

ВЗАИМОСВЯЗЬ ИММУННОЙ АКТИВАЦИИ И ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА ПРИ ПРОГРЕССИРОВАНИИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Т.В. Ащеулова, М.В. Заика, Н.Н. Герасимчук

*Харьковский государственный медицинский университет
Центральная клиническая больница «Укрзалізниці», Харьков
Харьковский городской центр по диагностике и лечению артериальной гипертензии
Городская клиническая больница № 11, Харьков*

Ключевые слова: артериальная гипертензия, цитокины, оксидативный стресс.

Во всем мире артериальная гипертензия (АГ) занимает одно из ведущих мест в структуре кардиальной патологии и в связи со значительной распространенностью, ранним развитием осложнений, является сложной медико-социальной проблемой.

Патогенетические механизмы АГ отличаются гетерогенностью. Исследования последних лет свидетельствуют о возможной роли иммуновоспалительной активации, опосредованной провоспалительными цитокинами, и оксидативного стресса в развитии данного заболевания [2, 3, 9]. Среди провоспалительных цитокинов особого внимания в контексте АГ заслуживает фактор некроза опухоли α (ФНО- α). Во-первых, это обусловлено тем, что, как показали экспериментальные и незначительное количество клинических исследований, биомеханический стресс, обусловленный повышением артериального давления (АД), является одним из стимулов повышения продукции и выброса в кровоток провоспалительных цитокинов, в том числе и ФНО- α [12,14,16]. Во-вторых, существующими данными о способности этого цитокина модулировать структуру и функцию сердечно-сосудистой системы через ряд механизмов. Показано, что повышенная плазматическая активность ФНО- α способствует развитию гипертрофии, фиброза, апоптоза и в итоге — возникновению кардиальной дисфункции [5, 6, 10, 15].

Известны два типа активных рецепторов к ФНО- α на поверхности практически всех ядерных типов клеток, которые виртуально могут быть мишенями цитокина. Растворимые формы рецепторов, которые считаются эндогенными ингибиторами ФНО- α , образуются путем отделения экстрацеллюлярных фрагментов активных рецепторов [8, 18, 22]. ФНО- α рецептор I типа является основным медиатором биологической активности цитокина,

поэтому именно этот тип растворимых рецепторов (рФНО- α RI) был выбран нами для исследования.

По данным некоторых исследователей, оксидативный стресс (ОС) может быть промотором активации системы провоспалительных цитокинов. Продукты перекисного окисления липидов клеточных мембран, кроме прямого цитотоксического действия, обладают также и медиаторной активностью, являясь связующим звеном между иммунными и нейрогуморальными сдвигами в условиях измененного кровообращения. На примере кардиомиоцитов папиллярных мышц крыс было показано, что механический стресс приводит к их апоптозу на фоне генерации свободных радикалов (СР) [21]. Получены данные, что СР оказывают цитотоксическое действие путем активации транскрипции гена нуклеарного фактора карра В (NF- κ B), являющегося одним из звеньев реализации апоптоза клетки, опосредованного ФНО- α [1]. В эксперименте также было показано индуцирующее влияние провоспалительных цитокинов на выработку СР [7, 13]. С другой стороны, в ряде работ описывают механизмы стимуляции и индукции активности провоспалительных цитокинов реактивными формами кислорода [5]. Высказано предположение, что ОС и иммуновоспалительные изменения, являясь звеньями патогенеза дисфункции сердечно-сосудистой, взаимосвязаны и могут индуцировать друг друга по принципу порочного круга.

В качестве маркера оксидативного стресса используют 8-изопростагландин-PgF_{2 α} (8-изопростан, 8-iso-PgF_{2 α}), который является продуктом свободно-радикального окисления арахидоновой кислоты [7].

Определение взаимосвязи активности ОС по содержанию 8-iso-PgF_{2 α} с уровнем ФНО- α и его растворимого рецептора I типа позволит выявить сте-

пень зависимости между уровнем ОС и неспецифическим воспалением в организме, что представляется актуальным в целях углубленного изучения патогенеза АГ и усовершенствования диагностики ранних стадий формирования сердечной недостаточности.

Цель исследования — изучение активации системы провоспалительных цитокинов во взаимосвязи с развитием оксидативного стресса в зависимости от длительности и степени АГ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включено 33 пациента с АГ, поступившие в Городской центр по диагностике и лечению артериальной гипертензии г. Харькова. Из них 27 (82% ± 7%) женщин и 6 (18% ± 7%) мужчин в возрасте от 33 до 70 лет, в среднем (54,64 ± 1,61) года. На основании комплексного клинико-инструментального обследования верификацию диагноза и определение степени АГ проведено согласно критериям, рекомендованным Украинским обществом кардиологов (2004) и Европейским обществом артериальной гипертензии (ESH)/Европейским обществом кардиологии (ESC) (2003) [11]. При этом 1-я степень АГ (САТ 140—159 мм рт. ст.; ДАТ 90—99 мм рт. ст.) диагностирована у 7 пациентов, или (21 ± 7) %, 2-я (САТ 160—179 мм рт. ст.; ДАТ 100—109 мм рт. ст.) — у 12, или (37 ± 8) %, а 3-я (САТ ≥ 180 мм рт. ст.; ДАТ ≥ 110 мм рт. ст.) — у 14 больных, или (42 ± 9) %. Длительность заболевания колебалась от 1 года до 30 лет и в среднем составила (10,89 ± 1,41) года. Контрольную группу составили 32 практически здоровых человека.

Об иммунной активации судили по уровню в сыворотке крови провоспалительного цитокина ФНО-α у всех обследуемых и его растворимого рецептора I типа (рФНО-αRI) у 16 пациентов. Показатели определяли иммуноферментным методом с помощью наборов реагентов «ProCon TNFα» («Протеиновый контур», С.-Петербург, Россия) и «sTNF-RI Easia» (BioSource Europe S.A., Belgium) соответственно. В качестве маркера оксидативного стресса (ОС) использовали изоформу простагландина F-2α (8-iso-PgF_{2α}), являющегося продуктом свободнорадикального окисления арахидоновой (эйкозановой) кислоты биологических мембран. Его определяли в сыворотке крови иммуноферментным методом с помощью набора «Isoprostane (8-iso-PgF_{2α}) Serum, Tissue Elisa kit, BioAssay» («USBiological», USA).

Критериями исключения пациентов из исследования послужили: вторичная артериальная гипертензия; сопутствующая онкологическая патология, острые и/или хронические воспалительные заболевания; сахарный диабет.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакетов статистического анализа программы Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США) и программы Microsoft Excel 2000 (версия 9.0.3821 SR-1). При этом определяли среднее значение (M), стандартную ошибку (m). Для оценки направленности и силы связи между показателя-

ми применяли методы корреляционного анализа с вычислением парного коэффициента корреляции r. При этом в случае нормального распределения данных использовали метод Пирсона, а в случае ненормального распределения — метод ранговой корреляции Спирмена. Проводили однофакторный дисперсионный анализ с вычислением критерия Фишера (F).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ активности провоспалительных цитокинов показал значительное увеличение уровня ФНО-α у пациентов с гипертензией по сравнению с контролем: (186,56 ± 18,12) и (13,23 ± 3,40) пкг/мл соответственно (P = 0,0001; рис. 1).

Среднее значение ФНО-α в 14,1 раза превышало контрольные значения, что может служить подтверждением данных о том, что гемодинамический стресс является одним из стимулов повышения синтеза и выброса в кровоток провоспалительных цитокинов, в частности ФНО-α [2, 3, 12].

Подобная тенденция прослеживалась относительно растворимых фракций рецепторов к ФНО-α (рис. 2). Величина рФНО-αRI при АГ также превышала аналогичную контрольной группы: (2,14 ± 0,28) и (1,20 ± 0,60) нг/мл соответственно (P = 0,00001).

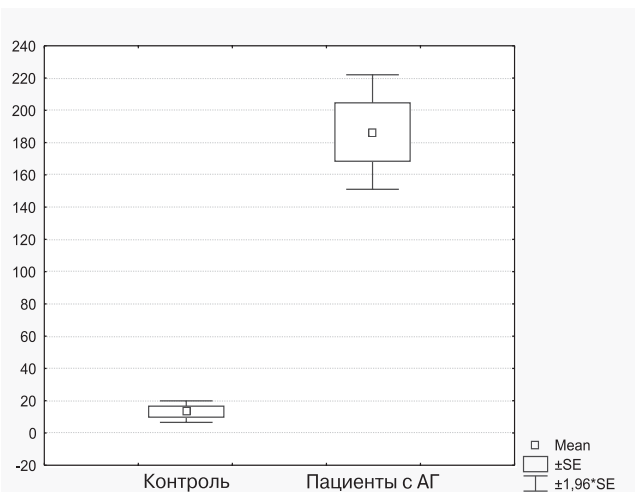


Рис. 1. Уровень ФНО-α в норме и при гипертензии



Рис. 2. Уровень рФНО-αRI в норме и при гипертензии

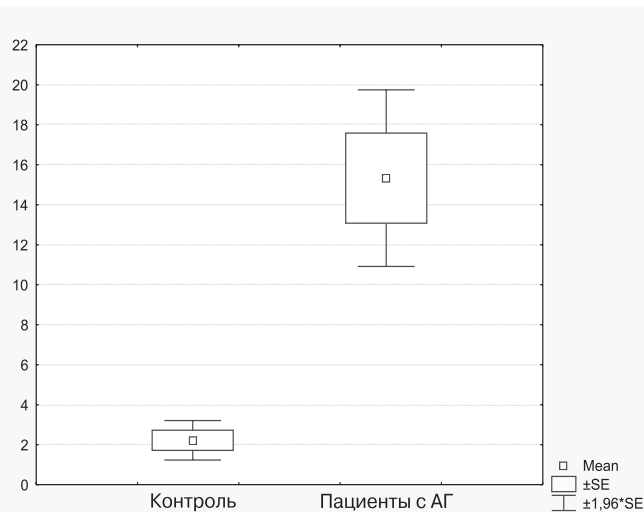


Рис. 3. Уровень 8-iso-PgF_{2α} в норме и при гипертензии

Существуют данные о повышении образования растворимых форм рецепторов ФНО-α у пациентов с высоким циркулирующим уровнем цитокина [8, 17, 18]. Это наблюдалось и в нашем исследовании. Среднее значение рФНО-αRI у пациентов с повышенной активностью ФНО-α, обусловленной повышением уровня АД, возросло в 1,78 раза, или на 78,3%, по сравнению с нормой.

Высокий уровень 8-iso-PgF_{2α} выявляют и при ишемической болезни сердца и АГ [7, 13]. Подобные данные получены и в нашем исследовании, в котором обнаружено повышение содержания 8-iso-PgF_{2α} в сыворотке крови пациентов с АГ по сравнению с показателями 10 практически здоровых лиц: (15,33 ± 2,25) и (2,22 ± 0,50) пкг/мл соответственно (P = 0,003). При этом 8-iso-PgF_{2α} при наличии АГ в 16,91 раза превышал нормальный показатель (рис. 3).

Итак, нами установлено повышение циркулирующего уровня провоспалительных цитокинов (ФНО-α, рФНО-αRI) и маркера оксидативного стресса — 8-iso-PgF_{2α} у пациентов с АГ.

В целях выяснения влияния уровня повышения АД на величину ФНО-α, рФНО-αRI и 8-iso-PgF_{2α} пациентов распределили на 3 группы в зависимости от степени АГ (таблица).

У пациентов с 1-й степенью АГ наблюдалось повышение обоих показателей по сравнению с контрольной группой (P < 0,05). При 2-й степени АГ средние значения ФНО-α и 8-iso-PgF_{2α} были максимальными (P < 0,05 по сравнению с контролем и 1-й степенью АГ) и достоверно снижались при

3-й степени АГ (P > 0,05 по сравнению со 2-й степенью АГ), оставаясь, однако, более высокими по сравнению с 1-й степенью АГ и контрольной группой (P < 0,05 в обоих случаях).

Таким образом, концентрация ФНО-α и 8-iso-PgF_{2α} возрастала параллельно увеличению уровня АД у пациентов с 1-й и 2-й степенями АГ. Незначительное снижение анализируемых показателей при 3-й степени АГ может быть обусловлено большей продолжительностью заболевания. Полученные данные согласуются с существующими о том, что продукция цитокинов может снижаться при длительном течении АГ. Данный факт может быть объяснен следующим: нельзя исключить, во-первых, истощения иммунной системы и, во-вторых, либо физиологическую потерю клеток-продуцентов цитокинов и 8-iso-PgF_{2α} с возрастом (длительность заболевания зависит от возраста пациентов), либо патологическую их потерю вследствие фиброза, некроза или апоптоза [1, 20].

Взаимосвязи между степенью АГ и изменением уровней исследуемых показателей имели следующую выраженность: коэффициент корреляции (r) для содержания в крови ФНО-α составил 0,204 (P = 0,25), для рФНО-αRI r = -0,01 (P = 0,967), для 8-iso-PgF_{2α} r = 0,11 (P = 0,94). Коэффициенты корреляции с длительностью данного заболевания были: для ФНО-α r = 0,242 (P = 0,174), для рФНО-αRI r = 0,171 (P = 0,526), для 8-iso-PgF_{2α} r = 0,011 (P = 0,948). Учитывая недостоверность выявленных методом корреляционного анализа взаимосвязей, был применен метод однофакторного дисперсионного анализа, позволяющий с достоверностью определить влияние степени тяжести и длительности АГ на динамику уровней исследуемых показателей. При этом оказалось, что степень повышения АД влияет на увеличение содержания в крови ФНО-α и 8-iso-PgF_{2α}, но не на уровень рФНО-αRI, а от длительности АГ зависит активность ФНО-α и содержание рФНО-αRI. На уровень 8-iso-PgF_{2α} длительность заболевания АГ не влияет.

При анализе взаимосвязей уровней 8-iso-PgF_{2α}, ФНО-α и рФНО-αRI были получены следующие данные: повышение активности ФНО-α обратно коррелирует с содержанием рФНО-αRI (r = -0,159, P = 0,603) и имеет прямую взаимосвязь с уровнем 8-iso-PgF_{2α} (r = 0,097; P = 0,589). Получена обратная взаимосвязь уровня 8-iso-PgF_{2α} с содержанием в крови рФНО-αRI (r = -0,49; P = 0,054). При оценке силы взаимосвязей содержания 8-iso-PgF_{2α} и ФНО-α у пациентов с различной степенью тя-

Таблица. Динамика активности ФНО-α и 8-iso-PgF_{2α} в зависимости от степени АГ

Показатель	1-я степень АГ	2-я степень АГ	3-я степень АГ
Длительность АГ, годы	6,29 ± 3,05	8,33 ± 2,22	14,36 ± 2,06
ФНО-α, пкг/мл	134,37 ± 25,43	205,42 ± 38,11	196,49 ± 28,73
8-iso-PgF _{2α} (пкг/мл)	9,17 ± 1,72	19,37 ± 4,04	14,95 ± 3,79

жести АГ выяснилось, что наиболее сильная зависимость ($r = 0,464$; $P = 0,29$) между повышением уровня этих веществ наблюдается при начальной стадии развития АГ, а наименьшая — при тяжелом течении АГ ($r = 0,035$, $P = 0,905$). Это может свидетельствовать о роли ОС в патогенезе АГ как повреждающего механизма, способствующего активации иммунных механизмов и дальнейшему прогрессированию заболевания.

ВИВОДИ

Итак, повышение циркулирующих провоспалительных цитокинов и 8-iso-PGF_{2α} подтверждают вов-

лечение иммуновоспалительных механизмов и оксидативного стресса в патогенез АГ. Активность ФНО-α зависит от длительности и степени АГ, в то время как величина рФНО-αRI — только от длительности, а 8-iso-PGF_{2α} — только от степени повышения АД.

Гемодинамическая перегрузка повышенным давлением приводит к развитию ОС, избыточной биоактивности ФНО-α. Продукты перекисного окисления липидов, оказывая прямое цитотоксическое действие, способствуют активации иммунных механизмов, опосредованных провоспалительными цитокинами, наиболее выраженных на ранних стадиях развития АГ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ковалёва О.Н., Ащеулова Т.В. Апоптоз и сердечно-сосудистые заболевания (обзор литературы) // Журн. АМН Украины.— 2001.— № 4.— С. 660—669.
2. Azra M., Feely J. Arterial stiffness is related to systemic inflammation in essential hypertension // Hypertension.— 2005.— N 46.— P. 1118—1122.
3. 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. Hypertens.— 2005.— N 19.— P. 149—154.
4. Blankenberg S., Yusuf S. The inflammatory hypothesis: any progress in risk stratification and therapeutic targets? // Circulation.— 2006.— N 114.— P. 1557—1560.
5. Bozkurt B. Activation of cytokines as a mechanism of disease progression in heart failure // Ann. Rheum. Dis.— 2000.— Vol. 59.— P. 90—93.
6. Condraas V.M., Bosmans J.M., Vrints C.J. Chronic heart failure: an example of a systemic chronic inflammatory disease resulting in cachexia // Intern. J. Cardiol.— 2002.— Vol. 85.— P. 33—49.
7. Cracowski J.L., Stance-Labesque F., Bessard G. Isoprostanes: new markers of oxidative stress. Fundamental and clinical aspects // Rev. Med. Intern.— 2000.— Vol. 21.— P. 304—307.
8. Deswal A., Petersen N.J., Feldman A.M. et al. Cytokines and cytokines receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the Vesnarinone Trial (VEST) // Circulation.— 2001.— N 103.— P. 2055—2059.
9. Dinarello C.A. Proinflammatory cytokines // Chest.— 2000.— № 118.— P. 503—508.
10. Feldmann A.M., Combes A., Wagner D. et al. The role of tumor necrosis factor in the pathophysiology of heart failure // J. Am. Coll. Cardiol.— 2000.— № 35.— P. 537—544.
11. Guidelines Committee. 2003 European Society of Hypertension-European Society of Cardiology guidelines for management of arterial hypertension // J. Hypertens.— 2003.— Vol. 21.— P. 1011—1053.
12. Grander D.N., Vowinkel T., Petnehazy T. Modulation of the inflammatory response in cardiovascular disease // Hypertension.— 2004.— Vol. 43.— P. 924—931.
13. Lawson J.A., Rokach J., FitzGerald G.A. Isoprostanes: formation, analysis and use as indices of lipid peroxidation in vivo // J. Biol. Chemistry.— 1999.— Vol. 274.— P. 24441—24444.
14. Mann D.L. Recent insights into the role of tumor necrosis factor in the failing heart // Heart Failure Reviews.— 2001.— N 6.— P. 71—80.
15. Mann D.L. Inflammatory mediators and failing heart: past, present, and the foreseeable future // Circ. Res.— 2002.— Vol. 91 (11).— P. 988—998.
16. Mehra V.C., Ramgolam V.S., Bender J.R. Cytokines and cardiovascular disease // J. Leukoc. Biol.— 2005.— N 78.— P. 805—818.
17. Niebauer J. Inflammatory mediators in heart failure // Int. J. Cardiol.— 2000.— N 72.— P. 209—213.
18. Nowak J., Rozentryt P., Szewczyk M. et al. Tumor necrosis factor receptors sTNF-RI and sTNF-RII in advanced chronic heart failure // Pol. Arch. Med. Wewn.— 2002.— Vol. 107 (3).— P. 223—229.
19. Okuyama M., Yamaguchi, Yamaoka M. et al. Nitric oxide enhances expression and shedding of tumor necrosis factor receptor 1 (p55) in endothelial cells // Arteriosclerosis.— 2000.— Vol. 20.— P. 1506—1511.
20. Tabet J.Y., Lopes M.E., Champagne S. et al. Inflammation, cytokines and anti-inflammatory therapies in heart failure // Arch. Mal. Coeur.— 2002.— N 95.— P. 204—212.
21. Tzortzis J.D., Sivik D.A., Chang D.L. et al. Chronic oxidative stress induces a hypertrophic phenotype and apoptosis in neonatal rat cardiac myocytes // Circulation.— 1997.— Vol. 96.— P. 149—153.
22. Vasan R.S. Biomarkers of cardiovascular disease: molecular basis and practical considerations // Circulation.— 2006.— N 113.— P. 2335—2362.

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ІМУННОЇ АКТИВАЦІЇ ТА ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ ПРИ ПРОГРЕСУВАННІ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ

Т.В. Ащеулова, М.В. Заїка, Н.М. Герасимчук

Мета дослідження — вивчення активізації системи прозапальних цитокінів у взаємозв'язку з розвитком оксидативного стресу залежно від тривалості та ступеня артеріальної гіпертензії (АГ).

Обстежено 33 пацієнти з АГ та 32 практично здорових людей (контрольна група). Рівень цитокінів — фактора некрозу пухлин α (ФНП- α), розчинного рецептора до ФНП- α 1-го типу (рФНП- α R1) та маркера оксидативного стресу — 8-iso-PGF_{2 α} вимірювали імуноферментним методом.

Результати нашого клінічного дослідження засвідчують залучення імунозапальних механізмів та оксидативного стресу до патогенезу АГ. Гемодинамічне перевантаження підвищеним тиском призводить до зростання біоактивності ФНП- α , яка за тривалого перебігу хвороби спричинює негативний інотропний вплив на серцево-судинну систему і сприяє розвитку оксидативного стресу, що ще більше погіршує перебіг АГ.

RELATIONSHIPS BETWEEN IMMUNE ACTIVATION AND OXIDATIVE STRESS IN ARTERIAL HYPERTENSION PROGRESSION

T.V. Ashcheulova, M.V. Zayika, N.N. Gerasimchuk

The aim of our clinical study was to investigate activity of proinflammatory cytokines system in relation to development of oxidative stress depends on duration and degree of arterial hypertension (AH).

33 hypertensive patients and 32 healthy controls were examined. Cytokines — tumor necrosis factor α (TNF- α) and soluble TNF- α receptors type 1 (sTNF- α R1) levels, and marker of oxidative stress — 8-iso-PGF_{2 α} serum levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results of our clinical study confirm involving of immuno-inflammatory mechanisms and oxidative stress in AH pathogenesis. Obtained data suggest that hemodynamic overload by elevated blood pressure results in increased TNF- α bioactivity that in long-term disease duration cases negative inotropic influence on cardiovascular system, and moreover, promotes oxidative stress development that also aggravate AH course.