

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАРКЕРОВ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ С ДИСЦИРКУЛЯТОРНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИЕЙ I-II СТАДИЙ**Марина Александровна ХОРЕВА, Роман Иосифович ВОРОБЬЕВ, Елена Владимировна НЕЧУНАЕВА**

ГОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Росздрава»
Кафедра нервных болезней с курсом неврологии и рефлексотерапии ФПК и ППС
656038, г. Барнаул, ул. Ленина, 40

С современных позиций эндотелиальная дисфункция считается ключевым звеном в патогенезе атеросклероза, проявляясь дисбалансом между выделяемыми эндотелием вазоактивными веществами — вазодилататорами и вазоконстрикторами. Целью исследования было изучить возможности применения маркеров дисфункции эндотелия у пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией (ДЭ) I-II стадий для ранней диагностики церебрального атеросклероза и оценки тяжести заболевания. В исследование вошло 52 больных. Контролем служили результаты обследования 21 практически здорового человека. Всем обследованным проведено определение в крови уровней эндотелина-1 (ЭТ-1) и десквамированных циркулирующих эндотелиоцитов (ЦЭ), отражающих повреждение эндотелия. Достоверное повышение маркеров дисфункции эндотелия определялось на начальной стадии ДЭ, усугубляясь по мере прогрессирования заболевания. Таким образом, повышение уровней ЭТ-1 и ЦЭ может служить ранним объективным признаком атеросклеротического процесса у пациентов с ДЭ.

Ключевые слова: дисфункция эндотелия, эндотелин-1, десквамированные циркулирующие эндотелиоциты.

Актуальность проблемы цереброваскулярных заболеваний (ЦВЗ) обусловлена их чрезвычайной медико-социальной значимостью. Церебральный инсульт занимает второе место в структуре смертности населения России (23,4%) и в структуре смертности от болезней системы кровообращения (39%). Ежегодно в Российской Федерации переносят инсульт более 450 000 человек, т.е. каждые 1,5 минуты у кого-то из россиян впервые развивается это заболевание. Кроме того, инсульт является лидирующей причиной инвалидизации населения [1].

В связи с этим, одной из ведущих проблем современной неврологии является вопрос ранней диагностики доинсультной патологии, а именно дисциркуляторной энцефалопатии (ДЭ), одной из наиболее частых причин которой является церебральный атеросклероз [2]. Однако на ранних стадиях заболевания неврологическая симптоматика скудна, а лабораторные (фибриноген, липидограмма, коагулограмма) и инструментальные (глазное дно, эхоэнцефалография, дуплексное сканирование брахиоцефальных сосудов, компьютерная и магнитно-резонансная томография) методы исследования не всегда выявляют характерные изменения. Кроме того, критерии отнесения ДЭ к той или иной стадии основаны не на качественных, а на количественных показателях — степени выраженности неврологической симптоматики.

Согласно современным представлениям, ключевым звеном в патогенезе атеросклероза считается эндотелиальная дисфункция, которая проявляется нарушением баланса между основными функциями эндотелия — вазодилатацией и вазоконстрикцией, ингибированием и содействием пролиферации, антитромботической и протромботической, антиоксидантной и прооксидантной [3, 4, 5]. В многочисленных исследованиях доказано, что неблагоприятное воздействие практически всех известных факторов риска атеросклероза реализуется через нарушение функции сосудистого эндотелия [6].

Известно, что эндотелий модулирует ряд важнейших функций сосудов, вырабатывая вазоактивные вещества [3, 4, 5]. Среди них наибольшее значение имеют: вазодилататоры (оксид азота — NO, простациклин, эндотелиальный гиперполяризующий фактор) и вазоконстрикторы (эндотелин-1 — ЭТ-1, ангиотензин II — АТ II, свободные радикалы кислорода, простагландин H₂, тромбоксан A₂).

В последние годы многочисленные исследования направлены на изучение эндотелиальной функции у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями с использованием веноокклюзионной плетизмографии, пробы с реактивной гиперемией, определением количества десквамированных циркулирующих эндотелиоцитов (ЦЭ) и клеток-предшественников эндотели-

Хорева М.А. — аспирант, e-mail: marinakhoreva@mail.ru

Воробьев Р.И. — интерн кафедры факультетской терапии АГМУ, e-mail: elenavorobyova@yandex.ru

Нечунаева Е.В. — аспирант, АГМУ, e-mail: katerina@alt.ru

оцитов, а также продуцируемых эндотелием медиаторов [7]. Одним из наиболее изучаемых эндотелиальных факторов является ЭТ-1. Доказано, что ЭТ-1 является одним из мощнейших вазоконстрикторов и стимуляторов атерогенеза. Он способствует развитию легочной и системной гипертензии, ишемических повреждений мозга, сахарного диабета, почечной сосудистой патологии и рассматривается как маркер и предиктор тяжести и исхода этих патологических состояний [8].

ЭТ-1 представляет собой пептид, состоящий из 21 аминокислотного остатка, который образуется в результате протеолиза из «большого эндотелина» («big endothelin») — молекулы, включающей 38 аминокислотных остатков, — под влиянием эндотелинпревращающего фермента (endothelin-converting enzyme). Известно, что ЭТ-1 образуется не только в эндотелиальных, но и в гладкомышечных клетках сосудов, а также в нейронах и астроцитах головного и спинного мозга, мезангиальных клетках почек, гепатоцитах, внутриматочных клетках, клетках Сертоли и эпителиоцитах молочных желез. Стимулами для образования и секреции ЭТ-1 являются гипоксия, АТ II, тромбин, гиперхолестеринемия, липопротеиды низкой плотности, гипергликемия, кортизол [8, 9].

В настоящее время ЭТ-1 считается самым мощным вазоконстриктором, синтезируемым в эндотелии, а также митогенным фактором для гладкомышечных клеток сосудов, фибробластов и кардиомиоцитов [8, 9, 10].

Известно, что ЭТ-1 оказывает свое действие через специфические рецепторы [8, 10]. Эндотелиновые рецепторы типа А (ЭТА) локализованы на мембране гладкомышечных клеток сосудов. Их взаимодействие с ЭТ-1 реализуется в вазоконстрикции, пролиферации и миграции гладкомышечных клеток. Рецепторы к ЭТ-1 типа В (ЭТВ) обнаруживаются преимущественно в эндотелиоцитах сосудов. В физиологических условиях ЭТВ-рецепторы участвуют в выделении NO и простагличина. При патологических состояниях, сопровождающихся повышением уровня ЭТ-1, наблюдается снижение активности рецепторов типа В и реализации неблагоприятных эффектов ЭТ-1 [8, 10].

В настоящее время повышение в крови уровня ЦЭ рассматривается как индикатор эндотелиальной дисфункции и отражает степень повреждения эндотелия. В исследованиях выявлено повышение десквамации эндотелиоцитов у больных с ишемической болезнью сердца, инфарктом миокарда, сахарным

диабетом, гестозом беременных [11, 12, 13].

Целью исследования явилось изучение возможности применения маркеров дисфункции эндотелия (ЭТ-1 и ЦЭ) у пациентов с ДЭ I-II стадий для ранней диагностики церебрального атеросклероза и оценки тяжести заболевания.

Материал и методы исследования

Обследовано 52 больных с ДЭ (13 мужчин и 39 женщин) в возрасте от 39 до 74 лет (средний возраст $60,0 \pm 1,3$ года), вошедших в основную группу. Из них у 23 больных наблюдалась ДЭ I стадии (средний возраст $55,3 \pm 1,5$ лет) и у 29 — ДЭ II стадии (средний возраст $64,7 \pm 1,3$ года). В большинстве случаев ДЭ у данных пациентов развивалась на фоне сочетания атеросклероза сосудов головного мозга и артериальной гипертензии.

Клинический неврологический диагноз устанавливался в соответствии с отечественной классификацией сосудистых поражений головного и спинного мозга. Всем больным проводилось анкетирование для выявления факторов риска ЦВЗ, антропометрия. Диагноз ДЭ подтверждался клинико-неврологической картиной, данными нейропсихологического тестирования, инструментального (дуплексное сканирование экстра- и интракраниальных сосудов, офтальмоскопия, эхоэнцефалография, компьютерная томография головного мозга) и лабораторного (определение показателей липидного спектра, концентрации фибриногена и протромбинового показателя) исследований.

Уровень ЭТ-1 определяли методом иммуноферментного анализа с использованием стандартного набора реактивов «BioMedica» (Австрия) на аппарате PICON (Россия). Количество ЦЭ оценивалось по методике Hladovec J. [11] с использованием микроскопа ЛОМО Микромед-1 и фазово-контрастного устройства КФ-4 (рис. 1). Исследовали венозную кровь, взятую после 12-14-часового голодания утром.

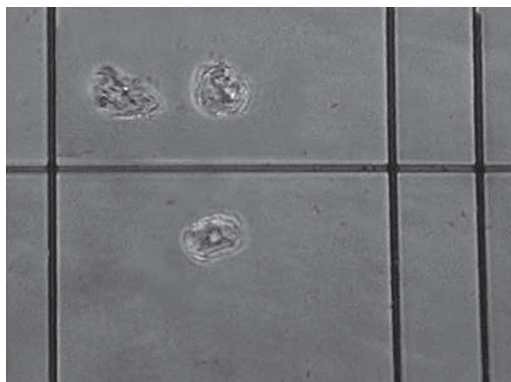


Рис. 1. Фотография ЦЭ больного ДЭ II стадии

Анализ показателей дисфункции эндотелия проводился дифференцированно в зависимости от стадии ДЭ, а также выраженности атеросклеротического поражения магистральных сосудов головы (МАГ). По данным дуплексного сканирования экстракраниальных сосудов были выделены группы больных: без морфологических проявлений атеросклероза; с утолщением комплекса интима-медиа (КИМ); с наличием атеросклеротических бляшек, не вызывающих стеноз; с наличием стеноза одной или нескольких артерий.

Критериями исключения явились: возраст менее 35 и старше 75 лет, острые нарушения мозгового кровообращения и инфаркты миокарда в анамнезе, наличие сахарного диабета, тяжелые сопутствующие заболевания, тяжелая степень снижения когнитивных функций по тесту Mini Mental State Examination (<24 баллов).

Контролем служили показатели обследования 21 человека (9 мужчин и 12 женщин) без клинических проявлений ДЭ, не предъявлявших жалобы на состояние здоровья. Средний возраст обследуемых контрольной группы составил 45,4±1,1 года.

Исследование было одобрено Этическим комитетом, от каждого больного получено информированное согласие.

Статистическая обработка результатов проведена с помощью пакета прикладных программ Statistica. Данные представлены в виде средних арифметических значений и ошибки средней ($M \pm m$). Достоверным считался уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования

В ходе исследования выявлено, что у всех обследованных пациентов имелись те или иные факторы риска ЦВЗ — курение (17,3%), отягощенный семейный анамнез (71,2%), артериальная гипертензия (94,2%), превышение индекса массы тела — ИМТ (82,7%), индекса объема талии/объем бедер (71,2%), гиподинамия (44,6%), дислипидемия (84,6%), а в большинстве случаев их сочетание.

Среди больных с ДЭ I стадии преобладали жалобы на головные боли, головокружение, снижение памяти и работоспособности, нарушение сна. Во II стадии ДЭ количество жалоб на головные боли уменьшалось. Однако увеличивалась частота и выраженность жалоб на головокружение и шум в голове, неустойчивость при ходьбе, снижение памяти. У больных с ДЭ I стадии в неврологическом статусе отмечались объективные расстройства в виде рассеянной

микроочаговой симптоматики. У пациентов со II стадией ДЭ отмечалось нарастание очаговой неврологической симптоматики в виде преобладания глазодвигательных расстройств, центральной недостаточности лицевого и подъязычного нервов, формирование пирамидного, вестибулярно-атакического, реже амиостатического синдромов. Кроме того, у больных с ДЭ II стадии отмечалась четкая тенденция к прогрессированию интеллектуально-мнестических расстройств.

При ультразвуковом обследовании МАГ у больных с ДЭ I стадии в 13,6% наблюдений морфологических изменений сосудистой стенки не выявлено. В большинстве случаев (50%) наблюдалось утолщение КИМ, в 27,3% — наличие небольших бляшек, не вызывающих стеноз. У всех пациентов с ДЭ II стадии определялись морфологические изменения артерий. Они ограничивались утолщением КИМ в 44,4% случаев от общего числа больных. Мелкие атеромы, не вызывающие стеноз, наблюдались в 22,2%, стенозы одной и более артерий — в 29,6% случаев.

При исследовании маркеров дисфункции эндотелия получены следующие результаты. Средний уровень ЭТ-1 в крови больных в 2,4 раза превышал данное значение в контрольной группе ($1,02 \pm 0,17$ и $0,41 \pm 0,08$ фмоль/мл соответственно; $p < 0,05$). Кроме того, отмечалось повышение концентрации ЭТ-1 с прогрессированием заболевания: у пациентов с ДЭ I стадии среднее значение ЭТ-1 было достоверно ниже, чем в группе больных с ДЭ II стадии ($0,65 \pm 0,13$ и $1,31 \pm 0,29$ фмоль/мл соответственно; $p < 0,05$) (рис. 2).

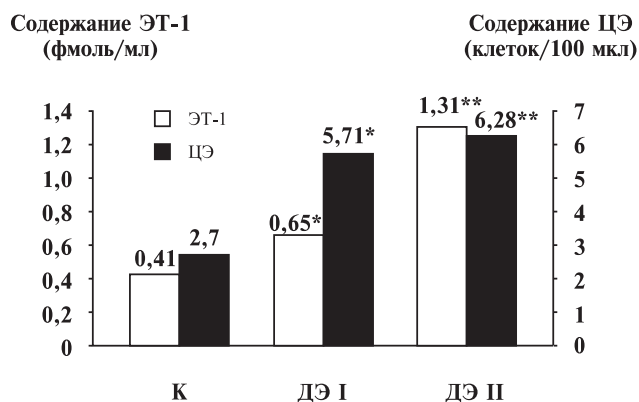


Рис. 2. Уровень ЭТ-1 и ЦЭ в обследованных группах: К — контрольная группа; * — достоверность различий между группой контроля и больными с ДЭ I стадии $p < 0,05$; ** — достоверность различий между группами ДЭ I и ДЭ II стадий $p < 0,05$.

Таблица

Зависимость между степенью атеросклеротического поражения МАГ и маркерами дисфункции эндотелия у больных с ДЭ I-II стадий

Маркер дисфункции эндотелия	Контрольная группа, n = 21	Отсутствие признаков атеросклероза, n = 9	Утолщение КИМ, n = 22	Наличие бляшек, без стеноза, n = 11	Стеноз, n = 8
ЭТ-1, фмоль/мл	0,41±0,08	0,64±0,08*	1,49 ±0,35**	0,76±0,11*	0,54±0,05*
ЦЭ, кл/100 мкл	2,7±0,1	5,93 ± 0,23*	5,81 ± 0,34*	6,10±0,21*	6,79±0,82**

Примечания: * — уровень значимости различий между данной группой больных и группой контроля, $p < 0,05$; ** — уровень значимости различий между данной группой больных и больными с отсутствием морфологических признаков атеросклероза $p < 0,05$.

В группе контроля количество ЦЭ в крови не превышало нормы ($2,7 \pm 0,1$ клеток /100 мкл). В то же время у всех больных основной группы было выявлено повышение уровня ЦЭ в 2,2 раза ($6,05 \pm 0,2$ клеток/100 мкл, $p < 0,05$). Кроме того, было установлено, что статистически значимое усиление десквамации эндотелиоцитов происходит у всех больных ДЭ, но более выражено во II стадии заболевания. Так, если у больных с ДЭ I стадии среднее количество ЦЭ составило $5,71 \pm 0,2$ клеток/100 мкл, то у больных с ДЭ II стадии — $6,28 \pm 0,3$ клеток/100 мкл ($p < 0,05$) (рис. 2).

При проведении корреляционного анализа наблюдалась положительная корреляционная связь между ЭТ-1 и возрастом больных ($r=0,31$), между ЭТ-1 и ИМТ ($r=0,42$), между ЭТ-1 и средним уровнем диастолического артериального давления ($r=0,32$). Кроме того, была выявлена корреляция между количеством ЦЭ и мужским полом больных ($r=0,37$), а также между ЦЭ и курением ($r=0,39$). Учитывая то, что среди курящих 88,9% составляли мужчины, можно предположить, что усиление у них десквамации эндотелия связано с курением. Каких-либо особенностей по уровню ЦЭ в зависимости от возраста пациентов отмечено не было ($r=0,04$). Полученные результаты свидетельствуют о важности выявления и коррекции факторов риска атеросклероза в первичной и вторичной профилактике ЦВЗ.

В ходе исследования была прослежена зависимость между степенью атеросклеротического поражения МАГ по данным дуплексного сканирования и показателями дисфункции эндотелия (табл.).

Достаточно показательным является статистически значимое повышение уровней ЭТ-1 и ЦЭ в крови больных с ДЭ даже при отсут-

ствии морфологических изменений МАГ, по сравнению с контрольной группой. Причем максимальные значения ЭТ-1 наблюдались среди больных с начальными проявлениями атеросклероза в виде утолщения КИМ экстракраниальных сосудов. Средний уровень ЭТ-1 у пациентов этой группы превышал данный показатель в группе контроля в 3,6 раза ($1,49 \pm 0,35$ и $0,41 \pm 0,08$ фмоль/мл соответственно; $p < 0,05$). Количество ЦЭ увеличивалось по мере нарастания морфологических проявлений атеросклероза. При этом максимальная степень десквамации эндотелиоцитов наблюдалась в группе больных с наличием стеноза МАГ. Полученные результаты свидетельствуют о значительной диагностической роли определения ЭТ-1 и ЦЭ на ранних этапах атерогенеза.

Выводы

Исследование показало, что у больных с ДЭ определяется дисфункция эндотелия в виде достоверного повышения в крови уровней ЭТ-1 и ЦЭ. Определение данных показателей может быть использовано в качестве объективного метода диагностики ранних этапов атерогенеза у больных с ДЭ.

Выявленные достоверные различия содержания ЭТ-1 и ЦЭ у больных I и II стадий ДЭ свидетельствуют об усугублении эндотелиальной дисфункции по мере прогрессирования заболевания, что позволяет более точно провести границу между стадиями ДЭ.

Таким образом, определение уровней ЭТ-1 и ЦЭ может применяться в качестве объективного метода диагностики дисфункции эндотелия у больных с ДЭ, позволяющего качественно и количественно оценивать степень ее выраженности. Использование полученных результатов позволит осуществлять раннюю и дифференциальную диагностику ДЭ I и II стадий с целью

назначения индивидуальной программы профилактических мероприятий и своевременной патогенетической терапии.

Литература

1. Сковороцова В.И. Снижение заболеваемости, смертности и инвалидности от инсультов в Российской Федерации // Журнал неврологии и психиатрии им. Корсакова (приложение «Инсульт», спецвыпуск) 2007. 25-29.
2. Skvortsova V.I. Snijeniye zaboлеваemosti, smertnosti i invalidnosti ot insultov v Rossiyskoy Federatsii // Jurnal nevrologii i psichiatrii im. Korsakova (prilozheniye «Insult», spetsvypusc. 2007. 25-29.
3. Дудкова В.А., Карпов Р.С. Атеросклероз сосудов сердца и головного мозга. Томск: STT, 2002. 416.
4. Dudkova V.A., Karpov R.S. Ateroskleroz sosudov serdca i golovnogno mozga. Tomsk: STT, 2002. 416.
5. Herrmann J., Lerman A. The endothelium: Dysfunction and beyond // Journal of Nuclear Cardiology 2001. 8: 197-206.
6. Behrendt D., Ganz P. Endothelial function: from vascular biology to clinical applications // Am J Cardiol 2002. 90: 40-48.
7. Davignon J., Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis //Circulation. 2004. 109: 27-32.
8. Jousilahti P., Vartiainen E., Tuomilehto J., et al. Sex, age, cardiovascular risk factors, and coronary heart disease: a prospective follow-up study of 14786 middle-aged men and women in Finland //Circulation. 1999. 99: 1465-1472.
9. Бахтияров Р.З. Современные методы исследования функции эндотелия //Российский кардиологический журнал 2004. 2: 76-79.
10. Bahtiyarov R.Z. Sovremenniyе metodi issledovaniya funktsii endoteliya //Rossiyskiy kardiologicheskiy jurnal 2004. 2: 76-79.
11. Levin E.R. Endothelins //New Engl J Med. 1995. 333: 356-363.
12. Teerlink J.R. Endothelins: Pathophysiology and treatment implications in chronic heart failure. // Current Heart Failure Reports. 2005. 2: 191-197.
13. Rich S., McLaughlin V.V. Endothelial receptors blockers in cardiovascular disease // Circulation. 2003. 108: 2184-2190.
14. Hladovec J. Circulating endothelial cells as sign of vessel wall lesions //Physiol Bohemoslov 1978. 27: 2: 140-144.
15. Алмазов В.А., Беркович О.А., Ситникова М.Ю. и др. Эндотелиальная дисфункция у больных с дебютом ишемической болезни сердца в разном возрасте // Кардиология 2001. 5: 26-29.
- 16.almazov V.A., Berkovich O.A., Sitnikova M.Y. i dr. Endotelialnaya disfunktsiya u bolnih s debutom ishemicheskoy bolezni serdca v raznom vozraste // Kardiologiya 2001. 5: 26-29.
17. Петрищев Н.Н., Беркович О.А., Власов Т.Д. и др. Диагностическая ценность определения циркулирующих эндотелиальных клеток в крови // Клиническая лабораторная диагностика. 2001. 1: 50-52.
18. Petrishev N.N., Berkovich O.A., Vlasov T.D. i dr. Diagnosticheskaya tsennost opredeleniya tsirkuliruyushih endotelialnih kletok v krovi //Klinicheskaya laboratornaya diagnostika 2001. 1: 50-52.

DIAGNOSTIC VALUE OF EVALUATING ENDOTHELIAL DYSFUNCTION MARKERS IN PATIENTS WITH DYSCIRCULATORY ENCEPHALOPATHY I-II STAGES

Marina Aleksandrovna KHOREVA, Roman Iosifovich VOROB'EV, Ekaterina Vladimirovna NECHUNAEVA

Altai state medical university
The department of nerve diseases
40, Lenin str., Barnaul, 656038

According to modern views, endothelial dysfunction is considered to be the key link in pathogenesis of atherosclerosis, manifesting in imbalance between endothelial vasoactive substances – vasodilators and vasoconstrictors. The aim of the study was to examine possibilities of using endothelial dysfunction markers in patients with dyscirculatory encephalopathy (DE) I-II stages for early diagnostic of cerebral atherosclerosis and severity of disease assesment. The study included 52 patients. Results of investigation of 21 practically healthy people served as control. All the examinees underwent detection of endothelin-1 (ET-1) and desquamated circulating endotheliocytes (CE) levels in the blood, reflected endothelial damage. Reliable increasing of endothelial dysfunction markers were detected at initial stage of DE, aggravated with the progress of disease. Therefore ET-1 and CE levels increasing can serve the earliest, objective indicator of atherosclerotic process in patients with DE.

Key words: endothelial dysfunction, endothelin-1, desquamated circulating endotheliocytes.

Khoreva M.A. – post-graduate student of chair of diseases of nervous system with neurology and reflexotherapy course, e-mail: marinakhoreva@mail.ru

Vorob'ev R.I. – internee of chair of faculty therapy, e-mail: elenavorobyova@yandex.ru

Nechunaeva E.V. – post-graduate student of chair of diseases of nervous system with neurology and reflexotherapy course, e-mail: katerina@alt.ru