7% of cases, metabolic stability endothelial cells to oxidative stress product is preserved, and in 33.3% of a loss of resistance to cytotoxic products.

Conclusion: In patients with refractory hypertension without metabolic stability of endothelium-dependent vasodilation Leability vessels progressively reduced, which is associated with the increase in the level of pro-inflammatory cytokines in the blood.

Keywords: refractory hypertension, endothelial dysfunction, vazodilation, cytokines.



Введение

Благодаря исследованиям последних лет доказано, что обязательным компонентом артериальной гипертензии (АГ) является эндотелиальная дисфункция, которая способствует прогрессированию нарушений системной гемодинамики и развитию рефрактерности заболевания к лечению [1]. Основная роль в развитии эндотелиальной дисфункции принадлежит «окислительному стрессу», который может развиваться на фоне нарушения функций фагоцитарных клеток, снижения антиоксидантной защиты, разбалансировки цитокиновой сети [2]. Циркулирующие активированные мононуклеарные фагоциты, продуцируя провоспалительные цитокины интерлейкин-1 β и фактор некроза опухоли- α , способствуют увеличению экспрессии на эндотелиальных клетках ряда адгезивных молекул, секреции эндотелием интерлейкина-6 и металлопротеиназ, воспалению интимы сосудов, а также изменяют сократимость гладкомышечных клеток сосудов, результатом чего является продукция белков острой фазы, активация компонентов комплемента и фибриногена [3]. Воспаление интимы сосудов приводит к изменениям базовой секреции вазодилаторов аденозина и оксида азота [4].

Во многих исследованиях предметом научного интереса является выявление самого факта дисфункции эндотелия у больных [5] и не оцениваются резервные возможности восстановления деятельности эндотелиальных клеток. Между тем, эндотелий сосудов первым подвергается контакту с биологически активными веществами и раньше других повреждается [6]. Повреждение эндотелиоцитов может происходить как с нарушением структуры, так и с нарушением функции [7]. Исследование функции эндотелиоцитов и факторов, модулирующих функциональное состояние эндотелиальных клеток, позволит ответить на вопрос об обратимости патологических изменений, профилактировать и лечить процессы, приводящие или реализующие сердечно-сосудистые осложнения при рефрактерной АГ.

Цель работы - изучить у больных рефрактерной АГ функциональные резервы эндотелиоцитов и дать оценку значимости влияния цитокинового профиля на функциональное состояние сосудодвигательной функции эндотелия.

Материалы и методы

В основу работы положены результаты обследования и лечения 42 больных рефрактерной АГ. Среди больных были 30 мужчин (71,4%) и 12 женщин (28,6%). Возраст пациентов варьировал от 43 до 72 лет, в среднем составив $59,4 \pm 1,12$ лет. Все больные имели III степень тяжести АГ. Длительность АГ в среднем составляла $9,9 \pm 0,63$ лет. Метаболическую устойчивость эндотелия у пациентов оценивали при исследовании фармакологически потенцируемой эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД). На первом этапе больным подкожно вводили 0,5 мл 0,01% раствора метахолина и с помощью доплерографического ультразвукового метода определяли изменение диаметра плечевой артерии и скорости кровотока в ней. По изменению диаметра артерии и проценту прироста его величины после пробы по сравнению с исходным значением оценивали эндотелийопосредованные вазодила-

тационные способности артерии. Диаметр и кровоток артерии изучали в режиме двухмерного ультразвукового сканирования. Для этого использовали систему ACUSON 128 XP/10 (США). На следующий день больному вводили в прежнем объеме метахолин и внутривенно 5 мл 10% раствора аскорбиновой кислоты. Вновь определяли изменение диаметра и скорости кровотока в артерии. Если при введении аскорбиновой кислоты имело место дополнительное расширение артерии и повышение амплитуды ЭЗВД, то у эндотелиоцитов была сохранена метаболическая устойчивость к окислительному стрессу [8]. Аскорбиновая кислота является мощным водорастворимым антиоксидантом, способным удалять/нейтрализовать ряд реактивных видов кислорода [8]. Если эндотелиальные клетки в условиях снижения концентрации активных форм кислорода и азота улучшали свои сосудодвигательные свойства, то можно говорить о сохраненных резервных возможностях эндотелия, высокой метаболической устойчивости к действию оксидативного стресса.

В случае, если дополнительного расширения артерии на введение аскорбиновой кислоты не происходило, то это свидетельствовало о выраженных повреждениях эндотелиальных клеток и отсутствии резервных возможностей эндотелиоцитов противостоять активным формам кислорода [8].

Состояние ЭЗВД оценивали по степени изменения диаметра плечевой артерии при пробе с реактивной гиперемией.

Определение содержания фактора некроза опухолей альфа (ФНО α), интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β), интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-8 (ИЛ-8), рецепторного антагониста интерлейкина-1 (РАИЛ-1), γ -интерферона (γ -ИФ) в сыворотке крови осуществляли методом иммуноферментного анализа с использованием соответствующих тест-систем на фотометре Multilabel Counter 1420 Victor (Финляндия) с применением набора реактивов «ИЛ-8-ИФА-БЕСТ» (ЗАО «ВЕКТОР-БЕСТ», г. Новосибирск).

В контрольную группу для определения нормального содержания цитокинов в крови были объединены 32 пациента.

Результаты и обсуждение

Применяемая у больных рефрактерной АГ сосудистая проба с метахолином позволила изучить соответствующее изменение артериального кровотока, связанное со стимуляцией мускариновых холинорецепторов эндотелия. Исходный диаметр плечевой артерии до пробы соответствовал $3,61 \pm 0,09$ мм и после пробы изменился незначительно – на $2,66 \pm 0,69\%$, составив $3,71 \pm 0,25$ мм. Линейная скорость кровотока по плечевой артерии при сосудистой пробе изменялась с $33,99 \pm 4,36$ см/с до $50,64 \pm 1,61$ см/с. При этом, амплитуда реактивной гиперемии составила $37,91 \pm 0,19\%$. Незначительное изменение диаметра плечевой артерии при стимуляции холинорецепторов эндотелия свидетельствовало либо о структурном, либо о функциональном повреждении эндотелиоцитов. Для уточнения природы повреждения сосудистого эндотелия у больных рефрактерной АГ было изучено дальнейшее изменение диаметра артерии и кровотока по ней при внутрисосудистом введении аскорбиновой кислоты. У больных клинической группы после дополнительного



Таблица 1

Уровни цитокинов в плазме крови у больных с рефрактерной артериальной гипертензией и в контрольной группе

Показатель	Больные с рефрактерной АГ (n=42)	Контрольная группа (n=32)
ИЛ-1β, пг/мл	1,11±0,13*	1,64±0,09
ИЛ-6, пг/мл	6,89±0,22**	1,66±0,05
ИЛ-8, пг/мл	5,78±0,62**	30,4±0,73
ФНО-α, пг/мл	6,12±0,38**	0,57±0,02
раИЛ-1β, пг/мл	1091,4±201,4**	518,2±2,78
ИФ-γ, пг/мл	34,78±3,21**	2,1±0,08

Примечание: достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой при $p<0,05$, * - при $p<0,001$.

Анализ представленной в табл.1 информации позволил выявить, что у больных рефрактерной АГ содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ФНО-α по сравнению со здоровыми людьми контрольной группы было повышенным ($p<0,001$) в 4,15 и 10,7 раза соответственно при одновременном снижении ИЛ-1β на 32,3 ($p<0,05$) и ИЛ-8 на 81% ($p<0,05$). При этом уровни рецепторного антагониста к ИЛ-1β и ИФ-γ по сравнению с контролем были повышены ($p<0,001$) в 2,1 и 16,6 раза соответственно.

Содержание цитокинов в крови у больных рефрактерной АГ было ассоциировано с выраженностью дисфункции эндотелия (табл. 2). Сравнительный анализ цитокинового профиля в двух группах больных позволил отметить более высокие уровни провоспалительных цитокинов у больных при рефрактерной АГ и отсутствии метаболической устойчивости эндотелия. Причем повышение содержания изучаемых провоспалительных цитокинов носило достоверный характер ($p<0,05$). Концентрация противовоспалительных цитокинов у больных рефрактерной АГ не отличалась в подгруппах с разной выраженностью метаболической устойчивости эндотелиоцитов.

Таблица 2

Цитокиновый профиль у больных рефрактерной артериальной гипертензией в зависимости от функционального состояния эндотелия

Показатель	Метаболическая устойчивость эндотелиоцитов	
	присутствует	отсутствует
ИЛ-1β, пг/мл	0,82±0,086	1,5±0,14*
ИЛ-6, пг/мл	4,1±0,47	7,7±0,31**
ИЛ-8, пг/мл	3,1±0,42	7,2±1,23**
ФНО-α, пг/мл	4,5±0,83	9,1±1,46**
раИЛ-1β, пг/мл	1083,4± 202,96	1097,3± 189,83
ИФ-γ, пг/мл	36,3±9,29	39,2 ± 9,25

Примечание: достоверность различий показателей между группами при $p<0,05$, ** - при $p<0,001$.

Проведение корреляционно-регрессионного анализа выявило наличие тесной прямой достоверной взаимосвязи

введения аскорбиновой кислоты диаметр плечевой артерии увеличился на $2,96\pm0,28\%$, а линейная скорость кровотока – на $17,05\pm1,31\%$. В результате окончательное значение диаметра плечевой артерии составило $3,82\pm0,28$ мм, а линейная скорость кровотока – $57,07\pm1,83$ см/с.

У больных рефрактерной АГ с высокой метаболической устойчивостью эндотелиоцитов диаметр плечевой артерии при окклюзионной пробе изменялся в среднем с $3,65\pm0,08$ мм до $3,96\pm0,14$ мм, амплитуда ЭЗВД составила $8,49\pm0,65\%$. У пациентов этой же клинической группы, но с отсутствием устойчивости эндотелия к оксидативному стрессу, амплитуда ЭЗВД составила меньшую величину – $3,42\pm0,87\%$. Аналогичные по направленности изменения были установлены и для амплитуды реактивной гиперемии. Так, у пациентов с метаболической устойчивостью эндотелия амплитуда реактивной гиперемии – $81,45\pm3,12\%$ была практически в 2 раза выше, чем у больных с отсутствием резистентности эндотелиоцитов к оксидативному стрессу ($40,52\pm3,94\%$). Таким образом, у больных рефрактерной АГ при высокой метаболической устойчивости эндотелия его сосудодвигательная функция в условиях деформации механорецепторов реализовывалась в большем объеме.

При индивидуальном анализе изменения диаметра плечевой артерии у больных рефрактерной АГ после введения аскорбиновой кислоты, было установлено, что у 14 пациентов (33,3%) дополнительного расширения артерии не происходило. Данное обстоятельство свидетельствовало о структурно-функциональном повреждении у них эндотелия и об отсутствии у эндотелиоцитов резервных возможностей, реализующихся при уменьшении интенсивности окислительного стресса. У 28 больных рефрактерной АГ (66,7%) введение антиоксиданта сопровождалось расширением артерии и усилением кровотока, что указывало на метаболическую устойчивость эндотелия к окислительному стрессу и сохранению у него сосудодвигательной функции. Свободнорадикальное окисление липидов, белков и нуклеиновых кислот в эндотелиальных клетках ограничило их функциональные возможности, но не вызвало структурного необратимого патологического процесса с потерей чувствительности рецепторов.

На следующем этапе работы были изучены механизмы, лежащие в основе цитокин-обусловленного повреждения интимы сосудов. Как известно, цитокины – это небольшие растворимые белковые молекулы, участвующие в межклеточном взаимодействии. Они периодически продуцируются отдельными клетками и различными тканями в ответ на специфические стимулы [9]. В работе было определено исходное содержание в крови провоспалительных цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-α и противовоспалительных факторов – интерферона-γ, рецепторного антагониста к ИЛ-1β. В разных исследованиях можно встретить противоположную трактовку роли некоторых цитокинов (ИЛ-8, ИФ-γ) ввиду их многофункциональности. Для разделения цитокинов по функции на про- и противовоспалительные были использованы представления, изложенные в монографии Кетлинского С.А., Симбирцева А.С. «Цитокины» [10]. Исходное содержание цитокинов в плазме крови у больных рефрактерной АГ по сравнению с контрольной группой практически здоровых людей представлено в табл.1.



зи между изменением линейной скорости кровотока при стимуляции холинорецепторов эндотелия и содержанием в крови ФНО- α ($r=0,76$, $p<0,001$), ИЛ-6 ($r=0,71$, $p<0,001$), ИФ- γ ($r=0,69$, $p<0,001$). Обнаруженные ассоциативные связи у больных рефрактерной АГ между содержанием в крови цитокинов и сосудодвигательной функций эндотелиоцитов позволяют дать обоснованное заключение о влиянии иммунологических регуляторных систем на функциональное состояние эндотелия.

Таким образом, развитие рефрактерной АГ сопровождается структурным повреждением эндотелиоцитов с необратимым угнетением его функционального состояния, что ассоциировано с повышением уровня провоспалительных цитокинов в плазме крови. При этом, повышение содержания противовоспалительных цитокинов можно считать как адаптивное явление, ограничивающее воспаление, которое наблюдалось вне зависимости от выраженности дисфункции эндотелия

Выводы

1. У больных рефрактерной АГ в 66,7% наблюдений метаболическая устойчивость эндотелиальных клеток к продуктам окислительного стресса сохранена, а в 33,3% происходит потеря резистентности к действию цитотоксических продуктов.
2. В ходе изучения цитокиновой системы при рефрактерной АГ наблюдаются два тесно взаимосвязанных процесса: дисбаланс между гиперпродукцией провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-6) и противовоспалительными цитокинами (ИЛ-4, ИФ- γ) с преобладанием первых над вторыми.
3. У больных рефрактерной АГ с отсутствием метаболической устойчивости эндотелия способность к эндотелийопосредованной вазодилатации при стимуляции хемо- и механорецепторов прогрессивно снижается, что ассоциировано с повышением уровня провоспалительных цитокинов в крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Vidt D.G. Resistant Hypertension // Hypertension: A Companion to Brenner and Rector's. The Kidney. St. Louis: W.B. Saunders Company, 2010. 757 p.
2. Радаева О.А., Новикова Л.В., Аношкина Г.Б. Цитокиновый профиль у больных с артериальной гипертензией // Аллергология и иммунология. 2007. Т.8. №1. С.86.
3. Антонов А.Р., Васькина Е.А., Чернякин Ю.Д. Цитокины и биометаллы при артериальной гипертензии // Современные проблемы науки и образования. 2007. № 3 С. 7-10
4. Bautista L.E., Veram L.M., Arenas I.A., Gamarra G. Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF- α) and essential hypertension // J. Hum. Hypertension. 2005. № 19. P. 149-154.
5. Erdine S. Resistant hypertension. European Society of Hypertension Scientific Newsletter // Update on Hypertension Management. 2003. N4. P. 15-24.
6. Viera A.J., Hinderliter A.L. Evaluation and management of the patient with difficult-to-control or resistant hypertension // American Family Physician. 2009. Vol.79. N10. P.863-869.
7. Власов С.П., Ильченко М.Ю., Казаков Е.Б. Дисфункция эндотелия и артериальная гипертензия. М., 2010. 192 с.
8. Ting H.H., Timimi F.K., Haley E.A., Roddy M.A. et al. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in forearm vessels of humans with hypercholesterolemia // Circulation. 1997. Vol.95. P.2617-2622.
9. Сукманова И.А., Яхонтов Д.А. Функция эндотелия и уровень мозгового натрийуретического пептида у мужчин с систолической сердечной недостаточностью в разных возрастных группах // Цитокины и воспаление. 2009. Т.8. №1. С.34-37.
10. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб., 2008. 552 с.

ПОСТУПИЛА: 01.04.2013