

ISSN 1607-419X

ISSN 2411-8524 (Online)

УДК 611.018.74:616.12-008.331.1-053.6

Характер нарушения функции эндотелия при эссенциальной артериальной гипертензии у подростков (клинико-экспериментальное исследование)

Г. Н. Афлятумова¹, Д. И. Садыкова²,
Р. Р. Нигматуллина³, М. Д. Чибирева⁴

¹ Государственное автономное учреждение здравоохранения «Детская республиканская клиническая больница» Министерства здравоохранения Республики Татарстан, Казань, Россия

² Казанская государственная медицинская академия — филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань, Россия

⁴ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биологии развития имени Н. К. Кольцова» Российской академии наук, Москва, Россия

Контактная информация:

Афлятумова Гульфия Нагимовна,
ГАУЗ «Детская республиканская
клиническая больница»
Минздрава Республики Татарстан,
ул. Оренбургский тракт, д. 140,
Казань, Россия, 420011.
E-mail: aflyatumovagulfia@mail.ru

*Статья поступила в редакцию
13.02.17 и принята к печати 04.04.17.*

Резюме

Цель исследования — оценить характер нарушений функции эндотелия на основании изучения концентрации эндотелина-1 (ЕТ-1), оксида азота (NO), серотонина (5-НТ) в крови при эссенциальной артериальной гипертензии (ЭАГ) у подростков и в экспериментальных моделях у животных. **Материалы и методы.** Работа проводилась в два этапа. Клинической части предшествовало исследование на экспериментальных моделях артериальной гипертензии (АГ). Для этих целей использовали 25 неполовозрелых самцов спонтанно-гипертензивных крыс линии SHR (spontaneously hypertensive rats) в возрасте 6–7 недель и 10 неполовозрелых самцов крыс линии Wistar-Kyoto в возрасте 6–7 недель (группа контроля). Вторая часть работы включала обследование 70 нелеченых подростков мужского пола, средний возраст — $15,63 \pm 0,26$ года, среди которых 24 человека — с лабильной формой ЭАГ (ЛАГ), 30 — со стабильной формой ЭАГ (САГ), группу контроля составили 16 человек. В диагностический комплекс входило проведение суточного мониторирования артериального давления. Методом иммуноферментного анализа определялись концентрации ЕТ-1 в плазме, суммарная концентрация стабильных метаболитов NO, 5-НТ в сыворотке крови и тромбоцитах. **Результаты.** Уровни ЕТ-1 и 5-НТ сыворотки крови были выше в группах с АГ, чем в контрольной группе, причем у подростков со стабильной формой ЭАГ отмечались более высокие уровни обоих показателей по сравнению с ЛАГ ($p < 0,0001$). Уровень 5-НТ тромбоцитов в группах с АГ был ниже, чем у пациентов контрольной группы ($p < 0,0001$). По сравнению с контроль-

ной группой уровни NO были выше у подростков с ЛАГ, но ниже у пациентов с САГ ($p < 0,0001$). Обнаруженные в плазме, сыворотке и тромбоцитах крови изменения уровня ЭТ-1, 5-НТ и NO на экспериментальной модели у животных аналогичны результатам, полученным при анализе крови у пациентов с ЛАГ и САГ. **Выводы.** NO, ЭТ-1 и 5-НТ выступают ранними чувствительными маркерами эндотелиальной дисфункции при ЭАГ у подростков мужского пола, а также в экспериментальной модели на крысах.

Ключевые слова: эссенциальная артериальная гипертензия, подростки, SHR-крысы, эндотелин-1, серотонин, оксид азота

Для цитирования: Афлятумова Г. Н., Садыкова Д. И., Нигматуллина Р. Р., Чибирева М. Д. Характер нарушения функции эндотелия при эссенциальной артериальной гипертензии у подростков (клинико-экспериментальное исследование). Артериальная гипертензия. 2017;23(2):131–140. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-2-131-140

Endothelial dysfunction in essential hypertension in adolescents (clinical and experimental study)

G. N. Aflyatunova¹, D. I. Sadykova²,
R. R. Nigmatullina³, M. D. Chibireva⁴

¹ Children's Republican Clinical Hospital, Kazan, Russia

² Kazan State Medical Academy, Kazan, Russia

³ Kazan State Medical University, Kazan, Russia

⁴ Koltsov Institute of Developmental Biology, Moscow, Russia

Corresponding author:

Gulfia N. Aflyatunova,
Children's Republican Clinical Hospital,
140 Orenburgsky tract street, Kazan,
420011 Russia.
E-mail: aflyatunovagulfia@mail.ru

Received 13 February 2017;
accepted 4 April 2017.

Abstract

Objective. The aim of the study was to evaluate endothelial dysfunction based on the blood concentration of endothelin 1 (ET-1), nitric oxide (NO), serotonin (5-HT) in essential hypertension (EHTN) in adolescents and in experimental animal models. **Design and methods.** The work was carried out in two stages. The clinical part was preceded by the investigation of experimental models of arterial hypertension (HTN). Twenty five immature male SHR rats aged 6–7 weeks and 10 immature male Wistar–Kyoto rats aged 6–7 weeks (control group) were examined. The clinical part of the study included 70 untreated male adolescents (mean age $15,63 \pm 0,26$ years), among them 24 people had a labile form of EHTN (LHTN), 30 had stable form of EHTN (SHTN), the control group included 16 subjects. All participants underwent 24-hour blood pressure monitoring. The plasma concentration of ET-1 was determined by enzyme immunoassay, total concentration of stable metabolites of NO, 5-HT in serum and platelets was measured. **Results.** The serum levels of ET-1 and 5-HT were higher in HTN groups than in the control group, and in adolescents with SHTN levels of both indices were higher compared to those with LHTN ($p < 0,0001$). Serotonin level in platelets in HTN groups was lower than in the control group ($p < 0,0001$). Compared to the control group, NO levels were higher in adolescents with LHTN, but lower in patients with SHTN ($p < 0,0001$). The changes in the level of ET-1, 5-HT and NO in plasma, serum and blood platelets in the experimental animal model were similar to those found in patients with labile and stable HTN. **Conclusions.** NO, ET-1 and 5-HT are early sensitive markers of endothelial dysfunction in EHTN in adolescent males, as well as in the experimental SHR rat model.

Key words: essential hypertension, adolescents, SHR-rats, endothelin-1, serotonin, nitric oxide

For citation: Aflyatunova GN, Sadykova DI, Nigmatullina RR, Chibireva MD. Endothelial dysfunction in essential hypertension in adolescents (clinical and experimental study). Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension. 2017;23(2):131–140. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-2-131-140

Введение

Артериальная гипертензия (АГ) в настоящее время признана приоритетным направлением в кардиологии. Здоровье молодого поколения является одним из ведущих показателей социального и медицинского благополучия общества. Обманчивая «безобидность» данного заболевания, все большее распространение «пограничных форм», при которых пациенты не предъявляют серьезных жалоб, привели к тому, что как в нашей стране, так и за рубежом результаты лечения АГ неутешительны. По данным отечественных авторов распространенность АГ среди детей и подростков варьирует от 2,4 до 18% [1, 2], по результатам зарубежных исследователей — от 0,76 до 33% [3, 4]. Высокая распространенность повышенного артериального давления (АД) среди детей и подростков и сохранение такового во взрослой жизни у 33–42% свидетельствуют об актуальности проблемы [5]. Вопросы раннего выявления факторов риска АГ в доклинической стадии заболевания и ее осложнений у лиц молодого возраста требуют дальнейшего изучения. Одним из основных механизмов возникновения АГ рассматривают эндотелиальную дисфункцию, которая формируется в результате действия многих звеньев патогенеза [6]. При этом баланс ключевых вазоактивных факторов — оксида азота (NO) и эндотелина-1 (ЭТ-1) нарушается в первую очередь. Значительный интерес представляют взаимосвязи серотонинергической системы, сосудистого эндотелия и суточного профиля артериального давления (АД) у подростков с эссенциальной АГ (ЭАГ) [7, 8]. Следует отметить физиологические особенности при половом созревании, приводящие к разнице давления между мальчиками и девочками.

Одним из основных вазоконстрикторов считается моноамин серотонин (5-НТ), который реализует свой эффект через 5-НТ₁ В и 5-НТ₂ А рецепторы, локализованные на мембране гладкомышечных клеток сосудов [9]. Высвобождаясь из активированных тромбоцитов, 5-НТ значительно изменяет функцию гладкомышечных клеток сосудов и эндотелиальных клеток. Чем выше активность мембранного переносчика, тем выше концентрация 5-НТ в тромбоцитах, увеличивается его выброс в плазму крови и реализуется негативное влияние на тромбоциты и стенку сосудов. Повышенная концентрация 5-НТ в плазме крови может приводить к возникновению тромбозов и констрикции сосудов, что доказано в экспериментальных моделях на животных. Агрегация тромбоцитов и накопление 5-НТ в местах сосудистого повреждения ведет к избыточной пролиферации эндотелия и гладкомышечных клеток, что является неотъемлемым звеном АГ [10, 11].

Оксид азота (NO), являясь вазодилататором, вызывает торможение экспрессии молекул адгезии и агрегации тромбоцитов и, таким образом, оказывает антипролиферативное, антиапоптотическое и антитромботическое действие. ЭТ-1 и 5-НТ вызывают противоположные эффекты [12–14]. В последнее десятилетие особенно интенсивно изучение причинных механизмов АГ проводится с использованием экспериментальных моделей крыс-самцов со спонтанной гипертензией линии SHR [15]. Установлено, что одной из причин патологически высокого АД у них являются изменения во взаимодействии ЭТ-1 и NO, а также морфологических параметров, отражающих функциональную активность тромбоцитов. Оценка адекватности экспериментальных моделей представляет собой систему доказательств, показывающих, в какой мере и с какой степенью вероятности результаты, полученные в эксперименте на животных, могут быть экстраполированы на человека [16].

Цель исследования — оценить характер нарушений функции эндотелия на основании изучения концентрации ЭТ-1, NO, 5-НТ в крови при ЭАГ у подростков и в экспериментальных моделях у животных.

Материалы и методы

Работа проводилась в два этапа.

Экспериментальное исследование проводили на приобретенных в питомнике «Пушино» лабораторных животных в возрасте 6–7 недель — 25 неполовозрелых самцов крыс линии SHR (спонтанно-гипертензивных), в качестве контроля взяты 10 крыс линии Wistar–Kyoto (WKY). Возраст крыс сопоставим с пубертатным периодом подростков [17]. АД регистрировали неинвазивным (бескровным) методом с использованием системы PL3508B35 Mikro-Tip (ADInstruments, Австралия). Регистрацию и обработку результатов проводили в программе LGraph2. Наркотизированных уретаном (800 мг/кг) крыс подвергали срединной лапаротомии. Собирали кровь из правой или левой общих подвздошных вен. Концентрацию ЭТ-1, суммарного количества NO, 5-НТ в плазме крови и в тромбоцитах определяли методом иммуноферментного твердофазного анализа с использованием тестовых наборов, указанных ниже.

Все экспериментальные исследования на крысах были проведены в соответствии с этическими принципами и нормативными документами, рекомендованными Европейским научным фондом (ESF) и Хельсинкской декларацией о гуманном отношении к животным.

ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ И ЛАБОРАТОРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ УЧАСТНИКОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Параметр	Контроль (А) (n = 16)	Пациенты с АГ (В) (n = 54)	p
Мужской пол, число	16	54	—
Возраст, годы	15,86 ± 1,21	15,63 ± 1,26	0,31
Рост, см	172,7 ± 10,8	174,3 ± 11,5	0,44
Масса тела, кг	62,8 ± 5,6	64,4 ± 4,7	0,09
ИМТ, кг/м ²	21,06 ± 2,0	21,2 ± 2,1	0,71
САД среднее, мм рт. ст.	114,1 ± 1,2	129,8 ± 3,4	< 0,0001
ДАД среднее, мм рт. ст.	64,4 ± 0,5	72,9 ± 0,87	< 0,0001
Тромбоциты, × 10 ³ /мкл	286,4 ± 61,3	273,7 ± 54,1	0,23

Примечание: АГ — артериальная гипертензия; ИМТ — индекс массы тела; САД — систолическое артериальное давление; ДАД — диастолическое артериальное давление.

В клиническое исследование были включены 54 подростка мужского пола с повышением АД. Контрольную группу (16 человек) составили относительно здоровые пациенты. Исследованные группы детей были сопоставимы по полу, возрасту, росту, массе тела и индексу массы тела (табл. 1). Возраст обследованных составил от 13 до 16 (15,63 ± 0,26) лет.

Критериями исключения являлись: пациенты с симптоматической АГ, а также лица женского пола, поскольку у них циклические изменения уровня эстрогенов в течение менструального цикла приводят к колебаниям регулируемой эндотелием вазодилатации, дисбалансу гормонального фона и уровня биогенных аминов крови.

За три дня до начала исследования всем было рекомендовано ограничение чрезмерных физических нагрузок и соблюдение диеты с исключением продуктов, содержащих экзогенные нитраты (мясо, рыба, дыня, зелень, чай), а также продукты, содержащие 5-НТ (бананы, ананасы, сыр, кофе). Забор крови проводили в утренние часы (с 08:00 до 09:00 часов), натощак в состоянии покоя.

В комплекс проводимых диагностических процедур входило общеклиническое исследование с определением антропометрических показателей. Первичную оценку уровня АД проводили по результатам измерений АД по методу Короткова. Здоровую группу составили подростки, у которых по результатам трехкратного определения на трех визитах среднее значение систолического АД (САД) и диастолического АД (ДАД) было ≥ 10-го и < 90-го перцентиля распределения АД для соответствующего пола и роста. Пациентам, у которых данные показатели были равны или превышали значения 95-го перцентиля, было проведено суточное мониторирование АД с помощью автоматической амбу-

латорной системы мониторингирования АД Oscar 2 для системы «BPLab» (Россия), в которой используется осциллометрический метод измерения АД. Диагноз АГ устанавливали в соответствии с рекомендациями, сформулированными Всероссийским научным обществом кардиологов и Ассоциацией детских кардиологов России [18]. По полученным данным исследуемые были разделены на две группы — с лабильной АГ (ЛАГ) и стабильной АГ (САГ). Критерием диагностики ЛАГ являлись повышение средних значений САД и/или ДАД более 90–95-го перцентиля распределений этих параметров для соответствующих ростовых показателей и превышение нормативных значений индекса времени АГ в дневное и/или ночное время от 25 до 50%. В нее вошли 24 подростка. Группу с САГ составили 30 пациентов с повышением средних значений САД и/или ДАД выше 95-го перцентиля и повышением нормативных значений индекса времени гипертензии в дневное и/или ночное время более 50%. На момент исследования пациенты не получали антигипертензивную терапию. Исследование подростков одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Минздрава России с получением информированного согласия у детей и их родителей.

Концентрацию ЭТ-1 в плазме крови определяли с использованием стандартного диагностического набора реактивов фирмы BioMedica (Австрия) на микропланшетном ридере Multiscan EX (Labsystems, Финляндия, 2008) при длине волны 450 нм методом иммуноферментного твердофазного анализа (ИФА).

Исследование уровня 5-НТ в сыворотке крови и в тромбоцитах проводилось при помощи стандартного диагностического набора Serotonin ELISA Fast Track (Labor Diagnostika Nord GmbH & Co. KG,

Германия) на микропланшетном ридере Multiscan EX (Labsystems, Финляндия, 2008) при длине волны 450 нм методом ИФА. Для определения концентрации 5-НТ в тромбоцитах пересчет велся на 10^9 тромбоцитов.

Количественный уровень суммарной концентрации стабильных метаболитов NO (нитратов — NO₃ и нитритов — NO₂) в сыворотке крови определялся с помощью тестового набора TotalNO/Nitrite/Nitrate Assay R & D Systems (R&D Systems, Inc., США) методом ИФА.

Статистическая обработка данных осуществлялась на персональном компьютере с помощью электронных таблиц Excel и пакета прикладных программ Statistica for Windows версии 6,0. Использованы методы вариационной статистики с вычислением следующих показателей: среднее арифметическое значение (M), медиана (Me), стандартная ошибка среднего арифметического (m), таблицы частот, двухсторонний критерий Стьюдента для множественных сравнений с поправкой Бонферрони. Значимость различий качественных признаков проверялась с помощью критерия χ^2 Пирсона, с поправкой Йетса в случае малой численности групп и точного критерия Фишера. Все различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Нормальность распределений оценивалась при помощи W-критерия Шапиро–Уилкса.

Результаты

При проведении экспериментальной части работы было выявлено, что у крыс линии SHR показатели АД были значительно выше и составили $147,5 \pm 4,8$ мм рт. ст., чем у одновозрастных крыс линии WKY — $122,6 \pm 4,5$ мм рт. ст. ($p < 0,05$).

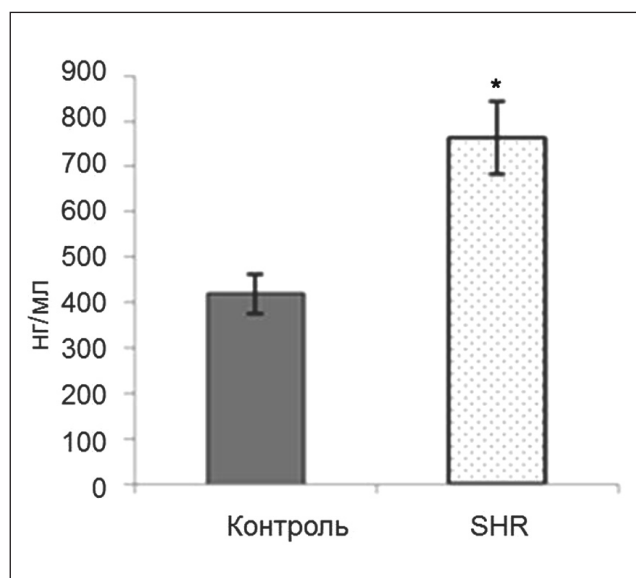
Концентрация 5-НТ в сыворотке крови экспериментальной группы животных (1) выше в 1,8 раза, чем у контрольной (A), и составила $763,16 \pm 79,51$ и $420,00 \pm 43,93$ нг/мл ($p < 0,05$) соответственно (рис. 1).

Количество тромбоцитов в крови у крыс линии SHR составило $(324,5 \pm 56,9) \times 10^9/\text{л}$, а у нормотензивных WKY существенно меньше — $(209,0 \pm 30,6) \times 10^9/\text{л}$ ($p \leq 0,01$). При этом концентрация 5-НТ в тромбоцитах крови была у SHR ниже ($543,22 \pm 107,46$ нг/ 10^9), чем у WKY ($1271,66 \pm 124,27$ нг/ 10^9 , $p < 0,05$) в 2,3 раза (рис. 2).

Концентрация ЭТ-1 в плазме крови неполовозрелых крыс линии SHR значительно выше таковой у животных линии WKY в 2,9 раза и составляет $2,13 \pm 0,35$ и $0,74 \pm 0,10$ фмоль/мл соответственно ($p < 0,05$) (рис. 3).

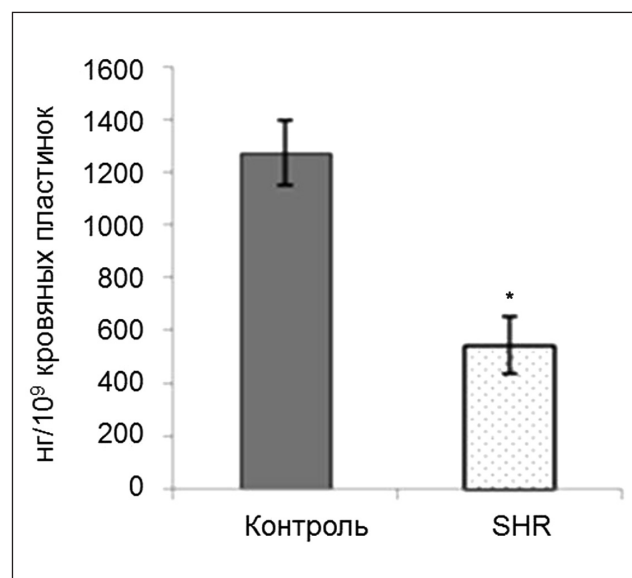
Концентрация NO в сыворотке крови у крыс линии SHR составляет $128,75 \pm 8,40$ мкмоль/л, в то время как у одновозрастных крыс WKY — $105,38 \pm 7,70$ мкмоль/л, соотношение SHR/контроль составило 1,2:1 ($p < 0,05$) (рис. 4).

Рисунок 1. Концентрация серотонина в сыворотке крови у неполовозрелых спонтанно-гипертензивных крыс линии SHR и у нормотензивных неполовозрелых крыс WKY



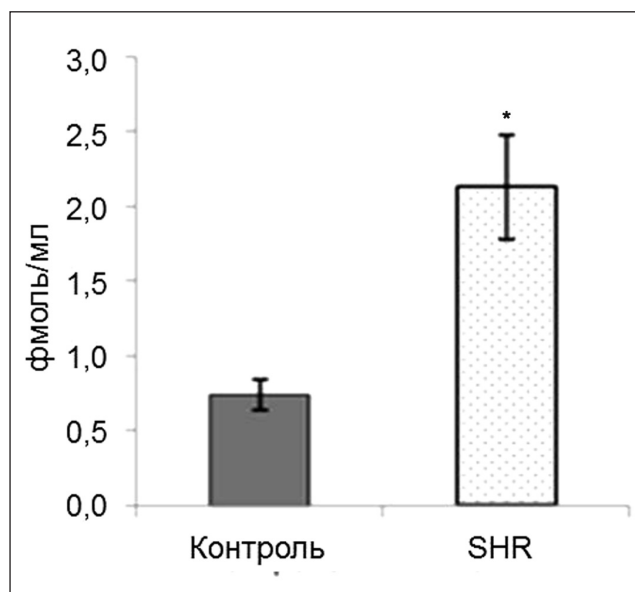
Примечание: SHR — спонтанно-гипертензивные крысы (1); контроль — нормотензивные неполовозрелые крысы линии Wistar-Kyoto (A); * $p < 0,05$ (A-1).

Рисунок 2. Концентрация серотонина в тромбоцитах у неполовозрелых спонтанно-гипертензивных крыс линии SHR и у нормотензивных неполовозрелых крыс WKY



Примечание: SHR — спонтанно-гипертензивные крысы (1); контроль — нормотензивные неполовозрелые крысы линии Wistar-Kyoto (A); * $p < 0,05$ (A-1).

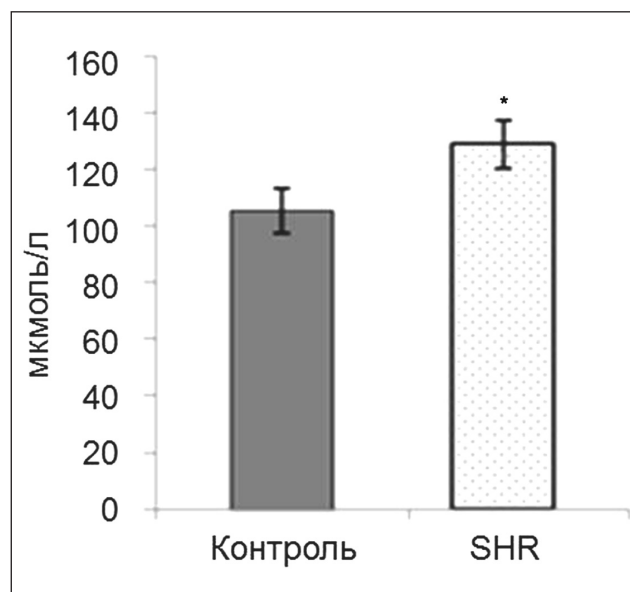
Рисунок 3. Концентрация эндотелина-1 в плазме крови у неполовозрелых спонтанно-гипертензивных крыс линии SHR и у нормотензивных неполовозрелых крыс WKY



Примечание: SHR — спонтанно-гипертензивные крысы (1); контроль — нормотензивные неполовозрелые крысы линии Wistar-Kyoto (A); * $p < 0,05$ (A-1).

Таким образом, концентрация вазоконстрикторов ЭТ-1 и 5-НТ значительно выше у неполовозрелых спонтанно-гипертензивных крыс линии SHR в возрасте 6–7 недель, чем у одновозрастных нормотензивных крыс линии WKY. В свою очередь, уровень NO у экспериментальных животных был

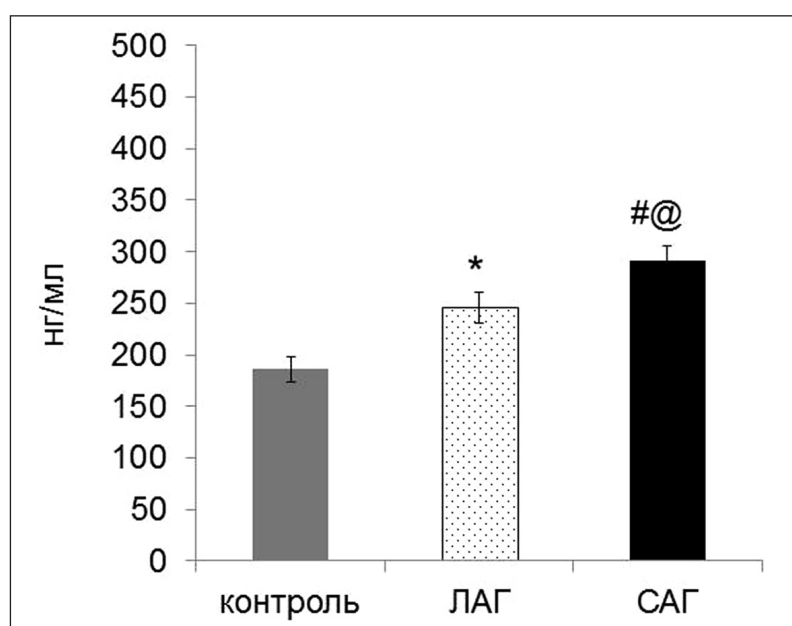
Рисунок 4. Концентрация оксида азота в сыворотке крови у неполовозрелых спонтанно-гипертензивных крыс линии SHR и у нормотензивных неполовозрелых крыс WKY



Примечание: SHR — спонтанно-гипертензивные крысы (1); контроль — нормотензивные неполовозрелые крысы линии Wistar-Kyoto (A); * $p < 0,05$ (A-1).

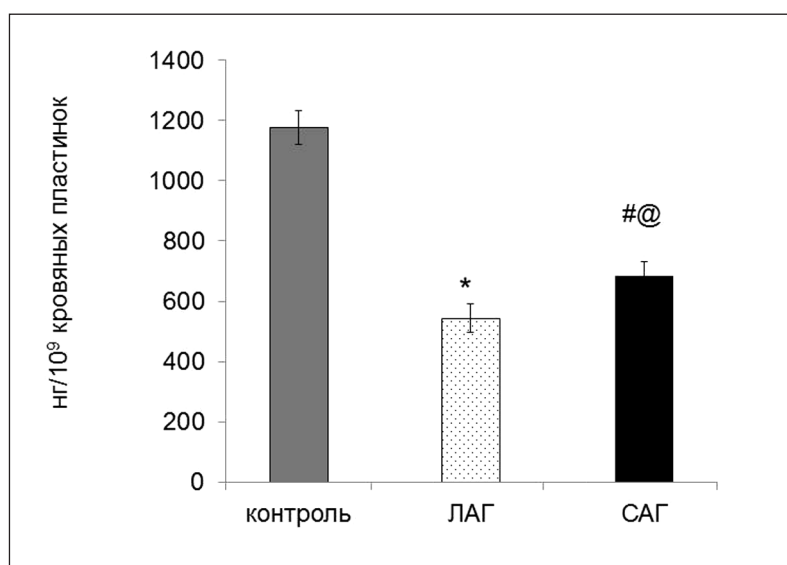
также повышен относительно контрольной группы. Полученные результаты согласуются с данными литературы о том, что в плазме неполовозрелых крыс линии SHR наблюдается увеличение уровня NO, однако его биоактивности недостаточно для того, чтобы стимулировать адекватную NO-зависимую

Рисунок 5. Концентрация серотонина в сыворотке крови у подростков группы контроля, с лабильной и стабильной формами эссенциальной артериальной гипертензии



Примечание: Контроль — контрольная группа (A); ЛАГ — лабильная артериальная гипертензия (1); САГ — стабильная артериальная гипертензия (2); * $p < 0,0001$ (A-1), # $p < 0,0001$ (A-2), @ $p < 0,0001$ (1-2).

Рисунок 6. Концентрация серотонина в тромбоцитах у подростков группы контроля, с лабильной и стабильной формами эссенциальной артериальной гипертензии



Примечание: Контроль — контрольная группа (А); ЛАГ — лабильная артериальная гипертензия (1); САГ — стабильная артериальная гипертензия (2); * $p < 0,0001$ (А-1), # $p < 0,0001$ (А-2), @ $p < 0,0001$ (1-2).

дилатацию сосудов [19, 20]. Однако в исследованиях было показано, что у взрослых особей его уровень снижен относительно здоровых крыс [21]. Концентрация 5-НТ в тромбоцитах крови крыс линии SHR значительно ниже, чем в контрольной группе, что может быть объяснено повышенным количеством тромбоцитов, а также увеличенным

высвобождением 5-НТ тромбоцитами в условиях нарушенной эндотелиальной функции.

Результаты *клинического исследования* у подростков и их сравнительный анализ приведены в таблице 2. Показатели концентрации 5-НТ в сыворотке крови у пациентов с АГ (В), оказалась значительно выше, чем в контрольной группе

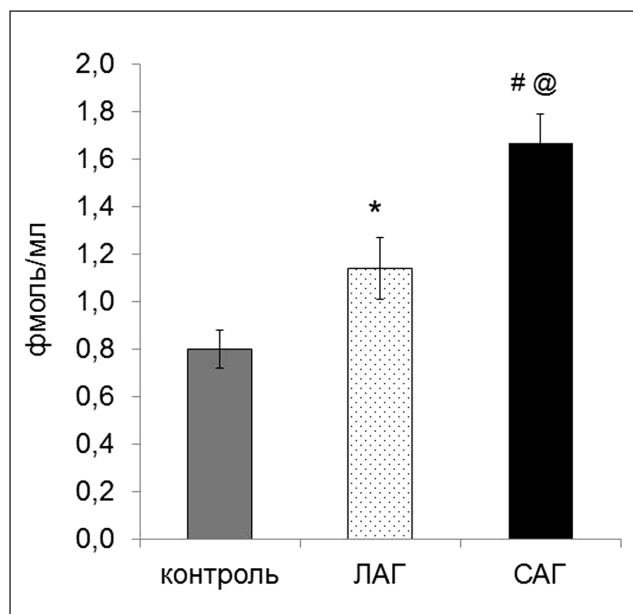
Таблица 2

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ СРАВНЕНИЕ

Лабораторные показатели	Контроль (n = 16)	Пациенты			p
		АГ (n = 54)	ЛАГ (n = 24)	САГ (n = 30)	
	А	В	1	2	
ЕТ-1, фмоль/мл	0,8 ± 0,08	1,38 ± 0,13	1,14 ± 0,13	1,67 ± 0,12	A-B = < 0,0001
					A-1 = < 0,0001
					A-2 = < 0,0001
					1-2 = < 0,0001
NO, мкмоль/л	111,71 ± 3,52	111,63 ± 3,09	125,0 ± 3,13	95,29 ± 3,04	A-B = 0,89
					A-1 = < 0,0001
					A-2 = < 0,0001
					1-2 = < 0,0001
5-НТ в сыворотке крови, нг/мл	186,15 ± 12,54	266,62 ± 14,14	245,87 ± 14,87	291,98 ± 13,25	A-B = < 0,0001
					A-1 = < 0,0001
					A-2 = < 0,0001
					1-2 = < 0,0001
5-НТ в тромбоцитах, нг/10 ⁹	1177,37 ± 54,88	606,77 ± 46,95	543,37 ± 46,57	684,26 ± 47,41	A-B = < 0,0001
					A-1 = < 0,0001
					A-2 = < 0,0001
					1-2 = < 0,0001

Примечание: АГ — артериальная гипертензия; ЛАГ — лабильная артериальная гипертензия; САГ — стабильная артериальная гипертензия; ЕТ-1 — эндотелин-1; NO — оксид азота; 5-НТ — серотонин.

Рисунок 7. Концентрация эндотелина-1 в плазме крови у подростков группы контроля, с лабильной и стабильной формами эссенциальной артериальной гипертензии



Примечание: Контроль — контрольная группа (А); ЛАГ — лабильная артериальная гипертензия (1); САГ — стабильная артериальная гипертензия (2); * $p < 0,0001$ (А-1), # $p < 0,0001$ (А-2), @ $p < 0,0001$ (1-2).

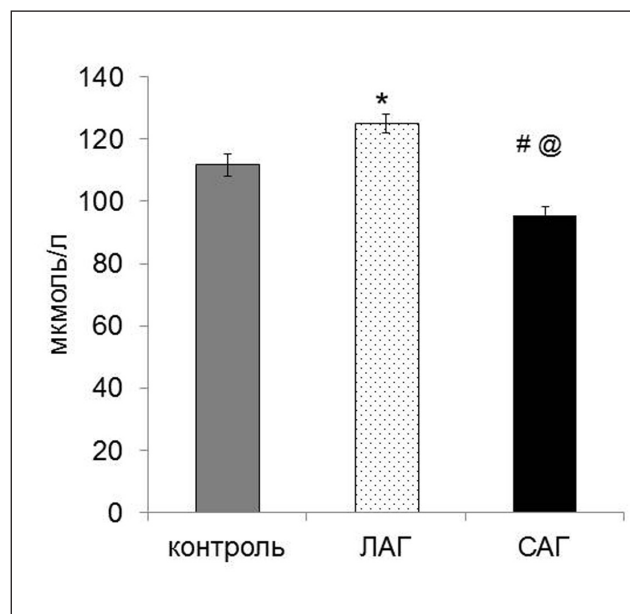
(А) ($266,62 \pm 14,14$ против $186,15 \pm 12,54$ нг/мл соответственно; $p < 0,0001$). Более того, у подростков со стабильной формой ЭАГ (2) выявлены более высокие уровни 5-НТ, чем у лиц с ЛАГ (1) ($291,98 \pm 13,25$ против $245,87 \pm 14,87$ нг/мл соответственно; $p < 0,0001$) (рис. 5).

Концентрация 5-НТ в тромбоцитах была ниже у пациентов с АГ, чем в контрольной группе ($606,77 \pm 46,95$ против $1177,37 \pm 54,88$ нг/ 10^9 соответственно; $p < 0,0001$) (рис. 6). Следует отметить, что при стабильной форме заболевания эти показатели были незначительно выше, чем при лабильном варианте ($684,26 \pm 47,41$ против $543,37 \pm 46,57$ нг/ 10^9 соответственно; $p < 0,0001$).

Плазменный уровень ЕТ-1 у пациентов был выше, чем в контрольной группе ($1,38 \pm 0,13$ против $0,8 \pm 0,08$ фмоль/мл соответственно; $p < 0,0001$) (рис. 7), причем при стабильной форме ЭАГ — значительно выше, чем при лабильном варианте ($1,67 \pm 0,12$ против $1,14 \pm 0,13$ фмоль/мл соответственно; $p < 0,0001$).

Концентрации NO в сыворотке существенно не различались между пациентами с АГ (В) и контрольной группой (А) ($111,63 \pm 3,09$ против $111,71 \pm 3,52$ мкмоль/л соответственно; $p = 0,89$). Однако в сравнении с группой контроля у пациентов с ЛАГ выявлены значительно более высокие уровни NO ($125,0 \pm 3,13$ мкмоль/л; $p < 0,0001$), чем у подрост-

Рисунок 8. Концентрация оксида азота в сыворотке крови у подростков группы контроля, с лабильной и стабильной формами эссенциальной артериальной гипертензии



Примечание: Контроль — контрольная группа (А); ЛАГ — лабильная артериальная гипертензия (1); САГ — стабильная артериальная гипертензия (2); * $p < 0,0001$ (А-1), # $p < 0,0001$ (А-2), @ $p < 0,0001$ (1-2).

ков с САГ ($95,29 \pm 3,04$ мкмоль/л; $p < 0,0001$). Также были выявлены статистически значимые различия в концентрациях NO между группами ЛАГ и САГ (рис. 8).

Проведенные клинические исследования показали наличие существенных изменений показателей трех вазоактивных факторов: увеличение уровня оксида азота в сыворотке крови при ЛАГ и уменьшение при САГ, увеличение концентрации ЕТ-1 в плазме и 5-НТ в сыворотке крови и в тромбоцитах у подростков с различными формами ЭАГ по сравнению с нормой.

Обсуждение

Данные проведенных исследований, посвященных характеру нарушения функции эндотелия при ЭАГ, показали, что у крыс линии SHR уровень 5-НТ в сыворотке был статистически значимо выше, чем у крыс WKY. Аналогичные данные были получены при определении исследуемого показателя у подростков с ЭАГ в сравнении с контрольной группой.

Концентрация 5-НТ в тромбоцитах была существенно снижена и у крыс линии SHR, и у пациентов с АГ. Представляет интерес, что у подростков со стабильной формой АГ концентрация 5-НТ несколько выше по сравнению с пациентами с ЛАГ.

По результатам нашего анализа уровень NO был выше у крыс линии SHR, чем у крыс WKY. У обследованных с лабильной формой ЭАГ получены сходные результаты по сравнению с контролем. Однако у пациентов с САГ уровень NO значительно ниже, чем в группе сравнения и у подростков с ЛАГ.

В исследовании было показано значимое увеличение уровня ET-1 у крыс линии SHR и у подростков с АГ.

Полученные данные изучения трех вазоактивных факторов — NO, ЭТ-1 и 5-НТ составляют диагностический комплекс для оценки эндотелиальной функции при ЭАГ. При этом для ЛАГ характерно повышение концентрации NO, уровня ЭТ-1 и 5-НТ в плазме крови с одновременным снижением его в тромбоцитах, что уже на ранних стадиях заболевания свидетельствует о наличии эндотелиальной дисфункции. У пациентов со стабильной формой АГ обнаружены снижение концентрации NO, 5-НТ в тромбоцитах с одновременным повышением уровня ЭТ-1 и 5-НТ в крови. При этом повышение концентраций NO, обнаруженное на модели неполовозрелых крыс 6–7 недель линии SHR, больше напоминает изменения, наблюдаемые в крови подростков с ЛАГ. Увеличение концентрации NO в крови у пациентов с ЛАГ и спонтанно-гипертензивных животных свидетельствует о развитии компенсаторных реакций, направленных на расширение периферических артерий и снижение АД.

Выводы

1. Неполовозрелые спонтанно-гипертензивные крысы линии SHR в возрасте 6–7 недель служат адекватной моделью юношеской АГ.

2. Уровень концентрации NO, ЭТ-1, 5-НТ в плазме, сыворотке и тромбоцитах крови у крыс линии SHR сопоставим с данными, полученными у подростков с АГ и, более того, близки к результатам, полученным у пациентов с ЛАГ.

3. Полученные данные по определению 5-НТ, ET-1 и NO могут быть использованы в качестве биомаркеров эндотелиальной дисфункции при различных клинико-функциональных вариантах ЭАГ.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Финансирование / Funding

Работа выполнена при поддержке грантов УМНИК 15–4 Договор № 6104 ГУ/2015, РФФИ № 12–04–01219 а, РФФИ_регион № 15–44–02266.

Список литературы / References

1. Леонтьева И. В. Проблема артериальной гипертензии у детей и подростков. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2006;51(5):7–18. [Leontieva IV. Arterial hypertension in children and adolescents. Rossiiskij Vestnik Perinatologii i Pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics. 2006;51(5):7–18. In Russian].
2. Александров М. Г., Бубнова А. А., Кисляк О. А. Профилактика сердечно-сосудистых заболеваний в детском и подростковом возрасте. Российские рекомендации. Российский кардиологический журнал. 2012;6S1(98):1–39. [Alexandrov MG, Bubnova AA, Kislyak OA. Prevention of cardiovascular diseases in childhood and adolescence. Russian recommendations. Rossiiskiy Kardiologicheskij Zhurnal = Russian Journal of Cardiology. 2012;6S1(98):1–39. In Russian].
3. Anyaegbu EI, Dharni-Dharka VR. Hypertension in the teenager. *Pediatr Clin North Am*. 2014;61(1):131–151. doi:10.1016/j.pcl.2013.09.011
4. Falkner B. Hypertension in children and adolescents: epidemiology and natural history. *Pediatr Nephrol*. 2010;25(7):1219–1224. doi:10.1007/s00467-009-1200-3
5. Chiolerio A, Madeleine G, Gabriel A, Burnier M, Paccaud F, Bovet P. Prevalence of elevated blood pressure and association with overweight in children of a rapidly developing country. *J Hum Hypertens*. 2007;21(2):120–127. doi:10.1038/sj.jhh.1002125
6. Рунихин А. Ю., Порядин Г. В., Савчук В. И. Молекулярные и клеточные механизмы патогенеза первичной артериальной гипертензии. Вестник РГМУ. 2011;6:5–10. [Runikhin AY, Poryadin GV, Savchuk VI. Molecular and cellular mechanisms of the pathogenesis of primary hypertension. Bulletin of RSMU = Bulletin of Russian State Medical University. 2011;6:5–10. In Russian].
7. Куличенко М. П., Ушакова С. А., Петрушина А. Д., Кляшев С. М. Циркулирующие маркеры дисфункции эндотелия у подростков с артериальной гипертензией, ассоциированной с избытком массы тела и ожирением. Медицинская наука и образование Урала. 2015;16(1):15–19. [Kulichenko MP, Ushakova SA, Petrushina AD, Klyashev SM. Circulating markers of endothelial dysfunction in adolescents with arterial hypertension associated with overweight and obesity. Meditsinskaya Nauka i Obrazovaniye Urala = Medical Science and Education of Ural. 2015;16(1):15–19. In Russian].
8. Machida T, Iizuka K, Hirafuji M. 5-hydroxytryptamine and its receptors in systemic vascular walls. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2013;36(9):1416–1419. http://doi.org/10.1248/bpb.b13-00344
9. Gamoh S, Hisa H, Yamamoto R. 5-hydroxytryptamine receptors as targets for drug therapies of vascular-related diseases. *Biol Pharmaceut Bull*. 2013;36 (9):1410–1415. http://doi.org/10.1248/bpb.b13-00317
10. Bhaskaran S, Zaluski J, Baner-Berceli A. Molecular interactions of serotonin (5-HT) and endothelin-1 in vascular smooth muscle cells: in vitro and ex vivo analyses. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2014;306(2):43–51. doi:10.1152/ajpcell.00247.2013
11. Callebert J, Esteve JM, Herve P, Peoc'h K, Tournais C, Drouet L et al. Evidence for a control of plasma serotonin levels by 5-hydroxytryptamine (2B) receptors in mice. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006;317(2):724–731. doi:https://doi.org/10.1124/jpet.105.098269
12. Маянская С. Д., Антонов А. Р., Попова А. А., Гребенкина И. А. Ранние маркеры дисфункции эндотелия в динамике развития артериальной гипертензии у лиц молодого возраста. Казанский медицинский журнал. 2009;90(1):32–37. [Mayanskaya SD, Antonov AR, Popova AA, Grebenkina IA. Early markers of endothelial dysfunction in the dynamics of development of arterial

hypertension in young people. *Kazanskiy Meditsinskiy Zhurnal* = *Kazan Medical Journal*. 2009;90(1):32–37. In Russian].

13. Akcaboym MM, Kula S, Göktaş T, Nazlıel B, Terlemez S, Celik N et al. Effect of plasma NOx values on cardiac function in obese hypertensive and normotensive pediatric patients. *Pediatr Nephrol*. 2015;1:69–92. doi:10.1007/s00467–015–3223–2

14. Микашинович З. И., Нагорная Г. Ю., Коваленко Т. Д. Биохимические показатели повреждения эндотелия воспалительного генеза у подростков с артериальной гипертензией. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2012;2:123–125. [Mikashinovich ZI, Nagornaya GJ, Kovalenko T D. The biochemical markers of endothelial affection of inflammatory genesis at teenagers with arterial hypertension. *Kubanskiy Nauchnyi Meditsinskiy Vestnik* = *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2012;2:123–125. In Russian].

15. Gilinsky MA, Latysheva TV, Petrakova GM. Dimethylarginines and serotonin in the blood of spontaneously hypertensive rats. *Bull Exp Biol Med* 2009;148(6):849–51. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21116488>

16. Журавлев Д. А. Модели артериальной гипертензии. Спонтанно-гипертензивные крысы. Артериальная гипертензия. 2009;15(6):721–2. [Zhuravlyov DA. Hypertension models. Spontaneously hypertensive rats. *Arterial'naya Gipertenziya* = *Arterial Hypertension*. 2009;15(6):721–2. In Russian].

17. Махынко В. И., Никитин В. Н. Константы роста и функциональные периоды развития в постнатальной жизни белых крыс. Молекулярные и физиологические механизмы возрастного развития. Киев: Наукова Думка, 1975: 308–325. [Mahinko VI, Nikitin VN. Constant growth and functional development in periods of postnatal life of white rats. *Molecular and physiological mechanisms of age-related development*. Kiev: Naukova Dumka, 1975: 308–325. In Ukrainian].

18. Клинические рекомендации по детской кардиологии и ревматологии/под. ред. М. А. Школьниковой, Е. И. Алексеевой. Ассоциация детских кардиологов России. 2011: 503. [Clinical guidelines on pediatric cardiology and rheumatology. Ed. by Shkolnikova MA, Alexeyeva EI. Association of Children's Cardiologists from Russia. 2011: 503. In Russian].

19. Nava E, Farré AL, Moreno C, Casado S, Moreau P, Cosentino F et al. Alterations to the nitric oxide pathway in the spontaneously hypertensive rat. *J Hypertens*. 1998;16(5):609–15. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9797172>

20. Манухина Е. Б., Малышев И. Ю. Роль оксида азота в развитии и предупреждении дисфункции эндотелия. *Вестник ВГМУ*. 2003;2(2):25–17. [Manukhina EB, Malyshev IYu. The role of nitric oxide in the development and prevention of endothelial dysfunction. *Vestnik of VSMU*. 2003;2(2):25–17. In Belarus].

21. Chaudagar KK, Vicenczova C, Szeiffova Bacova B, Egan Benova T, Barancik M, Tribulova N. Modulation of systemic and aortic nitric oxide by melatonin and n-3 polyunsaturated fatty acids in isoproterenol affected spontaneously hypertensive and normotensive Wistar rats. *Physiol Res*. 2016;65(1):109–118. ISSN 1802–9973

Информация об авторах

Афлятумова Гульфия Нагимовна — детский кардиолог ГАУЗ «Детская республиканская клиническая больница» Минздрава Республики Татарстан;

Садькова Динара Ильгизаровна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой педиатрии с курсом поликлинической педиатрии КГМА — филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России;

Нигматуллина Разина Рамазановна — доктор биологических наук, профессор кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России;

Чибирева Мария Дмитриевна — аспирантка Института биологии развития имени Н. К. Кольцова Российской академии наук.

Author information

Gulfiia N. Aflyatunova, MD, Pediatric Cardiologist, the Children's Republican Clinical Hospital;

Dinara I. Sadykova, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Department of Pediatrics with the course of Outpatient Pediatrics, Kazan State Medical Academy;

Razina R. Nigmatullina, Doctor of Biological Science, Professor, Department of Normal Physiology, Kazan State Medical University;

Mariya D. Chibireva, PhD Student, Koltsov Institute of Developmental Biology.