

**ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр имени В. А. Алмазова»
Минздрава России**

**Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет
имени академика И. П. Павлова**

**Общероссийская
АНТИГИПЕРТЕНЗИВНАЯ ЛИГА**



ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Конради А. О. (Санкт-Петербург)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Баранова Е. И. (Санкт-Петербург)

Цырлин В. А. (Санкт-Петербург)

ВЫПУСКАЮЩИЙ РЕДАКТОР

Орлов С. Н. (Москва)

НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ

Коростовцева Л. С. (Санкт-Петербург)

Ратова Л. Г. (Санкт-Петербург)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Алехин А. Н. (Санкт-Петербург)
Атьков О. Ю. (Москва)
Багров А. Я. (Санкт-Петербург)
Баранцевич Е. Р. (Санкт-Петербург)
Бассетти К. (Швейцария)
Галявич А. С. (Казань)
Драпкина О. М. (Москва)
Калинина А. М. (Москва)
Карпенко М. А. (Санкт-Петербург)
Карпов Р. С. (Томск)
Кобалава Ж. Д. (Москва)
Козиолова Н. А. (Пермь)
Котовская Ю. В. (Москва)
Либис Р. А. (Оренбург)
Моисеева О. М. (Санкт-Петербург)
Наркевич К. (Польша)
Небиеридзе Д. В. (Москва)
Недогода С. В. (Волгоград)
Орлов С. Н. (Москва)
Петрищев Н. Н. (Санкт-Петербург)
Симонова Г. И. (Новосибирск)
Хирманов В. Н. (Санкт-Петербург)
Шустов С. Б. (Санкт-Петербург)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Арутюнов Г. П. (Москва)
Бондаренко Б. Б. (Санкт-Петербург)
Волков В. С. (Тверь)
Гапон Л. И. (Тюмень)
Добронравов В. А. (Санкт-Петербург)
Дупляков Д. В. (Самара)
Занкетти А. (Милан, Италия)
Земцовский Э. В. (Санкт-Петербург)
Лазебник Л. Б. (Москва)
Лакатта Э. (США)
Ланфан К. (США)
Мартынов А. И. (Москва)
Моисеев В. С. (Москва)
Оганов Р. Г. (Москва)
Ощепкова Е. В. (Москва)
Панов А. В. (Санкт-Петербург)
Слайт П. (Великобритания)
Стессен Ж. (Бельгия)
Хамет П. (Канада)
Шальнова С. А. (Москва)
Шапиро Д. (США)
Чурина С. К. (Санкт-Петербург)

ИЗДАЕТСЯ с 1995 года

ISSN 1607-419X (печатная версия)
ISSN 2411-8524 (электронная версия)

Свидетельство о регистрации
ПИ № ФС77-36338 от 22.05.09.
Выдано Федеральной службой
по надзору в сфере связи,
информационных технологий
и массовых коммуникаций
(Роскомнадзор)

ЖУРНАЛ ВКЛЮЧЕН в Перечень
изданий, рекомендованных Высшей
аттестационной комиссией
ЖУРНАЛ ВКЛЮЧЕН в Российский
индекс научного цитирования,
импакт-фактор РИНЦ (2015) 0,727

Периодичность — 6 выпусков в год
Тираж — 5 000 экземпляров

Директор по маркетингу
Таничева А. А.

Главный бухгалтер
Шапсон М. В.

Технический редактор
Новоселова К. О.

Корректор
Афанасьева О. В.

Дизайн, верстка
Морозов П. В.

Перевод на английский язык
Денисюк Н.

Архив номеров: htn.almazovcentre.ru,
www.journal.ahleague.ru
на сайте Научной электронной библиотеки
http://elibrary.ru/title_about.asp?id=8406

Подача рукописей:
htn.almazovcentre.ru
Переписка с авторами:
ag_journal@almazovcentre.ru

18+

Размещение рекламы:
ahleague@mail.ru

Подписка: www.ahleague.ru,
ahleague@mail.ru
по каталогу агентства «Роспечать»:
подписной индекс 36876 (стр. 84).
Тематическая рассылка по специалистам.

*Редакция не несет ответственности
за содержание рекламных материалов.*

Все права защищены © 2015.
Полное или частичное воспроизведение
материалов, опубликованных в журнале
с коммерческой целью, допускается только
с письменного разрешения редакции.

Почтовый адрес редакции:
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
Тел./факс: +7(812)702-37-33.
E-mail: ag_journal@almazovcentre.ru,
htn.almazovcentre.ru

Almazov National Medical Research Centre

First Pavlov State Medical University
of St. Petersburg

All-Russian Antihypertensive League



EDITOR-IN-CHIEF

Konradi A.O. (St Petersburg)

VICE-EDITORS

Baranova E. I. (St Petersburg)

Tsyrlin V. A. (St Petersburg)

EDITOR OF THE ISSUE

Orlov S. N. (Moscow)

SCIENTIFIC EDITORS

Korostovtseva L. S. (St Petersburg)

Ratova L. G. (St Petersburg)

EDITORIAL BOARD

A. N. Alekhin (St Petersburg)
O. Y. Atkov (Moscow)
A. Y. Bagrov (St Petersburg)
E. R. Barantsevich (St Petersburg)
C. L. Bassetti (Switzerland)
A. S. Galyavich (Kazan)
O. M. Drapkina (Moscow)
A. M. Kalinina (Moscow)
M. A. Karpenko (St Petersburg)
R. S. Karpov (Tomsk)
Zh. D. Kobalava (Moscow)
N. A. Koziolova (Perm)
Y. V. Kotovskaya (Moscow)
R. A. Libis (Orenburg)
O. M. Moiseeva (St Petersburg)
K. Narkiewicz (Poland)
D. V. Nebieridze (Moscow)
S. V. Nedogoda (Volgograd)
S. N. Orlov (Moscow)
N. N. Petrishchev (St Petersburg)
G. I. Simonova (Novosibirsk)
V. N. Khirmanov (St Petersburg)
S. B. Shustov (St Petersburg)

EDITORIAL COUNCIL

G. P. Arutyunov (Moscow)
B. B. Bondarenko (St Petersburg)
S. K. Churina (St Petersburg)
V. A. Dobronravov (St Petersburg)
D. V. Duplyakov (Samara)
L. I. Gapon (Tyumen)
P. Hamet (Canada)
E. Lakatta (USA)
L. B. Lazebnik (Moscow)
C. Lenfant (USA)
A. I. Martynov (Moscow)
V. S. Moiseev (Moscow)
R. G. Oganov (Moscow)
E. V. Oschepkova (Moscow)
A. V. Panov (St Petersburg)
S. A. Shalnova (Moscow)
J. Shapiro (Ohio, USA)
P. Sleight (Oxford, United Kingdom)
J. A. Steassen (Leuven, Belgium)
V. S. Volkov (Tver)
A. Zanchetti (Milan, Italy)
E. V. Zemtsovskiy (St Petersburg)

SINCE 1995

ISSN 1607-419X (printed)
ISSN 2411-8524 (online)

Registration certificate
PI# FS77-36338 dated
May 22, 2009, issued
by Federal Supervisory Service
on Mass Media, Information Technologies
and Mass Communication
(Roskomnadzor)

The Journal is recommended by the High
Attestation Commission as one
of the leading scientific journals
for publications

The Journal is included
in the Russian Citation Index,
RCI impact-factor (2015) 0,727

Periodicity — 6 issues per year
Circulation 5000 copies.

Director on Marketing Tanicheva A. A.
General Accountant Shapson M. V.
Technical editor Novoselova K. O.
Proofreader Afanasieva O. V.
Makeup Morozov P. V.
English version Denisuk N.

Archive: htn.almazovcentre.ru,
www.journal.ahleague.ru
web-site of Scientific Electronic Library
http://elibrary.ru/title_about.asp?id=8406

Article submission and guidelines:
htn.almazovcentre.ru

Advertising: ahleague@mail.ru
Editors, Editorial board and Editorial
Team does not hold responsibility
for advertising materials.

Subscription: www.ahleague.ru,
ahleague@mail.ru

Rospechat catalogue #36876 (p. 84).
Direct mailing to specialists.

Copyright © 2015. For commercial reuse,
distribution, and reproduction, please,
contact ag_journal@almazovcentre.ru.
Non-commercial reuse, distribution,
and reproduction provided the original
work is properly cited, is permitted.

Editorial office: 2 Akkuratov street,
St Petersburg, 197341, Russia.
Phone/fax: +7(812)702-37-33.
E-mail: ag_journal@almazovcentre.ru,
htn.almazovcentre.ru

Содержание:

- 360** Орлов С. Н., Гусакова С. В.
Котранспорт натрия, калия и хлора как регулятор сосудистого тонуса: роль в патогенезе системной и легочной гипертензии
- 373** Гусакова С. В., Рыдченко В. С., Смаглий Л. В., Плотников М. Б., Чернышева Г. А., Тарасова О. С., Орлов С. Н. **Влияние синтетического аналога фактора активации тромбоцитов 1-алкил-2-алкилкарбомойл-глицерина на сократительные свойства сосудистых гладкомышечных клеток**
- 383** Тарасова О. С., Гайнуллина Д. К.
Rho-киназа как ключевой участник регуляции тонуса сосудов в норме и при сосудистых расстройствах
- 395** Носарев А. В., Бирулина Ю. Г., Ковалев И. В., Смаглий Л. В., Гусакова С. В., Петрова И. В., Рыдченко В. С., Полившчикова В. А., Медведев М. А. **Роль Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорта в H_2S -опосредованной регуляции сократительной активности гладкомышечных клеток легочной артерии крыс**
- 403** Гаврилиук Н. Д., Субботина Т. Ф., Дружкова Т. А., Иртыга О. Б., Жлоба А. А., Алексеевская Е. С., Жидулева Е. В., Моисеева О. М. **Клиническое значение исследования гомоаргинина у пациентов с аневризмой восходящего отдела аорты и аортальным стенозом**
- 412** Абрамов А. А., Лакомкин В. Л., Тимошин А. А., Лукошкова Е. В., Ермишкин В. В., Капелько В. И. **Действие оксакома на давление в правом желудочке у крыс с легочной артериальной гипертензией, индуцированной монокроталином**
- 421** Медведева Н. А., Панькова Н. В., Артемьева М. М. **Гендерные различия в проявлении легочной гипертензии. Влияние женского полового гормона эстрадиола**

Content:

- 360** Orlov S. N., Gusakova S. V.
Cotransporter of sodium, potassium and chloride as a regulator of vascular tone: role in the pathogenesis of systemic and pulmonary hypertension
- 373** Gusakova S. V., Rydchenko V. S., Smaglii L. V., Plotnikov M. B., Chernysheva G. A., Tarasova O. S., Orlov S. N. **Influence of synthetic analog of platelet activation factor 1-alkyl-2-alkyl-carbomoilglycerine on vascular smooth muscle cells contractile properties**
- 383** Tarasova O. S., Gaynullina D. K.
Rho-kinase as a key participant in the regulation of vascular tone in normal circulation and vascular disorders
- 395** Nosarev A. V., Birulina Yu. G., Kovalev I. V., Smaglii L. V., Gusakova S. V., Petrova I. V., Rydchenko V. S., Polivshchikova V. A., Medvedev M. A. **The role of Na^+ , K^+ , 2Cl^- — cotransport in the H_2S -dependent regulation of contractile activity of smooth muscle cells from rat pulmonary artery**
- 403** Gavriliuk N. D., Subbotina T. F., Druzhkova T. A., Irtyuga O. B., Zhloba A. A., Alekseevskaya E. S., Zhiduleva E. V., Moiseeva O. M. **Clinical significance of homoarginine level in patients with ascending aortic aneurysm and aortic stenosis**
- 412** Abramov A. A., Lakomkin V. L., Timoshin A. A., Lukoshkova E. V., Ermishkin V. V., Kapelko V. I. **Effect of oxacom on the right ventricular pressure in rats with monocrotalin-induced pulmonary arterial hypertension**
- 421** Medvedeva N. A., Pankova N. V., Artemieva M. M. **Gender differences in the development of pulmonary hypertension: Effects of female sex hormone estradiol**

Содержание:

- 433 Куликов В. П., Кузнецова Д. В., Заря А. Н. **Цереброваскулярная и кардиоваскулярная CO₂-реактивность в патогенезе артериальной гипертензии**
- 447 Сысоев К. А. **Морфофункциональные изменения эндотелия в патогенезе гипертонической болезни**
- 457 Барсуков А. В., Сеидова А. Ю., Гордиенко А. В., Сергеев А. И., Лейчинский С. В. **Гипертоническая болезнь и хроническая сердечная недостаточность с сохраненной сократительной способностью левого желудочка: фокус на гендер-специфические особенности провоспалительного статуса**
- 468 Дмитриев Ю. В., Минасян С. М., Демченко Е. А., Байрашева В. К., Галагудза М. М. **Кардиопротективные эффекты некростатина-1s и некросульфонида на модели длительной холодовой консервации донорского сердца крысы**
- 472 Алексеева Н. П., Горлова И. А., Бондаренко Б. Б. **Возможности прогнозирования возникновения артериальной гипертензии на основе метода проективной классификации**

Content:

- 433 Kulikov V. P., Kuznetsova D. V., Zarya A. N. **Role of cerebrovascular and cardiovascular CO₂-reactivity in the pathogenesis of arterial hypertension**
- 447 Sysoev K. A. **Morphofunctional alterations in endothelium in the pathogenesis of essential hypertension**
- 457 Barsukov A. V., Seyidova A. Yu., Gordienko A. V., Sergeev A. I., Leychinsky S. V. **Hypertension and chronic heart failure with preserved left ventricular ejection fraction: focus on gender-specific features of the proinflammatory status**
- 468 Dmitriev Yu. V., Minasian S. M., Demchenko E. A., Bayrasheva V. K., Galagudza M. M. **Cardioprotective effects of necrostatin-1s and necrosulfonamide in the model of prolonged static cold storage of the donor rat heart**
- 472 Alekseeva N. P., Gorlova I. A., Bondarenko B. B. **Forecasting possibilities of arterial hypertension development on the basis of projective classification**



Глубокоуважаемые читатели!

В середине 60-х годов прошлого столетия американским физиологом Artur Guyton была разработана концепция о доминирующей роли почки в патогенезе системной артериальной гипертензии. Согласно этой концепции увеличение периферического сопротивления системы кровообращения приводит к повышению артериального давления только на фоне увеличенной экскреции почками соли и осмотически связанной воды (kidney resetting). В последние годы универсальный статус этой концепции претерпел существенные изменения в связи с новыми результатами. Так, было установлено, что наряду с натрием существенной детерминантой регуляции давления является наличие в солевой диете хлора (Orlov S. N. с соавторами, 2007). Titze J. с соавторами было обнаружено, что наряду с почками в регуляции давления принимает участие осмотически неактивная соль, связанная с фосфолипидами фибробластов кожи. Наконец, были получены моногенные экспериментальные модели, у кото-

рых повышение системного артериального давления происходит при неизменном уровне реабсорбции соли в дистальном отделе нефрона (Titze J. и Luft F. C., 2017). В этой связи неудивителен возросший интерес к системам, вовлеченным в регуляцию давления через увеличение сосудистого тонуса. Именно этой тематике и посвящен настоящий выпуск журнала «Артериальная гипертензия». Учитывая существенные различия в механизмах регуляции тонуса сосудов большого и малого кругов кровообращения, мы попытались также отразить этот момент на примере рассмотрения особенностей патогенеза системной и легочной гипертензии. Мы надеемся, что дискуссия по этим вопросам будет продолжена на страницах журнала.

С уважением,

доктор биологических наук, профессор,
член редколлегии журнала

С. Н. Орлов

ISSN 1607-419X

ISSN 2411-8524 (Online)

УДК 612.015.31:616.12-008.331.1

Котранспорт натрия, калия и хлора как регулятор сосудистого тонуса: роль в патогенезе системной и легочной гипертензии

С. Н. Орлов^{1,2}, С. В. Гусакова²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», Москва, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия

Контактная информация:

Орлов Сергей Николаевич,
ФГБОУ ВО МГУ
им. М. В. Ломоносова,
Воробьевы горы, д. 1, корп. 12,
Москва, Россия, 199899.
E-mail: sergeinorlov@yandex.ru

Статья поступила в редакцию
13.05.17 и принята к печати 24.05.17.

Резюме

В обзоре рассматриваются механизмы вовлечения универсальной изоформы переносчика, осуществляющего электронейтральный симпорт натрия, калия и хлора (Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорт — NKCC1) в регуляцию сокращения гладких мышц сосудов большого и малого кругов кровообращения и патогенез эссенциальной и легочной гипертензии. Особое внимание уделено возможности использования NKCC1 как новой мишени для нормализации кровяного давления. В этой связи рассмотрены данные об ингибировании петлевыми диуретиками — селективными ингибиторами NKCC1 — миогенного ответа резистентных сосудов большого круга кровообращения и афферентной артериолы почки, а также о действии ингаляционных форм этих соединений на гладкомышечные клетки воздухопроводящих путей.

Ключевые слова: котранспорт натрия, калия и хлора, NKCC1, гладкие мышцы сосудов, сокращение, миогенный ответ, гипертензия

Для цитирования: Орлов С. Н., Гусакова С. В. Котранспорт натрия, калия и хлора как регулятор сосудистого тонуса: роль в патогенезе системной и легочной гипертензии. Артериальная гипертензия. 2017;23(5):360–372. doi: 10.18705/1607-419X-2017-23-5-360-372

Cotransporter of sodium, potassium and chloride as a regulator of vascular tone: role in the pathogenesis of systemic and pulmonary hypertension

S.N. Orlov^{1,2}, S.V. Gusakova²

¹ Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

² Siberian Medical State University, Tomsk, Russia

Corresponding author:

Sergey N. Orlov,
Lomonosov Moscow State University,
1/12 Vorob'evy gory, Moscow,
199899 Russia.
E-mail: sergeinorlov@yandex.ru

Received 13 May 2017;
accepted 24 May 2017.

Abstract

This review summarizes the data on the implication of ubiquitous isoform of the carrier providing electroneutral symport of sodium, potassium and chloride (Na^+ , K^+ , 2Cl^- -cotransport — NKCC1) in the regulation of smooth muscle contraction in the systemic and pulmonary circulation and its involvement in the pathogenesis of systemic (essential) and pulmonary hypertension with the special emphasis on the usage of NKCC1 as a novel antihypertensive target. In this connection we consider the data on the attenuation of the myogenic tone in the resistant vessels of the systemic circulation and afferent arteriole of the kidney as well as the action of inhaled loop diuretic on the contraction of the airway smooth muscle cells.

Key words: cotransport of sodium, potassium and chloride, NKCC1, vascular smooth muscle, contraction, myogenic response, hypertension

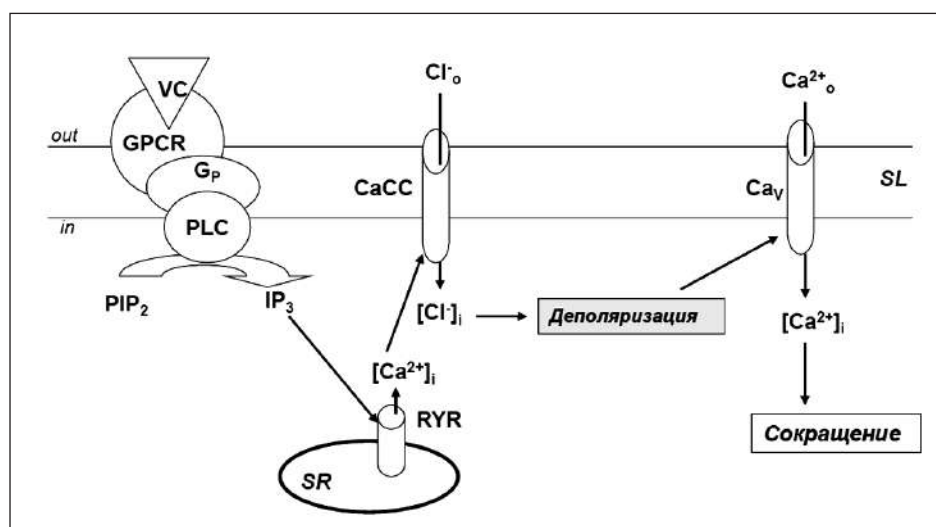
For citation: Orlov SN, Gusakova SV. Cotransporter of sodium, potassium and chloride as a regulator of vascular tone: role in the pathogenesis of systemic and pulmonary hypertension. *Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension*. 2017;23(5):360–372. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-360-372

Котранспортеры катионов и хлора (cation-chloride cotransporters — CCC) относятся к группе ионных переносчиков (solute carriers — SLC), осуществляющих транспорт ионов через биологические мембраны, используя для этого энергию электрохимических градиентов катионов, запасенную за счет работы Na^+ , K^+ -насоса. CCC относятся к SLC12 семейству, включающему Na^+ , Cl^- -котранспорт (NCC), кодируемый единичным геном (*SLC12A3*), Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорт (NKCC), кодируемый двумя генами: *SLC12A2* (NKCC1) и *SLC12A1* (NKCC2), и K^+ , Cl^- -котранспорт (KCC), кодируемый *SLC12A4* (KCC1), *SLC12A5* (KCC2), *SLC12A6* (KCC3) и *SLC12A7* (KCC4). NKCC ингибируется буметанидом, фуросемидом и родственными им соединениями, получившими название

петлевых диуретиков. Свое название эти соединения получили по первоначально установленному месту их действия как ингибиторов реабсорбции соли в восходящем отделе петли Генле почечного канальца, опосредованного NKCC2. NCC локализован в дистальном отделе нефрона и его функционирование подавляется производными тиазида. В отличие от NKCC и NCC, специфических ингибиторов KCC до сих пор не обнаружено. Сведения о структуре генов, мембранной архитектуре и регуляции экспрессии и активности CCC в полной мере рассмотрены в ряде обзоров [1–5].

В предыдущих работах мы рассмотрели механизмы вовлечения NKCC1 и NKCC2 в патогенез системной артериальной гипертензии (АГ) и осложнений, связанных с этой болезнью [6–10]. Известно,

Рисунок 1. Механизм вовлечения Ca^{2+} -активируемых Cl^- каналов (CaCC) в регуляцию сокращения гладкомышечных клеток сосудов



Примечание: норадреналин, эндотелин 1, ангиотензин II и другие вазоконстрикторы (VC) взаимодействуют с GPCR рецепторами, сопряженными с ГТФ-связывающими белками (G_p), что приводит к активации фосфолипазы C (PLC), гидролизу фосфоинозитолдифосфата (PIP_2) и накоплению инозитолтрифосфата (IP_3). IP_3 , взаимодействуя с рианодиновыми рецепторами (RYR), вызывает высвобождение Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума (SR), приток $[\text{Ca}^{2+}]_i$, открытие CaCC и деполяризацию сарколеммы (SL), что в свою очередь вызывает открытие потенциал-зависимых Ca^{2+} каналов (Ca_v) и сокращение ГМК.

однако, что регуляции кровообращения в различных отделах этой системы существенно различаются, что во многом обусловлено специфическим набором ион-транспортующих систем гладкомышечных клеток (ГМК) сосудов [11]. В этой связи мы сфокусировали наш обзор на особенностях вовлечения NKCC1 в регуляцию сосудистого тонуса большого и малого кругов кровообращения и патогенез артериальной и легочной гипертензии.

Ключевая роль анионных каналов в регуляции сокращения гладкой мускулатуры

В отличие от доминирующей роли проводимости плазматической мембраны для K^+ (P_K) в формировании электрического сопротивления и потенциала (E_m) покоящихся клеток скелетной и сердечной мускулатуры, значения P_K и P_{Cl} в ГМК различаются незначительно [12]. Это наблюдение предполагает существенную роль анионных каналов в регуляции сокращения ГМК. В самом деле, сокращение ГМК сосудов, изолированных как из большого, так и малого круга кровообращения, подавлялось такими ингибиторами анионных каналов, как нифлумовая кислота (niflumic acid), флуфенаминовая кислота (flufenamic acid), инданилоксиуксусная кислота (indanyloxyacetic acid, IAA-94), производные стильбендисульфоновой кислоты (SITS, DIDS). Следует, однако, отметить, что эти соединения обладают низкой селективностью, и основные успехи в идентификации молекулярной природы анионных каналов были достигнуты с применением

молекулярно-биологических подходов. Эти исследования привели к обнаружению в клетках гладкой мускулатуры двух типов Ca^{2+} -активируемых Cl^- каналов (CaCC), кодируемых трансмембранным белком 16 (TMEM16A/anoctamin (ANO) и бестрофином (bestrophin), объем-зависимых Cl^- каналов (volume-regulated anion channels VRAC), кодируемых SWELL1/LRRC8 A и Cl^- каналов CFTR (cystic fibrosis transmembrane regulator), нарушение функционирования которых в эпителиальных клетках лежит в основе патогенеза мукополивисцидоза. Рецепторы глицина и γ -аминобутириновой кислоты (GABA), равно как и другие лиганд-зависимые Cl^- каналы, в ГМК не обнаружены [13].

Было высказано предположение, что транзиторное увеличение концентрации внутриклеточного кальция ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) в ответ на активацию норадреналином, эндотелином, ангиотензином и другими вазоконстрикторами рецепторов, связанных с G-белками, приводит к активации CaCC, что в свою очередь вызывает деполяризацию сарколеммы и вход кальция через потенциал-зависимые Ca^{2+} каналы (рис. 1). В самом деле, было установлено, что подавление как экспрессии, так и активности CaCC снижает тонус изолированных сосудов большого и малого кругов кровообращения (детально эти исследования рассмотрены в обзорах [13–15]). Роль P_{Cl} и Cl^- каналов в регуляции сосудистого тонуса также подтверждается данными, полученными in vivo. Так, например, было обнаружено, что как содержание TMEM16A мРНК, так и Ca^{2+} -

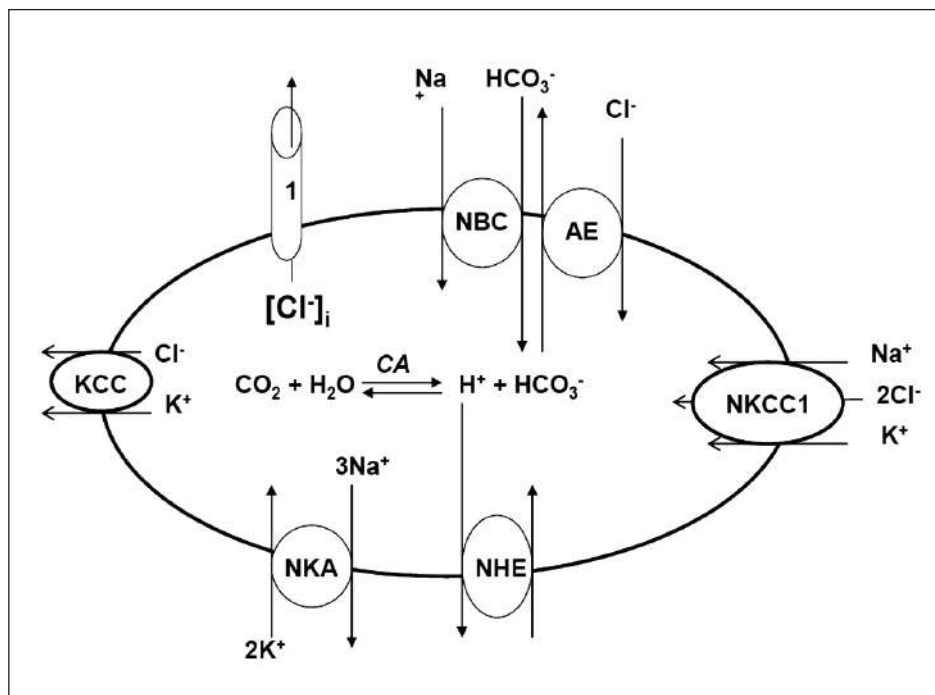
зависимая компонента P_{Cl} увеличены в легочной артерии крыс с экспериментальной легочной гипертензией [16, 17], в то время как подавление экспрессии TMEM16A, ограниченное ГМК, приводило к уменьшению системного артериального давления (АД) и меньшего его прироста в ответ на инъекцию ангиотензина [18].

Механизм регуляции внутриклеточной концентрации хлора в клетках гладкой мускулатуры сосудов

Вовлечение анионных каналов в регуляцию сокращения ГМК предполагает, что сокращение ГМК должно также контролироваться транспортерами, принимающими участие в регуляции внутриклеточной концентрации хлора ($[Cl^-]_i$). Во всех исследованных на этот предмет ГМК обнаружена универсальная изоформа Na^+ , K^+ , $2Cl^-$ -котранспорта (NKCC1) [19, 20] и две изоформы K^+ , Cl^- -котранспорта (KCC1 и KCC3) [21]. Как отмечалось выше, КСС генерируют как входящие, так и выходящие потоки Cl^- , и направленность их нетто-потоков зависит от трансмембранного градиента котранспортимых ионов, создаваемых Na^+ , K^+ -АТФ-азой, стехиометрии переноса. При стехиометрии переноса

1:1 величина ионных потоков находится в линейной зависимости от концентрации котранспортимых ионов. Так как $[K^+]_i \gg [K^+]_o$, а $[Cl^-]_o > [Cl^-]_i$, нетто-поток хлора, генерируемый КСС, направлен из клетки (рис. 2). NKCC функционирует со стехиометрией $1Na^+:1K^+:2Cl^-$. В этом случае $[Cl^-]_i^2 \gg [Cl^-]_o^2$ и потому в большинстве типов клеток, включая ГМК, нетто-поток хлора, опосредованный этим переносчиком, направлен в цитоплазму (рис. 2). Предполагается, что наряду с NKCC и КСС в регуляции $[Cl^-]_i$ принимает участие сопряженная работа переносчиков, осуществляющих Na^+/H^+ и анионный обмен. В самом деле, Na^+/H^+ обменник способствует защелачиванию цитоплазмы, что в свою очередь приводит к накоплению анионов бикарбоната в реакции, катализируемой карбоксиангидразами, в то время как анионные обменники (АЕ) осуществляют трансмембранный перенос HCO_3^- в обмен на внеклеточный хлор. Установлено, что ГМК обогащены универсальной изоформой Na^+/H^+ обменника NHE1 (*SLC9A1*) [22] и двумя изоформами анионного обменника AE2 (*SLC4A2*) и AE3 (*SLC4A2*) [23]. Кроме того, в ГМК обнаружен переносчик NBCn1 (*SLC4A7*), осуществляющий электронейтральный импорт HCO_3^- и Na^+ (рис. 2) [22].

Рисунок 2. Ион-транспортующие системы ГМК, принимающие участие в регуляции внутриклеточной концентрации хлора ($[Cl^-]_i$)



Примечание: функционирование NKCC и КСС способствует накоплению и высвобождению Cl^- соответственно. Карбоксиангидраза (CA) контролирует накопление протонов и бикарбонат анионов, которые в свою очередь транспортируются Na^+/H^+ обменником (NHE) и анионным обменником (АЕ). Нетто-потоки ионов, генерируемые NKCC, КСС и NHE, находятся под контролем трансмембранных градиентов Na^+ и K^+ , создаваемых за счет работы Na^+ , K^+ -АТФ-азы (NKA). В ГМК работа этих транспортеров приводит, как правило, к увеличению $[Cl^-]_i$ до значений, превышающих E_{Cl^-} . По этой причине открытие хлорных каналов (1) сопровождается утечкой хлора и деполяризацией сарколеммы.

ВЛИЯНИЕ ПЕТЛЕВЫХ ДИУРЕТИКОВ НА СОКРАЩЕНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ СОСУДОВ

Источник сосуда, концентрация вазоконстриктора, μM	Концентрация диуретика, μM / время инкубации, мин.	Буфер	Зарегистрированные изменения	Ссылка
<i>Большой круг кровообращения</i>				
Аорта крысы ФЭ — 0,01	Б — 10/20	Бик	2–3-кратное ингибирование сокращения	[37, 59]
Аорта крысы ФЭ — 1	Б — 10/20	Бик	НЭ	[37, 59]
Аорта крысы КСI — 3×10^{-4}	Б — 10/20	Бик	НЭ	[37]
Аорта мыши ФЭ — 0,01–1	Б — 10/0	Бик	НЭ	[83]
Воротная вена мыши	Б — 10/10	Бик	2-кратное уменьшение амплитуды фазовых сокращений	[83]
Аорта крысы ФЭ — 1	Б — 100/30	Трис	10-кратное ингибирование сокращения	[25]
Аорта крысы КСI — 3×10^{-4}	Б — 100/30	Трис	2-кратное ингибирование сокращения	[25]
Аорта крысы КСI — 6×10^{-4}	Б — 100/30	Трис	НЭ	[25]
Аорта крысы ФЭ — 1	Б — 10/30	Бик	Уменьшение сокращения на 20–30 % у самцов, но не у самок	[39]
Аорта крысы БЭ АП — 0,1	Ф — 1/30	Бик	2-кратное ингибирование сокращения	[84]
Аорта мыши ФЭ — 10	Б — 10/30	Бик	Уменьшение сокращения на 35 %	[85]
Брыжеечные артерии крысы ФЭ — 1	Б — 30/30	Хеп	2-кратное ингибирование сокращения в присутствии L-NAME	[62]
Брыжеечные артерии крысы ФЭ — 1	Б — 30/30	Хеп	Полное ингибирование сокращения	[57]
Брыжеечные артерии крысы ФЭ — 100	Б — 30/30	Хеп	2–3-кратное ингибирование сокращения	[57]
Брыжеечные артерии крысы БЭ ФЭ — 1	Б — 10/30	Бик	2-кратное ингибирование сокращения	[38]
Брыжеечные артерии крысы ФЭ — 10	Б — 100/30	Хеп	8- и 2-кратное ингибирование сокращения при отсутствии и в присутствии L-NAME	[42]
Брыжеечные артерии мыши УТФ — 100	Б — 100/30	Хеп	3-кратное ингибирование сокращения при отсутствии и в присутствии L-NAME	[42]
Брыжеечные артерии мыши КСI — 3×10^{-4}	Б — 100/30	Хеп	1,5-кратное ингибирование сокращения при отсутствии и в присутствии L-NAME	[42]
Брыжеечные артерии мыши МО	Б — 100/30	Хеп	3- и 2-кратное ингибирование сокращения при отсутствии и в присутствии L-NAME	[42]
ААП крысы АП — 0,1	Б — 10/0	Бик	10-кратное ингибирование сокращения	[34]
ААП крысы МО	Б — 10/0	Бик	3-кратное ингибирование сокращения при отсутствии и в присутствии L-NAME	[34]

Источник сосуда, концентрация вазоконстриктора μM	Концентрация диуретика, μM / время инкубации, мин.	Буфер	Зарегистрированные изменения	Ссылка
ААП крысы МО	Φ — 100/0	Бик	4-кратное ингибирование сокращения	[34]
ВАМЖ человек АП — 0,1	Φ — 100	Бик	2-кратное ингибирование сокращения	[32]
ПВ человек АП — 0,1	Φ — 100	Бик	3-кратное ингибирование сокращения	[32]
ПА человек С — 100; Г — 100	Б — 1000	Бик	2–3-кратное ингибирование сокращения	[43]
Малый круг кровообращения				
ЛА собаки НА — 1; U46619–0,01	Φ — 300	Бик	НЭ	[49]
ЛВ собаки НА — 1; U46619–0,01	Φ — 300	Бик	Уменьшение сокращения на 60 %	[49]
ЛА крысы НА — 0,1	Б — 100	Бик	Уменьшение сокращения на 10–15 %	[48]

Примечание: АП — ангиотензин II; ААП — афферентная артериола почки; Б — буметанид; Бик — бикарбонатный буфер (25 мМ NaHCO_3 с продувкой 5 % CO_2); БЭ — эндотелий был механически удален; ВАМЖ — внутренняя артерия молочной железы; Г — гистамин; ЛА — легочная артерия; ЛВ — легочная вена; МО — миогенный ответ, вызванный увеличением внутрисосудистого давления; НА — норадреналин; НЭ — отсутствие эффекта; ПА — пуповинная артерия; ПВ — подкожная вена; С — серотонин; Трис — tris-HCl буфер, не содержащий NaHCO_3 ; Ф — фуросемид; ФЭ — фенилэфрин; Хеп — HEPES буфер, не содержащий H_2CO_3 ; L-NAME — N^G -nitro-L-arginine methyl ester.

В соответствии с рассмотренной нами моделью было обнаружено, что ингибирование НКСС фуросемидом и буметанидом сопровождается снижением $[\text{Cl}^-]_i$ [24, 25] и гиперполяризацией ГМК аорты крысы [24]. Сведения об относительной роли других переносчиков в регуляции этих параметров в ГМК носят противоречивый характер, что во многом обусловлено отсутствием их специфических ингибиторов [22, 26].

Влияние петлевых диуретиков на сокращение и миогенный тонус сосудов

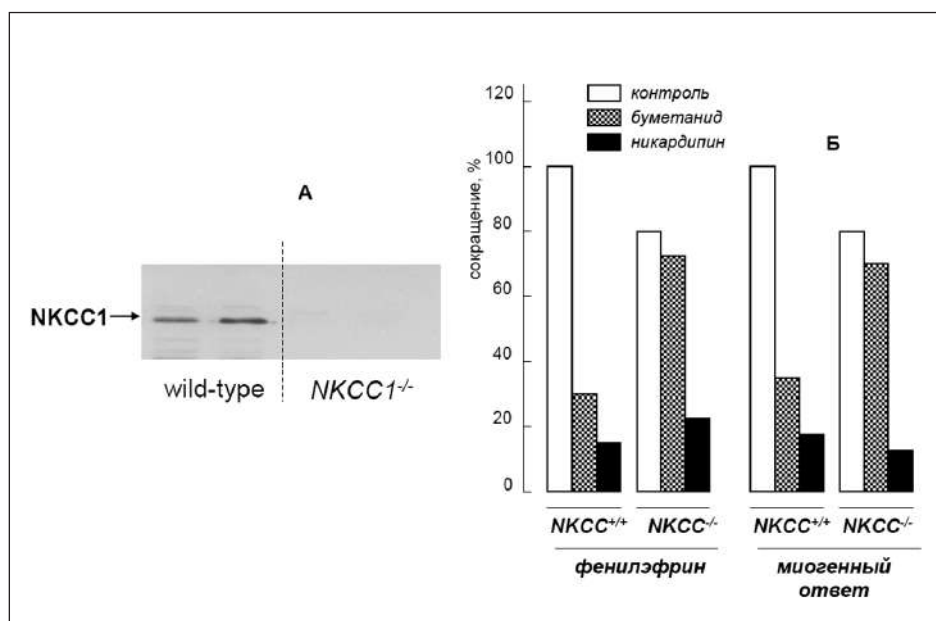
Данные о решающей роли Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорта в регуляции $[\text{Cl}^-]_i$ и E_m сарколеммы находятся в соответствии с ингибирующим действием петлевых диуретиков на сокращение большинства исследовавшихся на этот предмет констрикторов. Так, было установлено, что как фуросемид, так и буметанид вызывают снижение базального тонуса [27–29] и сокращения полосок гладкой мускулатуры в ответ на электрическую стимуляцию [30], добавление гистамина [31], ангиотензина II [32], тромбосана A_2 [33, 34], окситоцина [35, 36], агонистов α -адренэргических [25, 37–39] и пуринаэргических рецепторов [40]. Наряду с подавлением сокращений ГМК, вызванных указанными выше вазоконстрикторами, буметанид увеличивал расслабление аорты крысы в ответ на активацию гуанилатциклазы

нитропруссидом [41]. Результаты этих исследований суммированы в таблице. В нашей лаборатории было обнаружено, что ингибирующее действие буметанида (но не ингибитора потенциал-зависимых Ca^{2+} каналов L-типа никардипина) на сокращение изолированных брыжеечных сосудов в ответ на активацию α -адренэргических рецепторов фенилэфрином отсутствует у мышей, лишенных гена, кодирующего НКСС1 (мыши $\text{NKCC1}^{-/-}$) [42] (рис. 3). Эти данные свидетельствовали о том, что действие петлевых диуретиков на сокращение ГМК опосредовано их взаимодействием с универсальной изоформой Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорта.

В ряде работ было установлено, что петлевые диуретики подавляют сокращение сосудов в ответ на умеренные, но не насыщающие концентрации вазоконстрикторов. Так, например, фуросемид снижал чувствительность артерии молочной железы и пуповинной вены человека к стабильному аналогу тромбосана A_2 соединению U46619, не оказывая значимого влияния на амплитуду максимального сокращения [33]. Снижение чувствительности к фенилэфрину, серотонину и гистамину в присутствии буметанида было отмечено при исследовании сокращения пуповинной артерии человека и брыжеечных артерий крысы [38, 43]. Это согласуется с данными о том, что петлевые диуретики вызывают уменьшение сокращения сосудов в ответ на умеренную

Рисунок 3. А. Содержание иммунореактивного белка NKCC1 в брыжеечных артериях контрольных мышей (NKCC1^{+/+}) и мышей, нокаутированных по гену NKCC1 (NKCC1^{-/-}).

Б. Влияние буметанида и никардипина на сокращение, вызванное α -адренэргическим агонистом фенилэфрином, и миогенный ответ брыжеечных артерий контрольных и NKCC1^{-/-} мышей.
Модифицировано из работы [42]



деполяризацию, вызванную добавкой 30 mM KCl, но не полномасштабную деполяризацию в присутствии 60 mM KCl [25].

При анализе имеющихся данных мы обратили внимание на то, что сосудорасслабляющее действие петлевых диуретиков увеличивается при замене бикарбонатного буфера на трис-буфер (табл.). Так, например, в отсутствие HCO₃⁻ буметанид вызывал 10-кратное уменьшение сокращения аорты крысы, вызванное фенилэфрином [25], в то время как при использовании бикарбонатного буфера буметанид уменьшал этот параметр на 5–10% [37]. В дополнительных экспериментах мы показали, что добавление к трис-буферу 25 mM NaHCO₃ снижает ингибирующее действие буметанида на сокращения брыжеечных артерий крысы, вызванные 30 mM KCl и фенилэфрина, в 5 и 3 раза соответственно [44]. Это явление можно объяснить тем, что присутствие HCO₃⁻ нивелирует вклад Na⁺, K⁺, 2Cl⁻-котранспорта в регуляцию [Cl⁻]_i за счет активации анионных обменников. Действительно, при наличии анионов бикарбоната следует ожидать активацию Na⁺_o, HCO₃⁻_o-котранспорта (рис. 2), увеличение [HCO₃⁻]_i и последующее увеличение [Cl⁻]_i за счет активации HCO₃⁻/Cl⁻_o обмена. Кроме того, нами обнаружено, что в культуре ГМК аорты крысы добавление 5 mM NaHCO₃ приводит к 2-кратному уменьшению активности Na⁺, K⁺, 2Cl⁻-котранспорта, регистрируемого по величине буметанид-чувствительной компоненты скоро-

сти входа радиоактивного аналога калия ⁸⁶Rb [44]. Возможно, что в основе ингибирования Na⁺, K⁺, 2Cl⁻-котранспорта лежит вытеснение анионами бикарбоната хлора из мест его связывания на молекуле NKCC1. Не исключено также, что расхождение экспериментальных данных обусловлено и другими факторами. Так, например, было показано, что буметанид ингибировал сокращение аорты, вызванное добавлением насыщающих концентраций фенилэфрина, у самок, но не самцов крыс, что связано, по-видимому, с половыми особенностями регуляции активности NKCC1 [39].

Под миогенным тонусом (ответом) понимается уникальное свойство сосудов с диаметром < 100–200 мкм: вслед за незначительным увеличением диаметра в ответ на прирост давления заполняющей их жидкости радиус таких сосудов существенно уменьшается. Как кинетика, так и абсолютная величина миогенного ответа сосудов различных отделов кровяного русла существенно различаются. Миогенный ответ, выявленный в сосудистом русле скелетных мышц, а также в брыжеечных, мозговых, почечных и коронарных сосудах, играет центральную роль в поддержании постоянства движения крови в пределах микроциркуляторного русла независимо от колебаний системного АД [45–47]. Было установлено, что буметанид уменьшает миогенный тонус брыжеечных артерий [42] и полностью устраняет миогенный ответ афферентных артериол почек [34]. Как и в случае активации α -адренэргических

рецепторов, подавление миогенного ответа буметанидом отсутствовало у *NKCC1*^{-/-} мышей (рис. 3).

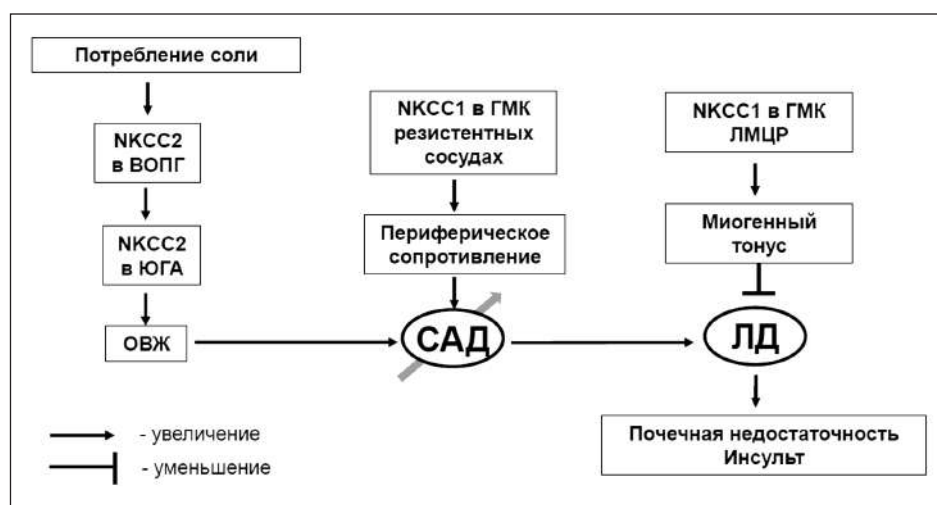
В отличие от сосудов большого круга кровообращения, данные о действии петлевых диуретиков на малый круг кровообращения ограничены двумя работами. Показано, что 100 μ M буметанида вызывает 20-процентное уменьшение сокращения легочной артерии крысы в ответ на активацию адренорецепторов 0,01 μ M норадреналина, не оказывая значимого влияния на величину максимального ответа, вызванного 2 μ M норадреналина [48]. При проведении экспериментов на легочной артерии собаки не удалось обнаружить существенного влияния 300 μ M фуросемида на максимальное сокращение, вызванное 1 μ M норадреналина и 0,01 μ M U46619, в то время как в легочной вене собаки оба параметра уменьшались на 50–70 % [49].

Роль в патогенезе эссенциальной гипертензии

В середине 1970-х годов мы начали поиск наследуемых факторов патогенеза гипертензии на примере изучения активности ион-транспортующих систем плазматической мембраны (рис. 4). Наиболее адекватный объект для такого рода исследований — крысы со спонтанной генетической гипертензией (spontaneously hypertensive rats, SHR и Milan hypertensive strain, MHS), являющиеся наиболее подходящей моделью гипертонической болезни человека. В этих исследованиях было установлено, что увеличение проницаемости для одновалентных катионов эритроцитов крыс SHR и MHS обусловлено повышением активности Na^+ ,

K^+ , 2Cl^- -котранспорта. На вовлечение этого переносчика в патогенез первичной гипертензии указывали следующие данные. 1. В эритроцитах гибридов первого поколения, полученных скрещиванием MHS и нормотензивных крыс (Milan normotensive strain, MNS) (F_1 MHSxMNS), активность Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорта была увеличена только после пересадки костного мозга от MHS. Эти данные указывали на то, что регистрируемые изменения обусловлены наследуемым фактором, нежели результатом долгосрочного воздействия повышенного АД. 2. В эритроцитах гибридов второго поколения, полученных при скрещивании SHR и нормотензивных крыс линии Kyoto-Wistar (F_2 SHRxWKY), а также F_2 MHSxMNS, активность Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорта коррелировала с величиной АД. 3. Как и в случае ГМК, NKCC1 является единственной изоформой Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорта, обнаруженной в эритроцитах. Рядом исследователей было установлено, что системное АД снижено у *NKCC1*^{-/-} мышей. 4. Введение буметанида приводило к быстрому снижению АД у контрольных, но не у *NKCC1*^{-/-} мышей. (Не исключено, однако, что наряду с блокадой NKCC1 антигипертензивный эффект буметанида был отчасти опосредован ингибированием почечной изоформы Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорта NKCC2. В самом деле, перфузия почек петлевыми диуретиками сопровождалась активацией циклооксигеназы и продукцией в кровяносерузовасодилаторов простагнандной природы [50]). 5. Ингибирующее действие буметанида на сокращение брыжеечных артерий в ответ на добавление фенилэфрина увеличено у SHR по отношению к нормотензивному контролю [8, 51–53].

Рисунок 4. Механизмы вовлечения контранспортера хлора и одновалентных катионов в патогенез гипертонической болезни и ее сердечно-сосудистых и почечных осложнений



Примечание: ВОПГ — восходящий отдел петли Генле; ЮГА — юстагломерулярный аппарат; ОВЖ — объем внеклеточной жидкости; ЛМЦР — локальное микроциркуляторное русло; САД — системное артериальное давление; ЛД — локальное давление.

Сравнительно недавно получены данные о том, что наряду с ГМК сосудов активация NKCC1 участвует в патогенезе системной гипертензии через повышение $[Cl^-]$ в нейронах головного мозга, приводящего к активации симпатической нервной системы [5]. Следует, однако, отметить, что фуросемид (но не буметанид) напрямую ингибирует активность рецепторов гамма-аминомасляной кислоты (GABA-A) [54], то есть при условии его проникновения через гематоэнцефалический барьер он способен модулировать нейрональную активность независимо от ингибирования NKCC1.

Механизмы, приводящие к активации NKCC1 при первичной гипертензии, остаются малоизученными, что, по-видимому, отражает как полигенную природу этой болезни, так и множественные механизмы регуляции активности и экспрессии этого переносчика. Недавно проведенные исследования показали, что содержание как мРНК, так и белка NKCC1 увеличено в аорте, сердце и нейронах головного мозга крыс SHR [55, 56]. В случае аорты и сердца SHR повышенная экспрессия этого переносчика сопровождается снижением метилирования промотора *NKCC1* гена [55]. Следует отметить, что метилирование *NKCC1* промотора увеличивалось с возрастом у нормотензивных крыс и не изменялось у гипертензивных животных [57]. Было также установлено, что активность ДНК метилтрансферазы 3 В (DNMT3B) в 3 раза выше у 18-недельных нормотензивных крыс по сравнению с SHR того же возраста. Эти исследования предполагают, что при экспериментальной модели первичной гипертензии гипометилирование *NKCC1* промотора является следствием снижения активности DNMT3B, что в свою очередь приводит к повышению экспрессии NKCC1, увеличению $[Cl^-]$, деполяризации ГМК, увеличению сосудистого тонуса и системного АД. Наряду с рассмотренным выше механизмом, активация NKCC1 в ГМК сосудов может быть следствием долгосрочного поддержания повышенного АД, как это выявлено у животных с ДОКА-солевой гипертензией [24, 58] или стенозом абдоминальной аорты [59]. В первом случае увеличение содержания NKCC1 в ГМК обусловлено, по-видимому, активацией минералокортикоидных рецепторов альдостероном [60, 61]. Недавно было также обнаружено, что как эпигенетическая модификация активности промотора NKCC1, так и увеличение содержания мРНК в ГМК аорты наблюдается при гипертензии, вызванной длительной инъекцией крысам ангиотензина II [62].

Роль в патогенезе легочной гипертензии

Сведения о вовлечении Na^+ , K^+ , $2Cl^-$ -котранспорта в патогенез легочной гипертензии ограничиваются

единичным исследованием, в котором крысы, обработанные монокроталином, использовались в качестве экспериментальной модели легочной гипертензии человека. Было обнаружено, что 100 мМ буметанида вызывает 30-процентное снижение базального тонуса и двукратное уменьшение максимального сокращения в ответ на активацию адренорецепторов норадреналином легочной артерии, изолированной из крыс с легочной гипертензией, не оказывая существенного влияния на сокращение легочной артерии контрольных животных [48].

Может ли NKCC1 рассматриваться в качестве мишени лечения системной и легочной гипертензии?

Петлевые диуретики широко используются для коррекции нарушений водно-солевого гомеостаза при ряде патологических состояний, включая долгосрочное повышение АД. До последнего времени считалось, что их мишенью является NKCC2 — изоформа Na^+ , K^+ , $2Cl^-$ -котранспорта, экспрессия которой ограничена апикальной мембраной клеток эпителия восходящего отдела петли Генле и юкстагломерулярного аппарата почки, в результате чего уменьшается реабсорбция соли и происходит уменьшение объема внеклеточной жидкости [5]. Данные, рассмотренные выше, свидетельствуют об активации у крыс со спонтанной гипертензией универсальной изоформы этого переносчика NKCC1 и его вкладе в формирование повышенной чувствительности ГМК к действию вазоконстрикторов. В этой связи можно рассматривать NKCC1 в качестве потенциальной мишени петлевых диуретиков с целью уменьшения периферического сопротивления большого круга кровообращения и нормализации системного АД.

Как отмечалось выше, наряду с подавлением действия вазоконстрикторов на ГМК петлевые диуретики ингибируют миогенный тонус сосудов — эффективный механизм защиты почек и других органов-мишеней от повышения системного АД. Для изучения роли миогенного ответа в функционировании почек Лотзенхизер с соавторами разработали модель изолированной перфузируемой почки, которая позволяет исследовать особенности микроциркуляторной системы этого органа в отсутствие воздействия на нее юкстагломерулярного аппарата, обогащенного другой мишенью петлевых диуретиков NKCC2. С помощью этой модели было установлено, что буметанид полностью подавляет миогенный ответ афферентной артериолы почек крысы [34]. Результаты этих исследований, рассмотренные в совокупности с данными об отсутствии влияния буметанида на миогенный ответ

брыжеечных артерий *NKCC1*^{-/-} мышей [42], позволили нам предположить, что увеличенная активность *NKCC1*, зарегистрированная у SHR, MHS и больных эссенциальной гипертонией, защищает почки от разрушающего воздействия повышения АД, в то время как хроническое использование петлевых диуретиков ускоряет развитие почечной недостаточности, в том числе протеинурии [7, 8, 63]. Эта гипотеза согласуется с 4-кратным увеличением частоты почечных осложнений у больных гипертонией негроидной расы [64], в эритроцитах которых активность *NKCC1* в 2–3 раза ниже по сравнению с больными кавказской расы [63, 65]. Роль *NKCC1* в защите от инсульта через формирование миогенного ответа сосудов головного мозга остается неизученной.

В нормальных условиях легочная циркуляция обладает малым периферическим сопротивлением и функционирует при низком давлении. Увеличение периферического сопротивления — одна из основных причин легочной гипертонии, сопровождающейся повышением давления выше 25 мм рт. ст. В большинстве случаев эта болезнь протекает на фоне нарушенной функции воздухопроводящих путей легких в связи с хронической обструкцией бронхов и/или идиопатическим фиброзом легких, вызывающих гипоксию и, как следствие этого, сокращения ГМК сосудов малого круга кровообращения. К настоящему времени не удалось продемонстрировать какого-либо существенного улучшения гемодинамики малого круга кровообращения и развития сердечной недостаточности на фоне лекарств, традиционно используемых при системной АГ, и совместная пересадка сердца и легких остается единственным эффективным подходом к лечению этой болезни. Более детально аспекты патогенеза легочной гипертонии рассмотрены в обзорах [66–73].

В связи с отсутствием существенного миогенного ответа ГМК сосудов малого круга кровообращения *NKCC1* можно рассматривать как возможную мишень лечения легочной гипертонии ингаляционными формами петлевых диуретиков, обеспечивающими их локальную доставку в легкие. Этот подход представляется особенно актуальным в связи с тем, что ингаляция фуросемида и других петлевых диуретиков оказывает расслабляющее действие на ГМК воздухопроводящих путей легких человека [50, 74–78]. Было также установлено, что фуросемид вызывает 4-кратное уменьшение интенсивности кислородного взрыва нейтрофилов в ответ на добавление формилового пептида [79], что указывает на возможность использования петлевых диуретиков для ингибирования воспалительного процесса, сопровождающего развитие хронических

болезней легких. Кроме того петлевые диуретики подавляют пролиферацию ГМК воздухопроводящих путей, способствуя тем самым нормализации геометрии бронхов [80], гипертрофия которых отмечена у больных астмой. Эти работы указывают на то, что петлевые диуретики могут быть успешно использованы для лечения больных, у которых легочная гипертония сочетается с астмой и хронической обструкцией бронхов.

Заключение

Данные, рассмотренные в обзоре, указывают на вовлечение универсальной изоформы *NKCC1* в регуляцию концентрации внутриклеточного хлора и сокращения ГМК сосудов большого круга кровообращения. Ингибирующее действие фуросемида, буметанида и других блокаторов этого переносчика на сокращение изолированных резистентных сосудов в ответ на умеренную деполяризацию и ряд вазоконстрикторов, продемонстрированное в целом ряде лабораторий, указывает на *NKCC1* как возможную мишень для лечения системной АГ. Однако данные об ингибировании петлевыми диуретиками миогенного ответа афферентной артериолы почки и резистентных сосудов, полученные *in vitro*, указывают на возможные побочные действия этих лекарств. Миогенный тонус не играет существенной роли в регуляции кровоснабжения легких. В этой связи ингаляция петлевых диуретиков может рассматриваться как перспективный подход для лечения легочной гипертонии. Возможность такого использования петлевых диуретиков усиливается данными о расслабляющем действии этих соединений на ГМК бронхов. К настоящему времени данные о вовлечении *NKCC1* в регуляцию сокращения ГМК малого круга кровообращения ограничены единичной публикацией, свидетельствующей об уменьшении сокращения в ответ на норадреналин легочной артерии, изолированной из крыс с экспериментальной моделью легочной гипертонии [48]. Известно, однако, что в отсутствие патологических изменений эффективность α -адренэргических рецепторов в регуляции сокращения ГМК малого круга кровообращения существенно ниже по сравнению с β -рецепторами [81]. В предварительных экспериментах нам не удалось обнаружить значимого влияния буметанида на сокращение легочной артерии нормотензивных крыс в ответ на U46619 (данные подготавливаются к публикации). Следует обратить внимание на то, что в отличие от буметанида фуросемид не может быть использован в подобного рода экспериментах ввиду *NKCC1*-независимого механизма ингибирования этим соединением рецепторов тромбосана [82].

Таким образом, для ответа на вопрос о возможности применения петлевых диуретиков или других, более селективных ингибиторов NKCC1 для лечения легочной гипертензии необходимо проведение дополнительных экспериментов.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Эта работа была поддержана грантами Канадского института исследований в области здравоохранения (MOP-81392), Федеральной целевой программой 2009–2013 годов «Научно-исследовательские кадры инновационной России», Российским фондом фундаментальных исследований (№ 15–04–00101) и Российским научным фондом (№ 14–15–00006 и № 16–15–10026). / The study was supported by the grants of the Canadian Institute of Health Care System (MOP-81392), Federal goal-oriented program 2009–2013 “Scientists of Innovative Russia”, Russian Foundation of Fundamental Studies (№ 15–04–00101), and Russian Scientific Foundation (№ 14–15–00006 and № 16–15–10026).

Список литературы / References

- Adragna N, Di Fulvio M, Lauf PK. Regulation of K-Cl cotransport: from function to genes. *J Membr Biol.* 2004;201(3): 109–137. doi:10.1007/s00232-004-0695-6
- Gamba G. Molecular physiology and pathophysiology of electroneutral cation-chloride cotransporters. *Physiol.* 2005;85(2): 423–493. doi:10.1152/physrev.00011.2004
- Orlov SN, Mongin AA. Salt sensing mechanisms in blood pressure regulation and hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;293: H2039–H2053. doi:10.1152/ajpheart.00325.2007
- Markadieu N, Delpire E. Physiology and pathophysiology of SLC12A1/2 transporters. *Pflugers Arch Eur J Physiol.* 2014;466(1): 91–105. doi:10.1007/s00424-013-1370-5
- Орлов С. Н., Кольцова С. В., Каплевич Л. В., Дулин Н. О., Гусакова С. В. Котранспортеры катионов и хлора: регуляция, физиологическое значение и роль в патогенезе артериальной гипертензии. *Успехи биологической химии.* 2014;54:267–298. [Orlov SN, Koltsova SV, Kapilevich LV, Dulin NO, Gusakova SV. Cation and chloride cotransporters: regulation, physiological significance and role in pathogenesis of arterial hypertension. *Uspehi Biologicheskoy Khimii = Biological Chemistry Reviews.* 2014;54:267–298. In Russian].
- Pearson G, Robinson F, Beers GT, Xu BE, Karandikar M, Berman K et al. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocrinology.* 2001;22:153–183. doi:10.1210/edrv.22.2.0428
- Orlov SN, Tremblay J, Hamet P. NKCC1 and hypertension: a novel therapeutic target involved in regulation of vascular tone and renal function. *Curr Opin Nephrol Hypert.* 2010;19:163–168. doi:10.1097/MNH.0b013e3283360a46
- Orlov SN, Koltsova SV, Tremblay J, Baskakov MB, Hamet P. NKCC1 and hypertension: role in the regulation of vascular smooth muscle contractions and myogenic tone. *Ann Med.* 2012;44: S111–S118. doi:10.3109/07853890.2011.653395
- Orlov SN. NKCC1 as an epigenetically regulated transporter involved in blood pressure elevation with age. *Am J Hypertens.* 2011;24:1264. doi:10.1038/ajh.2011.150
- Orlov SN, Koltsova SV, Kapilevich LV, Gusakova SV, Dulin NO. NKCC1 and NKCC2: The pathogenetic role of cation-chloride cotransporters in hypertension. *Gens Dis.* 2015;2:186–196. doi:10.1016/j.gendis.2015.02.007
- Reho JJ, Zheng X, Fisher SA. Smooth muscle contractile diversity in the control of regional circulations. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2014;306(2): H163–H172. doi:10.1152/ajpheart.00493.2013
- Chipperfield AR, Harper AA. Chloride in smooth muscle. *Prog Biophys Mol Biol.* 2001;74(3–5):175–221.
- Bulley S, Jaggar JH. Cl[–] channels in smooth muscle cells. *Pflugers Arch Eur J Physiol.* 2014;466(5):861–872.
- Matchkov VV, Boedtker DM, Aalkjaer C. The role of Ca²⁺ activated Cl[–] channels in blood pressure control. *Curr Opin Pharmacol.* 2015;21:127–137. doi:10.1016/j.coph.2015.02.003
- Leblanc N, Forrest AS, Ayon RJ, Wiwchar M, Angermann JE, Pritchard HAT et al. Molecular and functional significance of Ca²⁺-activated Cl[–] channels in pulmonary arterial hypertension. *Pulm Circ.* 2015;5(2):244–268. doi:10.1086/680189
- Forrest AS, Joyce TC, Huebner ML, Ayon RJ, Wiwchar M, Joyce C et al. Increased TMEM16A-encoded calcium-activated chloride channel activity is associated with pulmonary hypertension. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2012;303(12): C1229–C1243. doi:10.1152/ajpcell.00044.2012
- Sun H, Xia Y, Paudel O, Yang XR, Sham JS. Chronic hypoxia-induced upregulation of Ca²⁺-activated Cl[–] channels in pulmonary artery myocytes: a mechanism contributing to enhanced vasoreactivity. *J Physiol.* 2012;590(15):3507–3521. doi:10.1113/jphysiol.2012.232520
- Heinze C, Seniuk A, Sokolov MV, Huebner AK, Klementowicz AE, Szijarto IA et al. Disruption of vascular Ca²⁺-activated chloride currents lowers blood pressure. *J Clin Invest.* 2014;124(2):675–686. doi:10.1172/JCI70025
- Kaplan MR, Plotkin MD, Brown D, Hebert SC, Delpire E. Expression of the mouse Na-K-2Cl cotransporter, mBSC2, in the terminal inner medullary collecting duct, the glomerular and extraglomerular mesangium, and glomerular afferent arteriole. *J Clin Invest.* 1996;98(3):723–730. doi:10.1172/JCI118844
- Hubner CA, Lorke DE, Hermans-Borgmeyer I. Expression of the Na-K-2Cl-cotransporter NKCC1 during mouse development. *Mech Dev.* 2001;102(1–2):267–269.
- Rust MB, Faulhaber J, Budack M, Pfeffer C, Maritzen T, Didie M et al. Neurogenic mechanisms contribute to hypertension in mice with disruption of the C-VI-cotransporter KCC3. *Circ Res.* 2006;98(4):549–556. doi:10.1161/01.RES.0000204449.83861.22
- Boedtker E, Aalkjaer C. Intracellular pH in the resistance vasculature: regulation and functional implications. *J Vasc Res.* 2012;49(6):479–496. doi:10.1159/000341235
- Brosius FC, Pisoni RL, Cao X, Deshmukh G, Yannoukakos D, Stuart-Tilley AK et al. AE anion exchanger mRNA and protein expression in vascular smooth muscle cells, aorta and renal microvessels. *Am J Physiol.* 1997;273(6 Pt 2): F1039–F1047.
- Davis JPL, Chipperfield AR, Harper AA. Accumulation of intracellular chloride by (Na-K-Cl) cotransport in rat arterial smooth muscle is enhanced in deoxycorticosterone acetate (DOCA)/salt hypertension. *J Mol Cell Cardiol.* 1993;25(3): 233–237.
- Anfinogenova YJ, Baskakov MB, Kovalev IV, Kilin AA, Dulin NO, Orlov SN. Cell-volume-dependent vascular smooth muscle contraction: role of Na⁺, K⁺, 2Cl[–] cotransport, intracellular Cl[–] and L-type Ca²⁺ channels. *Pflugers Arch. Eur J Physiol.* 2004;449:42–55. doi:10.1007/s00424-004-1316-z
- Hubner CA, Schroeder BC, Ehmke H. Regulation of vascular tone and arterial blood pressure: role of chloride transport in vascular smooth muscle. *Pflugers Arch. Eur J Physiol.* 2015;467(3):605–614. doi:10.1007/s00424-014-1684-y

27. Barthelmebs M, Stephan D, Fontaine C, Grima M, Imbs JL. Vascular effects of loop diuretics: an in vivo and in vitro study in the rat. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol*. 1994;349(2):209–216.
28. Lavallee SL, Iwamoto LM, Claybaugh JR, Dressel MV, Sato AK, Nakamura KT. Furosemide-induced airway relaxation in guinea pigs: relation to Na-K-2Cl cotransporter function. *Am J Physiol*. 1997;273 (1 Pt 1): L211-L216.
29. Tian R, Aalkjaer C, Andreassen F. Mechanisms behind the relaxing effect of furosemide on the isolated rabbit ear artery. *Pharmacol Toxicol*. 1990;67(5):406–410.
30. Kovalev IV, Baskakov MB, Anfinogenova YJ, Borodin YL, Kilin AA, Minochenko IL et al. Effect of Na⁺, K⁺, 2Cl-cotransport inhibitor bumetanide on electrical and contractile activity of smooth muscle cells in guinea pig ureter. *Bull Exp Biol Med*. 2003;136(8):145–149.
31. Ковалев И. В., Баскаков М. Б., Медведев М. А., Миноченко И. Л., Килин А. А., Анфиногенова Я. Д. и др. Изучение роли Na⁺, K⁺, 2Cl-котранспорта и хлорной проводимости мембраны в регуляции электрической и сократительной активности гладкомышечных клеток мочеточника морской свинки мезатонимигистином. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*. 2007;93:306–317. [Kovalev IV, Baskakov MB, Medvedev MA, Minochenko IL, Kilin AA, Anfinogenova YJ, Borodin IV, Gusakova SV, Popov AG, Kapilevich LV, Orlov SN. Na⁺, K⁺, 2Cl-cotransport and chloride permeability of the cell membrane in mezaton and histamine regulation of electrical and contractile activity in smooth muscle cells from the guinea pig ureter. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. IM Sechenova = Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova*. 2007;93:306–317. In Russian]
32. Stanke F, Devillier P, Breant D, Chavanon O, Sessa C, Bricca G et al. Furosemide inhibits angiotensin II-induced contraction on human vascular smooth muscle. *Br J Clin Pharmacol*. 1998;46(6):571–575.
33. Stanke-Labesque F, Craciowski JL, Bedouch P, Chavanon O, Magne JL, Bessard G et al. Furosemide inhibits thromboxane A₂-induced contraction in isolated human internal artery and saphenous vein. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2000;35(4):531–537.
34. Wang X, Breaks J, Loutzenhiser K, Loutzenhiser R. Effects of inhibition of the Na⁺/K⁺/2Cl⁻ cotransporter on myogenic and angiotensin II responses of the rat afferent arteriole. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007;292(3): F999-F1006. doi:10.1152/ajprenal.00343.2006
35. Mozhayeva MG, Bagrov YY. The inhibitory effects of furosemide on Ca²⁺ influx pathways associated with oxytocin-induced contractions of rat myometrium. *Gen Physiol Biophys*. 1995;14(5):427–436.
36. Mozhayeva MG, Bagrov YY, Ostretsova IB, Gillespie JI. The effect of furosemide on oxytocin-induced contractions of the rat myometrium. *Exp Physiol*. 1994;79(5):661–667.
37. Akar F, Skinner E, Klein JD, Jena M, Paul RJ, O'Neill WC. Vasoconstrictors and nitrovasodilators reciprocally regulate the Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter in rat aorta. *Am J Physiol*. 1999;276(6 Pt 1): C1383-C1390.
38. Garg P, Martin C, Elms SC, Gordon FJ, Wall SM, Garland CJ et al. Effect of the Na-K-2Cl cotransporter NKCC1 on systematic blood pressure and smooth muscle tone. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;29(5): H2100-H2105. doi:10.1152/ajpheart.01402.2006
39. Palacios J, Espinoza F, Munita C, Cifuentes F, Michea L. Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter is implicated in gender differences in the response of the rat aorta to phenylephrine. *Br J Pharmacol*. 2006;148(7):964–972. doi:10.1038/sj.bjp.0706818
40. Koltsova SV, Maximov GV, Kotelevtsev SV, Lavoie JL, Tremblay J, Grygorczyk R, Hamet P, Orlov SN. Myogenic tone in mouse mesenteric arteries: evidence for P2Y receptor-mediated, Na⁺, K⁺, 2Cl⁻-cotransport-dependent signaling. *Purinergic Signaling*. 2009;5:343–349.
41. Valero M, Pereboom D, Garay RP, Alda JO. Role of chloride transport proteins in the vasorelaxant action of nitroprusside in isolated rat aorta. *Eur J Pharmacol*. 2006;553(1–3):205–208. doi:10.1016/j.ejphar.2006.09.015
42. Koltsova SV, Kotelevtsev SV, Tremblay J, Hamet P, Orlov SN. Excitation-contraction coupling in resistant mesenteric arteries: evidence for NKCC1-mediated pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;379:1080–1083.
43. Dayioglu E, Buharalioglu K, Saracoglu F, Akar F. The effects of bumetanide on human umbilical artery contractions. *Reproductive Sci*. 2007;14(3):246–252. doi:10.1177/1933719107300871
44. Koltsova SV, Luneva OG, Lavoie JL, Tremblay J, Maksimov GV, Hamet P, Orlov SN. HCO₃⁻-dependent impact of Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ cotransport in vascular smooth muscle excitation-contraction coupling. *Cell Physiol Biochem*. 2009;23:407–414. doi:10.1159/000218187
45. Davis MJ, Hill MA. Signaling mechanisms underlying the vascular myogenic response. *Physiol Rev*. 1999;79(2):387–423.
46. Hill MA, Davis MJ, Meininger GA, Potocnik SJ, Murphy TV. Arteriolar myogenic signaling mechanisms: implications for local vascular functions. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2006;34(1–2):67–79.
47. Schubert R, Mulvany MJ. The myogenic response: established facts and attractive hypothesis. *Clin Sci*. 1999;96(4):313–326.
48. Oriowo MA. Chloride channels and α₁-adrenoceptor-mediated pulmonary artery smooth muscle contraction: effect of pulmonary hypertension. *Eur J Pharmacol*. 2004;506(2):157–163.
49. Greenberg S, McGowan C, Xie J, Summer WR. Selective pulmonary and venous smooth muscle relaxation by furosemide: a comparison with morphine. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994;270(3): 1077–1085.
50. Cotton R, Suarez S, Reese J. Unexpected extra-renal effects of loop diuretics in the preterm neonate. *Acta Paediatrica*. 2012;101(8): 835–845. doi:10.1111/j.1651-2227.2012.02699.x
51. Postnov Yu V, Orlov SN. Ion transport across plasma membrane in primary hypertension. *Physiol Rev*. 1985;65:904–945
52. Orlov SN, Adragna N, Adarichev VA, Hamet P. Genetic and biochemical determinants of abnormal monovalent ion transport in primary hypertension. *Am J Physiol*. 1999;276: C511-C536
53. Garay RP, Alda O. What can we learn from erythrocyte Na-K-Cl cotransporter NKCC1 in human hypertension? *Pathophysiology*. 2007;14(3–4):167–170. doi:10.1016/j.pathophys.2007.09.006
54. Korpi ER, Luddens H. Furosemide interactions with brain GABA_A receptors. *Br J Pharmacol*. 1997;120(5):741–748.
55. Lee HA, Baek I, Seok YM, Yang E, Cho HM, Lee DY et al. Promoter hypomethylation upregulates Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter 1 in spontaneously hypertensive rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;396(2):252–257. doi:10.1016/j.bbrc.2010.04.074
56. Ye ZY, Li DP, Byun HS, Li L, Pan HL. NKCC1 upregulation disrupts chloride homeostasis in the hypothalamus and increases neuronal-sympathetic drive in hypertension. *J Neurosci*. 2012;32(25): 8560–8568. doi:10.1523/JNEUROSCI.1346-12.2012
57. Cho HM, Lee HA, Kim HY, Han HS, Kim IK. Expression of Na⁺, K⁺-2Cl⁻ cotransporter is epigenetically regulated during postnatal development of hypertension. *Am J Hypertens*. 2011;24(12): 1286–1293. doi:10.1038/ajh.2011.136
58. Brown RA, Chipperfield AR, Davis JPL, Harper AA. Increased (Na⁺+K⁺+Cl⁻) cotransport in rat arterial smooth muscle in deoxycorticosterone (DOCA)/salt-induced hypertension. *J Vasc Res*. 1999;36(6):492–501.
59. Jiang G, Akar F, Cobbs SL, Lomashvilli K, Lakkis R, Gordon FJ et al. Blood pressure regulates the activity and function of Na-K-2Cl cotransporter in vascular smooth muscle.

Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2004;286(4): H1552-H1557. doi:10.1152/ajpheart.00695.2003

60. Jiang G, Cobbs S, Klein JD, O'Neill WC. Aldosterone regulates the Na-K-2Cl cotransporter in vascular smooth muscle. *Hypertension*. 2003;41(5):1131–1135. doi:10.1161/01.HYP.0000066128.04083.CA

61. Ding B, Frisina RD, Zhu X, Sakai Y, Sokolowski B, Walton JP. Direct control of Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransport protein (NKCC1) expression with aldosterone. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2014;306(1): C66-C75. doi:10.1152/ajpcell.00096.2013

62. Cho HM, Lee DY, Kim HY, Lee HA, Seok YM, Kim IK. Upregulation of the Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter 1 via histone modification in the aortas of angiotensin II-induced hypertensive rats. *Hypertens. Res.* 2012;35(8):819–824. doi:10.1038/hr.2012.37

63. Orlov SN. Decreased Na⁺, K⁺, Cl⁻-cotransport and salt retention in Blacks: a provocative hypothesis. *J. Hypertens.* 2005;23:1929–1930.

64. Boone CA. End-stage renal disease in African-Americans. *Nephrol Nurs J.* 2000;27(6):597–600.

65. Orlov SN, Gossard F, Pausova Z, Akimova OA, Tremblay J, Grim CE et al. Decreased NKCC1 activity in erythrocytes from African-Americans with hypertension and dyslipidemia. *Am J Hypertens.* 2010;23:321–326. doi:10.1038/ajh.2009.249

66. Huber LC, Bye H, Brock M. The pathogenesis of pulmonary hypertension — an update. *Swiss Medical Weekly.* 2015;145: w14202. doi:10.4414/sm.w.2015.14202

67. Kanwar MK, Thenappan T, Vachieri JL. Update in treatment options in pulmonary hypertension. *J Heart Lung Transplant.* 2016;35(6):695–703. doi:10.1016/j.healun.2016.01.020

68. Noordegraaf AV, Groeneveldt JA, Bogaard HJ. Pulmonary hypertension. *Eur Respir Rev.* 2016;25(139):4–11. doi:10.1183/16000617.0096–2015

69. Cuttica MJ. Pulmonary hypertension associated with lung diseases and hypoxemia. *Heart Fail Rev.* 2016;21(3):299–308. doi:10.1007/s10741-016-9551-x

70. Hambly N, Alawfi F, Mehta S. Pulmonary hypertension: diagnostic approach and optimal management. *CMAJ.* 2016;188(11):804–12. doi:10.1503/cmaj.151075

71. Velayti A, Valerio MG, Shen D, Tariq S, Lanier GM, Aronow WS. Update on pulmonary arterial hypertension pharmacotherapy. *Postgraduate Medicine.* 2016;128(5):460–473. doi:10.1080/00325481.2016.1188664

72. Hu J, Xu Q, McTiernan C, Lai YC, Osei-Hwedie D, Gladwin M. Novel targets of drug treatment for pulmonary hypertension. *Am J Cardiovasc Drugs.* 2015;15(4):225–234. doi:10.1007/s40256-015-0125-4

73. Humbert M, Ghofrani HS. The molecular targets of approved treatments for pulmonary arterial hypertension. *Thorax.* 2016;71(1):73–83. doi:10.1136/thoraxjnl-2015-207170

74. Bianco S, Robuschi M, Vaghi A, Fumagalli A, Sestini P. Inhaled transmembrane ion transport modulators and non-steroidal anti-inflammatory drugs in asthma. *Thorax.* 2000;55(suppl 2): S48-S50.

75. Inokuchi R, Aoki A, Aoki Y, Yahagi N. Effectiveness of inhaled furosemide for acute asthma exacerbation: a meta-analysis. *Crit Care.* 2014;18(6):621. doi:10.1186/s13054-014-0621-y

76. Spicuzza L, Ciancio N, Pellegrino R, Bellofiore S, Polosa R, Ricciardolo FL et al. The effect of inhaled furosemide and acetazolamide on bronchoconstriction induced by deep inspiration in asthma. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2003;59(2):150–154.

77. Cavaliere F, Masieri S. Furosemide protective effect against airway obstruction. *Curr Drug Targets.* 2002;3(3):197–201.

78. Masoumi K, Forouzan A, Shoushtari MH, Porozan S, Feli M, Sheidaee MFB et al. The efficacy of nebulized furosemide and salbutamol compared with salbutamol alone in reactive

airway: a double blind randomized, clinical trial. *Emerg Med Int.* 2014;2014:638102. doi:10.1155/2014/638102

79. Bialasiewicz P, Wlodarczyk A, Dudkiewicz B, Nowak D. Inhibitory effect of furosemide on activation of human peripheral blood polymorphonuclear leukocytes stimulated with n-gormyl-methionyl-leucyl-phenylalanine. *Int. Immunopharmacol.* 2004;4(6):819–831. doi:10.1016/j.intimp.2004.01.024

80. Iwamoto LM, Fujiwara N, Nakamura KT, Wada RK. Na-K-2Cl cotransporter inhibition impairs human lung cellular proliferation. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol Physiol.* 2004;287(3): L510-L514. doi:10.1152/ajplung.00021.2004

81. Salvi SS. al-Adrenergic hypothesis for pulmonary hypertension. *Chest.* 1999;115(6):1708–1719.

82. Molimard M, Naline E, Hirsch A, Advenier C. Furosemide inhibits bradykinin-induced contraction of human bronchi: role of thromboxane A2 receptor antagonism. *Eur J Pharmacol.* 1995;278(3):253–256.

83. Meyer JW, Flagella M, Sutcliffe RL, Lorenz JN, Nieman ML, Weber GS, et al. Decreased blood pressure and vascular smooth muscle tone in mice lacking basolateral Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter. *Am J Physiol.* 2002;283(5): H1846-H1855. doi:10.1152/ajpheart.00083.2002

84. Fortuno A, Muniz P, Ravassa S, Rodriguez JA, Fortuno A, Zalba G et al. Torasemide inhibits angiotensin II-induced vasoconstriction and intracellular calcium increase in the aorta of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* 1999;34(1): 138–143.

85. Shen B, Fu J, Guo J, Zhang J, Wang X, Pan X et al. Role of Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter 1 in phenylephrine-induced rhythmic contraction in the mouse aorta: regulation of Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter 1 by Ca²⁺ sparks and KCa channels. *Cell Physiol Biochem.* 2015;37(2):747–758. doi: 10.1159/000430392

Информация об авторах

Орлов Сергей Николаевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией физико-химии биологических мембран ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, главный сотрудник ФГБОУ ВО Сибирский ГМУ Минздрава России;

Гусакова Светлана Валерьевна — заведующая кафедрой биофизики и функциональной диагностики ФГБОУ ВО Сибирский ГМУ Минздрава России.

Author information

Sergey N. Orlov, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Laboratory of Physics and Chemistry of Biological Membranes, Faculty of Biology, MV Lomonosov Moscow State University, Siberian Medical State University;

Svetlana V. Gusakova, MD, Head, Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian Medical State University.

ISSN 1607-419X
ISSN 2411-8524 (Online)
УДК 612.146:616.1

Влияние синтетического аналога фактора активации тромбоцитов 1-алкил-2-алкилкарбомуилглицерина на сократительные свойства сосудистых гладкомышечных клеток

С. В. Гусакова¹, В. С. Рыдченко¹,
Л. В. Смаглий¹, М. Б. Плотников²,
Г. А. Чернышева², О. С. Тарасова³, С. Н. Орлов^{1,3}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия

³ Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», Москва, Россия

Контактная информация:

Гусакова Светлана Валерьевна,
ФГБОУ ВО Сибирский ГМУ
Минздрава России,
Московский тракт, д. 2, Томск,
Россия, 634050.
Тел.: +7(3822)90–98–27.
E-mail: gusacova@yandex.ru

*Статья поступила в редакцию
15.05.17 и принята к печати 23.06.17.*

Резюме

Цель исследования — изучить влияние синтетического аналога фактора активации тромбоцитов, полученного на основе 1-алкил-2-алкилкарбомуилглицерина, на тонус гладкомышечных клеток сосудов и показатели системной гемодинамики. **Материалы и методы.** Исследовали вазодилатационные свойства препарата из группы 1-алкил-2-алкилкарбомуилглицеринов — 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбомуилглицерин. Системное артериальное давление, ударный объем и частоту сердечных сокращений регистрировали на аппаратном комплексе Вiorас у крыс Вистар через 3 часа после внутривенного введения препарата. Изменение механического напряжения изолированных сегментов аорты крыс Wistar и SHR, предсокращенных фенилэфрином и неизоосмотическими растворами, изучали с использованием механографической установки Myobath IV. Изменение сократительной активности мелких артерий брыжейки, артерии икроножной мышцы и междольевых артерий почки крыс линий Wistar, предсокращенных метоксамином, регистрировали с помощью системы Wire Myograph 620 M. **Результаты.** 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбомуилглицерин снижает артериальное давление при внутривенном введении крысам за счет выраженного снижения удельного периферического сопротивления, но не оказывает выраженного расслабляющего эффекта при действии на изолированные сосуды, предсокращенные активаторами α_1 -адренорецепторов фенилэфрином и метоксамином. 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбомуилглицерин снижает величину гипер-, гипо- и изоосмотического сокращения сегментов аорты крыс Wistar, но увеличивает (изоосмотическое сокращение) или не изменяет (гипер- и гипоосмотическое сокращение) ее в сегментах, полученных от крыс линии SHR. **Заключение.** Гипотензивное действие 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбомуилглицерина не обусловлено прямым действием на клетки сосудов и, вероятно,

вовлекает нервные и/или гуморальные механизмы регуляции давления. Вместе с тем 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин снижает амплитуду сокращений, индуцированных инкубацией в неизоосмотической среде у нормотензивных, но не гипертензивных крыс, что свидетельствует о возможном вовлечении НКСС в механизмы действия препарата.

Ключевые слова: 1-алкил-2-алкилкарбамоилглицерин, 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин, сосудистые гладкомышечные клетки, антигипертензивный препарат

Для цитирования: Гусакова С. В., Рыдченко В. С., Смазлий Л. В., Плотников М. Б., Чернышева Г. А., Тарасова О. С., Орлов С. Н. Влияние синтетического аналога фактора активации тромбоцитов 1-алкил-2-алкилкарбамоилглицерина на сократительные свойства сосудистых гладкомышечных клеток. Артериальная гипертензия. 2017;23(5):373–382. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-373-382

Influence of synthetic analog of platelet activation factor 1-alkyl-2-alkylcarbomoilglycerine on vascular smooth muscle cells contractile properties

S. V. Gusakova¹, V. S. Rydchenko¹,
L. V. Smaglii¹, M. B. Plotnikov²,
G. A. Chernysheva², O. S. Tarasova³, S. N. Orlov^{1,3}
¹ Siberian Medical State University, Tomsk, Russia
² Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk, Russia
³ Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Corresponding author:
Svetlana V. Gusakova,
Siberian Medical State University,
2 Moskovskiy trakt, Tomsk,
634050 Russia.
Phone: +7(3822)90–98–27.
E-mail: gusakova@yandex.ru

Received 15 May 2017;
accepted 23 June 2017.

Abstract

Objective. To study the effect of the synthetic analog of the platelet activation factor (based on the 1-alkyl-2-alkylcarbamoil-glycerol) on the tone of vascular smooth muscle cells and hemodynamic parameters. **Design and methods.** We studied the vasodilator properties of 1-O-hexadecyl-2-O-methylcarbamoilglycerol, the substance from the group of 1-alkyl-2-alkylcarbamoilglycerols. Systemic arterial pressure, stroke volume and heart rate were recorded by the Biopac hardware complex in Wistar rats 3 hours after intragastric administration of the drug. We studied (the Myobath II Tissue bath system) mechanical tension of isolated aortic segments from Wistar and SHR rats precontracted with phenylephrine and nonisosmotic solutions. Using the Wire Myograph 620M system, we recorded changes in the contractility of the small mesenteric arteries, the artery of the gastrocnemius muscle and the renal interlobar arteries of the Wistar rats precontracted with methoxamine. **Results.** 1-O-hexadecyl-2-O-methylcarbamoilglycerol decreased arterial pressure in Wistar rats after intragastric administration due to the decrease in specific peripheral resistance, but does not exert an evident relaxation acting on isolated vessels pre-reduced by activation of α_1 -adrenoreceptors with phenylephrin and methoxamine. 1-O-hexadecyl-2-O-methylcarbamoilglycerol reduced the hyper-, hypo-, and isoosmotic contraction of the aortic segments from Wistar rats, but increased (isoosmotic contraction) or did not change (hyper- and hypoosmotic contraction) it in the vessels obtained from SHR rats. **Conclusions.** The pressure reducing effect of 1-O-hexadecyl-2-O-methylcarbamoilglycerol is not due to direct action on vascular cells. It might involve nervous/humoral

mechanisms of blood pressure regulation. However, 1-O-hexadecyl-2-O-methylcarbamoylglycerol reduces the contraction amplitude induced by incubation in the non-isoosmotic environment in normotensive rats. However, the effect is not present in hypertensive rats indicating the possible involvement of NKCC in the mechanisms of the drug substance.

Key words: 1-alkyl-2-alkylcarbamoylglycerol, 1-O-hexadecyl-2-O-methylcarbamoylglycerol, vascular smooth muscle cells, antihypertensive drug

For citation: Gusakova SV, Rydchenko VS, Smaglii LV, Plotnikov MB, Chernysheva GA, Tarasova OS, Orlov SN. Influence of synthetic analog of platelet activation factor 1-alkyl-2-alkylcarbamoylglycerine on vascular smooth muscle cells contractile properties. Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension. 2017;23(5):373–382. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-373-382

Введение

Артериальная гипертензия (АГ) является одним из наиболее распространенных заболеваний и причиной смертности населения от сердечно-сосудистых заболеваний во всем мире. АГ в мире страдают 1,2 миллиарда людей. Несмотря на наличие большого спектра соединений, снижающих артериальное давление (АД), рынок антигипертензивных лекарств продолжает привлекать большое внимание фармакологических компаний. Это объясняется как полигенной природой гипертонической болезни, так и побочными действиями имеющихся антигипертензивных лекарств. Так, например, блокаторы потенциал-зависимых Ca^{2+} каналов наряду со снижением системного АД (САД) блокируют миогенный тонус сосудов, что может провоцировать появление побочных эффектов, обусловленных избыточной вазодилатацией (сердцебиение, головная боль, головокружение, ощущение жара, значительное снижение АД) [1]. Резкое снижение АД в свою очередь может приводить к опосредованному через барорефлекс повышению симпатического тонуса [2], а отмена этих препаратов может способствовать повторному росту кровяного давления вследствие повышения чувствительности гладкомышечных клеток сосудов к Ca^{2+} и развития спазма коронарных и периферических артерий [3]. К таким же нежелательным последствиям приводит длительное использование петлевых диуретиков, которые подавляют миогенный тонус афферентных артериол почки. β -блокаторы наряду с подавлением кардиотропных симпатических влияний вызывают сокращение гладких мышц воздухопроводящих путей и потому не могут быть использованы для снижения АД у больных бронхиальной астмой.

Одним из биологических эффектов фактора активации тромбоцитов (ФАТ) (1-О-алкил-2-ацетил-Sn-глицеро-3-фосфохолин) является его сосудорелаксирующее действие. Известно несколько путей синтеза ФАТ в организме человека. ФАТ продуцируется при остром воспалительном ответе нейтрофилами [4], моноцитами [5], а также некоторыми

другими клетками [6, 7] путем ремоделирования липидов клеточных мембран, гидролизирования остатка арахидоновой кислоты и замещения его ацетатом с образованием мембраносвязанного прекурсора ФАТ — алкил-2-арахидоилглицерофосфохолина [8, 9]. Другой путь синтеза ФАТ не связан с воспалением и заключается в его синтезе *de novo* из 1-О-алкил-Sn-глицеро-3-фосфата путем встраивания ацетата, удаления остатка фосфорной кислоты и замещения его на фосфохолин [7].

ФАТ действует через специфические рецепторы на мембранах различных клеток [10], к числу которых относятся нейтрофилы, макрофаги, эозинофилы, гладкомышечные клетки сосудов и эндотелиальные клетки [11]. По предположению S.-B. Hwang (1988) [12], возможно существование внутриклеточного рецептора к ФАТ.

Установлено, что у человека и различных видов животных ФАТ проявляет выраженное сосудорасслабляющее действие [13–15]. Так, ФАТ, введенный в почечный кровоток кролика, вызывал длительное дозозависимое расслабление почечных сосудов, тогда как антагонисты рецептора ФАТ (WEB 2086 и yangambin) потенцировали рост перфузионного давления в почечных артериях [16]. Механизмы вазодилатирующего действия ФАТ могут вовлекать различные пути сигнальной трансдукции [17] с участием циклического аденозинмонофосфата, циклического гуанозинмонофосфата, инозитол-1,4,5-трифосфата, кальция [18–20]. Рядом исследований показано, что вызываемое ФАТ расслабление сосудистых гладких мышц чувствительно к действию ингибитора NO-синтазы и сопровождается усиленным синтезом сосудорасширяющих факторов NO и EDHF (endothelium-derived hyperpolarizing factor) [21–23].

Однако гипотензивное действие ФАТ непродолжительно. У крыс, получавших инъекции ФАТ в дозах до 1 мкг/кг, показатели АД полностью нормализовались уже через 15–30 минут, а увеличение дозы до 10 мкг/кг вызывало нарушение целостности эндотелия, проникновение плазмы в прилегающие к сосудам ткани, воспалительную

реакцию и метаболический ацидоз, которые через несколько часов завершались смертью животных [24]. Поэтому нами была выбрана группа синтетических структурных аналогов ФАТ, которые одновременно являются биохимическими предшественниками ФАТ в *de novo* пути биосинтеза, 1-алкил-2-алкилкарбамоилглицерины. В частности, мы исследовали соединение из группы 1-алкил-2-алкилкарбамоилглицеринов — 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин, оценивали его действие на показатели системной гемодинамики и тонус изолированных сосудов.

Материалы и методы

Объектом исследования является лекарственное средство (ЛС) на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина, продукцию которого проводили в соответствии с лабораторным разработанным регламентом [24]. Проведение экспериментальных исследований одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО Сибирский ГМУ Минздрава России.

Измерение показателей системной гемодинамики

Эксперименты проведены на 12 половозрелых аутбредных крысах-самцах Wistar массой 230–260 г, возраст 3–4 месяца, которые были получены из клиники лабораторных животных научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е. Д. Гольдберга Томского национального исследовательского медицинского центра (сертификат здоровья лабораторных животных № 188–05, выданный государственным учреждением «Научный центр биомедицинских технологий» Российской академии медицинских наук). Содержание крыс осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986).

Животным из контрольной группы (6 крыс) за 3 часа до начала эксперимента однократно внутривенно вводили 1-процентную крахмальную слизь, а животным из опытной группы (6 крыс) — ЛС на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина в дозе 10 мг/кг в виде взвеси в 1-процентной крахмальной слизи.

САД регистрировали прямым методом в бедренной артерии на аппаратном комплексе Biopac (Biopac System, Inc., США) через тefлоновый катетер, имплантированный в правую бедренную артерию. Катетер заполняли физиологическим раствором натрия хлорида с гепарином (50 ед/мл). Крыс наркотизировали внутривенно уретаном (1 г/кг). Частоту сердечных сокращений (ЧСС)

определяли по электрокардиограмме. Ударный объем (УО) определяли методом импедансометрии на аппаратном комплексе Biopac (Biopac System, Inc., США). Минутный объем крови (МОК) рассчитывали по формуле: $МОК = ЧСС \times УО$. Удельное периферическое сопротивление (УПС) рассчитывали по формуле: $УПС = САД / МОК / \text{масса животного (кг)}$.

Исследования на изолированных сосудах крыс

Исследования на изолированных сосудах крыс проводились в изометрическом режиме с использованием четырехканальной механографической установки Myobath II (WPI, Германия) и системы Wire myograph 620 M (DMT A/S, Дания). Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществлялись в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Крыс умерщвляли путем декапитации.

Исследования с использованием четырехканальной механографической установки Myobath II (WPI, Германия)

Объектом исследования служили сегменты грудного отдела аорты крыс-самцов Wistar и крыс со спонтанной гипертензией линии SHR. Грудную часть аорты помещали в физиологически сбалансированный солевой раствор Кребса, удаляли жировую и соединительную ткань и выделяли кольцевые сегменты шириной 2–3 мм. Эндотелий удаляли механически, вращением деревянного шпателя в просвете сегмента в течение 1 минуты непосредственно перед выполнением эксперимента.

Кольцевые сегменты аорты крысы фиксировали в рабочей камере объемом 10 мл и растягивали нагрузкой 500 мг. Камеру заполняли физиологическим раствором Кребса и термостатировали при 37 °C в течение 50 минут при pH = 7,4. Сокращения индуцировали гиперкалиевым раствором, который готовили путем эквимольного замещения 30 mM NaCl на KCl, а затем активатором α_1 -адренорецепторов фенилэфрином (ФЭ) (10^{-5} мкМ). Амплитуду сократительных ответов рассчитывали в процентах от амплитуды сокращения, вызванного гиперкалиевым раствором Кребса или ФЭ, которые принимали за 100 %. Сокращения вызывали также помещением сегментов аорты в гиперосмотический раствор Кребса (содержащий 150 mM сахарозы) и гипоосмотический раствор Кребса (содержащий 40,4 mM NaCl) с последующим возвращением в нормальный раствор Кребса (120 mM NaCl), что индуцировало развитие изоосмотической стрикции.

Исследования с использованием системы Wire Myograph 620 M (DMT A/S, Дания)

Объектом исследования служили мелкие артерии брыжейки (2–3 порядка ветвления верхней брыжеечной артерии), артерия икроножной мышцы и междольевые артерии почки крыс Wistar. Из артерий вырезали сегменты длиной 2 мм. Каждый из кольцевых препаратов с помощью двух натянутых струн из нержавеющей стали (диаметр 40 мкм) закрепляли между головками миографа, одна из которых была соединена с тензометрическим датчиком, а другая — с микрометром, с помощью которого устанавливалось расстояние между струнами (растяжение препарата). Камеру миографа заполняли раствором Кребса и термостатировали при 37 °C (30–40 минут), после чего определяли оптимальное растяжение препарата [24]. Препараты активировали однократным добавлением норадреналина (10^{-5} М), а затем двукратным добавлением метоксамина (МА) (агонист α_1 -адренорецепторов, 10^{-5} М). Функциональную активность эндотелия оценивали путем добавления активатора эндотелиальной NO-синтазы ацетилхолина (10^{-5} М).

Статистический анализ

Статистический анализ данных проводили при помощи программы Statistica 7.0 for Windows фирмы Statsoft. Фактические данные представлены в виде «среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего» ($\bar{X} \pm m$). Для определения характера распределения полученных данных использовали критерий нормальности Колмогорова–Смирнова. Сформированные выборки не подчинялись закону нормального распределения, поэтому для проверки статистических гипотез были использованы непараметриче-

ские критерии. Для проверки гипотезы об однородности двух независимых выборок использовался U-критерий Манна–Уитни (Mann–Whitney U test). Для проверки однородности парных или зависимых выборок был использован T-критерий Уилкоксона (Wilcoxon matched pairs test). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Влияние 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоил-глицерина на показатели гемодинамики

У наркотизированных крыс Wistar контрольной группы были зарегистрированы показатели гемодинамики, соответствующие видовым физиологическим значениям (табл. 1) [26].

У животных опытной группы введение ЛС на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоил-глицерина в дозе 10 мг/кг приводило к увеличению УО сердца на 53 %, увеличению ЧСС на 8 %, росту МОК на 69 %, снижению УПС на 51 % и уменьшению САД на 16 % по сравнению с контрольной группой животных. При этом диастолическое давление снижалось в большей степени, чем систолическое (на 22 % и 10 % соответственно), что способствовало возрастанию пульсового давления на 45 % (табл. 1).

Влияние 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоил-глицерина на механическое напряжение изолированных сегментов кровеносных сосудов

Исследование влияния 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина на тонус изолированных кровеносных сосудов в системе Wire Myograph

Исследование влияния ЛС на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина на сократи-

Таблица 1

ВЛИЯНИЕ ОДНОКРАТНОГО ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОГО ВВЕДЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ 1-О-ГЕКСАДЕЦИЛ-2-О-МЕТИЛКАРБАМОИЛГЛИЦЕРИНА В ДОЗЕ 10 МГ/КГ НА ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ

Показатель	Группа животных	
	Контроль (n = 6)	Опыт (n = 6)
Масса, г	370 $\pm$ 20	373 $\pm$ 13
ЧСС, мин ⁻¹	403 $\pm$ 11	434 $\pm$ 7*
САД, мм рт. ст.	101 $\pm$ 3	85 $\pm$ 3*
СД, мм рт. ст.	106 $\pm$ 3	95 $\pm$ 4*
ДД, мм рт. ст.	95 $\pm$ 3	77 $\pm$ 2*
ПД, мм рт. ст.	11 $\pm$ 2	16 $\pm$ 5*
УО, мл	0,15 $\pm$ 0,02	0,23 $\pm$ 0,03*
МОК, мл $\times$ мин ⁻¹	60,9 $\pm$ 8,9	99,7 $\pm$ 9,8*
УПС, дин $\times$ с $\times$ см ⁻⁵ $\times$ кг ⁻¹	396795 $\pm$ 54621	194359 $\pm$ 20496*

Примечание: ЧСС — частота сердечных сокращений; САД — системное артериальное давление; СД — систолическое давление; ДД — диастолическое давление; ПД — пульсовое давление; УО — ударный объем; МОК — минутный объем кровообращения; УПС — удельное периферическое сопротивление; * — $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

**ВЛИЯНИЕ 1-О-ГЕКСАДЕЦИЛ-2-О-МЕТИЛКАРБАМОИЛГЛИЦЕРИНА
НА МЕХАНИЧЕСКОЕ НАПРЯЖЕНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ СОСУДОВ КРЫСЫ (%)**

Объект исследования	Концентрация, М					
	10^{-9}	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}
Аорта (Wistar), n = 6	99,4 ± 0,2	97,3 ± 0,3	96,6 ± 0,6	93,9 ± 0,7*	92,7 ± 0,7*	91,3 ± 0,6*
Аорта (SHR), n = 6	94,3 ± 0,6*	92,8 ± 1,0*	88,9 ± 1,1*	88,1 ± 0,4*	81,1 ± 1,7*	80,8 ± 2,3*
Малые артерии брыжейки (Wistar), n = 4	99,2 ± 2,3	89,8 ± 4,7*	99,2 ± 1,1	100,2 ± 1,6	90,8 ± 12,7	101,1 ± 2,8
Артерия икроножной мышцы (Wistar), n = 4	92,9 ± 4,8	88,4 ± 6,5*	89,2 ± 5,5*	89,4 ± 5,0*	88,6 ± 4,7*	77,2 ± 6,1*
Междолевые артерии почки (Wistar), n = 4	100,1 ± 0,7	98,2 ± 1,8	98,6 ± 0,4	97,8 ± 0,4	94,4 ± 0,3*	92,6 ± 1,2*

Примечание: SHR (spontaneously hypertensive rats) — линия спонтанно гипертензивных крыс; * — $p < 0,05$ (в сравнении с контрольным сокращением, амплитуда которого принималась за 100%).

тельную активность гладкомышечных клеток артерий методом Wire Myograph показало, что препарат не оказывал существенного влияния на величину механического напряжения (МН) сосудов (брыжеечных артерий, артерии икроножной мышцы и междолевых артерий почки крыс Wistar), предсокращенных 2×10^{-5} М МА, однако наблюдалась тенденция к их расслаблению, более выраженная в артерии икроножной мышцы крысы (табл. 2).

Исследование влияния 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина на тонус сегментов аорты крысы, предсокращенных фенилэфрином

В исследованиях, проведенных на сегментах грудного отдела аорты крыс с использованием установки Myobath II, получено, что в условиях предсокращения сегментов грудного отдела аорты крыс ФЭ ЛС на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина наблюдается тенденция к дозозависимому снижению МН в препаратах, полученных как от крыс линии Wistar, так и от гипертензивных крыс линии SHR. При этом более выраженное расслабление наблюдалось в сегментах аорты, полученной от крыс линии SHR (табл. 2).

Исследование влияния 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина на сократительные ответы сегментов аорты крысы в неизоосмотической среде

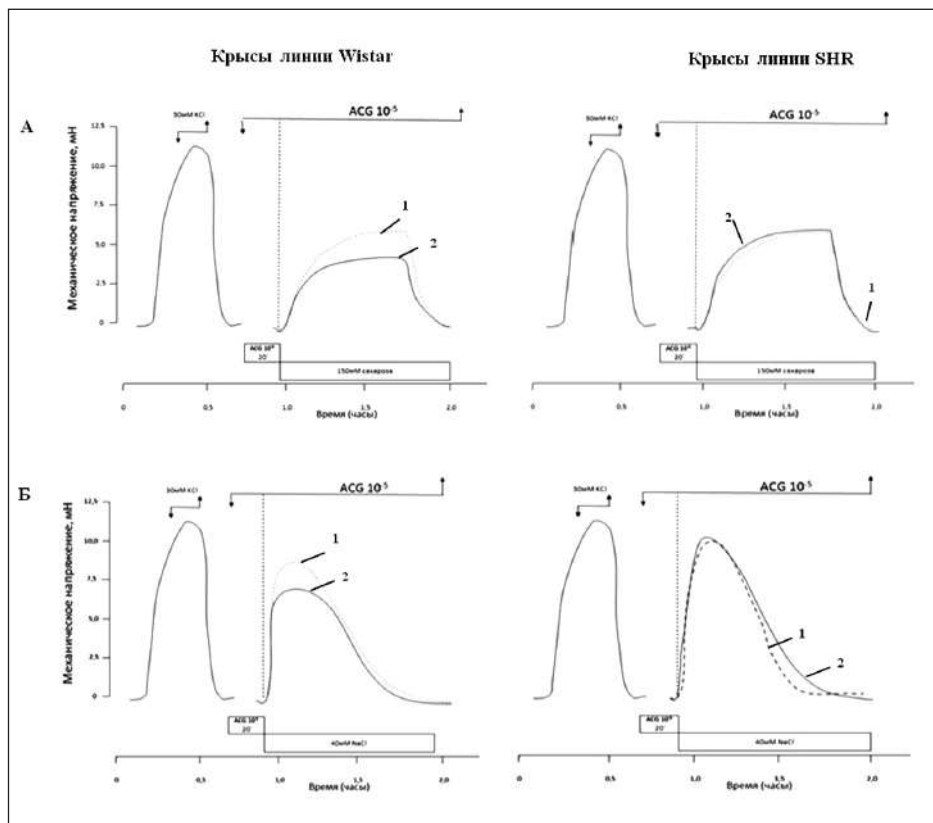
Изменение осмолярности среды вызывает развитие сокращений сосудистых гладкомышечных клеток (СГМК). Одним из способов изменения объема клеток является их помещение в гиперосмолярную среду, которая вызывает сжатие/стрикцию. Бы-

ло исследовано влияние ЛС на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина на сокращения, вызванные модифицированным раствором Кребса, содержащим 150 мМ сахарозы в качестве непроницающего осмолита. Предобработка сегментов аорты крыс Wistar 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерином (10^{-5} М) в течение 20 минут уменьшала амплитуду сокращений, вызванных гиперосмотическим раствором, на $15,7 \pm 0,2\%$ ($n = 4$, $p < 0,05$) в сравнении с величиной гиперосмотического сокращения в отсутствие 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина, но несущественно повышала величину гиперосмотического сокращения аорты крыс SHR на $5,6 \pm 0,2\%$ ($n = 4$) (рис. 1 А).

Снижение осмотического давления физиологического раствора путем уменьшения содержания в нем NaCl до 40,4 мМ ведет к быстрому развитию транзиторного сокращения гладкомышечных сегментов аорты крысы. 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин (10^{-5} , предобработка 20 минут) снижал амплитуду сокращений сегментов аорты крыс Wistar, индуцированных гипоосмотическим набуханием, на $26,5 \pm 0,1\%$ ($n = 4$, $p < 0,05$) в сравнении с данными, полученными в отсутствие 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина, но не влиял на амплитуду гипоосмотического сокращения гладкомышечных сегментов аорты крыс линии SHR (рис. 1 Б).

Для получения изоосмотической стрикции сегменты аорты выдерживали в гипоосмотической среде в течение 60 минут, затем производили восстановление осмолярности раствора до 120 мМ NaCl с добавлением 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина (10^{-5} М). Амплитуда изоосмотиче-

Рисунок 1. Влияние лекарственного средства на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина (10^{-5} М) на сокращение гладкомышечных клеток аорты крыс Wistar и крыс линии SHR, индуцированное гиперосмотическим (А) и гипоосмотическим раствором (Б)



Примечание: SHR (spontaneously hypertensive rats) — линия спонтанно гипертензивных крыс; по оси ординат — механическое напряжение (мН); по оси абсцисс — время (часы). Стрелками показаны добавление и удаление соответствующих растворов: 1 — контроль, 2 — опыт.

ской стрикции в присутствии препарата снизилась на $25,9 \pm 0,4\%$ ($n = 4$, $p < 0,05$) в сегментах аорты крыс Wistar, но увеличилась на $39,8 \pm 2,1\%$ ($n = 4$, $p < 0,05$) в сегментах аорты крыс линии SHR, в сравнении с величиной изоосмотического сокращения в отсутствие 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина (рис. 2).

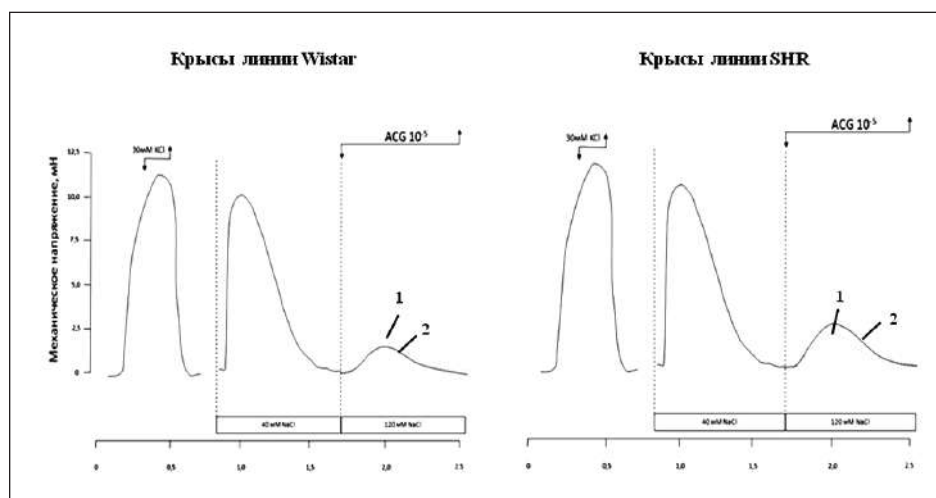
Обсуждение

1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин является аналогом ФАТ. Ранее было показано, что рецепторы к ФАТ представлены в мембранах гладкомышечных и эндотелиальных клеток сосудов [11]. Взаимодействие ФАТ с рецепторами стимулирует расслабление сосудов [13–15], в частности в почечных артериях, а антагонисты ФАТ — их констрикцию [16]. Использование ФАТ затруднено в связи с кратковременностью его гипотензивного действия, поэтому синтетические структурные аналоги ФАТ, обладающие более продолжительным действием, представляют интерес как кандидаты на роль нового антигипертензивного препарата. Рассмотренный в статье 1-О-гексадецил-2-О-метил-

карбамоилглицерин является представителем группы 1-алкил-2-алкилкарбамоилглицеринов — структурных аналогов ФАТ [24].

При внутрижелудочном введении ЛС на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина (10 мг/кг) крысам Wistar наблюдалось умеренное снижение АД (в большей степени диастолического) за счет выраженного снижения общего периферического сопротивления сосудов. Учитывая сведения об экспрессии рецепторов ФАТ СГМК, мы исследовали влияние 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина на МН кольцевых сосудистых сегментов, полученных от артерий различного уровня (аорта, брыжеечные и почечные артерии, артерии икроножной мышцы). Полученные результаты не выявили выраженного сосудорасслабляющего эффекта ЛС на изолированные сосудистые сегменты, предсокращенные ФЭ и МА — активаторами α_1 -адренергических рецепторов. Однако в ряде сегментов наблюдалась тенденция к снижению их МН при действии препарата. Полученные результаты позволяют предположить, что антигипертензивное действие препарата, вероятно, реализуется

Рисунок 2. Влияние лекарственного средства на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина (10^{-5} М) на изоосмотическую стрикцию гладкомышечных клеток аорты крысы Wistar и крысы линии SHR



Примечание: SHR (spontaneously hypertensive rats) — линия спонтанно гипертензивных крыс; по оси ординат — механическое напряжение (мН), по оси абсцисс — время (часы). Стрелками показаны добавление и удаление соответствующих растворов: 1 — контроль, 2 — опыт.

посредством неких системных механизмов, которые предстоит изучить.

В экспериментах с изменением осмолярности среды выявлено, что 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин оказывает разнонаправленное действие на сегменты аорты крыс Wistar и SHR: препарат снижал амплитуду гипер-, гипо-, изоосмотических сокращений в сегментах аорты крыс Wistar, но увеличивал (изоосмотическая стрикция) или не изменял (гипер- и гипоосмотические сокращения) амплитуду сокращений в сегментах аорты крысы линии SHR.

Ключевую роль в обеспечении сокращений сосудистых гладких мышц в неизоосмотической среде играют неравновесное распределение ионов хлора и деполяризующие хлорные токи. Среди ранних механизмов регуляторного увеличения объема, запускаемого гиперосмотической стрикцией, важную роль играют Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорт (NKCC) и Na^+/H^+ обмен. Сокращение в гипоосмотической среде обусловлено оперированием классических кальций-зависимых механизмов и индуцируется Cl^- -зависимой деполяризацией мембраны и открытием Ca^{2+} -каналов L-типа. Транзиторный характер сокращения при изоосмотической стрикции обусловлен восстановлением объема клеток, опосредованным активацией NKCC [27].

Разнонаправленное действие 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина на артерии крыс Wistar и SHR может быть связано с различием механизмов регуляции СГМК в норме и при развитии артериальной гипертензии. Так, у нормотензивных

крыс ЛС на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина блокирует NKCC. Bianchi G. и соавторы (1985) показали, что в эритроцитах F_2 гибридов SHR и нормотензивных крыс активность NKCC положительно коррелирует с величиной кровяного давления, а Flagella M. и соавторы (1999) установили, что генетически модифицированные мыши, имеющие нокаутированный ген NKCC1, (NKCC1^{-/-} knockout mice) характеризуются пониженной величиной кровяного давления и снижением тонуса и величины сократительных реакций сегментов СГМК при действии α_1 -адреноагониста ФЭ [28, 29]. Эти наблюдения еще раз подтверждают вовлечение NKCC в развитие артериальной гипертензии.

Заключение

Синтетический аналог ФАТ 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин оказывает гипотензивное действие при внутрижелудочном введении крысам за счет выраженного снижения УПС сосудов, однако при действии препарата на изолированные сосуды, предсокращенные активаторами α_1 -адренорецепторов, выраженного сосудорасслабляющего эффекта не выявлено, что позволяет предположить системные (нервные и/или гуморальные) механизмы гипотензивного действия 1-О-гексадецил 2-О-метилкарбамоилглицерина. Вместе с тем 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин снижает амплитуду сокращений, индуцированных инкубацией в неизоосмотической среде у нормотензивных, но не гипертензивных крыс, что

свидетельствует о возможном вовлечении НКСС в механизмы действия препарата.

Финансирование исследования / Financial support

Работа выполнена при финансовой поддержке Федеральной целевой программы (Государственный контракт № 14.N08.12.0029). / The work was supported by the Federal Goal-Oriented Program (Governmental contract № 14.N08.12.0029).

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Martsevich SY, Koutishenko N, Metelitsa VI. Withdrawal effects of antianginal therapy: comparison of isosorbide dinitrate and nifedipine. *Int J Cardiol.* 1998;64(2):137–44.
2. Ruzicka M, Leenen FH. Relevance of 24 hour blood pressure profile and sympathetic activity for outcome on short- vs long-acting 1,4-dihydropyridines. *Am J Hypertens.* 1996;9(1):86–94.
3. Окорочков А. Н. Лечение болезней внутренних органов: Практик. руководство: в 3 т. Т. 3. Витебск: Белмедкнига; 1997. 464 с. [Okorokov AN. Treatment of diseases of internal organs: Practical guide: In 3 vol. T 3. Vitebsk: Belmedkniga; 1997. 464 p. In Russian].
4. Vfrano F, Bussolati B, Migliori M, Russo S, Triolo G, Camussi G. Platelet-activating factor synthesis by neutrophils, monocytes, and endothelial cells is modulated by nitric oxide production. *Shock.* 2003;19(4):339–344.
5. Elstadt MR, Prescott SM, McIntyre TM, Zimmerman GA. Synthesis and release of platelet-activating factor by stimulated human mononuclear phagocytes. *J Immunol.* 1988;140(5):1618–1624.
6. Ishii S, Nagase T, Shimizu T. Platelet-activating factor receptor. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2002;68–69:599–609.
7. Prescott SM, Zimmerman GA, Stafforini DM, McIntyre TM. Platelet activating factor and related lipid mediators. *Annu Rev Biochem.* 2000;69:419–445.
8. Farooqui AA, Horrocks LA. Plasmalogens, platelet-activating factor, and other ether glycerolipids. In: *Bioactive Lipids*; 2004. P. 107–134.
9. McIntyre TM, Prescott SM, Stafforini DM. The emerging roles of PAF acetylhydrolase. *J Lipid Res.* 2009;50: S255–S259.
10. Shukla SD. Platelet activating factor receptor and signal transduction mechanisms. *FASEB J.* 1992;6(6):2296–2301.
11. Каде А. Х., Занин С. А., Губарева Е. А., Турова А. Ю., Богданова Ю. А., Апсальмова С. О. и др. Физиологические функции сосудистого эндотелия. Фундаментальные исследования. 2011;11(3):611–617. [Kade AK, Zanin SA, Gubareva EA, Turanova A. Y., Bogdanova Y. A., Apsalyamova S. O et al. Physiological functions of vascular endothelium. *Fundamental'nye Issledovaniya = Fundamental Investigations.* 2011;11(3): 611–617. In Russian].
12. Hwang S-B. Identification of a second putative receptor of platelet-activating factor from human polymorphonuclear leukocytes. *J Biol Chem.* 1988;263(7):3225–3233.
13. Argiolas L, Fabi F, del Basso P. Mechanisms of pulmonary vasoconstriction and bronchoconstriction produced by PAF in guinea-pig: role of platelets and cyclooxygenase metabolites. *J Pharmacol.* 1995;114(1):203–209.
14. Ibe BO, Portugal AM, Raj JU. Metabolism of platelet activating factor by intrapulmonary vascular smooth cells: effect of oxygen on phospholipase A2 protein expression and activities of acetyl-CoA acetyltransferase and choline-phosphotransferase. *Mol Genet Metab.* 2002;77(3):237–248.
15. Toga H, Hibler S, Ibe BO, Raj JU. Vascular effects of platelet-activating factor in lambs: role of cyclo- and lipoxygenase. *J Appl Physiol.* 1992;73(6):2559–2566.
16. Cailleaux S, Lopes-Martins RA, Aimbire F, Cordeiro RS, Tibiriçá E. Involvement of platelet-activating factor in the modulation of vascular tone in the isolated perfused rabbit kidney. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 1999;359(6):505–511.
17. Ferguson SSG, Barak LS, Zhang J, Caron MG. G protein-coupled receptor regulation: role of G protein-coupled receptor kinases and arrestins. *Can J Physiol Pharmacol.* 1996;74(10): 1095–1110.
18. Lee J-H, Johnson PRA, Roth M, Hunt NH, Black JL. ERK activation and mitogenesis in human airway smooth muscle cells. *Am J Physiol.* 2001;280(5): L1019–L1029.
19. Lin A-Y, Rui Y-C. Platelet activating factor induced calcium mobilization and phosphoinositide metabolism in cultured cerebral microvascular endothelial cells. *Biochim Biophys Acta.* 1994;1224(2):323–328.
20. Rehrling TF, Brew EC, Friese RS, Banerjee A, Harken AH. Clinically accessible cell signaling: second messengers in sepsis and trauma. *J Surg Res.* 1996;60 (1):270–277.
21. Hirayama T, Ogawa Y, Tobise K, Kikuchi K. Mechanism of endothelium-dependent vasorelaxation evoked by lysophosphatidylcholine. *Hypertens Res.* 1998;21(3):137–145.
22. Noguchi K, Matsuzaki T, Shiroma N, Ojiri Y, Sakanashi M. Involvement of nitric oxide and eicosanoids in platelet-activating factor-induced haemodynamic and haematological effects in dogs. *Br J Pharmacol.* 1996;118(4):941–950.
23. Tanaka Y, Hayakawa S, Imai T, Akutsu A, Hirano H, Tanaka H. et al. Possible involvement of endothelium-derived hyperpolarizing factor in the depressor responses to platelet activating factor in rats. *Br J Pharmacol.* 2000;131(6):1113–1120.
24. Malekin SI, Kotelevtsev SV, Gavrilova SA, Fadyukova OE, Golubeva AV, Grinchenko MI et al. Long-term normalization of blood pressure in SHR and 1-kidney 1-clip rats by synthetic precursor of stable PAF analogue without systemic effects in normotensive rats. *Pathophysiology.* 2011;18(2):151–157.
25. Mulvany MJ, Halpern W. Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Circ Res.* 1977;41(1):19–26.
26. Трахтенберг И. М., Сова Р. Е., Шефтель В. О., Они-киенко Ф. А. Проблема нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы): под ред. И. М. Трахтенберга. М.: Медицина, 1991. 203 с. [Trakhtenberg IM, Sova RE, Sheftel VO, Onikienko FA. The problem of the norm in toxicology (modern concepts and methodological approaches, basic parameters and constants): ed. by I. M. Trakhtenberg. M.: Medicine; 1991. 203 p. In Russian].
27. Lang F, Ritter M, Gamper N, Huber S, Fillon S, Tanneur V et al. Cell volume in the regulation of cell proliferation and apoptotic cell death. *Cell Physiol Biochem.* 2000;10(5–6):417–428.
28. Bianchi G, Ferrari P, Trizio P, Ferrandi M, Torielli L et al. Red blood cell abnormalities and spontaneous hypertension in rats. A genetically determined link. *Hypertension.* 1985;7:319–325.
29. Flagella M, Clarke LL, Miller ML, Erway LC, Giannella RA et al. Mice lacking the basolateral Na-K-2Cl-cotransporter have impaired epithelial chloride secretion and are profoundly deaf. *J Biol Chem.* 1999;274:26946–26955.

Информация об авторах

Гусакова Светлана Валерьевна — доктор медицинских наук, заведующая кафедрой биофизики и функциональной диагностики ФГБОУ ВО Сибирский ГМУ Минздрава России;

Рыдченко Виктория Сергеевна — аспирантка кафедры биофизики и функциональной диагностики ФГБОУ ВО Сибирский ГМУ Минздрава России;

Смаглий Людмила Вячеславовна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры биофизики и функциональной диагностики ФГБОУ ВО Сибирский ГМУ Минздрава России;

Плотников Марк Борисович — доктор биологических наук, заведующий лабораторией фармакологии кровообращения ФГБНУ Томский НИИМЦ РАН;

Чернышева Галина Анатольевна — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения ФГБНУ Томский НИИМЦ РАН;

Тарасова Ольга Сергеевна — доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных биологического факультета ФГОУ ВПО МГУ им. М. В. Ломоносова;

Орлов Сергей Николаевич — доктор биологических наук, заведующий лабораторией физико-химии биологических мембран ФГОУ ВПО МГУ им. М. В. Ломоносова.

Author information

Svetlana V. Gusakova, MD, PhD, DSc, Head, Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University;

Viktoria S. Rydchenko, Postgraduate Student, Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University;

Liudmila V. Smaglii, MD, PhD, Associate Professor, Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University;

Mark B. Plotnikov, PhD in Biology Science, Head, Laboratory for Pharmacology Circulation, Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine;

Galina A. Chernysheva, MD, PhD, DSc, Senior Scientist, Laboratory for Pharmacology Circulation, Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine;

Olga S. Tarasova, PhD in Biology Science, DSc, Professor, Department of Human and Animals Physiology, Lomonosov Moscow State University;

Sergei N. Orlov, PhD in Biology, DSc, Professor, Head, Laboratory of Physico-Chemistry of Biological Membranes, Lomonosov Moscow State University.

ISSN 1607-419X
ISSN 2411-8524 (Online)
УДК 576:616.1

Rho-киназа как ключевой участник регуляции тонуса сосудов в норме и при сосудистых расстройствах

О. С. Тарасова, Д. К. Гайнуллина

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», Москва, Россия
Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

Контактная информация:

Тарасова Ольга Сергеевна,
ФГБОУ ВО МГУ
им. М. В. Ломоносова,
Ленинские горы, д. 1, стр. 12,
Москва, Россия, 119234.
Тел.: +7(495)939–14–16.
E-mail: ost.msu@gmail.com

*Статья поступила в редакцию
06.06.17 и принята к печати 29.08.17.*

Резюме

Rho-киназа участвует в регуляции функций практически всех клеток нашего организма. Ключевым активатором Rho-киназы является малый гуанозинтрифосфат (ГТФ)-связывающий белок RhoA, но существуют и RhoA-независимые механизмы регуляции этого фермента. В данном обзоре рассмотрены механизмы, влияющие на активность Rho-киназы в гладкой мышце и эндотелии сосудов, ее роль в регуляции фундаментальных физиологических процессов в этих клетках, а также участие в патогенезе сосудистых расстройств при таких заболеваниях, как системная и легочная артериальная гипертензия и сахарный диабет.

Ключевые слова: гладкая мышца сосудов, фосфорилирование регуляторных легких цепей миозина, эндотелиальная синтаза оксида азота, проницаемость эндотелия, артериальная гипертензия, легочная гипертензия, сахарный диабет

Для цитирования: Тарасова О. С., Гайнуллина Д. К. Rho-киназа как ключевой участник регуляции тонуса сосудов в норме и при сосудистых расстройствах. Артериальная гипертензия. 2017;23(5):383–394. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-383-394

Rho-kinase as a key participant in the regulation of vascular tone in normal circulation and vascular disorders

O. S. Tarasova, D. K. Gaynullina

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
Institute for Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Corresponding author:

Olga S. Tarasova,
Lomonosov Moscow State University,
Faculty of Biology, Department
of Human and Animal Physiology,
Leninskie Gory 1, bld. 12, Moscow,
Russia, 119234
Phone: +7(495)939-14-16.
E-mail: ost.msu@gmail.com

*Received 06 June 2017;
accepted 29 August 2017.*

Abstract

Rho-kinase was shown to regulate the functions of almost all cells of our body. The key activator of Rho-kinase is the small guanosine triphosphate (GTP)-binding protein RhoA, but RhoA-independent mechanisms of Rho-kinase regulation exist as well. In this review we describe the mechanisms affecting Rho-kinase activity in vascular smooth muscle and endothelial cells, Rho-kinase regulatory influences on fundamental physiological processes in these cells, as well as its role in the pathogenesis of vascular disorders in systemic and pulmonary arterial hypertension and diabetes mellitus.

Key words: vascular smooth muscle, myosin regulatory light chain phosphorylation, endothelial nitric oxide synthase, endothelial permeability, arterial hypertension, pulmonary hypertension, diabetes mellitus

For citation: Tarasova O. S., Gaynullina D. K. Rho-kinase as a key participant in the regulation of vascular tone in normal circulation and vascular disorders. 2017;23(5):383–394. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-383-394

Введение

В настоящее время не вызывает сомнений, что наряду с классической Ca^{2+} -зависимой регуляцией функционирование гладкомышечных и эндотелиальных клеток сосудистой стенки регулируется многочисленными сигнальными путями, активность которых может напрямую не зависеть от внутриклеточной концентрации Ca^{2+} . Такая сигнализация носит сложный характер, причем разные пути могут иметь общие промежуточные этапы или мишени. Многие из таких путей затрагивают активность Rho-киназы (RhoK), которая реализует свои функции практически во всех клетках организма, несмотря на разнообразие протекающих в них процессов. Мультифункциональность RhoK обусловлена, прежде всего, ее влиянием на организацию цитоскелета [1, 2]. Высокая активность RhoK ха-

рактерна для пролиферирующих и мигрирующих клеток [3]. В дифференцированных клетках RhoK участвует в регуляции специфических клеточных функций, таких как гладкомышечное сокращение или эндотелиальная секреция. В здоровом организме RhoK служит важным компонентом динамического баланса вазоконстрикторных и вазодилаторных сигнальных путей. Она конститутивно активна и может дополнительно активироваться или же деактивироваться различными вазомоторными стимулами. К сожалению, существует обратная сторона медали: при многих сосудистых расстройствах проявляется неоправданно высокая активность RhoK. В данном обзоре будут рассмотрены механизмы, влияющие на активность RhoK в гладкой мышце и эндотелии сосудов, ее роль в регуляции фундаментальных физиологических

процессов в этих клетках и участие в патогенезе некоторых сосудистых расстройств.

Механизмы повышения активности RhoK в стенке сосудов

Rho-киназа относится к классу серин/треониновых протеинкиназ. Она экспрессируется в двух изоформах: RhoK α (ROCK2) и RhoK β (ROCK1) [1], ключевой функционально значимой изоформой в гладкомышечных и эндотелиальных клетках сосудов является RhoK α [4, 5].

Классическим активатором RhoK считается белок RhoA, связывающий гуаниновые нуклеотиды: гуанозинтрифосфат (ГТФ) и гуанозиндифосфат (ГДФ). Связывание ГТФ приводит к активации RhoA и транслокации его к наружной мембране клетки, где RhoA встречает RhoK и активирует ее. Активность RhoA регулируют три типа белков [1, 6, 7]. Факторы обмена гуаниновых нуклеотидов (guanine nucleotide exchange factors, GEFs) катализируют замену ГДФ на ГТФ, что приводит к активации RhoA. Белки, активирующие ГТФ-азную активность RhoA (GTPase-activating proteins, GAPs), наоборот, снижают его активность. Наконец, белки-ингибиторы диссоциации гуаниновых нуклеотидов (guanine nucleotide dissociation inhibitors, GDIs) препятствуют транслокации RhoA к мембране и тем самым предотвращают его спонтанную активацию.

Многие пути активации GEFs могут быть реализованы как в гладкомышечных, так и в эндотелиальных клетках сосудов. Изначально было показано, что активация каскада GEFs-RhoA-RhoK происходит под действием лигандов мембранных рецепторов, сопряженных с гетеротримерными ГТФ-связывающими белками [8]. Наиболее мощным активирующим влиянием на этот каскад обладают рецепторы, сопряженные с G $\alpha_{12/13}$, например, рецепторы тромбоспандина A₂ [9]. Сходным, хотя и менее выраженным влиянием обладают G $\alpha_{q/11}$ -ассоциированные рецепторы, то есть активация RhoK может происходить под действием широкого круга вазоконстрикторных веществ: норадреналина, гистамина, серотонина, ангиотензина II, эндотелина 1, вазопрессина, аденозиндифосфата (АДФ), аденозинтрифосфата (АТФ), некоторых простаноидов, тромбина и других субстанций [10]. Также активация сигнального пути RhoK наблюдается при активации рецепторных тирозинкиназ факторами роста и другими регуляторами [6, 11].

В естественных условиях активация сигнального RhoK-пути может происходить под действием механических стимулов. Так, миогенная реакция — сокращение гладкой мышцы, вызванное ее растяжением (в случае кровеносных сосудов — под

действием трансмурального давления) в значительной степени связана с активацией RhoK [2, 12]. При развитии миогенной реакции повышение активности RhoK может происходить по нескольким механизмам. Во-первых, оно связано с повышением внутриклеточной концентрации Ca²⁺ ([Ca²⁺]_i), которое происходит на начальном этапе развития миогенного ответа [13, 14]. Во-вторых, некоторые G-белок-сопряженные рецепторы (например, рецепторы ангиотензина II) могут активироваться механическими влияниями даже в отсутствие лигандной стимуляции [15, 16]. Кроме того, при воздействии механических стимулов клетки сосудистой стенки секретируют биологически активные вещества (АТФ, уридинтрифосфат, сфингозин-1-фосфат и др.), что приводит к активации RhoK по рецептор-зависимому механизму [17, 18].

Еще одним важным стимулом к активации RhoK является повышение продукции в клетках активных форм кислорода (АФК) либо митохондриями, либо мембранной никотинамидадениндинуклеотидфосфат-Н-(НАДФН)-оксидазой [7, 18, 19]. Мощным провокатором оксидативного стресса является ангиотензин II [20], сходным влиянием обладает уже упоминавшийся выше сфингозин-1-фосфат [18]. По всей видимости, активация RhoK под действием АФК происходит в результате окисления цистеиновых остатков, в физиологических условиях такое окисление является обратимым [20].

Кроме канонического механизма активации с участием RhoA активность RhoK регулируется независимыми от этого белка способами. Например, арахидоновая кислота, содержание которой в клетке повышается при воспалительных процессах, путем прямого влияния вызывает конформационные изменения в молекуле RhoK, устраняя ее автоингибирование [21]. RhoA-независимая активация RhoK-пути также может происходить при повышении содержания в крови холестерина и липопротеинов низкой плотности [22]. В условиях апоптоза необратимая активация RhoK в клетке обеспечивается в результате ее протеолиза каспазой 3 (в случае RhoK β) или гранзимом В (для RhoK α) [7]. Наконец, спазмирование сосудов при аноксии (патологическом снижении содержания O₂) связано с активацией RhoK под действием циклического инозитолмонофосфата, который в этих условиях продуцируется растворимой гуанилатциклазой (вместо циклического гуанозинмонофосфата, который является продуктом гуанилатциклазы в нормальных условиях) [23].

Таким образом, повышение активности RhoK может происходить под действием стимулов различной природы. Можно предположить, что в нор-

мальных условиях более важен RhoA-зависимый механизм активации RhoK, тогда как при нарушении сосудистого гомеостаза повышается вклад RhoA-независимых механизмов.

Основные эффекты RhoK в гладкомышечных клетках сосудов

В гладкой мышце сосудов соотношение между $[Ca^{2+}]_i$ и величиной сократительного ответа может изменяться в довольно широких пределах, что обозначается как «изменение чувствительности сократительного аппарата к Ca^{2+} » [6, 24]. Если зависимость между $[Ca^{2+}]_i$ и сократительным ответом становится более крутой, данной $[Ca^{2+}]_i$ соответствует больший сократительный ответ, то есть чувствительность сократительного аппарата к Ca^{2+} увеличивается. Это происходит при действии многих вазоконстрикторных веществ или же при развитии миогенного тонуса и связано с активацией RhoK [6].

Обязательным условием сокращения гладкой мышцы является фосфорилирование регуляторных легких цепей миозина (РЛЦМ), которое осуществляет фермент киназа РЛЦМ, активируемый комплексом Ca^{2+} -кальмодулин [6, 24]. Функциональным антагонистом киназы РЛЦМ является фосфатаза РЛЦМ, активность которой напрямую не зависит от $[Ca^{2+}]_i$. Таким образом, уровень сокращения гладкой мышцы сосудов зависит от баланса активностей киназы и фосфатазы РЛЦМ. Роль RhoK заключается в ингибировании фосфатазы РЛЦМ: если при неизменной активности киназы активность фосфатазы РЛЦМ снижается, при данной $[Ca^{2+}]_i$ доля фосфорилированных РЛЦМ в клетке становится больше, и сократительный ответ растет.

RhoK ингибирует фосфатазу РЛЦМ путем фосфорилирования ее регуляторной субъединицы MYPT1 [6, 24]. MYPT1 может быть фосфорилирована RhoK по двум сайтам: Thr-850 и Thr-696 [6, 24]. Фосфорилирование сайта Thr-850 приводит к диссоциации фосфатазы РЛЦМ и миозина, снижению ее активности и, следовательно, сокращению гладкой мышцы [25]. Фосфорилирование MYPT1 по Thr-696 также усиливает сокращение, но в данном случае это происходит в результате снижения каталитической активности фосфатазы РЛЦМ [26].

Кроме прямого влияния на MYPT1 RhoK может снижать активность фосфатазы РЛЦМ путем фосфорилирования белка CPI-17 [6]. Этот белок с молекулярной массой 17 кДа был исходно описан как характерный для гладкой мышцы посредник в ингибировании фосфатазы РЛЦМ протеинкиназой С, отсюда его название — активируемый С-киназой ин-

гибитор фосфатазы (C-kinase-Potentiated Inhibitor) [27]. Сейчас установлено, что протеинкиназа С осуществляет фосфорилирование CPI-17 лишь в начале развития сократительного ответа, тогда как на более поздней стадии поддержания сокращения ингибирующее влияние CPI-17 на фосфатазу РЛЦМ связано с его фосфорилированием под действием RhoK [28]. Rho-киназа фосфорилирует CPI-17 по остатку Thr-38, как и протеинкиназа С [28].

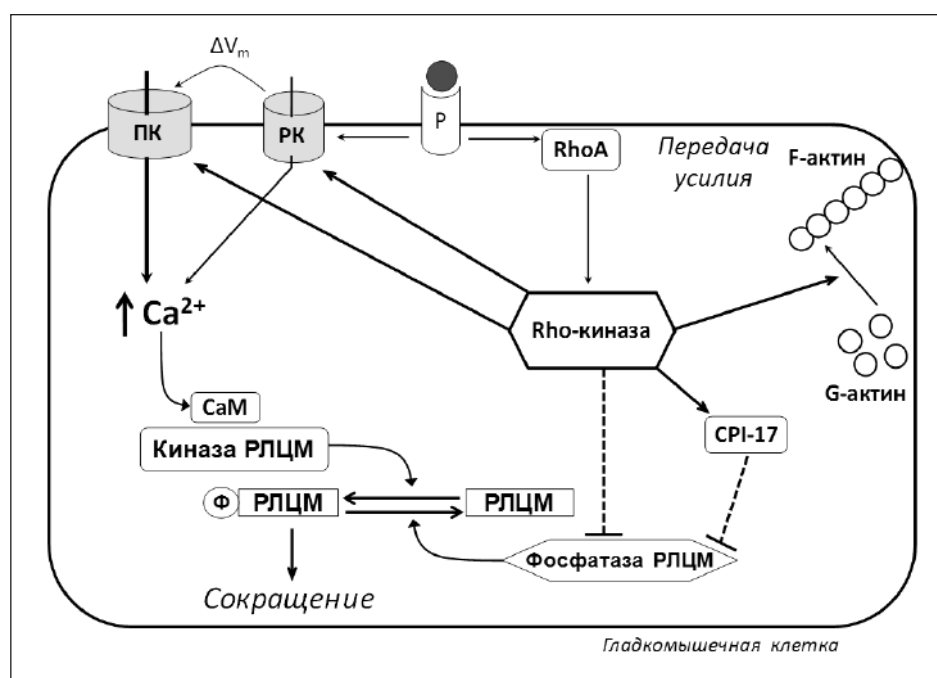
RhoK также способствует поддержанию тонического сокращения путем влияния на цитоскелет гладкомышечных клеток. Показано, что при длительном сокращении в клетке снижается содержание G-актина, а содержание F-актина растет, что отражает сборку актиновых филаментов с участием RhoK [2, 29]. Такая реорганизация цитоскелета гладкомышечных клеток повышает эффективность передачи развиваемого сократительным аппаратом усилия к наружной мембране и межклеточному матриксу.

Кроме влияния на сократительный аппарат, RhoK участвует в регуляции кальциевого гомеостаза гладкомышечных клеток. Так, влияние RhoK приводит к повышению активности потенциал-управляемых Ca^{2+} -каналов [30] и неселективных катионных каналов [31–33]. Таким образом, активация сигнального пути RhoK приводит к усилению гладкомышечного сокращения по двум путям: Ca^{2+} -независимому (ингибирование фосфатазы РЛЦМ) и Ca^{2+} -зависимому (усиление поступления Ca^{2+} в гладкомышечные клетки) (рис. 1).

Благодаря повышению Ca^{2+} -чувствительности сократительного аппарата с участием RhoK гладкая мышца сосудов может развивать и удерживать сокращение при низкой $[Ca^{2+}]_i$. Такой способ обеспечения актомиозинового взаимодействия выгоден в энергетическом отношении, поскольку снижает затраты АТФ на фосфорилирование РЛЦМ. Следует отметить, что влияние RhoK проявляется в развитии стойкого сокращения, что лежит в основе формирования тонуса сосудов, который может двуправленно изменяться в соответствии с потребностями тканей в кровоснабжении.

Следует отметить, что роль RhoK в регуляции сосудистого тонуса на ранних стадиях онтогенеза и во взрослом организме существенно различается. Было показано, что содержание RhoK в артериальных сосудах и ее вклад в развитие сократительных ответов у крыс в возрасте 1–2 недель значительно выше, чем у взрослых животных [34, 35]. Эти наблюдения согласуются с более весомой ролью RhoK в незрелых клетках по сравнению с дифференцированными [3]. Повышение сократимости сосудов у новорожденных животных с участием

Рисунок 1. Основные механизмы усиления сокращения гладкой мышцы под действием Rho-киназы (RhoK)



Примечание: Сплошными и пунктирными линиями показаны стимулирующие и тормозные воздействия соответственно. Р — рецептор; РК — рецептор-управляемые Ca^{2+} -каналы (обеспечивают поступление Ca^{2+} в клетку, а также активируют ПК путем деполаризации мембраны); ПК — потенциал-управляемые Ca^{2+} -каналы; CaM — кальмодулин; РЛЦМ — регуляторные легкие цепи миозина; Ф — фосфат; RhoA — малый ГТФ-связывающий белок RhoA; CPI-17-17-кДа белок, ингибитор фосфатазы РЛЦМ.

RhoK частично компенсирует отсутствие у них нейрогенного тонуса, так как симпатическая иннервация сосудов на этой стадии онтогенеза еще не сформирована [34].

На ранних стадиях онтогенеза регуляторное влияние RhoK проявляется и в малом круге кровообращения. Поскольку легкие плода не функционируют, они находятся в спавшемся состоянии и кровоток в них низкий. Показано, что тоническое сокращение легочных сосудов у плода обеспечивается влиянием RhoK, а после рождения экспрессия и активность RhoK снижаются [36, 37]. Наконец, именно с участием RhoK происходит важнейшее событие в сердечно-сосудистой системе птиц и млекопитающих — разобщение кругов кровообращения путем закрытия боталлова протока. Показано, что при повышении содержания O_2 в крови в гладкомышечных клетках протока повышается продукция АФК, они стимулируют RhoK, что приводит к сокращению гладкой мышцы и окклюзии просвета протока [37, 38].

Основные эффекты RhoK в эндотелии сосудов

Эндотелий сосудов выполняет ряд важных функций, среди которых можно особо отметить барьерную и регуляторную. Барьерная функция эндотелия заключается в его избирательной проницаемости

для различных веществ, циркулирующих в крови [39]. Регуляторная функция связана с продукцией большого количества активных веществ, влияющих на тонус гладкой мышцы сосудов. В нормальных условиях синтетическая активность эндотелия направлена на образование вазодилататорных факторов, среди которых наиболее важным и изученным является оксид азота (NO). В эндотелии сосудов NO конститутивно синтезируется эндотелиальной изоформой NO-синтазы (eNOS) [40].

Активность eNOS и, соответственно, уровень продукции NO в эндотелиальных клетках комплексно регулируются изменениями $[Ca^{2+}]_i$ (растет при повышении $[Ca^{2+}]_i$) и сайт-специфическим фосфорилированием различными протеинкиназами, в том числе RhoK [41, 42]. RhoK может снижать активность eNOS как путем прямого влияния, так и через подавление стимулирующих сигнальных путей. Прямое влияние RhoK осуществляется путем фосфорилирования eNOS по сайту Thr-495 [42], что приводит к снижению активности eNOS. Опосредованное влияние RhoK на активность eNOS осуществляется путем снижения активности нескольких протеинкиназ, которые фосфорилируют основной активационный сайт eNOS — Ser-1177; это также приводит к снижению активности eNOS и, соответственно, уменьшению продукции NO. Во-первых, RhoK может снижать активность про-

теинкиназы Akt, которая оказывает мощное стимулирующее действие на eNOS путем фосфорилирования Ser-1177 [43]. Во-вторых, RhoK оказывает ингибиторное действие на АМФ-активируемую протеинкиназу [44], которая также фосфорилирует eNOS по сайту Ser-1177 [41]. Кроме того, уровень фосфорилирования eNOS по сайту Ser-1177 негативно регулируется фосфатазой PTEN (phosphatase and tensin homolog) [45], активность которой повышается под действием RhoK [46]. Таким образом, в эндотелиальных клетках Rho-киназа напрямую или через посредников подавляет активность eNOS за счет изменения степени ее фосфорилирования по активационному или ингибиторному сайтам, что в конечном итоге приводит к уменьшению продукции NO и вазоконстрикции (рис. 2). Помимо снижения активности eNOS Rho-киназа может оказывать влияние на уровень ее экспрессии в эндотелиальных клетках. Показано, что длительное воздействие тромбина негативно влияет на уровень экспрессии eNOS. Это связано с активацией RhoK [47] и негативным влиянием на стабильность мРНК eNOS [1].

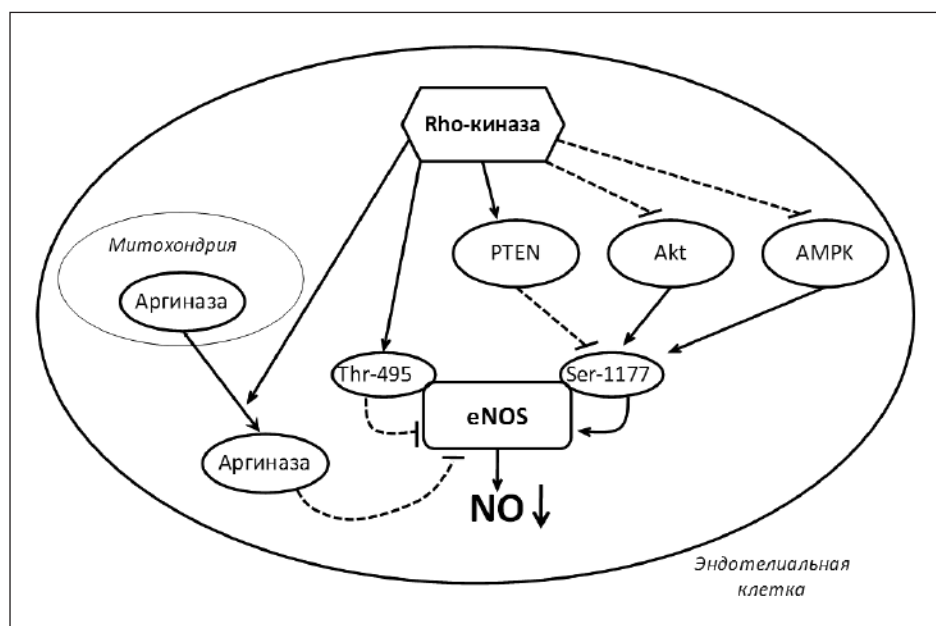
В дополнение к влиянию Rho-киназы на eNOS было показано ее действие на аргиназу-2 — фермент, конкурирующий с eNOS за субстрат L-аргинин. Rho-киназа участвует в транслокации аргиназы-2 из митохондрий в цитозоль эндотелиальных клеток [48], что приводит к повышению активности

аргиназы-2 и уменьшению доступности L-аргинина для eNOS. В результате происходит уменьшение продукции NO и повышение тонуса сосудов.

Влияние RhoK на проницаемость эндотелия сосудов связано с реорганизацией цитоскелета и изменением сократительной активности эндотелиальных клеток [39]. Изменение состояния актомиозинового цитоскелета играет важную роль в ответе эндотелиальных клеток на механические воздействия при изменении скорости кровотока или давления крови [49]. Под действием механических факторов может происходить активация RhoA белка с последующим повышением активности RhoK [19]. Как и в гладкой мышце сосудов, активация пути RhoA/RhoK в эндотелиальных клетках приводит к ингибированию фосфатазы РЛЦМ, фосфорилированию миозина и сборке миозиновых филаментов [49]. Прямым следствием этого является сокращение эндотелиальных клеток, что приводит к увеличению их жесткости, влияет на проницаемость эндотелиального слоя и провоцирует развитие воспалительных процессов при различных заболеваниях. Кроме того, в эндотелиальных клетках RhoK вовлечена в полимеризацию актина [50], что приводит к образованию актиновых стресс-фибрилл и также играет важную роль в регуляции жесткости клеток и проницаемости эндотелия.

Таким образом, RhoK задействована в регуляции обеих важнейших функций эндотелия —

Рисунок 2. Основные механизмы тормозного влияния Rho-киназы (RhoK) на активность эндотелиальной NO-синтазы (eNOS)



Примечание: Сплошными и пунктирными линиями показаны стимулирующие и тормозные воздействия соответственно. Активность eNOS зависит от степени фосфорилирования по двум сайтам: ингибиторному (Thr-495) и активационному (Ser-1177). Akt — протеинкиназа Akt; АМПК — АМФ-активируемая протеинкиназа; PTEN — фосфатаза PTEN (phosphatase and tensin homolog).

барьерной и регуляторной. Можно полагать, что в нормальных условиях RhoK является компонентом регуляторного баланса, обеспечивающего соответствие функциональной активности эндотелия текущим физиологическим потребностям. Однако патологическая активация RhoK может приводить к нежелательным последствиям — повышению проницаемости эндотелия и гиперсократимости гладкой мышцы сосудов.

Роль RhoK в развитии сосудистых нарушений

RhoK вовлечена в патогенез сосудистых расстройств при артериальной гипертензии, легочной гипертензии, сахарном диабете (СД) и многих других заболеваниях [7, 19]. Сосудистые нарушения при таких заболеваниях связаны как с изменениями в функционировании гладкомышечных клеток, так и с эндотелиальной дисфункцией.

Артериальная гипертензия. Повышение давления крови при системной гипертензии имеет многофакторный характер. Наряду с другими факторами, в патогенезе данного заболевания принимает участие и RhoK, что было неоднократно продемонстрировано в экспериментах на животных с различными формами артериальной гипертензии: наследственной (крысы линии SHR), вазоренальной, ДОКА-солевой (при введении дезоксикортикостерон-ацетата) и др. Введение гипертензивным животным ингибиторов RhoK приводит к снижению артериального давления до нормального уровня [51, 52]. При различных моделях артериальной гипертензии у животных была выявлена активация RhoA/RhoK-пути в сосудистой системе вне зависимости от того, что являлось причиной повышения давления крови в каждой конкретной модели (обобщено в [53]). Также известно, что при развитии гипертензии повышается уровень экспрессии RhoK в сосудах [51]. В совокупности эти данные указывают на то, что RhoK является важным игроком, отвечающим за повышение уровня артериального давления при развитии системной артериальной гипертензии.

Легочная гипертензия. В животных моделях легочной гипертензии было показано, что для этого заболевания характерно повышение содержания и активности RhoK как в гладкой мышце, так и в эндотелии сосудов малого круга кровообращения. Ингибирование RhoK практически полностью нормализует повышенное артериальное давление в малом круге, а также значительно снижает сократимость гладкой мышцы легочных артерий у крыс, страдающих легочной гипертензией [54, 55]. В культуре эндотелиальных клеток действие гипоксии, одного

из ключевых факторов патогенеза легочной гипертензии, приводит к повышению содержания и активности RhoK, параллельно наблюдается снижение содержания и активности eNOS за счет уменьшения времени полужизни ее мРНК [56]. Важно, что введение ингибитора RhoK предотвращает падение уровня экспрессии eNOS при гипоксии [56]. Сходным образом эндотелиальные клетки легочной артерии новорожденных свиней, страдающих хронической легочной гипертензией, демонстрируют устойчивый патологический фенотип и повышенную активность RhoA, что коррелирует с увеличенным формированием актиновых стресс-фибрилл и гиперпроницаемостью эндотелия [57]. Ингибирование RhoA приводит к полной нормализации фенотипа эндотелиальных клеток и проницаемости эндотелия у гипертензивных животных [57]. В модели легочной гипертензии, вызванной введением монокроталина, у крыс наблюдается уменьшение эндотелий-зависимого расслабления легочных артерий, что связано как с эндотелиальной дисфункцией, так и со снижением способности гладкой мышцы отвечать на сосудорасширительные стимулы [58]. В этой работе эндотелиальная дисфункция легочных артерий была сопряжена со значительным снижением содержания белка eNOS, тогда как при хроническом введении ингибитора RhoK содержание белка eNOS повышалось, а эндотелий-зависимое расслабление улучшалось [58]. Кроме того, эффективность ингибитора RhoK в понижении артериального давления в малом круге кровообращения была показана в гипоксической модели легочной гипертензии у новорожденных крыс [59].

Данные о вкладе RhoK в патогенез легочной гипертензии у людей немногочисленны, однако они также свидетельствуют о существенной роли RhoK в повышении сопротивления сосудов малого круга кровообращения при этом заболевании [60]. Так, внутривенное введение ингибитора RhoK пациентам с легочной гипертензией приводит к значимому падению давления крови в легочном круге [61]. У людей развитие легочной гипертензии также сопровождается существенным уменьшением эндотелийзависимого расслабления легочных артерий [60], что может быть связано с активацией RhoK.

Подводя итог, можно заключить, что при развитии легочной гипертензии происходит увеличение активности пути RhoK, что приводит, с одной стороны, к гиперсократимости гладкой мышцы и, с другой стороны, к эндотелиальной дисфункции, падению активности и содержания eNOS, повышению проницаемости эндотелия.

Сахарный диабет 1-го типа. Повышение активности RhoK служит одной из причин сосудистых

нарушений при СД 1-го типа [62]. С использованием экспериментальной модели СД 1-го типа у крыс было показано, что в течение 5 недель с момента индукции диабета в эндотелии аорты увеличивается содержание RhoK α , а также уменьшается уровень фосфорилирования eNOS по активационному сайту Ser-1177. У таких животных по сравнению с контрольными наблюдалось увеличенное расслабление аорты под действием ингибитора Rho-киназы, причем различия в расслаблении устранялись при ингибировании NO-синтазы [63]. Сходные данные о нарушении эндотелий-зависимого расслабления сосудов, в том числе за счет уменьшения содержания eNOS и увеличения содержания RhoK, при СД 1-го типа у крыс, были получены еще одной группой авторов [64]. Важно, что в этой работе хроническое пероральное введение ингибитора RhoK фасудила приводило к нормализации регуляторной функции эндотелия [64].

Также при развитии СД 1-го типа происходит существенное увеличение проницаемости эндотелия микрососудов, что также связано с влиянием RhoK. У крыс с СД 1-го типа рост проницаемости эндотелия, индуцированный фактором активации тромбоцитов, практически полностью устранялся ингибитором RhoK [65]. Аналогичные данные были получены в экспериментах на культуре эндотелиальных клеток пупочной вены человека, где высокий уровень глюкозы приводил к активации пути RhoA/RhoK и повышению проницаемости эндотелиального слоя, которое устранялось ингибитором RhoK [66]. При экспериментальном СД 1-го типа в аорте мышей обнаружено повышенное содержание обеих изоформ RhoK, что сопровождалось уменьшением эндотелий-зависимого расслабления [67]. Дисфункция эндотелия была связана с уменьшением продукции NO, в частности, в результате повышения активности/экспрессии аргиназы, поскольку ингибирование аргиназы улучшало функционирование эндотелия [67]. В сосудах мышей, нокаутных по первой или второй изоформам RhoK, подобных изменений при СД 1-го типа не наблюдалось или они были выражены в меньшей степени по сравнению с животными дикого типа [67]. Таким образом, при СД 1-го типа происходит активация пути RhoK в эндотелиальных клетках, что приводит к росту проницаемости эндотелия, снижению синтеза NO и уменьшению эндотелий-зависимого расслабления.

Сахарный диабет 2-го типа. RhoK также участвует в патогенезе сердечно-сосудистых расстройств, сопровождающих СД 2-го типа. Роль RhoK в этих процессах проявляется как на системном уровне, так и в функционировании отдельных

артерий. Показано, что введение ингибитора RhoK нормализует повышенное артериальное давление у крыс, страдающих СД 2-го типа, что согласуется с увеличенным вкладом Rho-киназы в реализацию сократительных ответов артерий брыжейки таких крыс [68]. Сходное увеличение вклада RhoK в сократительные ответы артерий брыжейки было выявлено у мышей с СД 2-го типа (линия *ob/ob*) [69]. Так как уровни экспрессии RhoA и обеих изоформ RhoK оставались неизменными, усиление влияния RhoK было связано с повышением ее активности [69]. Повышение вазоконстрикторного влияния RhoK при СД 2-го типа также характерно для сосудов, обеспечивающих кровоснабжение головного мозга. У крыс с СД 2-го типа RhoK ответственна за усиление сократительных ответов сонной артерии при действии серотонина [70]. При исследовании артериол мозга у мышей, страдающих СД 2-го типа, также было выявлено более выраженное сосудорасширительное влияние ингибитора RhoK по сравнению с контрольными животными [71].

Вместе с тем следует отметить, что не все работы свидетельствуют в пользу увеличенного вклада RhoK в регуляцию сократительных ответов артерий при СД 2-го типа. Так, у крыс с СД 2-го типа было выявлено уменьшение миогенных сократительных ответов артерий головного мозга и сердца в ответ на повышение давления по сравнению с контрольными животными, причем различия устранялись после ингибирования RhoK [72]. Сходным образом сократительные ответы артерий брыжейки на агонист α_1 -адренорецепторов были уменьшены у мышей с СД 2-го типа, причем различия с контрольными животными также исчезали после ингибирования RhoK [73].

Таким образом, при СД 2-го типа могут обнаруживаться разнонаправленные изменения вклада RhoK в регуляцию тонуса сосудов. Такие различия могут быть связаны с особенностями вазомоторной регуляции в разных органах или же с использованием разных экспериментальных моделей СД 2-го типа, но в целом их причины пока не ясны. Однако более вероятным и приближенным к событиям в организме больных СД 2-го типа людей представляется повышение вклада RhoK в регуляцию сопротивления сосудов, что приводит к повышению уровня системного артериального давления [74, 75].

Заключение

На примере функционирования RhoK мы видим, как сигнальный путь, необходимый для регуляции нормальной работы клеток, может становиться одним из ключевых факторов патогенеза сосудистых расстройств. Увеличение активности RhoK как

в гладкомышечных, так и в эндотелиальных клетках сосудистой стенки приводит к повышению тонуса сосудов, что создает риск нарушения кровоснабжения жизненно важных органов и повышения артериального давления с последующим развитием таких серьезных осложнений, как инсульт головного мозга, инфаркт миокарда, отек легких и других.

Повышение активности RhoK может приводить к формированию патологических нарушений по механизму положительной обратной связи, что выяснилось после открытия патологической роли такого соединения, как циклофилин А [76]. Действие RhoK приводит к секреции циклофилин А-содержащих везикул из гладкомышечных клеток [76], циклофилин А активирует НАДФН-оксидазу, а продуцируемые НАДФН-оксидазой АФК дополнительно активируют RhoK, замыкая «порочный круг» развития сосудистых нарушений.

В настоящее время RhoK рассматривается в качестве одной из наиболее перспективных мишеней для фармакологической коррекции гиперсократимости гладких мышц и эндотелиальной дисфункции [19]. Ингибиторы RhoK (фасудил и рипасудил) уже используются в клинической практике для коррекции нарушений регионарного и системного кровообращения [77, 78]. С учетом системного характера эффектов RhoK в настоящее время к внедрению в клиническую практику предлагается диагностический метод, основанный на оценке ее активности в лейкоцитах крови. Установлено, что у пациентов с СД 2-го типа активность RhoK в лейкоцитах положительно коррелирует с уровнем гликозилирования гемоглобина [75], то есть может служить дополнительным критерием тяжести заболевания. Хочется верить, что широкое внедрение таких новых методов диагностики и лечения сердечно-сосудистых расстройств будет способствовать улучшению качества жизни пациентов.

Финансирование / Financial support

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 14-15-00704). / The study is supported by the Russian Scientific Foundation, project № 14-15-00704.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / Authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Noma K, Oyama N, Liao JK. Physiological role of ROCKs in the cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2006;290(3):661–8. doi:10.1152/ajpcell.00459.2005

2. Moreno-Domínguez A, Colinas O, El-Yazbi A, Walsh EJ, Hill MA, Walsh MP et al. Ca²⁺ sensitization due to myosin light chain phosphatase inhibition and cytoskeletal reorganization in the myogenic response of skeletal muscle resistance arteries. *J Physiol*. 2013;591(5):1235–50. doi:10.1113/jphysiol.2012.243576

3. Nishimura J, Bi D, Kanaide H. Dependence of proliferating dedifferentiated vascular smooth muscle contraction on Rho-Rho kinase system. *Trends Cardiovasc Med*. 2006;16(4):124–8. doi:10.1016/j.tcm.2006.02.004

4. Shimizu T, Fukumoto Y, Tanaka SI, Satoh K, Ikeda S, Shimokawa H. Crucial role of ROCK2 in vascular smooth muscle cells for hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013;33(12):2780–91. doi:10.1161/ATVBAHA.113.301357

5. De Silva TM, Kinzenbaw DA, Modrick ML, Reinhardt LD, Faraci FM. Heterogeneous impact of ROCK2 on carotid and cerebrovascular function novelty and significance. *Hypertension*. 2016;68(3):809–17. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07430

6. Somlyo AP, Somlyo AV. Ca²⁺ sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase. *Physiol Rev*. 2003;83(4):1325–58. doi:10.1152/physrev.00023.2003

7. Shimokawa H, Sunamura S, Satoh K. RhoA/Rho-Kinase in the cardiovascular system. *Circ Res*. 2016;118(2):352–66. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.306532

8. Fujita A, Takeuchi T, Nakajima H, Nishio H, Hata F. Involvement of heterotrimeric GTP-binding protein and rho protein, but not protein kinase C, in agonist-induced Ca²⁺ sensitization of skinned muscle of guinea pig vas deferens. *J Pharmacol Exp Ther*. 1995;274(1):555–61.

9. Seasholtz TM, Majumdar M, Brown JH. Rho as a mediator of G protein-coupled receptor signaling. *Mol Pharmacol*. 1999;55(6):949–56.

10. Maguore J, Davenport A. Regulation of vascular reactivity by established and emerging GPCRs. *Trends Pharmacol Sci*. 2005;26(9):448–54. doi:10.1016/j.tips.2005.07.007

11. Sasahara T, Okamoto H, Ohkura N, Kobe A, Yayama K. Epidermal growth factor induces Ca²⁺ sensitization through Rho-kinase-dependent phosphorylation of myosin phosphatase target subunit 1 in vascular smooth muscle. *Eur J Pharmacol*. 2015;762:89–95. doi:10.1016/j.ejphar.2015.05.042

12. Schubert R, Lidington D, Bolz S-S. The emerging role of Ca²⁺ sensitivity regulation in promoting myogenic vasoconstriction. *Cardiovasc Res*. 2008;77(1):8–18. doi:10.1016/j.cardiores.2007.07.018

13. Sakurada S, Takuwa N, Sugimoto N, Wang Y, Seto M, Sasaki Y et al. Ca²⁺-dependent activation of Rho and Rho kinase in membrane depolarization-induced and receptor stimulation-induced vascular smooth muscle contraction. *Circ Res*. 2003;93(6):548–56. doi:10.1161/01.RES.0000090998.08629.60

14. Urban NH, Berg KM, Ratz PH. K⁺ depolarization induces RhoA kinase translocation to caveolae and Ca²⁺ sensitization of arterial muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2003;285(6):C1377–85. doi:10.1152/ajpcell.00501.2002

15. Schleifenbaum J, Kassmann M, Szijarto IA, Hercule HC, Tano J-Y, Weinert S et al. Stretch-activation of angiotensin II type 1a receptors contributes to the myogenic response of mouse mesenteric and renal arteries. *Circ Res*. 2014;115(2):263–72. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.302882

16. Mederos Y, Schnitzler M, Storch U, Meibers S, Nurwakagari P, Breit A et al. Gq-coupled receptors as mechanosensors mediating myogenic vasoconstriction. *EMBO J*. 2008;27(23):3092–103. doi:10.1038/emboj.2008.233

17. Koltsova SV, Maximov GV, Kotelevtsev SV, Lavoie JL, Tremblay J, Grygorczyk R et al. Myogenic tone in mouse mesenteric

arteries: evidence for P2Y receptor-mediated, Na (+), K (+), 2Cl (-) cotransport-dependent signaling. *Purinergic Signal*. 2009;5(3): 343–9. doi:10.1007/s11302-009-9160-4

18. Keller M, Lidington D, Vogel L, Peter B F, Sohn H-Y, Pagano P J et al. Sphingosine kinase functionally links elevated transmural pressure and increased reactive oxygen species formation in resistance arteries. *FASEB J*. 2006;20(6):702–4. doi:10.1096/fj.05-4075fje

19. Shimokawa H, Satoh K. 2015 ATVB Plenary Lecture: translational research on rho-kinase in cardiovascular medicine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35(8):1756–69. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.305353

20. Nguyen Dinh Cat A, Montezano AC, Burger D, Touyz RM. Angiotensin II, NADPH oxidase, and redox signaling in the vasculature. *Antioxid Redox Signal*. 2013;19(10):1110–20. doi:10.1089/ars.2012.4641

21. Araki S, Ito M, Kureishi Y, Feng J, Machida H, Isaka N et al. Arachidonic acid-induced Ca²⁺ sensitization of smooth muscle contraction through activation of Rho-kinase. *Pflugers Arch*. 2001;441(5):596–603

22. Morikage N, Kishi H, Sato M, Guo F, Shirao S, Yano T et al. Cholesterol primes vascular smooth muscle to induce Ca²⁺ sensitization mediated by a sphingosylphosphorylcholine-Rho-kinase pathway: possible role for membrane raft. *Circ Res*. 2006;99(3):299–306. doi:10.1161/01.RES.0000235877.33682.e9

23. Gao Y, Chen Z, Leung SWS, Vanhoutte PM. Hypoxic vasospasm mediated by cIMP: when soluble guanylyl cyclase turns bad. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2015;65(6):545–8. doi:10.1097/FJC.0000000000000167

24. Воротников А. В., Щербак О. В., Кудряшова Т. В., Тарасова О. С., Ширинский В. П., Пфитцер Г. и др. Фосфорилирование миозина как основной путь регуляции сокращения гладких мышц. *Росс. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*. 2009;95:1058–1073. [Vorotnikov AV, Shcherbakova OV, Kudryashova TV, Tarasova OS, Shirinskii VP, Pfitzer G, et al. Myosin phosphorylation as the main way of regulating smooth muscle contractions. *Rossiiskii Fiziologicheskii Zhurnal imeni I. M. Sechenova* = Russian Physiology Journal n. a. IM Sechenov. 2009;95:1058–73. In Russian].

25. Velasco G, Armstrong C, Morrice N, Frame S, Cohen P. Phosphorylation of the regulatory subunit of smooth muscle protein phosphatase 1M at Thr850 induces its dissociation from myosin. *FEBS Lett*. 2002;527(1–3):101–4.

26. Feng J, Ito M, Ichikawa K, Isaka N, Nishikawa M, Hartshorne DJ et al. Inhibitory phosphorylation site for Rho-associated kinase on smooth muscle myosin phosphatase. *J Biol Chem*. 1999;274(52):37385–90.

27. Eto M, Senba S, Morita F, Yazawa M. Molecular cloning of a novel phosphorylation-dependent inhibitory protein of protein phosphatase-1 (CPI17) in smooth muscle: its specific localization in smooth muscle. *FEBS Lett*. 1997;410(2–3):356–60.

28. Dimopoulos GJ, Semba S, Kitazawa K, Eto M, Kitazawa T. Ca²⁺-dependent rapid Ca²⁺ sensitization of contraction in arterial smooth muscle. *Circ Res*. 2007;100(1):121–9. doi:10.1161/01.RES.0000253902.90489.df

29. Walsh MP, Cole WC. The role of actin filament dynamics in the myogenic response of cerebral resistance arteries. *J Cereb Blood Flow Metab* 2013;33(1):1–12. doi:10.1038/jcbfm.2012.144

30. Shabir S, Borisova L, Wray S, Burdya T. Rho-kinase inhibition and electromechanical coupling in rat and guinea-pig ureter smooth muscle: Ca²⁺-dependent and -independent mechanisms. *J Physiol*. 2004;560(Pt 3):839–55. doi:10.1113/jphysiol.2004.070615

31. Villalba N, Stankevicius E, Simonsen U, Prieto D. Rho kinase is involved in Ca²⁺ entry of rat penile small arteries. *Am J*

Physiol Heart Circ Physiol. 2008;294(4): H1923–32. doi:10.1152/ajpheart.01221.2007

32. Ghisda P, Vandenberg G, Morel N. Rho-dependent kinase is involved in agonist-activated calcium entry in rat arteries. *J Physiol*. 2003;551(Pt 3):855–67. doi:10.1113/jphysiol.2003.047050

33. Li Y, Brayden JE. Rho kinase activity governs arteriolar myogenic depolarization. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2017;37 (1): 140–52. doi: 10.1177/0271678X15621069

34. Puzdrova VA, Kudryashova TV, Gaynullina DK, Mochalov SV, Aalkjaer C, Nilsson H et al. Trophic action of sympathetic nerves reduces arterial smooth muscle Ca (2+) sensitivity during early post-natal development in rats. *Acta Physiol (Oxf)*. 2014;212 (2):128–41. doi:10.1111/apha.12331

35. Мочалов С. В., Каленчук В. У., Гайнуллина Д. К., Воротников А. В., Тарасова О. С. Вклад протеинкиназы C и Rho-киназы в регуляцию рецептор-зависимого сокращения артерий уменьшается с возрастом и не зависит от симпатической иннервации. *Биофизика*. 2008;53:1102–8. [Mochalov SV, Kalenchuk VU, Gañullina DK, Vorotnikov AV, Tarasova OS. The contribution of protein kinase C and Rho-kinase to the control of the receptor-dependent artery contraction decreases with age independently of sympathetic innervation. *Biofizika* = Biophysics. 2008;53:1102–8. In Russian].

36. Tourneux P, Chester M, Grover T, Abman SH. Fasudil inhibits the myogenic response in the fetal pulmonary circulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;295(4): H1505–13. doi:10.1152/ajpheart.00490.2008.

37. Dunham-Snary KJ, Hong ZG, Xiong PY, Del Paggio JC, Herr JE, Johri AM et al. A mitochondrial redox oxygen sensor in the pulmonary vasculature and ductus arteriosus. *Pflugers Arch*. 2016;468(1):43–58. doi:10.1007/s00424-015-1736-y

38. Kajimoto H, Hashimoto K, Bonnet SN, Haromy A, Harry G, Moudgil R et al. Oxygen activates the Rho/Rho-Kinase pathway and induces RhoB and ROCK-1 expression in human and rabbit ductus arteriosus by increasing mitochondria-derived reactive oxygen species: a newly recognized mechanism for sustaining ductal constriction. *Circulation*. 2007;115(13):1777–88. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.106.649566

39. Ширинский В. П. Молекулярная физиология эндотелия и механизмы проницаемости сосудов. *Успехи физиол. наук*. 2011;42:18–32 [Shirinskii VP. [Molecular physiology of the endothelium and mechanisms of vascular permeability]. *Uspekhi Fiziologicheskikh Nauk* = Successes of Physiology Science. 2011;42:18–32. In Russian].

40. Гайнуллина Д. К., Кирюхина О. О., Тарасова О. С. Оксид азота в эндотелии сосудов: регуляция продукции и механизмы действия. *Успехи физиол. наук*. 2013;44:88–102. [Gaynullina DK, Kiryuhina OO, Tarasova OS. Nitric oxide in vascular endothelium: control of production and mechanisms of action. *Uspekhi Fiziologicheskikh Nauk* = Successes of Physiology Science. 2013; 44:88–102. In Russian].

41. Fleming I. Molecular mechanisms underlying the activation of eNOS. *Pflugers Arch*. 2010;459(6):793–806. doi:10.1007/s00424-009-0767-7

42. Sugimoto M, Nakayama M, Goto TM, Amano M, Komori K, Kaibuchi K. Rho-kinase phosphorylates eNOS at threonine 495 in endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;361 (2): 462–7. doi:10.1016/j.bbrc.2007.07.030

43. Ming X-F, Viswambharan H, Barandier C, Ruffieux J, Kaibuchi K, Rusconi S et al. Rho GTPase/Rho kinase negatively regulates endothelial nitric oxide synthase phosphorylation through the inhibition of protein kinase B/Akt in human endothelial cells. *Mol Cell Biol*. 2002;22(24):8467–77.

44. Noda K, Nakajima S, Godo S, Saito H, Ikeda S, Shimizu T et al. Rho-kinase inhibition ameliorates metabolic disorders through

- activation of AMPK pathway in mice. *PLoS One*. 2014;9(11): e110446. doi:10.1371/journal.pone.0110446
45. Church JE, Qian J, Kumar S, Black SM, Venema RC, Papapetropoulos A et al. Inhibition of endothelial nitric oxide synthase by the lipid phosphatase PTEN. *Vascul Pharmacol*. 2010;52(5–6):191–8. doi:10.1016/j.vph.2009.11.007
46. Li Z, Dong X, Dong X, Wang Z, Liu W, Deng N et al. Regulation of PTEN by Rho small GTPases. *Nat Cell Biol*. 2005;7(4):399–404. doi:10.1038/ncb1236
47. Eto M, Barandiér C, Rathgeb L, Kozai T, Joch H, Yang Z et al. Thrombin suppresses endothelial nitric oxide synthase and upregulates endothelin-converting enzyme-1 expression by distinct pathways: role of Rho/ROCK and mitogen-activated protein kinase. *Circ Res*. 2001;89(7):583–90.
48. Pandey D, Bhunia A, Oh YJ, Chang F, Bergman Y, Kim JH et al. OxLDL triggers retrograde translocation of arginase2 in aortic endothelial cells via ROCK and mitochondrial processing peptidase. *Circ Res*. 2014;115(4):450–9. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.304262
49. Huveners S, Daemen MJAP, Hordijk PL. Between Rho (k) and a hard place: the relation between vessel wall stiffness, endothelial contractility, and cardiovascular disease. *Circ Res*. 2015;116(5):895–908. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.305720
50. Skaria T, Bachli E, Schoedon G. Wnt5A/Ryk signaling critically affects barrier function in human vascular endothelial cells. *Cell Adh Migr*. 2017;11(1):24–38. doi:10.1080/19336918.2016.1178449
51. Mukai Y, Shimokawa H, Matoba T, Kandabashi T, Satoh S, Hiroki J et al. Involvement of Rho-kinase in hypertensive vascular disease: a novel therapeutic target in hypertension. *FASEB J*. 2001;15(6):1062–4.
52. Uehata M, Ishizaki T, Satoh H, Ono T, Kawahara T, Morishita T et al. Calcium sensitization of smooth muscle mediated by a Rho-associated protein kinase in hypertension. *Nature*. 1997;389(6654):990–4. doi:10.1038/40187
53. Loirand G, Pacaud P. Involvement of Rho GTPases and their regulators in the pathogenesis of hypertension. *Small GTPases*. 2014;5(4):1–10. doi:10.4161/sgtp.28846
54. Nagaoka T, Fagan KA, Gebb SA, Morris KG, Suzuki T, Shimokawa H et al. Inhaled Rho kinase inhibitors are potent and selective vasodilators in rat pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171(5):494–9. doi:10.1164/rccm.200405-637OC
55. Nagaoka T, Morio Y, Casanova N, Bauer N, Gebb S, McMurtry I et al. Rho/Rho kinase signaling mediates increased basal pulmonary vascular tone in chronically hypoxic rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2004;287(4): L665–72. doi:10.1152/ajplung.00050.2003
56. Takemoto M, Sun J, Hiroki J, Shimokawa H, Liao JK. Rho-kinase mediates hypoxia-induced downregulation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*. 2002;106(1):57–62.
57. Wojciak-Stothard B, Tsang LYF, Paleolog E, Hall SM, Haworth SG. Rac1 and RhoA as regulators of endothelial phenotype and barrier function in hypoxia-induced neonatal pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2006;290(6): L1173–82. doi:10.1152/ajplung.00309.2005
58. Abe K, Shimokawa H, Morikawa K, Uwatoku T, Oi K, Matsumoto Y et al. Long-term treatment with a Rho-kinase inhibitor improves monocrotaline-induced fatal pulmonary hypertension in rats. *Circ Res*. 2004;94(3):385–93. doi:10.1161/01.RES.0000111804.34509.94
59. Ziino AJA, Ivanovska J, Belcastro R, Kantores C, Xu EZ, Lau M et al. Effects of rho-kinase inhibition on pulmonary hypertension, lung growth, and structure in neonatal rats chronically exposed to hypoxia. *Pediatr Res*. 2010;67(2):177–82. doi:10.1203/PDR.0b013e3181c6e5a7
60. Do e Z, Fukumoto Y, Takaki A, Tawara S, Ohashi J, Nakano M et al. Evidence for Rho-kinase activation in patients with pulmonary arterial hypertension. *Circ J*. 2009;73(9):1731–9.
61. Ishikura K, Yamada N, Ito M, Ota S, Nakamura M, Isaka N et al. Beneficial acute effects of rho-kinase inhibitor in patients with pulmonary arterial hypertension. *Circ J*. 2006;70(2):174–8.
62. Бoleeva Г., Мочалов С., Тарасова О. Функциональные изменения артериальных сосудов при экспериментальном сахарном диабете 1-го типа. *Успехи физиол. наук*. 2014;45:20–36. [Boleeva GS, Mochalov S V, Tarasova OS. Functional alterations of the arterial vessels in experimental models of type 1 diabetes mellitus. *Uspekhi Fiziologicheskikh Nauk = Successes of Physiology Science*. 2014;45:20–36. In Russian].
63. Cicek FA, Kandilci HB, Turan B. Role of ROCK upregulation in endothelial and smooth muscle vascular functions in diabetic rat aorta. *Cardiovasc Diabetol*. 2013;12:51. doi:10.1186/1475-2840-12-51.
64. Hofni A, Shehata Messiha BA, Mangoura SA. Fasudil ameliorates endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats: a possible role of Rho kinase. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2017;390(8):801–811. doi:10.1007/s00210-017-1379-y
65. Yuan D, Xu S, He P. Enhanced permeability responses to inflammation in streptozotocin-induced diabetic rat venules: Rho-mediated alterations of actin cytoskeleton and VE-cadherin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2014;307(1): H44–53. doi:10.1152/ajpheart.00929.2013
66. Zhao X-Y, Wang X-F, Li L, Zhang L, Shen D-L, Li D-H et al. Effects of high glucose on human umbilical vein endothelial cell permeability and myosin light chain phosphorylation. *Diabetol Metab Syndr*. 2015;7:98. doi:10.1186/s13098-015-0098-0
67. Yao L, Chandra S, Toque HA, Bhatta A, Rojas M, Caldwell RB et al. Prevention of diabetes-induced arginase activation and vascular dysfunction by Rho kinase (ROCK) knockout. *Cardiovasc Res*. 2013;97(3):509–19. doi:10.1093/cvr/cvs371
68. Rao MY, Soliman H, Bankar G, Lin G, MacLeod KM. Contribution of Rho kinase to blood pressure elevation and vasoconstrictor responsiveness in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *J Hypertens*. 2013;31(6):1160–9. doi:10.1097/HJH.0b013e328360383a
69. Matsumoto T, Kobayashi T, Ishida K, Taguchi K, Kamata K. Enhancement of mesenteric artery contraction to 5-HT depends on Rho kinase and Src kinase pathways in the ob/ob mouse model of type 2 diabetes. *Br J Pharmacol*. 2010;160(5):1092–104. doi:10.1111/j.1476-5381.2010.00753.x
70. Matsumoto T, Watanabe S, Taguchi K, Kobayashi T. Mechanisms underlying increased serotonin-induced contraction in carotid arteries from chronic type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Pharmacol Res*. 2014;87:123–32. doi:10.1016/j.phrs.2014.07.001
71. Didion SP, Lynch CM, Baumbach GL, Faraci FM. Impaired endothelium-dependent responses and enhanced influence of Rho-kinase in cerebral arterioles in type II diabetes. *Stroke*. 2005;36(2):342–7. doi:10.1161/01.STR.0000152952.42730.92
72. Kold-Petersen H, Brøndum E, Nilsson H, Flyvbjerg A, Aalkjaer C. Impaired myogenic tone in isolated cerebral and coronary resistance arteries from the goto-kakizaki rat model of type 2 diabetes. *J Vasc Res*. 2012;49(3):267–78. doi:10.1159/000335487
73. Nobe K, Hashimoto T, Honda K. Two distinct dysfunctions in diabetic mouse mesenteric artery contraction are caused by changes in the Rho A-Rho kinase signaling pathway. *Eur J Pharmacol*. 2012;683(1–3):217–25. doi:10.1016/j.ejphar.2012.03.022
74. Дедов И.И., Шестакова М.В. Сахарный диабет и артериальная гипертензия. М.: ООО Медицинское информационное агентство, 2006. [Dedov II, Shestakova M V. Diabetes mellitus

and arterial hypertension. M.: Medical Information Agency, 2006. In Russian].

75. Liu L, Tan L, Lai J, Li S, Wang DW. Enhanced Rho-kinase activity: pathophysiological relevance in type 2 diabetes. *Clin Chim Acta*. 2016;462:107–10. doi:10.1016/j.cca.2016.09.003

76. Suzuki J, Jin ZG, Meoli DF, Matoba T, Berk BC. Cyclophilin A. Is secreted by a vesicular pathway in vascular smooth muscle cells. *Circ Res*. 2006;98(6):811–7. doi:10.1161/01.RES.0000216405.85080.a6

77. Defert O, Boland S. Rho kinase inhibitors: a patent review (2014–2016). *Expert Opin Ther Pat*. 2017;27(4):507–15. doi:10.1080/13543776.2017.1272579

78. Feng Y, LoGrasso PV, Defert O, Li R. Rho Kinase (ROCK) inhibitors and their therapeutic potential. *J Med Chem*. 2016;59(6):2269–300. doi:10.1021/acs.jmedchem.5b00683

Информация об авторах

Тарасова Ольга Сергеевна — доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных биологического факультета ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова;

Гайнуллина Дина Камилевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник кафедры физиологии человека и животных биологического факультета ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова.

Author information

Olga S. Tarasova, PhD, Doctor of Biological Sciences, Professor, Department of Human and Animal Physiology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University;

Dina K. Gaynullina, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Department of Human and Animal Physiology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University.

ISSN 1607-419X

ISSN 2411-8524 (Online)

УДК 612.015.31:616.12-008.331.1-092.9

Роль Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорта в H_2S -опосредованной регуляции сократительной активности гладкомышечных клеток легочной артерии крыс

А. В. Носарев^{1,2}, Ю. Г. Бирулина¹, И. В. Ковалев¹,
Л. В. Смаглий¹, С. В. Гусакова¹, И. В. Петрова¹,
В. С. Рыдченко¹, В. А. Поливщикова¹, М. А. Медведев¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», Томск, Россия

Контактная информация:

Носарев Алексей Валерьевич,
ФГБОУ ВО СибГМУ
Минздрава России,
Московский тракт, д. 2/7,
Томск, Россия, 634050.
Тел.: +7(3822)90–11–01.
E-mail: avnosarev@yandex.ru

Статья поступила в редакцию
03.05.17 и принята к печати 05.06.17.

Резюме

Введение. Сероводород (H_2S) является представителем группы газовых посредников, которые участвуют в регуляции большого числа клеточных функций, а также может выступать патологическим звеном в развитии сосудистых заболеваний, в частности артериальной гипертензии. Предполагается, что Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспортер (NKCC) может играть важную роль в повышении сосудистого тонуса в связи с участием хлорных токов в индукции деполяризации мембраны гладкомышечных клеток (ГМК). Допускается, что существующие значительные отличия в механизмах регуляции сократительных свойств сосудов большого и малого кругов кровообращения могут зависеть от механизмов оперирования NKCC, что делает необходимым его изучение в роли мишени и для H_2S . **Материалы и методы.** Механографическим методом было исследовано действие донора H_2S (L-цистеина) на изменение механического напряжения (МН) сегментов легочной артерии (ЛА) крыс WKY и SHR. **Результаты.** На фоне предсокращения сосудистых сегментов крыс линии WKY гиперкалиевым раствором (30 мМ KCl) наблюдалось разнонаправленное действие L-цистеина на МН ГМК ЛА. Буметанид (100 мкМ) подавлял расслабляющее влияние L-цистеина на интактные и дезэндотелизированные сосудистые сегменты, но не влиял на его констрикторные эффекты. При действии на ГМК ЛА крыс линии SHR с сохраненным эндотелием L-цистеин оказывал констрикторное действие, тогда как на дезэндотелизированные сегменты — релаксирующее.

Ключевые слова: гладкомышечные клетки, легочная артерия, Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорт, сероводород

Для цитирования: Носарев А. В., Бирулина Ю. Г., Ковалев И. В., Смаглий Л. В., Гусакова С. В., Петрова И. В., Рыдченко В. С., Поливщикова В. А., Медведев М. А. Роль Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорта в H_2S -опосредованной регуляции сократительной активности гладкомышечных клеток легочной артерии крыс. Артериальная гипертензия. 2017;23(5):395–402. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-395-402

The role of Na^+ , K^+ , 2Cl^- -cotransport in the H_2S -dependent regulation of contractile activity of smooth muscle cells from rat pulmonary artery

A. V. Nosarev^{1,2}, Yu. G. Birulina¹, I. V. Kovalev¹,
L. V. Smaglii¹, S. V. Gusakova¹, I. V. Petrova¹,
V. S. Rydchenko¹, V. A. Polivshchikova¹, M. A. Medvedev¹

¹ Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

² Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia

Corresponding author:

Alexey V. Nosarev,
Siberian State Medical University,
2/7 Moskovskii trakt, Tomsk,
634050 Russia.
Phone: +7(3822)90-11-01.
E-mail: avnosarev@yandex.ru

Received 3 May 2017;
accepted 5 June 2017.

Abstract

Objective. Hydrogen sulfide (H_2S) is one of gasotransmitters that participate in the regulation of a large number of cellular functions. H_2S can also act as a pathological link in the development of vascular diseases, in particular hypertension. Na^+ , K^+ , 2Cl^- -cotransporter (NKCC) might play an important role in vascular tone increasing due to involvement of chloride currents in the depolarization of smooth muscle cell membrane. Significant differences in the regulatory mechanisms of contractile properties of the vessels of systemic and pulmonary circulation might depend on the mechanisms of NKCC. So its role as a target for H_2S requires investigation. **Design and methods.** The changes in mechanical tension of ring segments from pulmonary artery (PA) of WKY and SHR rats under the action of the donor of H_2S (L-cysteine) was studied by organ bath technique. **Results.** L-cysteine caused multidirectional effects on mechanical tension of PA smooth muscle cells from WKY rats precontracted with 30 mM KCl. Bumetanide (100 μM) suppressed the relaxation but not constriction of the intact and endothelium-denuded vascular segments caused by L-cysteine. In ring segments from PA of SHR rats, L-cysteine potentiated constriction in segments with intact endothelium but caused relaxation in endothelium-denuded segments.

Key words: smooth muscle cells, pulmonary artery, Na^+ , K^+ , 2Cl^- -cotransport, hydrogen sulfide

For citation: Nosarev AV, Birulina YuG, Kovalev IV, Smaglii LV, Gusakova SV, Petrova IV, Rydchenko VS, Polivshchikova VA, Medvedev MA. The role of Na^+ , K^+ , 2Cl^- -cotransport in the H_2S -dependent regulation of contractile activity of smooth muscle cells from rat pulmonary artery. *Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension*. 2017;23(5):395–402. doi: 10.18705/1607-419X-2017-23-5-395-402

Введение

Сероводород (H_2S) наряду с другими известными газовыми посредниками (NO, CO) участвует в регуляции большого числа клеточных функций — как при различных физиологических, так и патологических процессах [1–3]. В настоящее время достаточно хорошо изучены механизмы регуляции H_2S механического напряжения (МН) гладких мышц кровеносных сосудов большого круга кровообращения. Согласно имеющимся данным [4–6], одним из основных физиологических эффектов H_2S

является его способность вызывать релаксацию гладкомышечных клеток (ГМК), в частности, через K_{ATP} , K_{Ca} , K_v -каналы. Несмотря на свидетельства о H_2S как об эффективном релаксанте, есть данные и о его констрикторном действии, причем преимущественно в диапазоне малых концентраций (10–100 мкМ) [2, 7, 8]. Показано, что данный эффект газотрансмиттера обусловлен активацией Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорта (NKCC) [9, 13]. NKCC способствует увеличению внутриклеточной концентрации ионов хлора, деполяризации мембран

ГМК, сарколемма которых обогащена анионными каналами, открытию потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов и сокращению гладких мышц. Именно этот механизм может лежать в основе развития артериальной гипертензии [10–16].

Учитывая способность доноров H_2S модулировать сосудистый тонус, представляется перспективным поиск новых лекарственных средств на основе серосодержащих соединений. Однако необходимо учитывать, что в механизмах регуляции МН сосудов большого и малого кругов кровообращения могут иметь место существенные различия. В связи с этим возникает необходимость детально изучить феноменологию действия H_2S на тонус сосудов малого круга и выявить его эффекторные мишени. Настоящее исследование посвящено изучению роли НКСС в механизмах регуляции МН гладких мышц легочной артерии (ЛА), опосредованных действием H_2S .

Материалы и методы

Объектом исследования служили интактные и деэндотелизированные гладкомышечные сегменты ЛА крыс-самцов линии Wistar–Kyoto (WKY, $n = 20$) и спонтанно-гипертензивных крыс (SHR, $n = 12$), которых умерщвляли цервикальной дислокацией под глубоким наркозом (Nembutal в дозе 70 мг/кг интраперитонеально). Все манипуляции проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Подготовленные сосудистые сегменты фиксировали в камере установки и отмывали в течение

40–50 минут физиологическим раствором Кребса (содержал в мМ: 120,4 NaCl, 5,9 KCl, 2,5 CaCl_2 , 1,2 MgCl_2 , 5,5 глюкозы, 15 трис-буфер $\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$ при $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ и pH 7,35–7,40. Механическое напряжение гладкомышечных препаратов регистрировали с помощью датчика силы FT10G, который был соединен с 14-битным аналого-цифровым преобразователем (L-791, «Л-КАРД», Россия). Затем сигнал регистрировали и обрабатывали с помощью программного обеспечения L-Graph-II («Л-КАРД», Россия).

В качестве контрольных (100%) параметров служили изменения МН на действие гиперкалиевого раствора Кребса (30 мМ KCl). Используемые реактивы: фенилэфрин (ФЭ), буметанид, L-цистеин (все Sigma Aldrich, США).

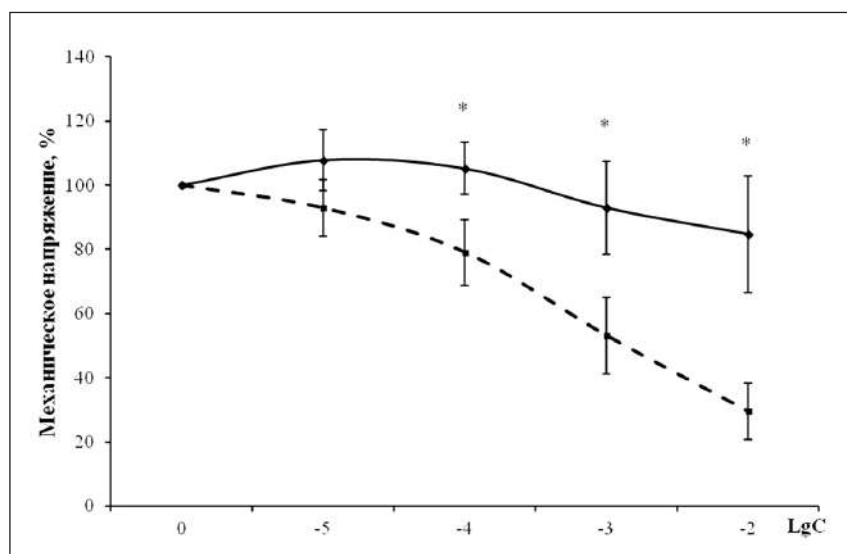
Статистический анализ данных проводили при помощи программы SPSS Statistics 17.0.1 for Windows и непараметрических критериев: U-критерий Манна–Уитни (Mann–Whitney U test) для независимых и t-критерий Вилкоксона (Wilcoxon matched pairs test) для зависимых выборок. Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты

Влияние L-цистеина на механическое напряжение гладких мышц легочной артерии нормотензивных крыс, предсокращенных гиперкалиевым раствором Кребса

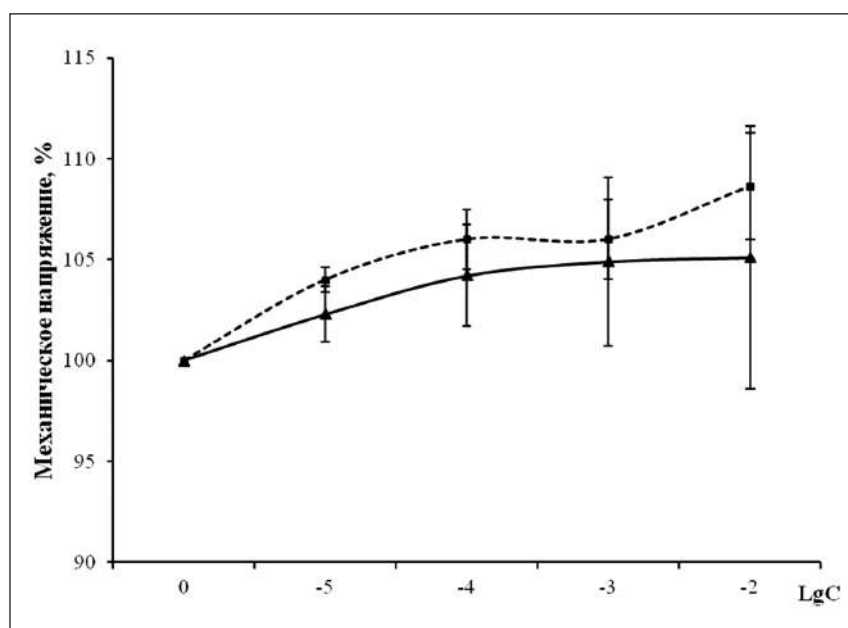
Серосодержащую аминокислоту L-цистеин использовали как донор эндогенного H_2S . На фоне сокращения, вызванного гиперкалиевым раствором

Рисунок 1. Влияние L-цистеина на механическое напряжение гладких мышц легочной артерии крыс линии WKY, предсокращенных гиперкалиевым раствором Кребса



Примечание: по оси ординат — механическое напряжение (%); по оси абсцисс — десятичный логарифм концентрации L-цистеина; пунктирная линия — деэндотелизированные сегменты; сплошная линия — сегменты с сохраненным эндотелием; * — значимые различия между сегментами с сохраненным и удаленным эндотелием ($p < 0,05$).

Рисунок 2. Влияние L-цистеина на механическое напряжение гладких мышц легочной артерии крыс линии WKY, предсокращенных гиперкалиевым раствором Кребса в присутствии буметанида



Примечание: по оси ординат — механическое напряжение (%); по оси абсцисс — десятичный логарифм концентрации L-цистеина; пунктирная линия — деэндотелизированные сегменты; сплошная линия — сегменты с сохраненным эндотелием; * — значимые различия между сегментами с сохраненным и удаленным эндотелием ($p < 0,05$).

Кребса (KCl, 30 mM), L-цистеин в концентрациях от 10 мкМ до 10 мМ вызывал снижение МН деэндотелизированных гладкомышечных сегментов ЛА крысы. При добавлении малых концентраций L-цистеина (10 и 100 мкМ) на фоне гиперкалиевого сокращения сегментов с интактным эндотелием наблюдалось увеличение МН, тогда как при добавлении 1 и 10 мМ L-цистеина происходило снижение МН (рис. 1).

Вероятно, малые концентрации (10 мкМ, 100 мкМ) L-цистеина индуцируют сократительные ответы сосудистых ГМК за счет активации НКСС.

Для исследования роли НКСС в механизмах действия L-цистеина на сократительную активность сегментов ЛА крыс использовали селективный ингибитор котранспортера — буметанид. Предобработка буметанидом (100 мкМ) сосудистых сегментов с сохраненным эндотелием в течение 15 минут не устраняла констрикторное действие малых концентраций L-цистеина. К тому же в концентрациях 1 и 10 мМ наблюдалось инвертирование его релаксирующего действия в констрикторное. На фоне буметанида расслабляющее действие L-цистеина во всем диапазоне концентраций (10 мкМ — 10 мМ) на деэндотелизированные гладкомышечные сегменты ЛА сменялось на сократительное (рис. 2).

Влияние L-цистеина на сократительную активность гладких мышц легочной артерии гипертензивных крыс, предсокращенных гиперкалиевым раствором Кребса

тензивных крыс, индуцированную гиперкалиевым раствором Кребса

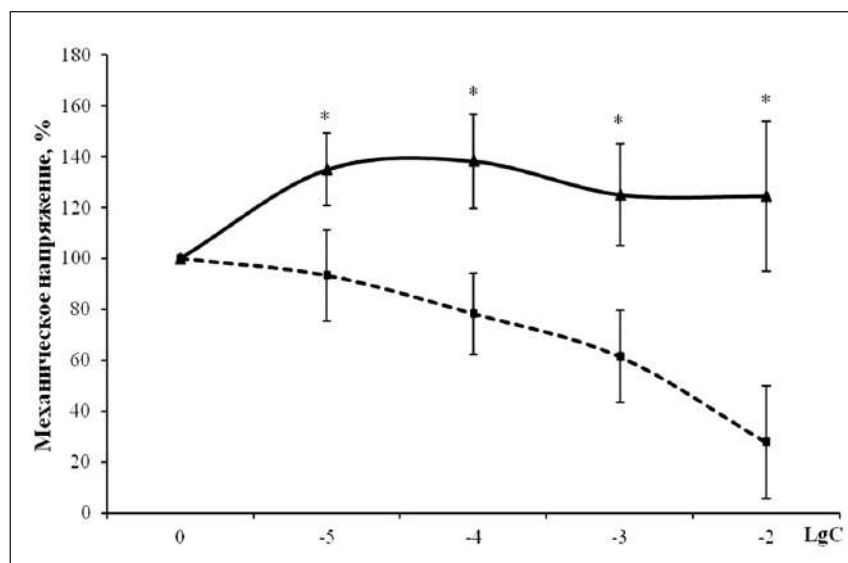
При добавлении L-цистеина на фоне гиперкалиевого сокращения сосудистых сегментов ЛА крыс SHR с сохраненным эндотелием в диапазоне концентраций от 10 мкМ до 10 мМ происходило дозозависимое увеличение их МН. Тогда как деэндотелизированные сегменты, напротив, в ответ на действие L-цистеина (10 мкМ — 10 мМ) демонстрировали расслабление (рис. 3).

Предобработка интактных гладкомышечных сегментов буметанидом (100 мкМ) приводила к инвертированию констрикторного действия донора H_2S , но усиливала его релаксирующее действие на деэндотелизированные сегменты (рис. 4).

Влияние L-цистеина на сократительную активность гладких мышц легочной артерии гипертензивных крыс, предсокращенных фенилэфрином

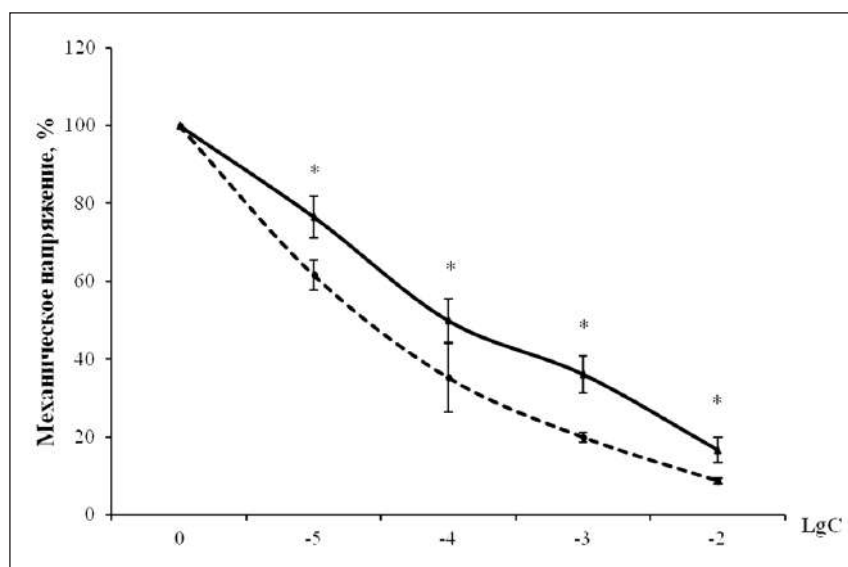
Действие агониста альфа1-адренорецепторов ФЭ (10 мкМ) на сосудистые ГМК приводило к развитию сократительного ответа, по амплитуде сопоставимого с гиперкалиевым сокращением. На фоне ФЭ-индуцированного сокращения добавление L-цистеина (10 мкМ — 10 мМ) оказывало релаксирующее действие на деэндотелизированные сегменты концентраций как в присутствии буметанида, так и без него (рис. 5). При этом наибольшее расслабление сосудистых сегментов происходило в присутствии блокатора НКСС.

Рисунок 3. Влияние L-цистеина на механическое напряжение гладких мышц легочной артерии крыс линии SHR, предсокращенных гиперкалиевым раствором Кребса



Примечание: по оси ординат — механическое напряжение (%); по оси абсцисс — десятичный логарифм концентрации L-цистеина; пунктирная линия — деэндотелизированные сегменты; сплошная линия — сегменты с сохраненным эндотелием; * — значимые различия между сегментами с сохраненным и удаленным эндотелием ($p < 0,05$).

Рисунок 4. Влияние L-цистеина на механическое напряжение гладких мышц легочной артерии крыс линии SHR, предсокращенных гиперкалиевым раствором Кребса в присутствии буметанида



Примечание: по оси ординат — механическое напряжение (%); по оси абсцисс — десятичный логарифм концентрации L-цистеина; пунктирная линия — деэндотелизированные сегменты; сплошная линия — сегменты с сохраненным эндотелием; * — значимые различия между сегментами с сохраненным и удаленным эндотелием ($p < 0,05$).

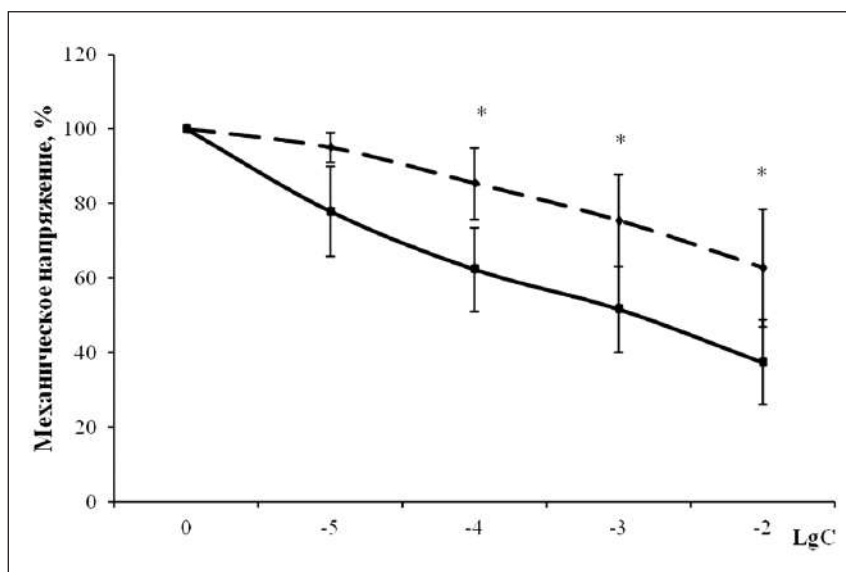
Обсуждение

В наших исследованиях было установлено разнонаправленное действие донора H_2S на МН сосудистых сегментов ЛА крыс, которое зависело от концентрации L-цистеина, наличия эндотелия и природы предсокращения.

В экспериментах с нормотензивными крысами при сокращении, вызванном гиперкалиевым раствором Кребса, серосодержащая аминокислота L-цистеин оказывала только релаксирующее

действие на деэндотелизированные сегменты ЛА крыс при всем диапазоне концентраций (10 мкМ — 10 мМ), когда в сосудистых сегментах с сохраненным эндотелием низкие концентрации L-цистеина (10 мкМ, 100 мкМ) оказывали констрикторное действие на гладкомышечные сегменты, которое инвертировалось на релаксирующее при более высоких концентрациях донора H_2S . Возможно, что L-цистеин, воздействуя на слой эндотелия, снижает выработку релаксирующих факторов и/или выделя-

Рисунок 5. Влияние L-цистеина на механическое напряжение гладких мышц легочной артерии крыс линии SHR, предсокращенных фенилэфрином (10 мкМ) в присутствии буметанида



Примечание: по оси ординат — механическое напряжение (%); по оси абсцисс — десятичный логарифм концентрации L-цистеина; пунктирная линия — влияние L-цистеина на сокращение, вызванное фенилэфрином (10 мкМ); сплошная линия — то же, но на фоне действия буметанида (100 мкМ); * — значимые различия ($p < 0,05$).

в концентрациях свыше 500 мкМ вызывало расслабление гладких мышц, не устраняемое буметанидом [2]. Это позволяет предположить, что в малом круге кровообращения механизмы регуляции МН гладких мышц при участии NKCC существенно отличаются от таковых в большом круге кровообращения. В исследованиях с крысами линии SHR сегменты с сохраненным эндотелием на действие L-цистеина отвечали сокращением, а в присутствии блокатора NKCC буметанида в сегментах как с сохраненным, так и с удаленным эндотелием наблюдали релаксирующее влияние донора эндогенного сероводорода. Акар Е. в своих экспериментах на аорте крыс показал, что ингибирование NKCC буметанидом снижает амплитуду сокращений сосудистых сегментов аорты крысы, индуцированных как ФЭ, так и гиперкалиевым раствором Кребса [15]. В наших экспериментах на гипертензивных крысах амплитуда сокращений гладкомышечных сегментов, индуцированных ФЭ, была ниже в присутствии ингибитора NKCC. Имеются сведения о вовлечении котранспорта в патогенез гипертонической болезни: так, генетически модифицированные мыши, имеющие дефектный ген Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспортера (NKCC1^{-/-}knockout mice), характеризуются пониженной величиной кровяного давления и снижением тонуса и величины сократительных ответов сегментов сосудистых гладких мышц при действии ФЭ [16]. По-видимому, изменения в работе внутриклеточных систем ГМК ЛА SHR крыс приво-

дят к повышенной чувствительности к действию внутриклеточного H_2S и, возможно, повышенной активности NKCC не только в ГМК, но и в клетках эндотелия, что в свою очередь приводит к инвертированию констрикторного действия сероводорода в высоких концентрациях на вазодилаторное при предобработке буметанидом. Так, артериальная гипертензия у крыс линии SHR развивается вследствие нарушения функции 1–6 генов, участвующих в регуляции тонуса сосудов. Согласно одной из гипотез повышенного артериального давления у крыс линии SHR, существуют наследственные дефекты кальциевых и натриевых ионных каналов, расположенных в мембране ГМК стенки резистивных артерий. Наблюдается увеличенная активность гидропиридиновых каналов наружной клеточной мембраны и рианодиновых рецепторов эндоплазматического ретикулума, что приводит к повышению уровня несвязанного внутриклеточного кальция. Это вызывает увеличение тонуса сосудов и повышение их чувствительности к прессорным стимулам. Экспериментальные данные показывают нарушение взаимодействия между входом Ca^{2+} через каналы L-типа и высвобождением его из саркоплазматического ретикулума. Кроме того, для крыс линии SHR характерно наследственно обусловленное снижение продукции эндотелиального NO [17].

Выявленные различия влияния донора сероводорода на МН сосудистых сегментов можно связать с различной природой этих сокращений. Увеличе-

ние МН ГМК, вызванное деполяризацией мембраны гиперкалиевым раствором Кребса, обусловлено оперированием только кальций-кальмодулиновой (Са-КМ) ветви кальциевой сигнальной системы. В то же время в индукцию и поддержание сокращения, вызванного ФЭ, вовлечены обе ее ветви: Са-КМ и С-киназная [12]. Это предположение имеет большее значение для нормотензивных крыс. Возможные факторы различий эффектов L-цистеина на МН гладких мышц для гипертензивных крыс определить сложнее. Наряду с этим исследования процессов сопряжения возбуждения и сокращения в ГМК свидетельствуют о наличии дополнительных факторов, влияющих на конечный функциональный ответ гладкой мышцы. Одним из таких факторов является Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорт.

Заключение

Несмотря на определенные успехи, достигнутые в изучении механизмов регуляции функций сосудистых гладких мышц, многие вопросы требуют дальнейшего изучения. Полученные данные могут помочь в понимании эффектов эндогенного H_2S , роли НКСС и способствовать поиску подходов фармакологической коррекции патологических состояний сердечно-сосудистой системы.

Финансирование исследования / Financial support

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (соглашение № 16–34–00419/16, № 16–34–00262/16). / The study is supported by the Russian Foundation of the Fundamental Studies (agreement № 16–34–00419/16, № 16–34–00262/16).

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Гусакова С. В., Ковалев И. В., Смаглий Л. В., Бирулина Ю. Г., Носарев А. В., Петрова И. В. и др. Газовая сигнализация в клетках млекопитающих. Успехи физиол. наук. 2015;46(4):53–73. [Gusakova SV, Kovalev IV, Smaglyi LV, Birulina YG, Nosarev AV, Petrova IV et al. Gas signaling in mammalian cells. *Uspekhi Fiziologicheskikh Nauk = Successes of Physiology Sciences*. 2015;46(4):53–73. In Russian].
2. Смаглий Л. В., Гусакова С. В., Бирулина Ю. Г., Ковалев И. В., Орлов С. Н. Роль сероводорода в объем-зависимых механизмах регуляции сократительной активности гладкомышечных клеток сосудов. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 2015.101(4):441–450. [Smaglyi LV, Gusakova SV, Birulina YG, Kovalev IV, Orlov SN. The role of hydrogen sulfide in volume-dependent mechanisms of regulation of vascular smooth muscle cells contractile activity. *Rossiiskii Fiziologicheskii*

Zhurnal imeni I. M. Sechenova = Russian Physiology Journal n. a. I. M. Sechenov. 2015;101(4):441–50. In Russian].

3. Beltowski J. Hydrogen sulfide in pharmacology and medicine. *An Update Pharmacol Rep*. 2015;67(3):647–658.

4. Баскаков М. Б., Гусакова С. В., Желудева А. С., Смаглий Л. В., Ковалев И. В., Вторушина Т. А. и др. Влияние сероводорода на сократительную активность гладкомышечных клеток аорты крысы. Бюлл. сиб. мед. 2010;9(6):12–17. [Baskakov MB, Gusakova SV, Zheludeva AS, Smaglyi LV, Kovalev IV, Vtorushina TA et al. Effect of hydrogen sulfide on the contractile activity of smooth muscle cells from the rat aorta. *Bulleten Sibirskoy Meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*. 2010;9(6):12–17. In Russian].

5. Kimura H. Production and physiological effects of hydrogen sulfide. *Antioxid Redox Signal*. 2014;20(5):783–793.

6. Wang R. Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed. *Physiol Rev*. 2012;92(2):791–896.

7. Sun Y, Tang CS, Du JB, Jin HF. Hydrogen sulfide and vascular relaxation. *Chin Med J*. 2011;124(22):3816–3825.

8. Di Villa Bianca, Sorrentino ER, Coletta C, Mitidieri E, Rossi A, Vellecco V et al. Hydrogen sulphide induced-dual vascular effect involves arachidonic acid cascade in rat mesenteric arterial bed. *J Pharmacol Exp Ther*. 2011;337(1):59–64.

9. Bucci M, Papapetropoulos A, Vellecco V, Zhou Z, Pyriochou A, Roussos C et al. Hydrogen sulfide is an endogenous inhibitor of phosphodiesterase activity. *Arterioscl Thromb Vasc Biol*. 2010;30(10):1998–2004.

10. Duan D, Fermini B, Nattel S. Alpha-adrenergic control of volume-regulated Cl^- currents in rabbit atrial myocytes. Characterization of a novel ionic regulatory mechanism. *Circ Res*. 1995;77(2):379–393.

11. Zhi L, Ang AD, Zhang H, Moore PK, Bhatia M. Hydrogen sulfide induces the synthesis of proinflammatory cytokines in human monocyte cell line U 937 via the ERK-NF- κB pathway. *J Leukoc Biol*. 2007;81(5):1322–1332.

12. Ковалев И. В., Баскаков М. Б., Гусакова С. В., Вторушина Т. А., Желудева А. С., Смаглий Л. В. и др. Влияние сероводорода на электрическую и сократительную активность гладкомышечных клеток мочеточника морской свинки. Бюлл. Сиб. Мед. 2012;11(5):51–59. [Kovalyov IV, Baskakov MB, Gusakova SV, Vtorushina TA, Zheludeva AS, Smaglyi LV et al. The effect of hydrogen sulfide on electrical and contractile activity of smooth muscle cells in guinea pig ureter. *Bulleten Sibirskoy Meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*. 2012;11(5):51–59. doi:http://dx.doi.org/10.20538/1682–0363–2012–11–6] In Russian.

13. Orlov SN, Koltsova SV, Tremblay J, Baskakov MB, Hamet P. NKCC1 and hypertension: role in the regulation of vascular smooth muscle contractions and myogenic tone. *Ann Med*. 2012;44(1):S111–8. doi:10.3109/07853890.2011.653395.

14. Orlov SN, Akimova OA, Koltsova SV, Kapilevich LV, Gusakova SV, Dulin NO. NKCC1 and NKCC2: the pathogenetic role of cation-chloride cotransporters in hypertension. *J Gen Dis*. 2015;2(2):189–196. doi:10.1016/J. Gendis.2015.02.007

15. Akar F, Skinner E, Klein JD, Jena M, Paul RJ, O'Neill WC. Vasoconstrictors and nitrovasodilators reciprocally regulate the Na^+ - K^+ - 2Cl^- -cotransporter in rat aorta. *Am J Physiol*. 1999;276(6 Pt 1):1383–1390.

16. Flagella M, Clarke LL, Miller ML, Erway LC, Giannella RA, Andringa A et al. Mice lacking the basolateral Na^+ - K^+ - 2Cl^- -cotransporter have impaired epithelial chloride secretion and are profoundly deaf. *J Biol Chem*. 1999;274(38):26946–26955.

17. Satoh S, Kreutz R, Wilm C, Ganten D. Augmented agonist-induced Ca^{2+} -sensitization of coronary artery contraction in genetically hypertensive rats. Evidence for altered signal transduction in the coronary smooth muscle cells. *J Clin Invest*. 1994;94(4):1397–1403.

Информация об авторах

Носарев Алексей Валерьевич — доктор медицинских наук, профессор кафедры биофизики и функциональной диагностики ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России; профессор кафедры прикладной физики ФГАОУ ВО НИ ТПУ;

Бирулина Юлия Георгиевна — ассистент кафедры биофизики и функциональной диагностики ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России;

Ковалев Игорь Викторович — доктор медицинских наук, профессор кафедры биофизики и функциональной диагностики ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России;

Смаглий Людмила Вячеславовна — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры биофизики и функциональной диагностики ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России;

Гусакова Светлана Валерьевна — доктор медицинских наук, заведующая кафедрой биофизики и функциональной диагностики ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России;

Петрова Ирина Викторовна — доктор медицинских наук, профессор кафедры биофизики и функциональной диагностики ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России;

Рыдченко Виктория Сергеевна — аспирант кафедры биофизики и функциональной диагностики ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России;

Поливщикова Вероника Александровна — студентка VI курса ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России;

Медведев Михаил Андреевич — доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Заслуженный деятель науки РФ заведующий кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

Author information

Alexey V. Nosarev, MD, PhD, DSc, Professor, Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University, Professor, Department of Applied Physics, Tomsk Polytechnic University;

Yulia G. Birulina, PhD in Biological Sciences, Assistant Professor, Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University;

Igor V. Kovalev, MD, PhD, DSc, Professor, Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University;

Liudmila V. Smaglieri, MD, PhD, DSc, Assistant Professor, Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University;

Svetlana V. Gusakova, MD, PhD, DSc, Head, Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University;

Irina V. Petrova, PhD in Biological Sciences, DSc, Professor, Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University;

Victoria S. Rydchenko, MD, PhD Student, Siberian State Medical University;

Veronika A. Polivshchikova, Student, Siberian State Medical University;

Mikhail A. Medvedev, MD, PhD, DSc, Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head, Department of Normal Physiology, Siberian State Medical University.

ISSN 1607-419X
ISSN 2411-8524 (Online)
УДК 577.1:616.124.2

Клиническое значение исследования гомоаргинина у пациентов с аневризмой восходящего отдела аорты и аортальным стенозом

Н. Д. Гаврилюк¹, Т. Ф. Субботина^{1,2}, Т. А. Дружкова¹,
О. Б. Иртюга¹, А. А. Жлоба^{1,2}, Е. С. Алексеевская^{1,2},
Е. В. Жидулева¹, О. М. Моисеева^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр
имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Первый Санкт-Петербургский государственный меди-
цинский университет имени академика И. П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Гаврилюк Наталья Дмитриевна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2,
Санкт-Петербург, Россия, 197341.
E-mail: Gavriluk_ND@almazovcentre.ru

Статья поступила в редакцию
09.06.17 и принята к печати 07.10.17.

Резюме

Цель исследования — оценить уровень гомоаргинина (гАрг) у лиц с аневризмой восходящего отдела аорты и аортальным стенозом. **Материалы и методы.** В исследование включены 26 пациентов с аневризмой восходящей аорты и 19 больных с аортальным стенозом. Группу сравнения составили 30 здоровых доноров. В сыворотке крови определены уровни гАрг, асимметричного диметиларгинина (АДМА), а также показателей митохондриальной дисфункции: пировиноградной кислоты, белка PGC-1 α , молочной кислоты, цитохрома C. **Результаты.** У больных с аневризмой аорты и аортальным стенозом выявлено снижение уровня сывороточного гАрг ($p < 0,0001$), наиболее выраженное в группе с аневризмой восходящей аорты, а также повышение уровня АДМА и маркеров митохондриальной дисфункции — молочной кислоты, белка PGC-1 α . Не обнаружено связи уровня гАрг с известными метаболическими маркерами митохондриальной (молочная и пировиноградная кислоты) и эндотелиальной дисфункции (АДМА). С уровнем гАрг значимо коррелировали: повышенный индекс массы тела ($r_s = -0,34$; $p = 0,02$), нарушение метаболизма глюкозы ($p = 0,006$) и перенесенный инфаркт миокарда ($p = 0,09$). В подгруппе больных с трехстворчатым аортальным клапаном и аневризмой восходящего отдела аорты выявлена обратная связь между уровнем гАрг и диаметром нисходящей грудной аорты ($r_s = -0,5$; $p < 0,05$). **Заключение.** Для больных с аневризмой восходящего отдела аорты и аортальным стенозом характерно снижение уровня гАрг. С учетом проведенных ранее эпидемиологических исследований гАрг может рассматриваться как потенциальный маркер митохондриальной и эндотелиальной дисфункции. Наиболее выраженные изменения данного показателя отмечены у больных, перенесших инфаркт миокарда, имеющих избыточную массу тела или сахарный диабет.

Ключевые слова: аневризма аорты, аортальный стеноз, гомоаргинин

Для цитирования: Гаврилюк Н. Д., Субботина Т. Ф., Дружкова Т. А., Иртюга О. Б., Жлоба А. А., Алексеевская Е. С., Жидулева Е. В., Моисеева О. М. Клиническое значение исследования гомоаргинина у пациентов с аневризмой восходящего отдела аорты и аортальным стенозом. Артериальная гипертензия. 2017;23(5):403–411. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-403-411

Clinical significance of homoarginine level in patients with ascending aortic aneurysm and aortic stenosis

N. D. Gavriiliuk¹, T. F. Subbotina^{1,2}, T. A. Druzhkova¹,
O. B. Irtyuga¹, A. A. Zhloba^{1,2}, E. S. Alekseevskaya^{1,2},
E. V. Zhiduleva¹, O. M. Moiseeva^{1,2}

¹ Almazov National Medical Research Centre,
St Petersburg, Russia

² First Pavlov State Medical University of St. Petersburg,
St Petersburg, Russia

Corresponding author:

Natalia D. Gavriiliuk,
Almazov National
Medical Research Centre,
2 Akkuratova street, St Petersburg,
197341 Russia.
E-mail: Gavriiliuk_ND@almazovcentre.ru

Received 9 June 2017;
accepted 7 October 2017.

Abstract

Objective. To assess homoarginine (hArg) level in patients with ascending aortic aneurysm and aortic stenosis. **Design and methods.** The study included 26 patients with ascending aortic aneurysm and 19 patients with aortic stenosis. The comparison group consisted of 30 healthy donors. Plasma levels of hArg, asymmetric dimethylarginine (ADMA), and the parameters of mitochondrial dysfunction (pyruvic acid, PGC-1 α protein, lactic acid, cytochrome C) were determined. **Results.** Patients with ascending aortic aneurysm and aortic stenosis demonstrated a decrease in the level of serum hArg ($p = 0,002$), most pronounced in the group with ascending aortic aneurysm, an increase in ADMA and markers of mitochondrial dysfunction-lactic acid, PGC-1 α protein. There was no relation between hArg level and well-known metabolic markers of mitochondrial (lactic and pyruvic acids) and endothelial dysfunction (ADMA). The following factors contributed to the lowering of hArg levels: an increased body mass index ($rs = -0,34$, $p = 0,02$), impaired glucose tolerance ($p = 0,006$), and myocardial infarction ($p = 0,09$). In a subgroup of patients with a tricuspid aortic valve and ascending aortic aneurysm, an inverse relationship was found between hArg level and descending thoracic aortic diameter ($rs = -0,5$, $p < 0,05$). **Conclusion.** The decreased level of hArg is a marker of mitochondrial and endothelial dysfunction in patients with ascending aortic aneurysm and aortic stenosis, especially in patients with myocardial infarction, obesity and diabetes mellitus.

Key words: aortic aneurysm, aortic stenosis, homoarginine

For citation: Gavriiliuk ND, Subbotina TF, Druzhkova TA, Irtyuga OB, Zhloba AA, Alekseevskaya ES, Zhiduleva EV, Moiseeva OM. Clinical significance of homoarginine level in patients with ascending aortic aneurysm and aortic stenosis. Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension. 2017;23(5):403–411. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-403-411

Введение

Среди патологии выходного тракта левого желудка к наиболее распространенным относятся аортальный стеноз и аневризма восходящей аорты.

Согласно аутопсийным данным, у 1 % населения России встречается дилатация восходящего отдела аорты, которая признана наиболее опасной локализацией ввиду проксимального расположения. По результатам эпидемиологических исследований, аортальный стеноз выявляется у 26 % всего населения

старше 65 лет и относится к наиболее часто встречающимся приобретенным порокам сердца [1].

В связи с тем, что в исходе обоих заболеваний большую роль играет своевременное хирургическое лечение, крайне важной задачей является раннее их выявление. Несмотря на многочисленные исследования, до сих пор не выявлено специфических биомаркеров, которые претендовали бы на место в диагностике аневризмы восходящего отдела аорты и аортального стеноза [2]. Большинство из применя-

емых в настоящее время биомаркеров используется в основном для оценки прогноза заболевания, как в случае с определением степени тяжести аортального стеноза с помощью оценки уровня натрийуретического пептида [3].

Оксид азота (NO) играет важную роль в регуляции гомеостаза сосудистой стенки. Показано, что у пациентов с аневризмой восходящего отдела аорты присутствуют признаки нарушения эндотелиальной функции [4]. Однако причины и механизмы эндотелиальной дисфункции у пациентов с аневризмой восходящей аорты и лиц с аортальным стенозом раскрыты не полностью. В связи с тем, что основным источником оксида азота является аргинин (Arg), основной интерес представляет изучение метаболизма Arg и его производных. Поэтому ряд исследований был посвящен оценке уровня асимметричного диметиларгинина (ADMA), конкурентного ингибитора NO-синтазы [5, 6]. Вместе с тем данные об изменении уровня ADMA у больных с патологией аорты и аортального клапана достаточно противоречивы. Так, одни авторы утверждают, что уровень ADMA выше у лиц с аортальным стенозом, чем у больных с аневризмой восходящей аорты [6], другими показано повышение ADMA только у больных с аневризмой восходящей аорты [5].

Гомоаргинин (гArg) — это гомолог аргинина, отличающийся от него дополнительной метиленовой группой. На протяжении многих лет уровень гArg использовался лишь как внутренний стандарт при вычислении концентраций других производных Arg. Считалось, что гArg не имеет своего клинического значения. Ситуация резко изменилась в 2008 году, когда впервые было выявлено повышение гArg во время беременности [7]. С этого момента резко возрос интерес к изучению физиологической роли и метаболизма гArg.

В частности, исследования последних лет указывают на ассоциацию низкого уровня гArg и высокого риска сердечно-сосудистых событий, а также на более высокую смертность среди пациентов в когорте с низким уровнем гArg [8–11]. Результаты экспериментальных исследований, демонстрирующие уменьшение зоны ишемического инсульта при введении экзогенного гArg [11], подтверждают, что данный гомолог Arg следует рассматривать не только как прогностический маркер, но и в качестве потенциального терапевтического агента.

Механизм, лежащий в основе данных взаимосвязей, остается неясным. Как правило, высокий уровень гArg связывают с улучшением функции эндотелия за счет активации пути синтеза NO. С одной стороны, гArg сам является субстратом NO-синтазы, с другой — гArg, являясь продуктом модифика-

ции аминокислоты лизина, сохраняет способность последнего ингибировать аргиназы, увеличивая тем самым концентрацию Arg и его доступность для синтеза NO в клетках. Однако отсутствие выраженной ассоциации между концентрацией Arg и уровнем смертности позволяет предположить, что эффекты гArg не исчерпываются связями с метаболизмом Arg [8].

Уровень гArg, физиологическая роль которого связана как с модуляцией функции эндотелия, так и с энергетическим метаболизмом в тканях, можно считать важным интегральным метаболическим показателем, отражающим прогрессирование митохондриальной и эндотелиальной дисфункций. С учетом проведенных ранее эпидемиологических исследований изучение гArg в качестве потенциального биомаркера эндотелиальной и митохондриальной дисфункции крайне важно для понимания биохимических процессов, сопровождающих формирование патологии восходящего отдела аорты и аортального клапана.

Материалы и методы

Сбор клинического материала проводился с 2012 по 2014 годы на базе ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России. Протокол исследования в соответствии с принципами Хельсинкской декларации был одобрен Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России. Письменное информированное согласие на анонимное использование полученных результатов было получено от всех лиц, участвующих в исследовании.

В исследование включено 26 пациентов с аневризмой восходящей аорты и 19 пациентов с аортальным стенозом, распределение по возрасту — 60 (52–64) лет. Группу сравнения составили 30 здоровых доноров (11 мужчин и 19 женщин) в возрасте от 30 до 61 года. Всем пациентам выполнена эхокардиография по стандартному протоколу на аппарате Vivid 7.0 (GE, USA). Тяжесть аортального стеноза оценивалась по величине скорости кровотока, среднему градиенту давления на аортальном клапане и расчетной площади аортального отверстия. В исследование включены пациенты со скоростью потока на клапане ≥ 4 м/с, средним градиентом давления больше 40 мм рт. ст. и расчетной площадью аортального отверстия менее 1 см². Корень аорты у пациентов с аневризмой восходящего отдела аорты визуализировался с помощью мультиспиральной контрастной томографии (Siemens Somatom Definition 128). Критерием включения было расширение аорты $\geq 4,5$ см. К критериям исключения относились синдромы соединительно-

КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

	Пациенты с аневризмой аорты М ± σ n = 26	Больные с аортальным стенозом М ± σ n = 19
Возраст, годы	55 ± 2	63 ± 2
Индекс массы тела, кг/м ²	28,5 ± 0,8	28,7 ± 1,9
Мужчины, n (%)	17 (65 %)	10 (52 %)
Курящие, n (%)	14 (53 %)	9 (47 %)
Нарушение толерантности к глюкозе/сахарный диабет, n (%)	4 (15 %)	3 (16 %)
Окружность талии, мм	94 ± 3	101 ± 3
Метаболический синдром, n (%)	44 %	48 %
Артериальная гипертензия, n (%)	21 (81 %)	15 (79 %)
Офисное САД, мм рт. ст.	127 ± 3	132 ± 4
Офисное ДАД, мм рт. ст.	81 ± 3	80 ± 3
Креатинин, мкмоль/л	78 ± 3	76 ± 5
Глюкоза, ммоль/л	5,3 ± 0,1	5,6 ± 0,4
Общий холестерин, ммоль/л	4,9 ± 0,2	5,9 ± 0,5
С-реактивный белок, мг/л	4,1 ± 0,8	1,8 ± 0,6
Максимальный диаметр аорты, мм	47,0 ± 1,3*	35,8 ± 0,7
Пиковый градиент на аортальном клапане, мм рт. ст.	12 ± 2	87 ± 9*
Средний градиент на аортальном клапане, мм рт. ст.	—	50 ± 7
Расчетная площадь аортального отверстия, см ²	—	0,82 ± 0,03
ИММЛЖ, г/м ²	136 ± 9	164 ± 12**
Геометрия ЛЖ		
Концентрическая ГЛЖ, n (%)	13 (50 %)	15 (79 %)*
Эксцентрическая ГЛЖ, n (%)	12 (46 %)	4 (21 %)*
Нормальная геометрия, n (%)	1 (4 %)	0
Бета-блокаторы, n (%)	18 (69 %)	14 (75 %)
ИАПФ, n (%)	12 (46 %)	10 (53 %)
Сартаны, n (%)	4 (15 %)	4 (21 %)
БКК, n (%)	3 (12 %)	2 (11 %)
Диуретики, n (%)	8 (31 %)	10 (53 %)*
Статины, n (%)	8 (31 %)	7 (37 %)

Примечание: САД — систолическое артериальное давление; ДАД — диастолическое артериальное давление; ИММЛЖ — индекс массы миокарда левого желудочка; ЛЖ — левый желудочек; ГЛЖ — гипертрофия левого желудочка; ИАПФ — ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента; БКК — блокаторы кальциевых каналов; * — $p < 0,05$; ** — $p = 0,07$.

тканной дисплазии, воспалительные заболевания аорты и аортального клапана, посттравматический генез аневризмы аорты, а также соматическая патология в стадии декомпенсации. Другим критерием исключения из исследования было наличие заболеваний почек, печени, а также эндокринных желез

(за исключением сахарного диабета 2-го типа). Более чем у половины пациентов ($n = 33$) диагностирована артериальная гипертензия, а у 24 пациентов выявлены начальные клинические проявления сердечной недостаточности, соответствующие II функциональному классу (ФК).

Таблица 2

ЗНАЧЕНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ И ЭНДОТЕЛИЯ В ГРУППЕ ПАЦИЕНТОВ

Показатель	Пациенты ¹	Референтный интервал ²
Молочная кислота, ммоль/л	1,1 (0,9–1,6)*	0,5–1,0 [12]
Пировиноградная кислота, мкмоль/л	59 (41–95)	15–100 [12]
Триметиллизин, мкмоль/л	0,29 (0,24–0,39)*	0,34–0,67 [13]
PGC-1a, нг/л	132 (99–173)*	< 80 [12]
АДМА, мкмоль/л	0,46 (0,42–0,53)*	0,13–0,39 [13]
СДМА, мкмоль/л	0,46 (0,39–0,53)*	0,24–0,36 [13]

Примечание: АДМА — асимметричный диметиларгинин; СДМА — симметричный диметиларгинин; PGC1a — 1-альфа-коактиватор гамма-рецептора, активирующего пролиферацию пероксисом; * — значимые различия с группой сравнения, $p < 0,001$. ¹ — данные представлены в виде медианы и межквартильного интервала. ² — по результатам собственных исследований. Референтный интервал представлен в виде диапазона концентраций между 10 и 90 перцентилями у здоровых лиц.

Материал исследования

Для определения исследуемых показателей использовали плазму крови, взятой из кубитальной вены утром натощак в вакутейнеры с цитратом натрия или этилендиаминтетрауксусной кислотой (EDTA, ЭДТА) в качестве антикоагулянтов. Процедуру отделения форменных элементов крови проводили в течение не более 20 минут от момента взятия крови. Образцы плазмы до анализа хранили при температуре -80°C .

Лабораторные исследования выполнены в отделе биохимии научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России.

Определение уровня гомоаргинина

Уровень гАрг определяли в составе спектра кодируемых аминокислот плазмы крови методом обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [12] с использованием ортофталевого альдегида для предколоночной дериватизации и колонки Zorbax Eclipse AAA C18 ($150 \times 4,6$ мм, 3,5 мкм) в модификации, поддержанной патентом Российской Федерации (Положительное решение от 10 января 2017 года № 2015152677/15 (081202)). Концентрации аминокислот рассчитывали, используя норвалин в качестве внутреннего стандарта.

Определение уровней других показателей

Концентрацию молочной кислоты в плазме крови определяли колориметрически с помощью лактатоксидазного теста по набору Витал Девелопмент Корпорэйшн (Россия).

Концентрацию пировиноградной кислоты определяли в безбелковом ультрафильтрате плазмы с ис-

пользованием лактатдегидрогеназы, как описано ранее [12].

Уровень белков определяли с помощью коммерческих наборов реактивов для иммуноферментного анализа: PGC-1a (1-альфа-коактиватор гамма-рецептора, активирующего пролиферацию пероксисом; Uscn Life Science Inc., КНР), цитохром С (Bender MedSystems GmbH, Австрия).

Концентрацию метилированных производных основных аминокислот — асимметричного (АДМА) и симметричного (СДМА) диметиларгининов, а также триметиллизина — определяли методом ВЭЖХ после твердофазной экстракции с последующей дериватизацией ортофталевого альдегида [13].

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием пакета программ SAS 9.3. Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха (Me (Q1–Q3)). Для оценки межгрупповых различий использован непараметрический критерий Манна–Уитни. Корреляционный анализ проведен с применением критерия Спирмена. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05.

Результаты исследования

Группа пациентов характеризовалась умеренными отклонениями концентраций рутинных биохимических показателей (табл. 1). Относительно здоровых лиц в группе пациентов обнаружены метаболические признаки митохондриальной дисфункции (табл. 2), включающие повышение уровней молочной кислоты, белка PGC-1a, а также снижение концентрации триметиллизина и случаи обнаружения белка цитохрома С в крови (данные

не представлены). Также обнаружено повышение маркера дисфункции эндотелия — АДМА. Значения указанных параметров в подгруппах лиц с аневризмой восходящей аорты и аортальным стенозом были сопоставимы.

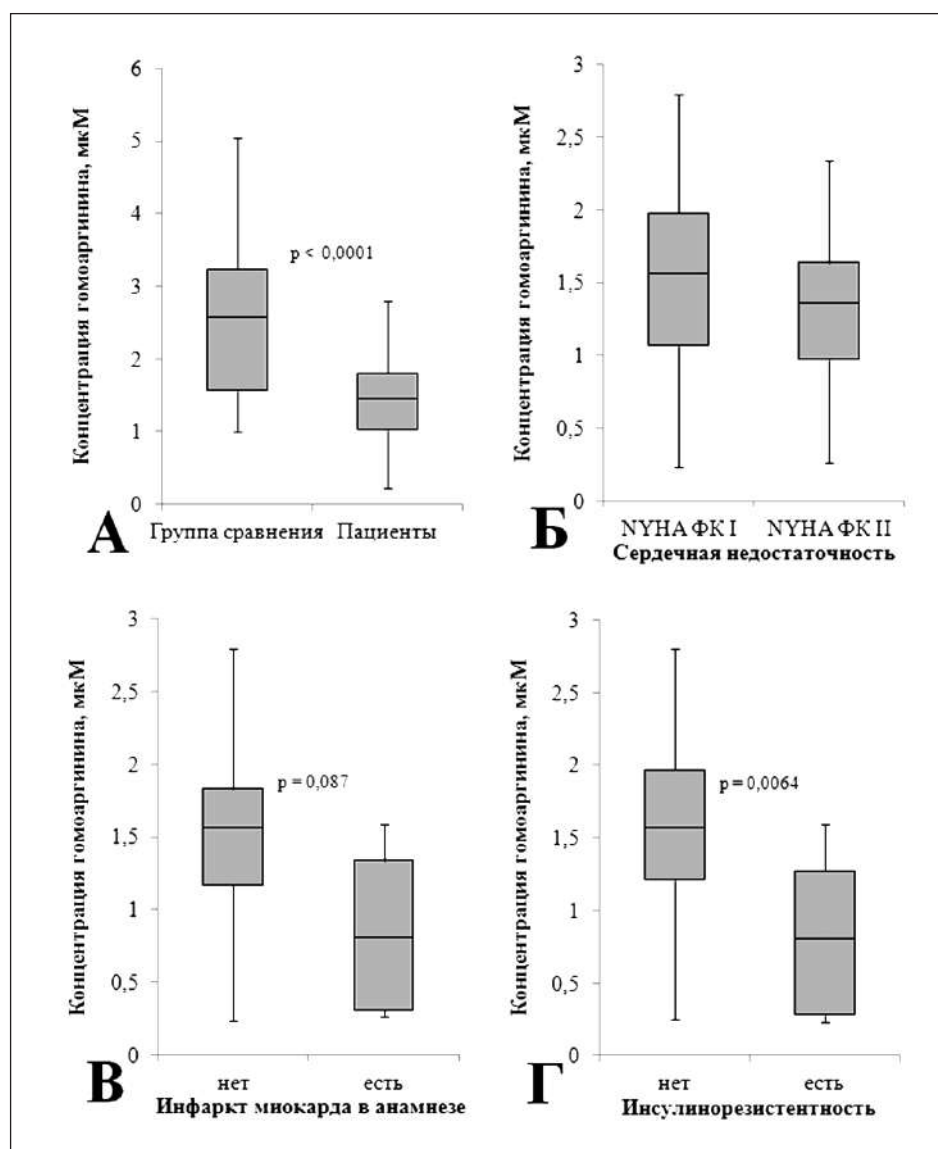
У пациентов с патологией аорты и аортального клапана выявлено снижение уровня гАрг (рис. А), которое, следует отметить, было в большей степени выражено у пациентов с аневризмой восходящей аорты — 1,23 (0,71–1,56) мкмоль/л в сравнении с 1,66 (1,56–2,00) мкмоль/л у пациентов с аортальным стенозом ($p = 0,002$). Наличие начальных признаков сердечной недостаточности не сопровождалось дополнительным существенным снижением уровня гАрг (рис. Б). Тенденция к снижению уровня гАрг относительно остальных пациентов обнаруже-

на у лиц, перенесших инфаркт миокарда (рис. В).

Пациенты с нарушением метаболизма глюкозы (сахарный диабет 2-го типа или нарушение толерантности к глюкозе) характеризовались наиболее низким уровнем гАрг (рис. Г). У трех пациентов, имевших в анамнезе инфаркт миокарда в сочетании с нарушением метаболизма глюкозы, уровень гАрг составил 0,26, 0,31 и 1,59 мкмоль/л.

Важно отметить, что у обследованных пациентов выявлена ассоциация снижения уровня гАрг с увеличением индекса массы тела ($r_s = -0,34$; $p = 0,02$). Не установлено корреляции между согласованным изменением уровня гАрг и известными метаболическими маркерами митохондриальной (молочная и пировиноградная кислоты) и эндотелиальной дисфункции (АДМА), а также рутинными

Рисунок. Концентрация гомоаргина у пациентов с патологией аорты и аортального клапана и в группе сравнения (А) и в зависимости от клинического статуса (Б, В, Г)



Примечание: НУНА ФК — функциональный класс сердечной недостаточности по классификации Нью-Йоркской кардиологической ассоциации.

биохимическими показателями. Уровень гАрг коррелировал только с концентрацией триметиллизина ($r_s = 0,4$; $p = 0,009$), значение которого было изучено нами ранее [13]. В подгруппе больных с трехстворчатым аортальным клапаном и аневризмой восходящей аорты выявлена обратная связь между уровнем гАрг и диаметром нисходящей аорты ($r_s = -0,5$; $p < 0,05$).

Обсуждение

Ассоциацию гАрг с риском сосудистых осложнений, как правило, связывают с возможным участием данной аминокислоты в метаболизме NO. Тем не менее, в качестве субстрата NO-синтазы, гАрг гораздо менее эффективен, чем Арг [7], а его ингибирующее действие на аргиназу является слабым. Согласно экспериментальным исследованиям с использованием мышинных линий [11], а также результатам изучения биосинтеза гАрг у человека [14], уровень данной аминокислоты в крови главным образом определяется активностью фермента биосинтетического пути креатин–аргинин: глицинамидинотрансферазой (AGAT). Экспрессия гена AGAT у человека обнаружена во многих тканях, но наиболее высока она в почках [15]. Показано, что уровень гАрг в плазме крови связан с генетическими вариантами AGAT у человека [14], частота которых варьирует в различных этнических группах. Рассматривая гАрг в качестве побочного продукта биосинтеза креатина, можно заключить, что его уровень отражает интенсивность энергетического метаболизма в тканях. В этой связи важно отметить, что нами не обнаружено ассоциации уровня гАрг с показателями, связанными с функцией митохондрий (молочная кислота, пировиноградная кислота, PGC-1 α , цитохром C) и, с другой стороны, нет понижения гАрг у лиц с начальными признаками сердечной недостаточности. Также не выявлено связей с уровнями АДМА и СДМА, что находится в соответствии с современным представлением об особой диагностической и прогностической значимости гАрг [8, 11]. Полученные результаты указывают на то, что гАрг следует рассматривать как независимый показатель изменения метаболизма.

Экспериментальные данные о сокращении зоны ишемического поражения мозга на фоне введения экзогенного гАрг [11] свидетельствуют, что данное производное Арг не просто является побочным продуктом пути образования креатина, а, вероятно, имеет собственное метаболическое значение.

Выявленное нами снижение концентрации гАрг у обследованных пациентов с патологией восходящего отдела аорты и аортального клапана согласуется с данными других исследований в когортах лиц

с высоким риском сердечно-сосудистых осложнений [8–11]. В масштабном исследовании лиц с ишемической болезнью сердца ($n = 3305$, LURIC study) показано, что среди пациентов с уровнем гАрг ниже 1,85 мкмоль/л смертность от сердечно-сосудистых заболеваний в 4 раза выше, чем среди лиц с уровнем гАрг более 3,1 мкмоль/л [9]. Для группы пациентов с высоким риском смерти, имеющих сахарный диабет 2-го типа и находящихся на гемодиализе ($n = 1244$, 4D study), продемонстрированы более низкие значения уровня гАрг в сравнении с LURIC study — $1,2 \pm 0,5$ и $2,6 \pm 1,1$ мкмоль/л соответственно [8, 9]. По результатам настоящего исследования у пациентов с перенесенным инфарктом миокарда в анамнезе и у лиц с сахарным диабетом также обнаружены наиболее низкие значения уровня гАрг. Имело место и снижение гАрг при повышении индекса массы тела. В совокупности эти данные подтверждают ассоциацию компонентов метаболического синдрома с низким уровнем гАрг.

Сама по себе митохондриальная дисфункция отражает состояние метаболических процессов в тканях и чаще встречается у больных с атеросклерозом и метаболическим синдромом. Этот факт особенно интересен в контексте исследуемой в настоящей работе патологии, так как известно, что атеросклероз как причина формирования аневризмы восходящего отдела аорты был практически отвергнут. Кроме того, имеются данные о низком риске ишемической болезни и инфарктов у лиц с этой патологией [16]. В настоящей работе выявлена связь между снижением уровня гАрг и увеличением диаметра нисходящей грудной аорты. Однако данный факт продемонстрирован только на примере больных с аневризмой восходящей аорты, имеющих трехстворчатый аортальный клапан. Принято считать, что именно атеросклероз лежит в основе дилатации нисходящей грудной аорты наряду со специфическими изменениями брахиоцефальных, коронарных артерий и брюшной аорты. Таким образом, возможно, метаболические нарушения, встречающиеся у лиц с аортопатией на фоне трехстворчатого клапана, находят свое отражение в формировании расширения нисходящей грудной аорты. Напротив, диаметр восходящей аорты не был ассоциирован с уровнем гАрг, что соответствует современным представлениям о многофакторном механизме формирования аневризмы восходящего отдела аорты [16].

Обращает на себя внимание и тот факт, что у лиц с аневризмой восходящей аорты гАрг был намного ниже, чем у больных с аортальным стенозом, вопреки сложившимся представлениям о большем значении атеросклероза и метаболического синдро-

ма в развитии аортального стеноза по сравнению с аневризмой восходящего отдела аорты.

Важно отметить, что гАрг одновременно служит маркером эндотелиальной и митохондриальной дисфункций. Одним из патогенетических процессов, связывающих метаболические нарушения с митохондриальной и эндотелиальной дисфункцией, является нарушение разделения митохондрий. В частности, показано, что при гипергликемии в стенке аорты образуются активные формы кислорода, которые изменяют процесс деления митохондрий, что приводит к нарушению работы NO-синтазы. Доказательством служит улучшение работы NO-синтазы при подавлении деления митохондрий [17]. В свою очередь изменение процессов слияния/деления митохондрий непосредственно влияет на процессы апоптоза и аутофагии. В связи с тем, что в тканях аорты у больных с аневризмой восходящего отдела описано увеличение числа апоптозов гладкомышечных клеток, такой механизм патогенеза может объяснять формирование аневризмы восходящего отдела аорты у пациентов с сахарным диабетом без тяжелого атеросклеротического поражения сосудистой стенки.

В заключение следует подчеркнуть, что согласно полученным в настоящей работе данным, снижение уровня гАрг отражает наличие митохондриальной и эндотелиальной дисфункции как у больных с аневризмой восходящего отдела аорты, так и у лиц с аортальным стенозом. Однако, как и с уровнем АДМА, о причинно-следственных связях пока говорить рано, так как в настоящее время накоплено слишком мало данных о метаболизме производных аргинина. С учетом того, что ограниченность выборки — основной лимитирующий фактор данной работы, дальнейшее изучение уровня производных Арг в широкомасштабных исследованиях поможет определить их диагностическую роль при патологии аорты и аортального клапана.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 17-75-30052 «Разработка персонализированной терапии ожирения и сахарного диабета 2-го типа в целях снижения сердечно-сосудистых рисков». / The study is supported by the grant of the Russian Scientific Foundation, project # 17-75-30052 “The development of the personalized treatment of patients with obesity and type 2 diabetes mellitus in order to reduce cardiovascular risk”.

Список литературы / References

1. Eveborn GW, Schirmer H, Heggelund G, Lunde P, Rasmussen K. The evolving epidemiology of valvular aortic stenosis. The Tromsø study. *Heart*. 2013;99(6):396–400. doi:10.1136/heartjnl-2012-302265
2. Van Bogaert GH, Tolenaar JL, Grassi V, Lomazzi C, Segreti S, Rampoldi V et al. Biomarkers in TAA-the Holy Grail. *Prog Cardiovasc Dis*. 2013;56(1):109–15. doi:10.1016/j.pcad.2013.05.004
3. Farré N, Gómez M, Molina L, Cladellas M, Blé M, Roqueta C et al. Prognostic value of NT-proBNP and an adapted monin score in patients with asymptomatic aortic stenosis. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2014;67(1):52–7. doi:10.1016/j.rec.2013.06.020
4. Tzemos N, Lyseggen E, Silversides C, Jamorski M, Tong JH, Harvey P et al. Endothelial function, carotid-femoral stiffness, and plasma matrix metalloproteinase-2 in men with bicuspid aortic valve and dilated aorta. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(7):660–8. doi:10.1016/j.jacc.2009.08.080
5. Gavriluk N, Druzhkova T, Irtyuga O, Zhloba A, Subbotina T, Uspenskiy V et al. Asymmetric dimethylarginine in patients with ascending aortic aneurysms. *Aorta (Stamford)*. 2016;4(6):219–226. doi:10.12945/j.aorta.2016.16.025
6. Ali OA, Chapman M, Nguyen TH, Chirkov Y, Heresztyn T, Mundisugih J et al. Interactions between inflammatory activation and endothelial dysfunction selectively modulate valve disease progression in patients with bicuspid aortic valve. *Heart*. 2014;100(10):800–5. doi:10.1136/heartjnl-2014-305509
7. Tsikas D, Wu G. Homoarginine, arginine, and relatives: analysis, metabolism, transport, physiology, and pathology. *Amino Acids*. 2015;47(9):1697–1702. doi:10.1007/s00726-015-2055-5
8. März W, Meinitzer A, Drechsler C, Pilz S, Krane V, Kleber ME et al. Homoarginine, cardiovascular risk, and mortality. *Circulation*. 2010;122(10):967–75. doi:10.1007/s00726-015-2055-5
9. Drechsler C, Meinitzer A, Pilz S, Krane V, Tomaschitz A, Ritz E et al. Homoarginine, heart failure, and sudden cardiac death in haemodialysis patients. *Eur J Heart Fail*. 2011;13(8):852–59. doi:10.1093/eurjhf/hfr056
10. Pilz S, Meinitzer A, Tomaschitz A, Drechsler C, Ritz E, Krane V et al. Low homoarginine concentration is a novel risk factor for heart disease. *Heart*. 2011;97(15):1222–27. doi:10.1136/hrt.2010.220731
11. Choe CU, Atzler D, Wild PS, Carter AM, Boger RH, Ojeda F et al. Homoarginine levels are regulated by L-arginine: glycine amidinotransferase and affect stroke outcome: results from human and murine studies. *Circulation*. 2013;128(13):1451–61. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.112.000580
12. Жлоба А. А., Субботина Т. Ф., Алексеевская Е. С., Моисеева О. М., Гаврилюк Н. Д., Иртыга О. Б. и соавт. Уровень циркулирующего PGC1α при сердечно-сосудистых заболеваниях. *Биомедицинская химия*. 2016;62(2):198–205. doi:10.18097/PBMC20166202198 [Zhloba AA, Subbotina TF, Alekseevskaya ES, Moiseeva OM, Gavriluk ND, Irtyuga OB. The level of circulating PGC1α in cardiovascular disease. *Biomed Khim*. 2016;62(2):198–205. doi:10.18097/PBMC20166202198 In Russian].
13. Жлоба А. А., Субботина Т. Ф., Алексеевская Е. С., Моисеева О. М., Дружкова Т. А., Жидулева Е. В. и соавт. Метаболический предшественник карнитина триметил-L-лизин и метилированные продукты аргинина у пациентов с заболеваниями сердечно-сосудистой системы. *Артериальная гипертензия*. 2015;21(6):587–94. doi:10.18705/1607-419X-2015-21-6-587-594 [Zhloba AA, Subbotina TF, Alekseevskaya ES, Moiseeva OM, Druzhkova TA, Zhiduleva EV et al. Trimethyl-L lysine, the metabolic precursor of carnitine, and methylated derivatives of arginine in patients with cardiovascular diseases. *Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension*. 2015;21(6):587–594. doi:10.18705/1607-419X-2015-21-6-587-594 In Russian].
14. Davids M, Ndika JD, Salomons GS, Blom HJ, Teerlink T. Promiscuous activity of arginine: glycine amidi-

notransferase is responsible for the synthesis of the novel cardiovascular risk factor homoarginine. *FEBS Lett.* 2012;586(20):3653–7. doi:10.1016/j.febslet.2012.08.020

15. Jaýwińska-Kozuba A, Martens-Lobenhoffer J, Kruszelniczka O, Rycaj J, Chyrchel B, Surdacki A et al. Opposite associations of plasma homoarginine and ornithine with arginine in healthy children and adolescents. *Int J Mol Sci.* 2013;14(11):21819–21832. doi:10.3390/ijms141121819

16. Chau K, Elefteriades JA. Ascending thoracic aortic aneurysms protect against myocardial infarctions. *Int J Angiol.* 2014;23(3):177–82. doi:10.1055/s-0034-1382288

17. Apostolova N, Victor MV. Molecular Strategies for Targeting Antioxidants to Mitochondria: Therapeutic Implications. *Antioxid Redox Signal.* 2015; M22(8):686–729. doi:10.1089/ars.2014.5952

Информация об авторах

Гаврилюк Наталья Дмитриевна — очный аспирант ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России по специальности «Кардиология», научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории кардиомиопатий;

Субботина Татьяна Федоровна — доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник группы протеомики Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, заведующая лабораторией биохимического мониторинга отдела биохимии научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России;

Дружкова Татьяна Александровна — аспирант по специальности «Кардиология» научно-исследовательской лаборатории кардиомиопатий Института сердца и сосудов ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Иртюга Ольга Борисовна — кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела некоронарогенных заболеваний сердца ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Жлоба Александр Анатольевич — доктор медицинских наук, профессор, руководитель группы протеомики Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, руководитель отдела биохимии научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России;

Алексеевская Елизавета Сергеевна — младший научный сотрудник группы протеомики Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, научный сотрудник отдела биохимии научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России;

Жидулева Екатерина Викторовна — младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории кардиомиопатий Института сердца и сосудов ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Моисеева Ольга Михайловна — доктор медицинских наук, заведующая научно-исследовательским отделом «Некоронарогенные заболевания сердца», директор Института сердца и сосудов ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; доцент кафедры факультетской терапии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России.

Author information

Natalia D. Gavriluk, MD, PhD student, Research Laboratory of Cardiomyopathies, Almazov National Medical Research Centre;

Tatiana F. Subbotina, MD, PhD, DSc, Professor, Leading Researcher. Proteomic Team, the Institute of Molecular Biology

and Genetics, Almazov National Medical Research Centre, Head, Biochemistry Monitoring Laboratory, Department of Biochemistry, First Pavlov State Medical University of St. Petersburg;

Tatiana A. Druzhkova, MD, PhD Student, Research Laboratory of Cardiomyopathies, Almazov National Medical Research Centre;

Olga B. Irtuga, MD, PhD, Leading Researcher, Research Laboratory of Cardiomyopathies, Almazov National Medical Research Centre;

Alexander A. Zhloba, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Proteomic Team, the Institute of Molecular Biology and Genetics, Almazov National Medical Research Centre, Head, Department of Biochemistry, First Pavlov State Medical University of St. Petersburg;

Elizaveta S. Alekseevskaya, Junior Researcher, Proteomic Team, the Institute of Molecular Biology and Genetics, Almazov National Medical Research Centre, Researcher, Department of Biochemistry, First Pavlov State Medical University of St. Petersburg;

Ekaterina V. Zhiduleva, Junior Researcher, Research Laboratory of Cardiomyopathies, Almazov National Medical Research Centre;

Olga M. Moiseeva, MD, PhD, DSc, Director, Institute of Heart and Vessels, Almazov National Medical Research Centre, Associate Professor, Intermediate Level Therapy Department, First Pavlov State Medical University of St. Petersburg.

ISSN 1607-419X
ISSN 2411-8524 (Online)
УДК 616.12-008.331.1:615

Действие оксакома на давление в правом желудочке у крыс с легочной артериальной гипертензией, индуцированной монокроталином

**А. А. Абрамов, В. Л. Лакомкин, А. А. Тимошин,
Е. В. Лукошкова, В. В. Ермишкин, В. И. Капелько**
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр
кардиологии» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Москва, Россия

Контактная информация:

Абрамов Александр Александрович,
ФГБУ «НМИЦ кардиологии»
Минздрава России,
3-я Черепковская ул., д. 15 а, Москва,
Россия, 121552.
Тел.: +7(495)414-67-55.
Факс: +7(495)414-66-99.
E-mail: ferk_88@list.ru

*Статья поступила в редакцию
24.05.17 и принята к печати 02.10.17.*

Резюме

Легочная артериальная гипертензия (ЛАГ) — относительно редкое заболевание, но терапия его дорога и малоэффективна. Одним из важных механизмов патогенеза ЛАГ является сниженное образование оксида азота в эндотелиоцитах легочных сосудов. **Цель исследования** состояла в изучении эффекта оксакома (динитрозильный комплекс железа с лигандом глутатионом), уже зарекомендовавшего себя как средство длительного снижения артериального давления (АД) в большом круге кровообращения, на давление в малом круге. **Материалы и методы.** Для воспроизведения ЛАГ была использована стандартная монокроталиновая модель на крысах. Через 3 недели после введения монокроталина (60 мг/кг) у наркотизированных крыс (кетамин 100 мг/кг) катетеризировали правый желудочек через яремную вену и измеряли давление в нем. Одновременно регистрировали АД в бедренной артерии и электрокардиограмму. **Результаты.** Систolicкое давление в правом желудочке (СДПЖ) у крыс, получивших монокроталин, возросло вдвое по сравнению с контрольной группой — с 35 до 70 мм рт. ст., но индекс сократимости миокарда снизился на 28 %, увеличилась длительность комплекса QRS, возрос зубец Т. Внутривенное введение оксакома (40 мг/кг) этим животным быстро снижало СДПЖ в среднем на 12 ± 3 мм рт. ст., и этот уровень сохранялся на протяжении часа наблюдения. У контрольных крыс такой эффект отсутствовал. АД в большом круге в обеих группах изменялось одинаково. При ингаляции оксида азота гипотензивное действие наблюдали только у животных с повышенным уровнем СДПЖ. Ингаляционное введение оксакома оказалось неэффективным. **Заключение.** Результаты показали, что оксаком является перспективным средством для устойчивого снижения давления в малом круге кровообращения при ЛАГ, но требуется дальнейшая работа по созданию модифицированной формы газообразного оксакома, способного проникать через легочные альвеолы.

Ключевые слова: легочная артериальная гипертензия, оксид азота, монокроталин, динитрозильные комплексы железа, артериальное давление

Для цитирования: Абрамов А. А., Лакомкин В. Л., Тимошин А. А., Лукошкова Е. В., Ермишкин В. В., Капелько В. И. Действие оксакома на давление в правом желудочке у крыс с легочной артериальной гипертензией, индуцированной монокроталином. Артериальная гипертензия. 2017;23(5):412–420. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-412-420

Effect of oxacom on the right ventricular pressure in rats with monocrotalin-induced pulmonary arterial hypertension

A. A. Abramov, V. L. Lakomkin, A. A. Timoshin,
E. V. Lukoshkova, V. V. Ermishkin, V. I. Kapelko
National Medical Research Centre in Cardiology,
Moscow, Russia

Corresponding author:

Aleksandr A. Abramov, Laboratory of
Experimental Heart Pathology, Institute
of Experimental Cardiology, National
Medical Research Centre in Cardiology,
15 a 3 Cherepkovskaya street, Moscow,
121552 Russia.
Phone: +7(495)414-67-55.
Fax: +7(495)414-66-99.
E-mail: ferk_88@list.ru

Received 24 May 2017;
accepted 2 October 2017.

Abstract

Background. Pulmonary arterial hypertension (PAH) is a relatively rare disease, but its therapy is expensive and effectiveness is moderate. One of important mechanisms of PAH pathogenesis is reduced formation of nitric oxide in pulmonary vascular endotheliocytes. **Objective.** To study the effect of oxacom (dinitrosyle iron complex with ligand glutathione), which already demonstrated long-term decline in blood pressure (BP) in systemic circulation, on pressure in pulmonary circulation. **Design and method.** To induce PAH, the standard monocrotalin rat model was used. Three weeks after monocrotalin introduction (60 mg/kg), a catheterization of the right ventricle was performed in anesthetized rats (100 mg/kg ketamine) through jugular vein and pressure was measured. Simultaneously, BP in femoral artery and ECG were recorded. **Results.** Systolic pressure in the right ventricle (SPRV) in rats after monocrotalin introduction doubled compared with the control group, from 35 to 70 mmHg, but myocardial contractility index fell by 28%, also duration of QRS complex and the height of T-wave increased. Intravenous oxacom (40 mg/kg) quickly reduced SPRV by average of 12 ± 3 mmHg, and this level was maintained for an hour. This effect was absent in control rats. Similar BP changes in systemic circulation were observed in both groups. Inhalation of nitric oxide led to BP decrease only in animals with high level of SPRV. Inhalation of oxacom was ineffective. **Conclusion.** Oxacom is a promising substance for sustained pressure decline in the pulmonary circulation in PAH, but further investigations are needed for the development of a more suitable prolonged-action form of the drug.

Key words: pulmonary arterial hypertension, nitric oxide, monocrotalin, dinitrosyle iron complexes, blood pressure

For citation: Abramov AA, Lakomkin VL, Timoshin AA, Lukoshkova EV, Ermishkin VV, Kapelko VI. Effect of oxacom on the right ventricular pressure in rats with monocrotalin-induced pulmonary arterial hypertension. Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension. 2017;23(5):412–420. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-412-420

Введение

Легочная артериальная гипертензия (ЛАГ) — относительно редкое заболевание, очень трудно поддающееся лечению. На текущий момент ЛАГ определяется как хроническое возрастание среднего артериального давления (АД) в легочной артерии (более

25 мм рт. ст. в покое и более 30 мм рт. ст. при физической нагрузке, при давлении заклинивания < 15 мм рт. ст.) [1]. Всемирная организация здравоохранения отнесла ЛАГ в первую группу заболеваний [2].

Этиология данного заболевания разнообразна. Основные причины развития ЛАГ — это гипоксия,

воспаление или генетические дефекты. Но патогенетические изменения могут быть сходными. При хронической ЛАГ характерные анатомические изменения в сосудистой стенке носят преимущественно воспалительный характер: облитерация сосудистого русла, разрастание соединительной ткани, замещение функциональных элементов сосудистой стенки на фибробласты [3, 4]. Ремоделирование происходит во всех слоях сосудистой стенки. В нем участвуют и эндотелиальные, и гладкомышечные клетки [5].

Изучение патогенеза лучше выполнять на адекватной экспериментальной модели. Однако в настоящее время не существует доклинической модели, которая полностью бы воспроизводила характер ЛАГ у человека [6, 7]. Тем не менее изучение моделей позволяет идентифицировать клеточные изменения, что полезно для понимания патогенеза данного заболевания. Воспалительный процесс в эндотелиоцитах является одной из основных причин в патогенезе ЛАГ, он вызывает увеличение проницаемости эндотелиального слоя, ослабление активности NO-синтазы [8] и усиление влияния эндотелина, тромбосана и других сосудосуживающих молекул. Следствием этого является стабильное повышение сосудистого тонуса в данном участке системы.

Очевидно, что терапия ЛАГ должна быть направлена в первую очередь на устранение эндотелиальной дисфункции, поэтому попытки восстановить уровень оксида азота являются патогенетически оправданными. Продукция оксида азота эндотелиоцитами является важным антитромботическим фактором. Ингаляция оксида азота уже применяется в клинике, но ее эффект кратковременный, ограничивается временем ингаляции. Содержание свободного NO и его производных снижается в цельной крови, но повышается в тканях сердца и легких [9]. Авторы трактуют эти изменения как ослабление функции eNOS и усиление воспаления. В то же время они фиксируют присутствие признаков окислительного стресса (увеличение ТБК-реактивных продуктов и снижение восстановленного глутатиона в легких) и предполагают, что это вносит дополнительный вклад в снижение уровня свободного NO и его производных в крови.

В данной работе мы попытались добиться более пролонгированной гипотензии в малом круге кровообращения посредством использования применения стабильного донора оксида азота — динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) с лигандом глутатионом [10]. Этот препарат, получивший название «оксаком», был создан в нашем кардиологическом центре при помощи профессора Ванина А. Ф.

[11]. Данное соединение является естественным депо оксида азота в клетках, при различных видах парентерального введения оно повышает уровень связанного с белками ДНКЖ и его содержание в органах. Помимо естественного происхождения, другим преимуществом данного препарата как потенциального лекарства является его относительная дешевизна, что выгодно отличает его от применяемых в настоящее время дорогостоящих химических препаратов.

В течение последней декады было выполнено доклиническое исследование препарата на крысах Wistar и SHR, а также на кроликах и обезьянах. Результаты показали, что препарат у всех животных устойчиво снижает АД в большом круге кровообращения, причем более длительно у крыс SHR [10]. Отличительной особенностью данного препарата является вызываемое им длительное гипотензивное действие в большом круге кровообращения (8–10 часов), зафиксированное при испытании на здоровых добровольцах и лицах с гипертоническими кризами [11, 12]. В связи с этим **целью** данной **работы** было изучение эффекта оксакома на широко используемой модели ЛАГ, вызванной монокроталином. Кроме того, мы сравнивали действие оксакома и оксида азота при их ингаляции.

Материалы и методы

В опытах использовали крыс-самцов популяции Wistar весом 400–450 г. Все манипуляции с лабораторными животными производились в соответствии с требованиями этического комитета ФГБУ «РКНПК» МЗ РФ и принципами национального стандарта ГОСТП 53434–2009. Алкалоид монокроталин вводили внутривенно в дозе 60 мг/кг. Через 3–4 недели после введения в остром опыте на наркотизированных крысах (кетамин 100 мг/кг) регистрировали электрокардиограмму и катетеризовали правый желудочек (ПЖ) через яремную вену полиэтиленовым катетером PE-50 (Instech Salomon). Также регистрировали давление с помощью электроманометра GouldStatham P23 Db (США) и четырехканального усилителя Biograph-4 (Санкт-Петербургский государственный университет аэрокосмического приборостроения). Носику катетера придавали особую крючковидную форму в соответствии с рекомендациями [13], расстояние от конца катетера до датчика не превышало 10 см. Оцифровка сигнала, запись и предобработка проводились с помощью аналого-цифрового преобразователя (АЦП) National Instruments NI USB-6210 и соответствующих программ собственной разработки (автор — Лукошкова Е. В.), выполненных в рекомендованном для данного АЦП фреймворке

Labview. Для измерения АД и частоты сердечных сокращений катетеризировали сонную артерию катетером PE-50 и бедренную вену катетером PE-10 для введения веществ. Сократимость ПЖ сердца оценивали по индексу Верагута ($+dP/dt/P$), рассчитываемому как отношение максимальной скорости нарастания давления в ПЖ к давлению, при котором она возникает.

Было выполнено две серии экспериментов. Первая — с внутривенным введением оксакома в дозе 40 мг/кг болюсно — контрольной группе крыс ($n = 9$) и животным с ЛАГ после обработки монокроталином ($n = 9$). Вторая серия была проведена с ингаляционным введением оксида азота и оксакома. В этой серии также было 2 группы — контроль ($n = 4$) и с ЛАГ ($n = 9$). В этой серии все животные сначала получали ингаляцию оксида азота в течение 30 минут, а затем ингаляцию оксакома (рис. 1). Для проведения ингаляции трубку, по которой подавался нитроксид, фиксировали на носу наркотизированного животного. Фиксация не была плотной, чтобы не допустить гипоксии и асфиксии. Газообразный оксид азота (NO — 0,1 % медицинская смесь

в баллоне) вводили ингаляционно со скоростью 200 мл/мин. Затем, спустя полчаса после окончания введения NO , когда АД полностью восстанавливалось, тому же животному ингаляционно вводили оксаком. Перед введением оксаком растворяли в физиологическом растворе до концентрации 10 мг/мл. Животных ингалировали полученным раствором, распыленным с помощью ультразвукового небулайзера Omron Micro Air NE-U22 в течение часа. За это время на ингаляцию тратилось порядка 20 мл растворенного препарата.

Статистическая обработка данных выполнена с помощью t-критерия Стьюдента для оценки значимости отличий.

Результаты

Исходные параметры функции ПЖ приведены на рисунке 2 и в таблице 1. У крыс с монокроталиновым поражением систолическое давление в ПЖ было вдвое выше, что отражает повышенный уровень давления в легочной артерии. Соответственно были повышены параметры скорости развития и снижения давления. Однако индекс сократимости

Рисунок 1. Протокол опыта с ингаляцией оксида азота и оксакома

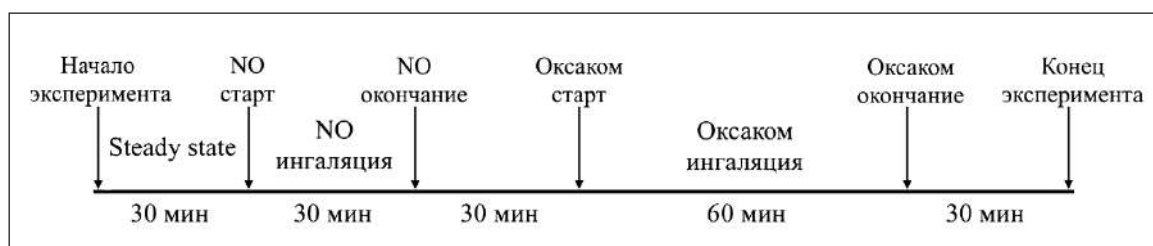
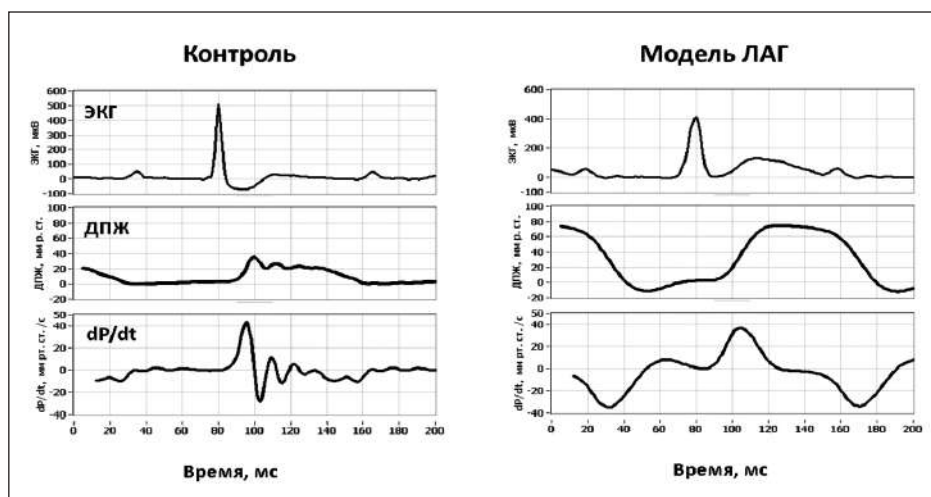


Рисунок 2. Сигналы электрокардиограммы, давления в правом желудочке и его первой производной в типичных опытах в контрольной группе и на модели легочной артериальной гипертензии



Примечание: ЛАГ — легочная артериальная гипертензия; ЭКГ — электрокардиограмма; ДПЖ — давление в правом желудочке.

Таблица 1

ПАРАМЕТРЫ ГЕМОДИНАМИКИ У КОНТРОЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ
И У КРЫС С МОНОКРОТАЛИНОВОЙ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Параметр	Контроль (9)	Монокроталин, 3 недели (9)
ЧСС, уд/мин	410 ± 7	409 ± 9
СрАД, мм рт. ст.	136 ± 3	134 ± 5
ДПЖ сист, мм рт. ст.	35 ± 2	70 ± 5**
КДДПЖ, мм рт. ст.	0,5 ± 1,0	2,7 ± 1,0
+dP/dtmax	3500 ± 294	4770 ± 761*
Индекс сократимости (с-1)	171 ± 8	124 ± 10**

Примечание: СрАД — среднее артериальное давление; ЧСС — частота сердечных сокращений; СДПЖ — систолическое давление в правом желудочке; КДДПЖ — конечное диастолическое давление в правом желудочке; +dPmax — скорость нарастания давления во время систолы; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ по сравнению с исходным состоянием. Данные представлены как среднее ± ошибка среднего.

Таблица 2

ПАРАМЕТРЫ ГЕМОДИНАМИКИ В ИСХОДНОМ СОСТОЯНИИ
И ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ОКСАКОМА

Параметр	Контроль (n = 9)			ЛАГ (n = 9)		
	Исходное состояние	Оксаком		Исходное состояние	Оксаком	
		Минуты	Минуты		Минуты	Минуты
		30	60		30	60
СрАД, мм рт. ст.	136 ± 3	103 ± 5**	105 ± 5**	134 ± 5	109 ± 8**	111 ± 5*
ЧСС, мин ⁻¹	410 ± 7	423 ± 11	413 ± 11	409 ± 9	417 ± 10	394 ± 14
СДПЖ, мм рт. ст.	35,4 ± 1,7	35,9 ± 1,4	35,3 ± 1,5	69,8 ± 5,5	61,3 ± 5,2**	60,5 ± 3,6**
КДДПЖ, мм рт. ст.	0,5 ± 1,0	0,7 ± 1,1	0,5 ± 1,0	2,2 ± 1,0	1,6 ± 0,9	2,6 ± 0,9
dPmax/P, с ⁻¹	178 ± 10	173 ± 11	173 ± 13	134 ± 13	140 ± 13	132 ± 16

Примечание: СрАД — среднее артериальное давление; ЧСС — частота сердечных сокращений; СДПЖ — систолическое давление в правом желудочке; КДДПЖ — конечное диастолическое давление в правом желудочке; dPmax/P — индекс сократимости; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ по сравнению с исходным состоянием. Данные представлены как среднее ± ошибка среднего.

был снижен на 28 %. Давление в большом круге кровообращения и частота сокращений сердца были одинаковыми в обеих группах. На рисунке 2 видно, что у крыс с ЛАГ комплекс QRS расширен, а зубец Т, не очень выраженный в контрольной группе, увеличен.

Внутривенное введение оксакома крысам группы ЛАГ оказало отчетливое гипотензивное действие — систолическое давление в ПЖ снижалось уже через 2 минуты до 58 ± 3 мм рт. ст. и сохранялось на таком уровне в течение часа (рис. 3). При этом среднее АД в большом круге кровообращения также устойчиво снижалось с 134 ± 5 до 111 ± 5 мм рт. ст. У контрольных животных эффект на АД был аналогичным, но в малом круге кровообращения наблюдался лишь кратковременный гипотензивный эффект (2–5 минут). Данные по действию оксакома через полчаса и час после введения также представлены в таблице 2. Из таблицы следует,

что в этом временном интервале сохраняется гипотензивное действие оксакома в большом и малом кругах кровообращения в группе животных с ЛАГ, в то время как остальные показатели гемодинамики не демонстрируют значимых изменений. Таким образом, основным эффектом оксакома является устойчивое снижение повышенного давления в малом круге кровообращения и среднего АД — в большом круге.

Ингаляционное введение NO не всегда сопровождалось значимым снижением давления в ПЖ, такой эффект был зафиксирован в 6 опытах, а у 3 животных эффекта не было (рис. 4). Из данных рисунка видно, что гипотензивный эффект оксида азота наблюдали только у крыс с повышенным уровнем систолического давления в ПЖ и не наблюдали у тех животных, у которых он был повышен незначительно. Действие оксида азота развивалось быстро, фактически сразу после начала ингаляции,

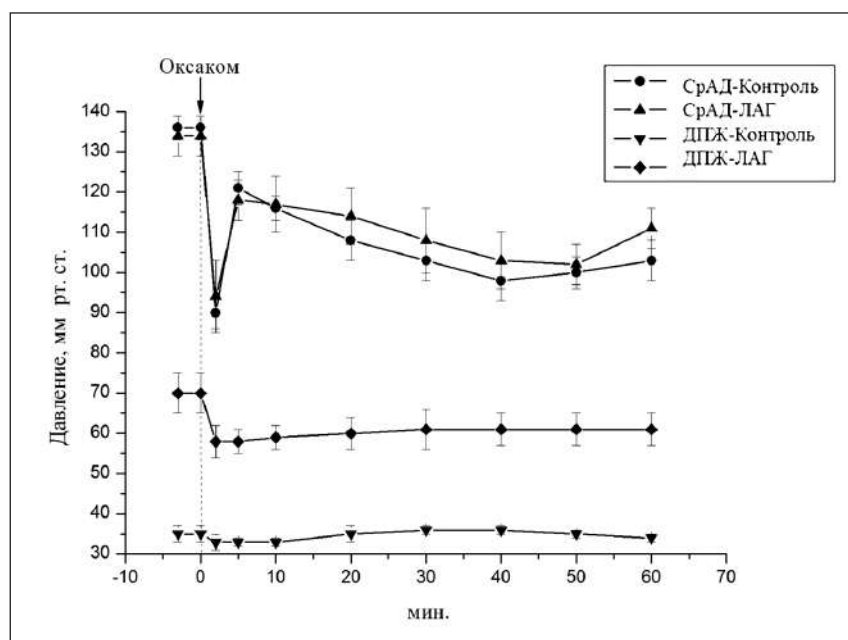
и столь же быстро заканчивалось после прекращения введения. Последующая ингаляция оксакомом не привела к снижению давления ни в одной группе животных.

Обсуждение

В этой работе впервые показано, что оксаком может устойчиво снижать АД не только в большом круге кровообращения, но и в малом. Через 3 неде-

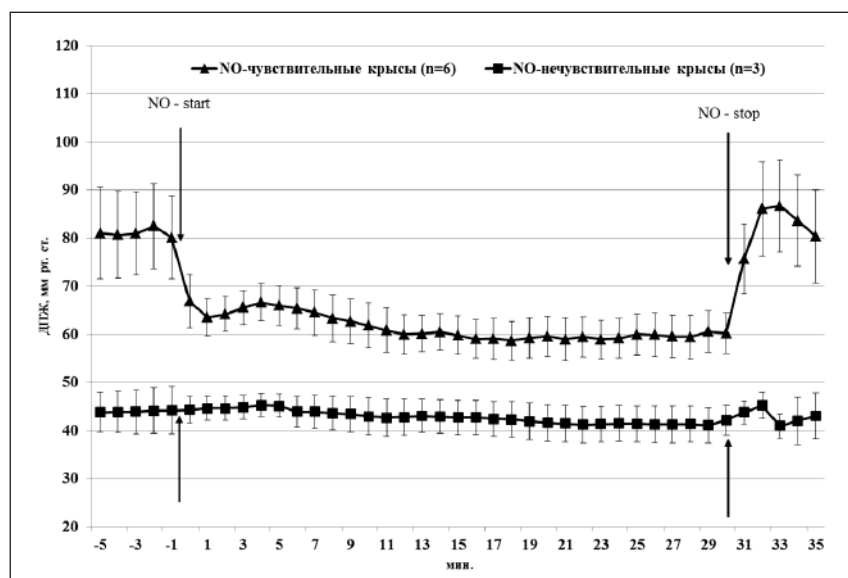
ли после введения монокроталина систолическое давление в ПЖ возросло с 35 до 70 мм рт. ст., что соответствует литературным данным [14, 15]. Следует отметить, что процедура катетеризации ПЖ сложнее, чем для левого желудочка, в связи с чем в работах некоторых авторов из-за гибели 80% крыс была избрана методика катетеризации ветвей легочной артерии при вскрытой грудной клетке [16]. Было зафиксировано повышение давления в легочной

Рисунок 3. Эффект внутривенного введения оксакома на среднее артериальное давление в большом круге кровообращения (верхние кривые) и систолическое давление в правом желудочке (нижние кривые) в группах контроля и легочной артериальной гипертензии



Примечание: СрАД — среднее артериальное давление; ЛАГ — легочная артериальная гипертензия; ДПЖ — давление в правом желудочке.

Рисунок 4. Эффект NO-ингаляции на давление в правом желудочке в разных подгруппах крыс с легочной артериальной гипертензией



Примечание: ЛАГ — легочная артериальная гипертензия.

артерии с 12 ± 5 до 22 ± 7 мм рт. ст. через 3 недели после введения монокроталина, то есть имел место примерно такой же двукратный прирост давления, как и в наших опытах. Этот прирост был зафиксирован уже через 1–2 недели [17, 18], и он является причиной значительной гипертрофии ПЖ, формирующейся уже через 12 дней [19]. Гипертрофия миокарда предрасполагает к изменению его электрических свойств — возникают удлинение потенциала действия и интервала QT [20], дисперсия потенциалов [21], возрастает предрасположенность к аритмогенезу.

Несмотря на повышение сократительной способности гипертрофированного ПЖ, сократимость миокарда была значительно снижена. Вероятной причиной может быть поражение эндотелия миокарда — ведь через сердце так же, как и через сосуды малого круга кровообращения, проходит весь минутный объем.

Известно, что легочная ткань является основным местом базирования ангиотензинпревращающего фермента, он располагается в кавеолах легочного эндотелия. При развитии легочной гипертензии активность этого фермента снижается [19], и таким образом действие ангиотензина II на артерии большого круга кровообращения ослабляется. Эта ситуация является примером механизма осуществления взаимодействия саморегуляции малого и большого кругов кровообращения. Факт влияния повышенного давления в легочной артерии на расслабление сосудов большого круга был открыт Париным В. В. в 30-годах XX века и получил название «рефлекс Парина», но только сейчас стал ясен один из важных механизмов этой взаимосвязи. Этот рефлекс имеет целью уменьшить приток крови в малый круг и тем самым воспрепятствовать дальнейшему повышению давления в нем. Поэтому небольшое снижение системного АД при действии оксакома можно рассматривать как усиление этого рефлекса.

Одновременно происходит вытеснение эндотелиальной NO-синтазы с уменьшением количества продуцируемого оксида азота [8]. Образование оксида азота нарушается также вследствие повышения уровня диметиларгинина, препятствующего поглощению аргинина, необходимого для синтеза оксида азота [22]. Поэтому доноры оксида азота являются патогенетическими средствами терапии ЛАГ. Оксаком и ингаляционный оксид азота оказывали одинаковое действие, но первый имеет преимущество в том, что эффект достигается после однократной инъекции, в то время как эффект при ингаляции оксида азота ограничен временем ингаляции. Необходимо отметить, что эффект оксакома в наших опы-

тах был ограничен длительностью опыта (1 час), что не позволяет утверждать, но не исключает возможность его длительного действия, как в большом круге кровообращения.

В последнее время в зарубежной литературе много внимания уделяют нитритам как донору оксида азота. Однако их применение для достижения одинакового с оксаком эффекта требует на порядки более высоких концентраций [11]. Кроме того, оксаком оказывает гипотензивное действие на сосуды малого круга через 3 недели, в то время как эффект нитропруссидов снижается уже через 2 недели после введения монокроталина [23], что подчеркивает преимущество оксакома перед нитропруссидом. Различие может быть обусловлено наличием постоянно повышенного уровня оксида азота, высвобождающегося из ДНКЖ, а также эффектом глутатиона. Известно, что глутатион является активным метаболитом, связывающим пирроловый метаболит монокроталина, поэтому повышение его содержания в клетках эндотелия и кардиомиоцитах способно уменьшать токсическое действие алкалоида [24, 25].

Гипотензивный эффект оксида азота отсутствовал у контрольных крыс, а также у тех крыс, у которых токсическое действие монокроталина было слабее выражено, что сопровождалось меньшим подъемом давления в малом круге кровообращения. Напротив, эффект оксида азота был хорошо выражен у тех животных, у которых давление в ПЖ было высоким. Этот результат подчеркивает специфичность терапии оксидом азота и хорошо согласуется с данными клинического применения оксида азота у больных ЛАГ — по окончании курсовой ингаляционной терапии оксидом азота функциональный класс в среднем по группе уменьшился с 3,3 до 2,7, и наблюдалось значимое улучшение функционального статуса у больных с II–IV функциональным классом, то есть у более тяжелых больных [26].

В связи с потенциальной возможностью использования оксакома как терапевтического средства при ЛАГ необходимо отметить, что пока его эффективность показана только при парентеральном введении, что, в свою очередь, несомненно, ограничивает его перспективы. Поэтому мы попытались создать ингаляционную форму оксакома, чтобы его можно было использовать, например, при однократном недлительном сеансе ингаляции, но с обеспечением длительного действия. Эта попытка нам не удалась, вероятно, требуется более сложная модификация, которая сможет обеспечить проникновение молекул через альвеолярный барьер.

Заключение

Поражение легочного эндотелия монокроталином реализовалось в двукратном приросте систолического давления в ПЖ, отражающем столь же возросшее сопротивление легочных сосудов. На этом фоне оксаком, наряду со своим известным пролонгированным гипотензивным действием на сосуды большого круга кровообращения, отчетливо и длительно снижал давление в малом круге у этих животных. Аналогичное действие оказывал и газобразный оксид азота. Такой эффект отсутствовал у контрольных животных, а также у животных, получивших монокроталин, но не отреагировавших подъемом давления в малом круге кровообращения. Эти результаты показывают, что оксид азота, как и оксаком, оказывает гипотензивное действие, вероятно, только в ситуациях, когда его образование в клетках снижено.

Финансирование / Financial support

Работа частично поддержана грантами РФФИ № 15-04-06571, № 15-04-04355 а. / The study is partially supported by the Russian Foundation of Fundamental Studies, projects № 15-04-06571 а, № 15-04-04355 а.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

- McLaughlin V, Shah S, Souza R, Humbert M. Management of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2015;65 (18): 1976–97.
- Studer S, Gilkin R. Clinical trial designs in PAH: shifting from functional measurements to long-term clinical outcomes. *Am J Manag Care*. 2014;20(6 Suppl): S115–122.
- Stenmark K, McMurtry I. Vascular remodeling versus vaso constriction in chronic hypoxic pulmonary hypertension a time for reappraisal? *Circ Res*. 2005;97(2):95–8.
- Voelkel N, Tudor R Hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling: a model for what human disease? *J Clin Invest*. 2000;106(6):733–8.
- Humbert M, Morrell N, Archer S, Stenmark K, MacLean M, Lang I et al. Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43(12 Supplement): S13–24.
- Firth A, Mandel J, Yuan JJ. Idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Dis Model Mech*. 2010;3(5–6):268–73.
- Gomez-Arroyo J, Farkas L, Alhussaini A, Farkas D, Kraskauskas D, Voelkel N et al. The monocrotaline model of pulmonary hypertension in perspective. *Am J Physiol — Lung Cell Mol Physiol*. 2012;302(4): L363–9.
- Yildiz P. Molecular mechanisms of pulmonary hypertension. *Clin Chim Acta*. 2009;403(1–2):9–16.
- Ahmed L, Obaid A, Zaki H, Agha A. Role of oxidative stress, inflammation, nitric oxide and transforming growth factor-beta in the protective effect of diosgenin in monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Eur J Pharmacol*. 2014;740:379–87.
- Lakomkin VL, Vanin AF, Imoshin AA, Kapelko VI, Chazov EI. Long-lasting hypotensive action of stable preparations of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands in conscious normotensive and hypertensive rats. *Nitric Oxide*. 2007;16(4):413–418.
- Chazov EI, Rodnenkov OV, Zorin AV, Lakomkin VL, Gramovich VV, Vyborov ON et al. Hypotensive effect of “oxacom” containing a dinitrosyl iron complex with glutathione: animal studies and clinical trials in healthy volunteers. *Nitric Oxide*. 2012;26(3):148–56.
- Гостеев А. Ю., Зорин А. В., Родненков О. В., Драгнев А. Г., Чазов Е. И. Гемодинамические эффекты синтетического аналога эндогенных донаторов оксида азота (II)-препарата динитрозильных комплексов железа у больных артериальной гипертензией с неосложненными гипертоническими кризами. *Терапевт. арх.* 2014;86(9):49–55. [Gosteev AY, Zorin AV, Rodnenkov OV, Dragnev AG, Chazov EI. Hemodynamic effects of the synthetic analogue of endogenous nitric oxide (II) donors a dinitrosyl iron complex in hypertensive patients with uncomplicated hypertensive crisis. *Ther Arch*. 2014;86(9):49–55. In Russian].
- Hayes B, Will J. Pulmonary artery catheterization in the rat. *Am J Physiol*. 1978;235(4): H452–H454.
- Matori H, Umar S, Nadadur R, Sharma S, Partow-Navid R, Afkhami M et al. Genistein, a soy phytoestrogen, reverses severe pulmonary hypertension and prevents right heart failure in rats. *Hypertension*. 2012;60(2):425–30.
- Akhavain F, St-Michel E, Seifert E, Rohlicek C. Decreased left ventricular function, myocarditis, and coronary arteriolar medial thickening following monocrotaline administration in adult rats. *J Appl Physiol Bethesda Md*. 2007;103(1):287–95.
- Kolettis T, Vlahos A, Louka M, Hatzistergos K, Baltogiannis G, Agelaki M et al. Characterisation of a rat model of pulmonary arterial hypertension. *Hell J Cardiol*. 2007;48(4):206–210.
- Ghodsi F, Will J. Changes in pulmonary structure and function induced by monocrotaline intoxication. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. 1981;240(2): H149–H155.
- Hadri L, Kratlian R, Benard L, Maron B, Dorfmueller P, Ladage D et al. Therapeutic efficacy of AAV1.SERCA2a in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension. *Circulation*. 2013;128(5):512–23.
- Kay J, Keane P, Suyama K, Gauthier D. Angiotensin converting enzyme activity and evolution of pulmonary vascular disease in rats with monocrotaline pulmonary hypertension. *Thorax*. 1982;37(2):88–96.
- Piao L, Fang Y, Cadete V, Wietholt C, Urbaniene D, Toth Pet al. The inhibition of pyruvate dehydrogenase kinase improves impaired cardiac function and electrical remodeling in two models of right ventricular hypertrophy: resuscitating the hibernating right ventricle. *J Mol Med Berl Ger*. 2010;88(1):47–60.
- Tanaka Y, Takase B, Yao T, Ishihara M. Right ventricular electrical remodeling and arrhythmogenic substrate in rat pulmonary hypertension. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2013;49 (3):426–36.
- Pullamsetti S, Kiss L, Ghofrani H, Voswinckel R, Haredza P, Klepetko W et al. Increased levels and reduced catabolism of asymmetric and symmetric dimethylarginines in pulmonary hypertension. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2005;19(9): 1175–7.
- Schultze A, Roth R. Chronic pulmonary hypertension — the monocrotaline model and involvement of the hemostatic system. *J Toxicol Environ Health Part B*. 1998;1(4):271–346.
- Reid M, Dunston S, Lamé M, Wilson D, Morin D, Segall H. Effect of monocrotaline metabolites on glutathione levels in human and bovine pulmonary artery endothelial cells. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*. 1998;99(1):53–68.
- Мартынюк Т. В., Наконечников С. Н., Масенко В. П., Чазова И. Е. Ингаляционный оксид азота: клинические эф-

фекты и влияние на профиль провоспалительных маркеров у пациентов с идиопатической легочной гипертензией. Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2012;8(4): 500–508. [Martynyuk TV, Nakonechnikov SN, Masenko VP, Chazova IE. Inhaled nitric oxide: clinical effects and influence on the profile of inflammatory markers in patients with idiopathic pulmonary hypertension. Ratsional'naya Farmakoterapiya v Kardiologii = Rational Pharmacotherapy in Cardiology. 2012;8(4):500–508. In Russian].

Информация об авторах

Абрамов Александр Александрович — научный сотрудник лаборатории экспериментальной патологии сердца Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России;

Лакомкин Владимир Леонидович — ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной патологии сердца Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России;

Тимошин Александр Анатольевич — ведущий научный сотрудник лаборатории физико-химических методов исследования Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России;

Лукошкова Елена Владимировна — ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной патологии сердца Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России;

Ермишкин Владимир Вячеславович — старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной патологии сердца Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России;

Капелько Валерий Игнатьевич — заведующий лабораторией экспериментальной патологии сердца Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России.

Author information

Aleksandr A. Abramov, Researcher, Laboratory of Experimental Heart Pathology, National Medical Research Centre in Cardiology;

Vladimir L. Lakomkin, Leading Researcher, Laboratory of Experimental Heart Pathology, National Medical Research Centre in Cardiology;

Aleksandr A. Timoshin, Leading Researcher, Laboratory of Physical and Chemical Investigation Methods, National Medical Research Centre in Cardiology;

Elena V. Lukoshkova, Leading Researcher, Laboratory of Experimental Heart Pathology, National Medical Research Centre in Cardiology;

Vladimir V. Ermishkin, Leading Researcher, Laboratory of Experimental Heart Pathology, National Medical Research Centre in Cardiology;

Valeriy I. Kapelko, Head, Laboratory of Experimental Heart Pathology, National Medical Research Centre in Cardiology.

ISSN 1607-419X

ISSN 2411-8524 (Online)

УДК 616.12-008.331.1-055:577.175.642

Гендерные различия в проявлении легочной гипертензии. Влияние женского полового гормона эстрадиола

Н. А. Медведева, Н. В. Панькова, М. М. Артемьева
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Московский государственный университет
имени М. В. Ломоносова», Москва, Россия

Контактная информация:
Медведева Наталия Александровна,
ФГБУ ВПО МГУ
им. М. В. Ломоносова,
Ленинские горы, д. 1, Москва,
119991 Россия
Тел.: +7(499)240–2381
Факс: +7(499)240–0557
E-mail: namedved@gmail.com

*Статья поступила в редакцию
21.05.17 и принята к печати 27.09.17.*

Резюме

Легочная гипертензия (ЛГ) — группа гетерогенных заболеваний, отличающихся своей этиологией и фенотипом, но объединенных основными симптомами заболевания — повышением артериального давления в малом круге кровообращения и гипертрофией правого желудочка сердца. Важной особенностью всех типов ЛГ является гендерная зависимость в проявлении этого заболевания. Согласно клиническим данным женская часть населения в большей степени подвержена ЛГ, что противоречит представлениям о протективном действии женского полового гормона. Это явление получило название эстрадиолового парадокса. В обзоре обсуждаются возможные механизмы гендерных различий в проявлении ЛГ, сравниваются экспериментальные данные, полученные на животных, с результатами клинических исследований, анализируются геномный и негеномный эффект действия эстрадиола на состояние сердечно-сосудистой системы, возможное участие метаболитов эстрадиола и механизмы гипертрофии правого желудочка сердца.

Ключевые слова: легочная гипертензия, гендерные различия, эстрадиол, эстрадиоловый парадокс, рецепторы к эстрадиолу, модели легочной гипертензии, гипоксическая форма легочной гипертензии, систолическое давление в правом желудочке сердца, гипертрофия

Для цитирования: Медведева Н. А., Панькова Н. В., Артемьева М. М. Гендерные различия в проявлении легочной гипертензии. Влияние женского полового гормона эстрадиола. Артериальная гипертензия. 2017;23(5):421–432. doi: 10.18705/1607-419X-2017-23-5-421-432

Gender differences in the development of pulmonary hypertension: Effects of female sex hormone estradiol

N. A. Medvedeva, N. V. Pankova, M. M. Artemieva
Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Corresponding author:

Natalia A. Medvedeva,
Lomonosov Moscow State University,
Leninskie Gory, Moscow, Russia 119991.
Tel.: +7(499)240–2381
Fax: +7(499)240–0557
E-mail: namedved@gmail.com

Received 21 May 2017;
accepted 27 September 2017.

Abstract

Pulmonary hypertension (PH) encompasses a heterogeneous group of diseases that are characterized by elevated pulmonary artery pressures. Female gender is known to be one of the most powerful risk factors for the development of PH. However, only recent evidence has provided better understanding of the relationship between sex, gender, sex hormones, and PH. Estrogens have been found to be protective in cardiovascular system, but not in case of PH. This phenomenon was called “estrogen paradox”. This review focuses on pulmonary hypertension, sex hormone effects in PH, sex hormones synthesis, metabolism and receptor physiology, increased pulmonary vascular resistance, right ventricular failure.

Key words: pulmonary hypertension, gender differences, estradiol, estrogens, estrogen paradox, animal models of pulmonary hypertension, right ventricular systolic pressure, right ventricular hypertrophy

For citation: Medvedeva NA, Pankova NV, Artemieva MM. Gender differences in the development of pulmonary hypertension: Effects of female sex hormone estradiol. Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension. 2017;23(5):421–432. doi: 10.18705/1607-419X-2017-23-5-421-432

Легочная гипертензия (ЛГ) — это патологическое состояние организма, характеризующееся повышенным артериальным давлением в сосудах малого круга кровообращения и развитием правожелудочковой недостаточности. Существующая классификация легочной гипертензии (ЛГ) представляет собой результат широкой дискуссии, в результате которой сформировалось современное понимание патофизиологии этого заболевания, а также были выявлены клинические различия и сходства разных вариантов.

Классификация, предложенная Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), дифференцирует эту группу гетерогенных заболеваний на пять типов, которые отличаются своей этиологией и фенотипом (табл. 1) [1, 2].

Как указано выше, ЛГ подразделяется на пять основных групп, основанных на клинических осо-

бенностях в проявлении этого заболевания, включая сопутствующие заболевания, гемодинамические показатели и генетическую информацию [3].

Существует мнение, что эта клиническая классификация имеет свои ограничения, так как не учитывает индивидуальный фенотип пациента, что необходимо для персонифицированного лечения (табл. 1) [4].

Легочной гипертензией болеет около 1 % населения земного шара [5]. Из вышеприведенной классификации наиболее распространенной формой является легочная артериальная гипертензия (ЛАГ), которая характеризуется подъемом артериального давления в малом круге кровообращения в покое до 25 мм рт. ст. и выше. Она часто ассоциирована с другими заболеваниями, такими как заболевания соединительной ткани, портальная гипертензия, вирус иммунодефицита и другие [3, 6]. Существу-

ют и иные формы ЛГ, ассоциированные с другими заболеваниями, но не относящиеся по принятой классификации к ЛАГ. Одной из таких форм является ЛГ, обусловленная заболеваниями легочной системы или гипоксией. Эта форма ЛГ приобретает все большее клиническое распространение в связи с тем, что является осложнением многих заболеваний легких, сопровождающихся гипоксическим состоянием организма, а также может возникать при других случаях гипоксии, в частности при нарушениях дыхания во сне. Показана гендерная зависимость в манифестации этих явлений, что вызывает большой интерес не только у клиницистов, но и экспериментаторов, занимающихся изучением патологических изменений в сердечно-сосудистой системе.

Патогенез гипоксической формы легочной гипертензии

В ответ на острую гипоксию сосуды большого круга кровообращения расширяются. В отличие от них, легочные сосуды сужаются. Реакция возникает в течение секунд и достигает максимума за несколько минут [7]. Эта адаптивная реакция направлена на сохранение вентиляционно-

перфузионного соотношения в легких, что предотвращает сброс венозной крови в русло большого круга кровообращения.

Длительное время считали, что гипоксическое сокращение гладких мышц легочных сосудов обеспечивается работой адренергических нейронов через активацию альфа-адренорецепторов. Однако тот факт, что эта реакция осуществляется и в случае денервированных легких, свидетельствует о малом вкладе нервной системы в регуляцию сосудистого тонуса в условиях гипоксии [8].

Предполагают, что в качестве основного кислородного сенсора в гладких мышцах легких выступает митохондриальная электрон-транспортная цепь, которая в условиях недостатка кислорода начинает продуцировать активные формы кислорода (O_2^- и H_2O_2), способные изменять активность редокс-чувствительных каналов и ферментов, что в конечном итоге приводит к сокращению гладких мышц и сужению легочных сосудов [7]. Фармакологические и электрофизиологические эксперименты на изолированных гладкомышечных клетках легочных сосудов показали, что в этот процесс вовлечены потенциал-чувствительные калиевые каналы (K_v), которые в основном определяют уровень мембран-

Таблица 1

КЛАССИФИКАЦИЯ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Легочная артериальная гипертензия (ЛАГ) (прекапиллярная) 1.1 Идиопатическая 1.2 Наследственная 1.2.1 <i>BMPR2</i> мутации 1.2.2 <i>ALK-1</i>, <i>ENG</i>, <i>SMAD9</i>, <i>CAV1</i>, <i>KCNK3</i> мутации 1.2.3 неизвестные мутации 1.3 Медикаментозно и/или токсин-вызываемая ЛАГ 1.4 Ассоциированная (связанная) с 1.4.1 заболеванием соединительной ткани 1.4.2 инфекцией вируса иммунодефицита человека 1.4.3 портальной гипертензией 1.4.4 врожденным пороком сердца 1.4.5 шистосомозом 1* Легочные вено-окклюзивные заболевания и/или легочный капиллярный гемангиоматоз 1** персистирующая легочная гипертензия новорожденных
2. Легочная гипертензия, обусловленная заболеваниями левого желудочка сердца (посткапиллярная). Включает систолическую/диастолическую дисфункцию левого желудочка сердца, врожденные заболевания клапанов или их дисфункцию.
3. Легочная гипертензия, обусловленная заболеваниями легких и/или гипоксией (прекапиллярная). Включает обструктивные, рестриктивные, интерстициальные и другие заболевания легких, апноэ во сне, хронические высокогорные заболевания, альвеолярную гиповентиляцию
4. Хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия и другие обструкции легочной артерии (прекапиллярная)
5. Легочная гипертензия с неизвестным или мультифакториальным механизмом (пре/посткапиллярная)

ного потенциала гладких мышц легочных сосудов около -60 мВ и потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы L-типа. При гипоксии образующиеся свободные радикалы блокируют Kv каналы, вызывая деполяризацию и открытие кальциевых потенциал-зависимых каналов, что реализуется в сокращении гладких мышц легочных сосудов [9]. При хроническом действии гипоксии наблюдаются стойкое повышение артериального давления в малом круге кровообращения и гипертрофия правого желудочка (ПЖ) сердца. Это заболевание получило название гипоксической формы легочной гипертензии (ГЛГ). Длительное время считали, что основной причиной развития ГЛГ является гипоксическое сужение сосудов легких и связанное с ним изменение гемодинамики в малом круге кровообращения. Однако в настоящее время установлено, что патогенез ЛГ намного более сложный и включает помимо сократительной реакции гладких мышц изменение секреторной функции эндотелия и реактивности гладких мышц сосудов к сосудосуживающим и сосудорасширяющим факторам, а также многофакторное морфологическое изменение сосудистой стенки.

Именно патологический прогрессирующий процесс гиперпролиферативного ремоделирования сосудов легких, который затрагивает все типы клеток легочной артерии (ЛА), является отличительной чертой ГЛГ [10, 11]. В данном контексте термин «ремоделирование» включает: измененное функционирование микроРНК, увеличенное накопление внеклеточного матрикса, периваскулярное воспаление, митохондриальную дисфункцию, сосудистую обструкцию с образованием окклюзионных поражений и т. д. [12] Совокупность этих изменений связывают с фактором, активируемым гипоксией, или HIF1 α , который и запускает глубокий процесс изменения легочной системы кровообращения. Показано, что срочная экспрессия HIF1 α зависит от степени гипоксии и при 10-процентном содержании O_2 во вдыхаемом воздухе наблюдается в ткани миокарда и коры головного мозга уже на 15-й минуте экспозиции, а в печени — на 45-й минуте [13, 14]. В этом случае его действие имеет адаптивное значение и направлено на повышение эффективности потребления O_2 путем экспрессии генов, усиливающих синтез эритропоэтина, васкулярного эндотелиального фактора роста (VEGF), трансферрина, а также ферментов гликолиза и транспорта глюкозы [15]. При хроническом действии гипоксии запускаются системные перестройки, направленные на улучшение снабжения организма кислородом. HIF1 α , являясь одним из важных звеньев в миграции клеток из костного мозга, принимает участие в ангиогенезе и других общих перестройках ор-

ганизма, касающихся снабжения тканей кислородом [16]. Одновременно запускается экспрессия генов, ответственных за реализацию отдаленных изменений, приводящих при длительном действии гипоксии к развитию патологических изменений в сердечно-сосудистой системе легких. Среди них можно отметить экспрессию ангиотензина II и эндотелина-1, которые изменяют реактивность сосудов, их строение, а также влияют на морфологию ПЖ сердца [17]. Исследования по изучению фактора пролиферации, индуцируемого гипоксией (HIMF), показали, что HIMF и HIF1 α способны вызывать воспаление, провоцируя выработку интерлейкина-6 макрофагами [18].

Таким образом, HIMF и HIF1 α принимают участие в увеличении сопротивления легочных сосудов, изменяя соотношение клеточных слоев сосудистой стенки и их гипертрофию. Кроме того, эти факторы сдвигают секреторную функцию эндотелия в сторону синтеза сосудосуживающих факторов. HIF1 α имеет отношение и к гипертрофии ПЖ, и к правожелудочковой недостаточности, для которых характерны систолическая и диастолическая дисфункция, ишемия, воспаление, окислительный стресс, развитие фиброза, сопровождаемое уменьшением содержания мышечных клеток в ПЖ. Наблюдаются проапоптозная сигнализация и отмирание кардиомиоцитов [19, 20]. В результате всех этих изменений развивается гипоксическая форма легочной гипертензии, основными симптомами которой являются повышение артериального давления в легочных сосудах и гипертрофия ПЖ сердца.

Половые различия в проявлении легочной гипертензии

Согласно анализу клинических данных, мужская популяция населения разных стран в большей степени подвержена заболеваниям сердечно-сосудистой системы (ССС), что позволило высказать предположение о протективной роли женского полового гормона на состояние СССР. Одним из исключений является ЛГ. Давно известно, что женщины подвержены большему риску развития ЛГ. В Реестре для оценки ранней и долгосрочной заболеваемости легочной гипертензией, выпущенном в США (REVEAL), показано, что за период с 2006 по 2007 год отношение случаев заболеваемости для идиопатической ЛАГ составляет 4,1:1, для ассоциированной с другими заболеваниями ЛАГ — 3,8:1, для медикаментозно/токсин-вызываемой — 5,4:1, при среднем возрасте заболевших 53 года [21]. В реестре, выпущенном во Франции, это отношение составляет 1,9:1 [22]. В отдельных исследованиях показано, что ЛГ ассоциирована с приемом ораль-

ных контрацептивов [23]. Другие исследования демонстрируют широкое распространение гормонозаместительной терапии (ГЗТ) среди женщин с ЛГ [24]. Найдены генетические изменения в метаболизме эстрогенов и рецепторов эстрогенов (ER) при различных формах ЛГ [25]. Вызывают интерес исследования соотношения уровней эстрогенов с функцией ПЖ у здоровых пациенток при гормонозаместительной терапии во время менопаузы [26].

С другой стороны, показано отсутствие гемодинамических различий между мужчинами и женщинами с ЛГ старше 45 лет [27]. Менопауза является фактором риска для развития ЛГ у пациентов, больных склеродермией, в то время как гормонозаместительная терапия может снизить этот риск [28, 29]. Несмотря на явное превалирование развития ЛГ у женщин, они демонстрируют большую жизнеспособность на фоне этого заболевания по сравнению с мужчинами. При определении процентного соотношения заболеваемости среди мужчин и женщин необходимо принимать во внимание тот факт, что мужчины умирают раньше женщин после установления диагноза [30, 31]. Изложенные выше данные свидетельствуют о неоднозначном участии женского полового гормона в патогенезе ЛГ, что, по-видимому, определяет гендерные различия в проявлении этого заболевания в зависимости от возраста, гормонального статуса пациента, патогенеза заболевания и его течения. Для понимания гендерных различий в частоте и клинической тяжести ЛГ исключительно важно учитывать воздействие половых гормонов на легочную сосудистую систему и ПЖ, как в здоровом состоянии, так и во время болезни. Несоответствие между положительным действием женского полового гормона на состояние сердечно-сосудистой системы и преимущественным заболеванием женской популяции легочной гипертензией получило в литературе название «эстрадиолового парадокса» и обратило внимание экспериментальной науки на эту проблему [32].

Синтез половых гормонов, метаболизм и физиология рецепторов

Синтез половых гормонов

Холестерин является предшественником многих биологически важных соединений, в том числе и половых гормонов. Превращение холестерина в прегненолон представляет собой первую ступень в синтезе половых гормонов. Непосредственным предшественником мужских и женских половых гормонов является метаболит прегненолона дегидроэпиандростерон, который преобразуется в тестостерон и андростендион. Последний также может возникать из прогестерона. Тестостерон

является мужским половым гормоном, который может метаболизироваться в 17 β -эстрадиол (женский половой гормон — E2) и дигидротестостерон (ДГТ) — наиболее биологически активные эстрогены и андрогены соответственно. Подобным же образом андростендион является предшественником эстрона (E1). Катализатором перехода тестостерона в E2, а андростендиона в E1 является ароматаза (CYP19A1). E2 и E1 могут преобразовываться друг в друга посредством 17-кеторедуктазы (17 β -гидроксистероид-дегидрогеназа; 17 β -ГСД) [33]. В дополнение к выработке в яичниках женщин репродуктивного возраста E2 и E1 также вырабатываются периферийно, в типичных (молочная железа, матка) и нетипичных тканях — мишенях эстрогена (мозг, кожа, адипоциты, сердечные фибробласты, эндотелиальные клетки) и гладкомышечных клетках (ГМК), что говорит о возможности локальной продукции E2 [34, 35]. Отмечено, что значительное количество периферического E2 может вырабатываться при патологических состояниях (например, при раке молочной железы, эндометриозе) [36].

В литературе широко обсуждается возможная роль метаболитов E₂ в регуляции функции малого круга кровообращения в норме и патологии. В частности, в легких (в гладких мышцах, эпителии воздухоносных путей и эндотелии сосудов) наблюдается высокая активность системы цитохрома P-450 (CYP450). CYP1A1 и CYP1B1 окисляют эстрогены до 2-, 4-или 16 α -гидроксиэстрогенов [37]. 2- и 4-гидроксиэстрогены быстро метаболизируются катехол-О-метилтрансферазой (КОМТ). 2-МЕ2 характеризуется антипролиферативным, проапоптозным, антиангиогенным и противовоспалительным действием [37]. В то же время 16 α -гидроксиэстрогены, такие как 16 α -гидроксиэстрон (16 α -ОНЕ1) и 16 α -гидроксиэстрадиол, а также 4-гидроксиэстрогены и их метаболиты содействуют пролиферативному и провоспалительному процессу [38, 39]. В случае 16 α -гидроксиэстрогенов данные воздействия опосредованы, по крайней мере, частично, конститутивной активацией рецепторов эстрогенов [40]. Экстраполируя данные о раке молочной железы и простаты, можно строить предположения о том, что индивиды, которые вырабатывают больше «16 α -эстрогенов», находятся в группе повышенного риска развития заболевания, характеризующегося гиперпролиферацией и воспалительным процессом [36, 41, 42], в то время как пациенты с большей выработкой гидрокси- и метоксиэстрогенов могут быть защищены. Исследования Tofovic и др. (2006) говорят о защитном действии гидрокси- и метоксиэстрадиолов в ЛГ [43]. С другой стороны, в ряде работ [44] показано, что избыточ-

ная выработка 16α -ОНЕ1 способствует развитию ЛАГ. Увеличенная экспрессия CYP1B1 в легких окисляет Е1 до 16α -ОНЕ1 с последующим увеличением пропролиферативной сигнализации в ходе развития ЛГ [44]. Генетическая предрасположенность, например, мутация BMPR2 [45] или использование серотонинэргических препаратов [46], могут создавать благоприятную обстановку для подобного сдвига в метаболизме эстрогенов. В свете многочисленных исследований, демонстрирующих положительные воздействия Е2 на легочную сосудистую систему [46, 47], можно предположить, что образование метаболитов эстрадиола и их соотношение при генетических нарушениях или изменении внешних факторов может приводить к сдвигу положительного действия женского полового гормона на отрицательное в отношении развития ЛГ.

Рецепторы эстрадиола (ER)

Влияние, которое оказывает эстрадиол на состояние эффекторных клеток, опосредовано через его рецепторы (ER). В настоящее время по локализации в клетке различают мембранные и ядерные рецепторы, которые представлены двумя подтипами: ER α и ER β [48–50]. В дополнение к двум типичным ER описан рецептор, присутствующий на мембране клеток эндотелия сосудов, связанный с G-белком (GPR30 или GPER), который также может связывать эстрадиол и вызывать синтез оксида азота, простациклина или гиперполяризующего фактора [51]. Рецепторы ER α и ER β проявляют структурную гомологию в ДНК- и лиганд-связывающих доменах, однако существуют значительные различия в их доменах транскрипционного контроля, которые взаимодействуют с регуляторными связывающими белками, если речь идет о геномной регуляции эстрогенов. Рецепторы, локализованные на мембране клеток, участвуют в негеномном действии эстрадиола и в случае эндотелия сосудов приводят к синтезу сосудорасширяющих факторов, способствующих уменьшению сосудистого тонуса и артериального давления [50]. ER выражены во многих системах органов (репродуктивной, сердечно-сосудистой, дыхательной, центральной нервной, иммунной и костной); однако их функция может отличаться исходя из соотношения подтипов ER, присутствия коактиваторов и корепрессоров, последовательности генов-мишеней, а также перекреста между другими факторами транскрипции, фосфатазами и киназами [48]. Кроме того, проявление и активность ER зависят от многочисленных факторов, например, от пола, возраста, диеты, изменения уровня эндогенных половых гормонов (например, менструальный цикл и менопауза) и различных стадий заболевания [49].

Необходимо отметить, что в сосудистой системе легких присутствуют все вышеперечисленные рецепторы, и гендерной особенности в их локализации выявлено не было.

Два основных сигнальных пути ER имеют отношение ко всей сосудистой системе, в том числе и легочной. В случае геномного пути Е2 диффундирует через клеточную мембрану, взаимодействует с цитоплазматическими ER α и ER β , димеризуется с другим комплексом эстрадиол-ER, перемещается в ядро и связывается с эстрадиол-чувствительным элементом. Таким образом, Е2 в этом случае действует как типичный фактор транскрипции, чья функция определяется коактиваторами и корепрессорами. Негеномный путь характеризуется тем, что мембранно-связанные ER α , ER β или GPR30 связываются с Е2, активизируют вторичные посредники или киназы, стимулируя быстрый клеточный эффект (например, открытие ионных каналов, активацию эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) или простаглицлиносинтазы) без прямого взаимодействия с геномом [52]. Негеномный эффект проявляется от нескольких секунд до нескольких минут и играет важную роль в регуляции сердечно-сосудистой и дыхательной систем. Активация вторичных посредников и связанных с ними протеинкиназ является путем реализации негеномного эффекта ER. Именно этот путь активации синтеза оксида азота и простациклина считают ответственным за протективное действие эстрадиола на состояние сердечно-сосудистой системы, выражающееся в уменьшении сосудистого тонуса, сосудистого сопротивления и артериального давления [29, 53, 54]. Однако негеномное действие эстрадиола может также привести к изменениям в экспрессии генов, что может усиливать протективный эффект гормона в отношении сердечно-сосудистой системы [49].

Половые различия в развитии легочной гипертензии в модельных экспериментах на животных

Для обсуждения результатов, полученных на животных с моделями ЛГ в правильном контексте, крайне необходимо понимать сильные и слабые стороны этих моделей. Наиболее широко распространены модель хронической гипоксии (ГЛГ) и монокроталиновая (МКТ) модель ЛГ. В случае ГЛГ изменения в легочной сосудистой системе обратимы при доступе воздуха с нормальным содержанием кислорода [55]. Легочная гипертензия, индуцированная монокроталином (МКТ–ЛГ), характеризуется значительным общим воспалением [55]. В обеих моделях наблюдаются гипертрофия правого желудочка и ремоделирование сосудистого русла,

сопровождается увеличением давления в правом желудочке сердца. Однако ярко выраженная правожелудочковая недостаточность и смерть в основном наблюдаются при МКТ–ЛГ [55]. С целью преодолеть ограничения данных «традиционных» моделей ЛГ недавно были разработаны модели ЛГ, которые воспроизводят фенотип поздней стадии развития ЛГ у человека. Sugen/hypoxia-индуцированная модель ЛАГ (SuHx-PH) возникает в результате применения антагониста 2-го рецептора фактора роста эндотелия сосудов — (Su5416), за которым следует экспозиция к хронической гипоксии (3–4 недели) с последующим доступом воздуха [56]. SuHx-PH характеризуется тяжелым легочным сосудистым ремоделированием с вазоокклюзией, правожелудочковой недостаточностью и смертельным исходом [56, 57]. Хотя все три модели могут применяться на крысах и мышах, мышинный фенотип обычно оказывается менее тяжелым [58]. Применение моделей трансгенных мышей с ЛГ ограничено относительно легкими гемодинамическими изменениями и менее устойчивым легочным сосудистым ремоделированием [58, 59].

Половые различия в проявлении ЛГ на гипоксической и монокроталиновой моделях

Ранние экспериментальные исследования, указывающие на половые различия на моделях животных с ЛГ, проводились на свиньях и крысах, где было установлено, что женские особи реже подвержены тяжелым ЛГ по сравнению с мужскими [60, 61]. Подобные данные подтвердились и у кур, и овец, и крыс с гипоксией, где самки животных подвержены меньшей гипоксической легочной вазоконстрикции (ГЛВ) [62–64]. Открытие мембранных рецепторов к эстрогенам выявило механизм их протективного действия в отношении сосудистого тонуса как системных, так и легочных сосудов. Например, ГЛВ снижается во время беременности [65, 66], а последующие исследования обнаружили защитное воздействие эндогенных и экзогенных эстрогенов в ЛГ и ГЛВ [64, 67–70]. Эксперименты на изолированных легочных артериях, вырезанных у самок крыс в фазе проэструса эстрального цикла (характерны высокие уровни эндогенных эстрогенов), проявляют меньшую ГЛВ по сравнению с сосудах самок во время эструса и диэструса и с сосудах самцов [69]. Имеются многочисленные исследования на модели МКТ–ЛГ, где показан протективный эффект эстрадиола в отношении развития ЛГ как у самок, так и у самцов крыс [43, 47, 71]. Однако единственной оговоркой исследований, показавших половые различия на данной модели, является то, что фенотип ЛГ у самок может быть

обусловлен, по крайней мере, частично, сниженной биоактивацией МКТ CYP450 3A в печени.

Половые различия на гипоксической модели легочной гипертензии

Второй распространенной моделью, на которой широко изучается участие эстрадиола в патогенезе легочной гипертензии в эксперименте, является гипоксическая модель на животных, в основном на крысах (ГЛГ). Эта модель актуальна в связи с тем, что гипоксическое состояние организма возникает у людей при различных заболеваниях дыхательной системы и является осложнением этих заболеваний. Кроме того, состояние апноэ характерно как для мужчин, так и для женщин и тоже сопровождается гипоксией. Интересно, что первые эксперименты о влиянии эстрадиола на развитие ГЛГ были проведены в опытах на самцах крыс. Хи и коллеги (2010) выявили, что женский половой гормон эстрадиол при хроническом введении в дозе 100 мкг/кг уменьшает степень развития гипоксической формы легочной гипертензии у самцов крыс, возникающей при длительном воздействии гипобарической гипоксии. У животных уменьшались величина систолического давления в правом желудочке и его относительная масса [72]. Современные исследования подтвердили ранее полученные результаты. В 2012 году Lamn и коллеги также выявили протективный эффект эстрадиола при моделировании гипоксической формы легочной гипертензии у самцов крыс. Ежедневное подкожное введение эстрадиола в дозе 75 мкг/кг за неделю до и во время гипобарического гипоксического воздействия (2 недели) улучшило состояние организма, о чем свидетельствовало уменьшение гипертрофии ПЖ [73]. Однако данные по протективному действию эстрадиола на развитие гипоксической формы легочной гипертензии у самок крыс противоречивы и недостаточны. Resta T. C. с соавторами (2001) более 10 лет назад выявили протективный эффект эстрадиола на развитие гипоксической формы ЛГ [70]. У овариэктомизированных самок крыс, получавших E_2 экзогенно, и у интактных животных с гипоксической моделью ЛГ наблюдали уменьшение степени развития гипоксической формы ЛГ по гипертрофии ПЖ в сравнении с овариэктомизированными животными без инъекций. Следует отметить, что в рамках данного исследования не проводилось измерения систолического давления в ПЖ. Таким образом, на основании полученных данных нельзя однозначно судить о развитии гипоксической формы легочной гипертензии и влиянии на нее женского полового гормона эстрадиола у самок крыс.

При рассмотрении данных исследований на животных о влиянии эстрадиола на развитие ГЛГ необходимо обратить внимание на используемые методические подходы для получения ГЛГ. Здесь возможны следующие варианты: хроническое непрерывное гипоксическое воздействие (2–4 недели) и прерывистая гипоксия. Кроме того, имеет значение количество кислорода во вдыхаемом воздухе, то есть степень гипоксии. Обычно она составляет 10%, реже — 13 и 6%. Все это может влиять на получаемые результаты. Кроме того, имеет значение доза вводимого гормона. В цитированных выше экспериментах применялась доза от 75 до 100 мкг/кг массы, что вызывает значительное превышение содержания гормона в крови экспериментальных животных и может оказывать существенное изменение гормонального статуса организма, особенно у самцов. В наших исследованиях мы изучали влияние эстрадиола в дозе 15 мкг/кг на нормотензивных самцах и самках крыс линии Wistar и животных с ГЛГ, возникающей при действии прерывистой гипобарической гипоксии. Нами было показано, что исходная величина систолического давления в правом желудочке сердца на 10 мм рт. ст. меньше в группе самок по сравнению с самцами ($30 \pm 2,0$ и $40 \pm 0,6$ мм рт. ст. соответственно) [74]. Гонадэктомия животных приводила к возрастанию систолического давления в ПЖ (СПЖД) на 46% у самок и не изменяла этот показатель у самцов. Введение эстрадиола овариэктомированным самкам частично восстанавливало значение СПЖД, не влияя на самцов. Таким образом, в норме эстрадиол вносит свой вклад в формирование величины СПЖД у самок крыс, оказывая протективное действие на эту величину. При хроническом действии прерывистой гипобарической гипоксии (2 недели по 10 часов в сутки, $O_2 = 10\%$) легочная гипертензия развивалась у всех экспериментальных животных. Хотя абсолютные значения СПЖД у негонадэктомированных гипоксических самок и самцов были сравнимы ($56 \pm 4,0$ и $59,3 \pm 4,9$ мм рт. ст.), относительное увеличение этих величин по сравнению с нормотензивными животными у самок составляло 86%, а у самцов — 49%, что свидетельствует о том, что у самок развитие ГЛГ происходит в большей степени, чем у самцов. Экспериментальные подходы, используемые для получения ГЛГ у животных, не дают возможности исследовать частоту возникновения заболеваний, так как оно возникает у всех экспериментальных животных. Однако сравнительная оценка тяжести развивающегося заболевания позволяет заключить, что в большей степени развитию ГЛГ подвержены самки крыс, и гипоксическая модель ЛГ, используемая в нашем исследовании, является адекватной

для сравнения распространения этого заболевания в человеческой популяции. Гонадэктомия животных с ГЛГ не влияла на степень развития этого заболевания у самцов и усугубляла его у самок — СПЖД возросло на 32%. Хроническое введение эстрадиола в дозе 15 мкг/кг в течение 2 недель значимо не изменяло величину СПЖД у самок, увеличивая этот показатель у самцов на 30%. Полученные данные свидетельствуют о протективном действии эндогенного эстрадиола у самок крыс на степень развития ГЛГ, однако экзогенный эстрадиол в дозе 15 мкг/кг не вызывал улучшения в течении заболевания, а у самцов потенцировал его развитие. Учитывая тот факт, что самцы были кастрированы, можно предположить, что отрицательный эффект эстрадиола связан с нарушением баланса присутствия в организме экспериментального животного тестостерона и эстрадиола. Таким образом, данные нашей работы позволяют сделать заключение о различии в действии экзогенного и эндогенного эстрадиола на развитие ГЛГ. Этот вопрос сейчас широко обсуждается в литературе, так как введение экзогенного эстрадиола полностью не моделирует его циклическое изменение в организме женских особей и оставляет много вопросов о его метаболизме в организме человека и животных [30]. При использовании его как медикаментозного препарата необходимо учитывать пол, гормональный статус и степень заболевания пациента. То, что эстрадиол может участвовать в патогенезе ЛГ, также показано в экспериментах на нормоксических и гипоксических SERT+ мышей [75, 76], у мышей со сверхэкспрессией S100A4/Mts1 [77] и при ЛГ, индуцированной дексфенфлурамином [78]. В этом случае самки животных более склонны к развитию заболевания, тогда как овариэктомия (в возрасте 8–10 недель) уменьшает степень развития ЛГ, что подразумевает то, что E2 выступает в качестве фактора патогенеза этого заболевания. С другой стороны, у мышей, испытывающих недостаток вазоактивного интестинального пептида (ВИП) [70], eNOS или аполипопротеина E (apoE) и питающихся продуктами с высоким содержанием жиров [79], самки демонстрируют менее тяжелую ЛГ по сравнению с самцами. Эти данные подтверждают наличие «эстрадиолового парадокса» и на животных моделях.

Ранее говорилось о том, что метаболиты эстрогенов могут как участвовать в развитии ЛГ, так и играть протективную роль. Несмотря на то, что метаболизм эстрогенов может быть определен генетически, ряд источников рассматривают окружающую среду в качестве фактора воздействия. Например, диета с низким содержанием жира сни-

жает уровень 16 α -ОНЕ1 у здоровых женщин [80]. В свете открытий того, что резистентность к инсулину и липидные изменения характерны для ЛГ [81, 82], можно предположить, что диетические факторы могут изменять уровни 16 α -ОНЕ1 и таким образом влиять на восприимчивость ЛГ и/или ее степень тяжести. Более того, метаболизм эстрогенов изменяется в ответ на прием препаратов, что подтверждают исследования на самках мышей SERT+, самках мышей с ЛАГ, вызванной дексфенфлурамином, и самках крыс с МКТ–ЛГ; все они показали повышенную экспрессию CYP1B1 в легких [46, 76, 78]. Фактически CYP1B1 необходим для развития ЛГ у леченных дексфенфлурамином мышей; и как дексфенфлурамин, так и E2 повышают экспрессию CYP1B1 в культуре ГМК ЛА больных ЛГ [78]. Тем не менее исследования на крысах после применения МКТ также обнаружили повышенную экспрессию CYP1A1, которая сопровождалась снижением экспрессии ароматазы и пониженным уровнем E2 в плазме, указывающим на состояние «дефицита эстрогенов» [46]. 16 α -ОНЕ1 и другие метаболиты эстрогена количественно не были определены в данном исследовании.

Доказательства изменения метаболического пути эстрогена существует также и в других формах ЛГ. Например, у пациентов с прогрессирующим заболеванием печени Roberts и соавторы (2009) установили, что два однонуклеотидных полиморфизма (ОНП) в промоторной области генного кодирования ароматазы (CYP19A1) являются фактором риска развития портальной гипертензии [83]. Примечательно, что один из этих ОНП (rs7175922) был функционально значим и связан с более высокими уровнями E2 в плазме.

Заключение

Подводя итог всему вышесказанному, можно отметить, что существуют противоречивые данные о роли эстрадиола и ER в патогенезе ЛГ у женской популяции населения. Данные экспериментов на культуре клеток и модельных экспериментов на животных с МКТ–ЛГ и ГЛГ свидетельствуют о возможных защитных свойствах эстрадиола. Однако клинические данные свидетельствуют о том, что именно у женщин в репродуктивном возрасте ЛГ наблюдается чаще, чем у мужчин. Механизм «эстрадиолового парадокса» неясен.

Существует предположение о том, что именно уменьшение содержания эстрадиола, а не его избыток является стимулом для проявления его отрицательного действия на состояние ССС. Показано, что в низких концентрациях эстрадиол может влиять на функцию митохондрий, усиливая синтез свобод-

ных радикалов, что может потенцировать сосудоуживающую реакцию при гипоксии [84]. Таким образом, у женщин в отличие от мужчин цикличность действия половых гормонов может способствовать развитию вазоконстрикции и повышению артериального давления в кровеносной системе легких (подобные данные отмечены также при астме, где поток воздуха изменяется в соответствии с фазой цикла) [85, 86, 69]. Однако это не объясняет всех имеющихся клинических и экспериментальных данных о роли эстрадиола в патогенезе ЛГ. В связи с этим представляются перспективными исследования о действии различных метаболитов эстрадиола, изменения их состава и действия на патогенез ЛГ в зависимости от факторов окружающей среды, возраста, течения болезни, используемых медикаментозных препаратов.

Дальнейшие исследования на животных в сочетании с наблюдениями больных ЛГ должны быть направлены на установление механизмов положительных и отрицательных влияний женского полового гормона на развитие ЛГ, а также способствовать развитию новой негормональной прицельной терапии больных ЛГ, поражающей представителей обоих полов.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Ghaathar P, Rhodes CJ, Harbaum L, Attard M, Wharton J, Wilkins MR. Pulmonary arterial hypertension — progress in understanding the disease and prioritizing strategies for drug development. *J Intern Med.* 2017;282(2):129–141. doi:10.1111/joim.12623
2. Seyfarth HJ, Gille J, Sablotzki A, Gerlach, Malcharek M, Gosse A et al. Perioperative management of patients with severe pulmonary hypertension in major orthopedic surgery: experience-based recommendations GMS Interdiscip Plast Reconstr Surg DGPW. 2015; 4: Doc03 doi:10.3205/iprs000062
3. Galie N, Humbert M, Vachiery JL, Gibbs S, Lang I, Torbicki A et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: the Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): endorsed by: Association for European Pediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Respir J.* 2015;46(4):903–75. doi:10.1093/eurheartj/ehv317
4. Dweik RA, Rounds S, Erzurum SC, Archer S, Fagan K, Hassoun PM et al. An official American Thoracic Society Statement: pulmonary hypertension phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;189(3):345–55. doi:10.1164/rccm.201311-1954ST
5. Hoeper MM, Humbert M, Souza R, Idrees M, Kawut SM, Sliwa-Hahnle K et al. A global view of pulmonary hypertension. *Lancet Respir Med.* 2016;4(4):306–22. doi:10.1016/S2213-2600(15)00543-3

6. Чазова И. Е., Мартынюк Т. В., Авдеев С. Н., Волков А. В., Наконечников С. Н. Диагностика и лечение легочной гипертензии. Клинические рекомендации. М., 2013. 47 с. URL: http://mzdrav.rk.gov.ru/file/mzdrav_18042014_Klinicheskie_rekomendacii_Legochnaja_gipertenzija.pdf [Chazova IE, Martynyuk TV, Avdeed SN, Volkov AV, Nakonechnikov SN. Diagnostics and management of pulmonary hypertension. Clinical guidelines. M., 2013. 47 p. URL: http://mzdrav.rk.gov.ru/file/mzdrav_18042014_Klinicheskie_rekomendacii_Legochnaja_gipertenzija.pdf].
7. Dunham-Snary KJ, Wu D, Sykes EA, Thakrar A, Mewburn JD et al. Hypoxic pulmonary vasoconstriction: from molecular mechanisms to medicine. *Chest*. 2016; 151(1):181–192. doi: 10.1016/j.chest.2016.09.001
8. Hussain A, Suleiman MS, George SJ, Loubani M, Morice A. Hypoxic pulmonary vasoconstriction in humans: tale or myth. *Open Cardiovasc Med J*. 2017;11:1–13. doi:10.2174/1874192401711010001
9. Post JM, Hume JR, Archer SL, Weir EK. Direct role for potassium channel inhibition in hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Am J Physiol*. 1992;262(4 Pt 1): C882–890.
10. Rabinovitch M. Molecular pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *J Clin Invest*. 2012;122(12):4306–4313. doi:10.1172/JCI60658
11. Tudor RM, Archer SL, Dorfmueller P, Erzurum SC, Guignabert C, Michelakis E. Relevant issues in the pathology and pathobiology of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(25 Suppl): D4–D12. doi:10.1016/j.jacc.2013.10.02
12. Tudor RM, Stacher E, Robinson J, Kumar R, Graham BB. Pathology of pulmonary hypertension. *Clin Chest Med*. 2013;34(4):639–650. doi:10.1016/j.ccm.2013.08.009
13. Кирова Ю. И. Влияние гипоксии на динамику содержания HIF-1 α в коре головного мозга и формирование адаптации у крыс с различной резистентностью к гипоксии. Патол. физиол. и эксп. терапия. 2012; N3:51–55. [Kirova YuI. Effect of hypoxia on dynamics of HIF-1 α level in the cerebral cortex and development of adaptation in rats with different resistance to hypoxia. *Pathophysiology and Experimental Therapy*. 2012; (3):51–5. In Russian].
14. Кирова Ю. И., Германова Э. Л., Лукьянова Л. Д. Фенотипические особенности динамики содержания HIF-1 α в неокортексе крыс при различных режимах гипоксии. Бюлл. эксп. биол. мед. 2012;154(12):681–686. [Kirova YuI, Germanova EL, Luk'ianova LD. Phenotypic characteristics of HIF1 α level of the rat neocortical cells at different hypoxia modes. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2012;154(12):681–686. In Russian].
15. Santos-Ribeiro D, Mendes-Ferreira P, Maia-Rocha C, Adão R, Leite-Moreira AF, Brás-Silva C. Pulmonary arterial hypertension: Basic knowledge for clinicians, *Arch Cardiovasc Dis*. 2016;109(10):550–561.
16. Johns RA, Takimoto E, Meuchel LW, Elsaigh E, Zhang A, Heller N. Hypoxia-inducible factor 1 α is a critical downstream mediator for hypoxia-induced mitogenic factor (FIZZ1/RELM α)-induced pulmonary hypertension *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016;36(1):134–44.
17. Steven S, Oelze M, Brandt M, Ullmann E, Kröller-Schön S, Heeren T. Pentaerythritol tetranitrate in vivo treatment improves oxidative stress and vascular dysfunction by suppression of endothelin-1 signaling in monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:4353462. doi:10.1155/2017/4353462.
18. Zeng X, Zhu L, Xiao R, Liu B, Sun M, Liu F et al. Hypoxia-induced mitogenic factor acts as a nonclassical ligand of calcium-sensing receptor, therapeutically exploitable for intermittent hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Hypertension*. 2017;69(5):844–854. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.08743
19. Haddad F, Doyle R, Murphy DJ, Hunt SA. Right ventricular function in cardiovascular disease, part II: pathophysiology, clinical importance, and management of right ventricular failure. *Circulation*. 2008;117(13):1717–1731. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.653584
20. Voelkel NF, Quaife RA, Leinwand LA, Barst RJ, McGoon MD, Meldrum DR et al. Right ventricular function and failure: report of a National Heart, Lung, and Blood Institute working group on cellular and molecular mechanisms of right heart failure. *Circulation*. 2006;114(17):1883–1891.
21. Badesch DB, Raskob GE, Elliott CG, Krichman AM, Farber HW, Frost AE et al. Pulmonary arterial hypertension: baseline characteristics from the REVEAL registry. *Chest* 2010;137(2):376–387. doi:10.1378/chest.09–1140
22. Humbert M, Sitbon O, Chaouat A, Bertocchi M, Habib G, Gressin V et al. Pulmonary arterial hypertension in France: results from a national registry. *Am J Resp Crit Care Med*. 2006;173(9):1023–1030.
23. Kleiger RE, Boxer M, Ingham RE, Harrison DC. Pulmonary hypertension in patients using oral contraceptives. A report of six cases. *Chest*. 1976;69(2):143–147.
24. Sweeney L, Voelkel NF. Estrogen exposure, obesity and thyroid disease in women with severe pulmonary hypertension. *Eur J Med Res*. 2009;14(10):433–442.
25. Austin ED, Cogan JD, West JD, Hedges LK, Hamid R, Dawson EP et al. Alterations in estrogen metabolism: implications for higher penetrance of FPAH in females. *Eur Respir J* 2009;34(5):1093–1099. doi:10.1183/09031936.00010409
26. Ventetuolo CE, Ouyang P, Bluemke DA, Tandri H, Barr RG, Bagiella E et al. Sex hormones are associated with right ventricular structure and function: the MESA-right ventricle study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183 5):659–667. doi:10.1164/rccm.201007–1027OC
27. Ventetuolo CE, Praetgaard A, Palevsky HI, Klinger JR, Halpern SD, Kawut SM. Sex and hemodynamics in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J*. 2014;43(2):523–530. doi:10.1183/09031936.00027613
28. Beretta L, Caronni M, Origgi L, Ponti A, Santaniello A, Scorza R. Hormone replacement therapy may prevent the development of isolated pulmonary hypertension in patients with systemic sclerosis and limited cutaneous involvement. *Scand J Rheumatol*. 2006;35(6):468–471.
29. Scorza R, Caronni M, Bazzi S, Nador F, Beretta L, Antonoli R, et al. Post-menopause is the main risk factor for developing isolated pulmonary hypertension in systemic sclerosis. *Ann NY Acad Sci*. 2002;966:238–24.
30. Assaggaf H, Felty Q. Gender, Estrogen, and Obliterative Lesions in the Lung. *Int J Endocrinol*. 2017;2017:8475701. doi:10.1155/2017/8475701
31. Benza RL, Miller DP, Gomberg-Maitland M, Frantz RP, Foreman AJ et al. Predicting survival in pulmonary arterial hypertension: insights from the Registry to Evaluate Early and Long-Term Pulmonary Arterial Hypertension Disease Management (REVEAL). *Circulation*. 2010;122(2):164–172.
32. Umar S, Rabinovitch M, Eghbali M. Estrogen paradox in pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012;186 (2):125–131.
33. Смирнов А. Н. Элементы эндокринной регуляции. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. 351 с. [Smirnov AN. Elements of endocrine regulation. M.: GEOTAR-Media, 2006. 351 p. In Russian].
34. Harada N, Sasano H, Murakami H, Ohkuma T, Nagura H, Takagi Y. Localized expression of aromatase in human vascular tissues. *Circ Res*. 1999;84(11):1285–1291.
35. Kypreos KE, Zafirovic S, Petropoulou PI, Bjelogrić P, Resanovic I, Traish A et al. Regulation of endothelial nitric oxide synthase and high-density lipoprotein quality by estradiol in

- cardiovascular pathology. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2014;19(3):256–68.
36. Eliassen AH, Missmer SA, Tworoger SS, Hankinson SE. Circulating 2-hydroxy- and 16 α -hydroxy estrone levels and risk of breast cancer among postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(8):2029–2035. doi:10.1158/1055-9965.EPI-08-0262
37. Tsuchiya Y, Nakajima M, Yokoi T. Cytochrome P450-mediated metabolism of estrogens and its regulation in human. *Cancer Lett.* 2005;227(2):115–124.
38. Dubey RK, Tofovic SP, Jackson EK. Cardiovascular pharmacology of estradiol metabolites. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004;308(2):403–409.
39. Parl FF, Dawling S, Roodi N, Crooke PS. Estrogen metabolism and breast cancer: a risk model. *Ann NY Acad Sci* 2009;1155:68–75.
40. Swaneck GE, Fishman J. Covalent binding of the endogenous estrogen 16 α -hydroxyestrone to estradiol receptor in human breast cancer cells: characterization and intranuclear localization. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988;85(21):7831–7835.
41. Kaaks R, Rinaldi S, Key TJ, Berrino F, Peeters PH, Biessy C et al. Postmenopausal serum androgens, oestrogens and breast cancer risk: the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Endocr Relat Cancer.* 2005;12(4):1071–1082.
42. Muti P, Westerlind K, Wu T, Grimaldi T, De Berry J 3rd, Schunemann H et al. Urinary estrogen metabolites and prostate cancer: a case-control study in the United States. *Cancer Causes Control.* 2002;13(10):947–955.
43. Tofovic SP, Zhang X, Jackson EK, Dacic S, Petrusevska G. 2-Methoxyestradiol mediates the protective effects of estradiol in monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Vascul Pharmacol.* 2006;45(6):358–367.
44. White K, Johansen AK, Nilsen M, Ciucan L, Wallace E, Paton L. Activity of the estrogen-metabolizing enzyme cytochrome P450 1B1 influences the development of pulmonary arterial hypertension. *Circulation.* 2012;126(9):1087–1098. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.062927
45. Fessel JP, Chen X, Frump A, Gladson S, Blackwell T, Kang C et al. Interaction between bone morphogenetic protein receptor type 2 and estrogenic compounds in pulmonary arterial hypertension. *Pulm Circ.* 2013;3(3):564–577. doi:10.1086/674312
46. Yuan P, Wu WH, Gao L, Zheng ZQ, Liu D, Mei HY. Oestradiol ameliorates monocrotaline pulmonary hypertension via NO, prostacyclin and endothelin-1 pathways. *Eur Respir J.* 2013;41(5):1116–1125. doi:10.1183/09031936.00044112
47. Umar S, Iorga A, Matori H, Nadadur RD, Li J, Maltese F, et al. Estrogen rescues preexisting severe pulmonary hypertension in rats. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;184(6):715–723. doi:10.1164/rccm.201101-0078OC
48. Heldring N, Pike A, Andersson S, Matthews J, Cheng G, Hartman J. Estrogen receptors: how do they signal and what are their targets. *Physiol Rev.* 2007;87(3):905–931.
49. Murphy E. Estrogen signaling and cardiovascular disease. *Circ Res.* 2011;109(6):687–696. doi:10.1161/CIRCRESAHA.110.236687
50. Simoncini T, Mannella P, Fornari L, Caruso A, Varone G, Genazzani AR. Genomic and non-genomic effects of estrogens on endothelial cells. *Steroids.* 2004;69(8–9):537–542.
51. Hsieh YC, Yu HP, Frink M, Suzuki T, Choudhry MA, Schwacha MG. G-protein-coupled receptor 30-dependent protein kinase A pathway is critical in nongenomic effects of estrogen in attenuating liver injury after trauma-hemorrhage. *Am J Pathol.* 2007;170(4):1210–1218.
52. Simoncini T, Hafezi-Moghadam A, Brazil DP, Ley K, Chin WW, Liao JK. Interaction of oestrogen receptor with the regulatory subunit of phosphatidylinositol-3-OH kinase. *Nature.* 2000;407(6803):538–541.
53. Hisamoto K, Ohmichi M, Kurachi H, Hayakawa J, Kanda Y, Nishio Y et al. Estrogen induces the Akt-dependent activation of endothelial nitric-oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Biol Chem.* 2001;276(5):3459–3467.
54. Sherman TS, Chambliss KL, Gibson LL, Pace MC, Mendelsohn ME, Pfister SL et al. Estrogen acutely activates prostacyclin synthesis in ovine fetal pulmonary artery endothelium. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2002;26(5):610–616.
55. Stenmark KR, Meyrick B, Galie N, Mooi WJ, McMurtry IF. Animal models of pulmonary arterial hypertension: the hope for etiological discovery and pharmacological cure. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2009;297(6):L1013–L1032. doi:10.1152/ajplung.00217.2009
56. Taraseviciene-Stewart L, Kasahara Y, Alger L, Hirth P, Mc Mahon G, Waltenberger J. Inhibition of the VEGF receptor 2 combined with chronic hypoxia causes cell death-dependent pulmonary endothelial cell proliferation and severe pulmonary hypertension. *FASEB J.* 2001;15(2):427–438.
57. Bogaard HJ, Natarajan R, Henderson SC, Long CS, Kraskauskas D, Smithson L et al. Chronic pulmonary artery pressure elevation is insufficient to explain right heart failure. *Circulation.* 2009;120(20):1951–1960. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.883843
58. Gomez-Arroyo J, Saleem SJ, Mizuno S, Syed AA, Bogaard HJ, Abbate A, et al. A brief overview of mouse models of pulmonary arterial hypertension: problems and prospects. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2012;302(10):L977–L991. doi:10.1152/ajplung.00362.2011
59. Baron RM, Choi AJ, Owen CA, Choi AM. Genetically manipulated mouse models of lung disease: potential and pitfalls. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2012;302(6):L485–L497. doi:10.1152/ajplung.00085.2011
60. McMurtry IF, Frith CH, Will DH. Cardiopulmonary responses of male and female swine to simulated high altitude. *J Appl Physiol.* 1973;35(4):459–462.
61. Rabinovitch M, Gamble WJ, Miettinen OS, Reid L. Age and sex influence on pulmonary hypertension of chronic hypoxia and on recovery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1981;240(1):H62–H72.
62. Burton RR, Besch EL, Smith AH. Effect of chronic hypoxia on the pulmonary arterial blood pressure of the chicken. *Am J Physiol.* 1968;214(6):1438–1442.
63. Wetzel RC, Sylvester JT. Gender differences in hypoxic vascular response of isolated sheep lungs. *J Appl Physiol.* 1983;55(1 Pt 1):100–104.
64. Wetzel RC, Zacur HA, Sylvester JT. Effect of puberty and estradiol on hypoxic vasomotor response in isolated sheep lungs. *J Appl Physiol.* 1984;56(5):1199–1203.
65. Fuchs KI, Moore LG, Rounds S. Pulmonary vascular reactivity is blunted in pregnant rats. *J Appl Physiol.* 1982;53(3):703–707.
66. Moore LG, Reeves JT. Pregnancy blunts pulmonary vascular reactivity in dogs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1980;239(3):H297–H301.
67. Earley S, Resta TC. Estradiol attenuates hypoxia-induced pulmonary endothelin-1 gene expression. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2002;283(1):L86–L93.
68. Lahm T, Crisostomo PR, Markel TA, Wang M, Wang Y, Weil B et al. Exogenous estrogen rapidly attenuates pulmonary artery vasoreactivity and acute hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Shock.* 2008;30(6):660–667. doi:10.1097/SHK.0b013e31816f239f
69. Lahm T, Patel KM, Crisostomo PR, Markel TA, Wang M, Herring C et al. Endogenous estrogen attenuates pulmonary artery vasoreactivity and acute hypoxic pulmonary vasoconstriction: the effects of sex and menstrual cycle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;293(3):E865–E871.

70. Resta TC, Kanagy NL, Walker BR. Estradiol-induced attenuation of pulmonary hypertension is not associated with altered eNOS expression. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2001;280(1):L88–L97.

71. Farhat MY, Chen MF, Bhatti T, Iqbal A, Cathapermal S, Ramwell PW. Protection by oestradiol against the development of cardiovascular changes associated with monocrotaline pulmonary hypertension in rats. *Br J Pharmacol*. 1993;110(2):719–723.

72. Xu DQ, Luo Y, Liu Y, Wang J, Zhang B, Xu M, Wang YX. Beta-estradiol attenuates hypoxic pulmonary hypertension by stabilizing the expression of p27kip1 in rats. *Respir Res*. 2010;11:182. doi:10.1186/1465-9921-11-182

73. Lahm T, Albrecht M, Fisher AJ, Selej M, Patel NG, Brown JA. 17 β -Estradiol attenuates hypoxic pulmonary hypertension via estrogen receptor-mediated effects. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012;185(9):965–80. doi:10.1164/rccm.201107-1293OC

74. Панькова Н.В., Артемьева М.М., Медведева Н.А. Влияние эстрадиола 17-бета на степень проявления гипоксической формы легочной гипертензии у самцов и самок крыс Вистар. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2017;80(1):9–13. [Pankova NV, Artemieva MM, Medvedeva NA. 17-beta estradiol effect on hypoxic lung hypertension level in male and female Wistar rats. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2017;80(1):9–13. In Russian].

75. White K, Dempsey Y, Nilsen M, Wright AF, Loughlin L, Maclean MR. The serotonin transporter, gender, and 17-oestradiol in the development of pulmonary arterial hypertension. *Cardiovasc Res*. 2011;90(2):373–682. doi: 10.1093/cvr/cvq408

76. White K, Loughlin L, Maqbool Z, Nilsen M, McClure J, Dempsey Y et al. Serotonin transporter, sex, and hypoxia: microarray analysis in the pulmonary arteries of mice identifies genes with relevance to human PAH. *Physiol Genomics*. 2011;43(8):417–437. doi:10.1152/physiolgenomics.00249.2010

77. Dempsey Y, Nilsen M, White K, Mair KM, Loughlin L, Ambartsumian N et al. Development of pulmonary arterial hypertension in mice over-expressing S100A4/Mts1 is specific to females. *Respir Res* 2011;12:159. doi:10.1186/1465-9921-12-159

78. Dempsey Y, MacRitchie NA, White K, Morecroft I, Wright AF, Nilsen M. Dexfenfluramine and the oestrogen-metabolizing enzyme CYP1B1 in the development of pulmonary arterial hypertension. *Cardiovasc Res*. 2013;99(1):24–34. doi:10.1093/cvr/cvt064

79. Hansmann G, Wagner RA, Schellong S, Perez VA, Urashima T, Wang L et al. Pulmonary arterial hypertension is linked to insulin resistance and reversed by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation. *Circulation*. 2007;115(10):1275–1284.

80. Longcope C, Gorbach S, Goldin B, Woods M, Dwyer J, Morrill A. The effect of a low fat diet on estrogen metabolism. *J Clin Endocrinol Metab*. 1987;64(6):1246–1250.

81. Heresi GA, Aytakin M, Newman J, DiDonato J, Dweik RA. Plasma levels of high-density lipoprotein cholesterol and outcomes in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;182(5):661–668. doi:10.1164/rccm.201001-0007OC

82. Zamanian RT, Hansmann G, Snook S, Lilienfeld D, Rappaport KM, Reaven GM et al. Insulin resistance in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J*. 2009;33(2):318–324. doi:10.1183/09031936.00000508

83. Roberts KE, Fallon MB, Krowka MJ, Brown RS, Trotter JF, Peter I et al. Genetic risk factors for portopulmonary hypertension in patients with advanced liver disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;179(9):835–842. doi:10.1164/rccm.200809-1472OC

84. Felty Q, Xiong WC, Sun D, Sarkar S, Singh KP, Parkash J et al. Estrogen-induced mitochondrial reactive oxygen species as signal-transducing messengers. *Biochemistry*. 2005;44(18):6900–6909.

85. Farha S, Asosingh K, Laskowski D, Hammel J, Dweik RA, Wiedemann HP, Erzurum SC. Effects of the menstrual cycle on lung function variables in women with asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;180(4):304–310. doi:10.1164/rccm.200904-0497OC

86. Farha S, Asosingh K, Laskowski D, Licina L, Sekiguchi H, Losordo DW et al. Pulmonary gas transfer related to markers of angiogenesis during the menstrual cycle. *J Appl Physiol*. 2007;103(5):1789–1795.

Информация об авторах

Медведева Наталья Александровна — доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник кафедры физиологии человека и животных биологического ф-та ФГБУ ВПО МГУ им. М.В. Ломоносова;

Панькова Надежда Владимировна — аспирант кафедры физиологии человека и животных биологического ф-та ФГБУ ВПО МГУ им. М.В. Ломоносова;

Артемьева Марина Михайловна — кандидат биологических наук, научный сотрудник кафедры физиологии человека и животных биологического ф-та ФГБУ ВПО МГУ им. М.В. Ломоносова.

Author information

Natalia A. Medvedeva, PhD in Biology Sciences, DSc, Professor, Leading Researcher, the Department of Human and Animal Physiology, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University;

Nadezhda V. Pankova, Postgraduate Student, the Department of Human and Animal Physiology, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University;

Marina M. Artemieva — PhD in Biology Sciences, Researcher, the Department of Human and Animal Physiology, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University.

ISSN 1607-419X
ISSN 2411-8524 (Online)
УДК 616.8:616.12-008.331.1

Цереброваскулярная и кардиоваскулярная CO_2 -реактивность в патогенезе артериальной гипертензии

В. П. Куликов, Д. В. Кузнецова, А. Н. Заря
Алтайский государственный медицинский университет,
Барнаул, Россия
Алтайский медицинский институт последипломного
образования, Барнаул, Россия

Контактная информация:
Куликов Владимир Павлович
Алтайский медицинский институт
последипломного образования,
ул. Ползунова, 34 а, Барнаул,
Россия, 656043.
Тел.: +7(3852)635748
E-mail: altmedinst@gmail.com

*Статья поступила в редакцию
17.05.17 и принята к печати 09.10.17.*

Резюме

Выраженные эмоции вызывают возбуждение центральной нервной системы (ЦНС), симпатическую активацию, подъем артериального давления (АД) и гипервентиляцию. При продолжительных отрицательных эмоциях, сопровождающихся гипервентиляцией, хемочувствительность к CO_2 повышается, что поддерживает хроническую гипокапнию и приводит к нарушению регуляции АД и стабилизации артериальной гипертензии (АГ). Ключевым механизмом гипертензивного эффекта хронической гипервентиляции является, вероятно, изменение чувствительности хеморецепторов к CO_2 . Респираторные тренировки с периодической гиперкапнией имеют существенный терапевтический потенциал при АГ, восстанавливая чувствительность хеморецепторов к CO_2 и усиливая антиоксидантную активность. Гипокапния нарушает ауторегуляцию, и мозговые сосуды утрачивают способность нивелировать скачки АД, что оказывает неблагоприятное воздействие на связанные с хеморецепторами процессы регуляции дыхания и АД. При прогрессировании АГ возникает зависимое от степени повышения АД нарушение церебральной ауторегуляции. Также при гипокапнии снижается тонус внутричерепных вен, что может быть причиной повышения внутричерепного давления и нарушения центральной регуляции АД. Порог кардиоваскулярной CO_2 -реактивности в норме выше порога цереброваскулярной CO_2 -реактивности. Кардиоваскулярная CO_2 -реактивность изменяется уже на начальном этапе развития АГ. В отличие от здоровых лиц, у больных с АГ реакция АД на гипер/гипокапнию развивается медленнее, и величина АД не восстанавливается после его снижения на гипокапнию, что может отражать нарушение механизма контроля АД. Цереброваскулярная CO_2 -реактивность при АГ в целом снижается. При этом вазодилатационный резерв мозговых сосудов сохраняется в большей степени, чем вазоконстрикторный, что отражает характер ремоделирования мозговых сосудов при АГ, для которого характерно сужение просвета за счет гипертрофии стенки.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, гипокапния, гиперкапния, цереброваскулярная реактивность, кардиоваскулярная реактивность

Для цитирования: Куликов В. П., Кузнецова Д. В., Заря А. Н. Цереброваскулярная и кардиоваскулярная CO_2 -реактивность в патогенезе артериальной гипертензии. Артериальная гипертензия. 2017;23(5):433–446. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-433-446

Role of cerebrovascular and cardiovascular CO₂-reactivity in the pathogenesis of arterial hypertension

V. P. Kulikov, D. V. Kuznetsova, A. N. Zarya
Altai State Medical University, Barnaul, Russia
Altai Medical Institute of Postgraduate Education,
Barnaul, Russia

Corresponding author:
Vladimir P. Kulikov
Altai Medical Institute
of Postgraduate Education,
34a Polzunova st., Barnaul,
656043 Russia.
Tel.: +7(3852)635748
E-mail: aitmedinst@gmail.com

*Received 17 May 2017;
accepted 9 October 2017.*

Abstract

Intense emotions cause arousal of the central nervous system, sympathetic activation, blood pressure (BP) increase and hyperventilation. Continuous negative emotions coming with hyperventilation lead to increase in CO₂-chemosensitivity that keeps chronic hypocapnia constant and results in BP dysregulation and stable arterial hypertension (AH). The key mechanism of a hypertensive effect of chronic hyperventilation probably lies in sensitivity changes of CO₂-chemoreceptors. Respiratory training with periodic hypercapnia has potential therapeutic effect in HTN by restoring CO₂-chemoreceptor sensitivity and increasing antioxidant activity. Hypocapnia violates autoregulation mechanisms. Cerebral blood vessels lose their ability to neutralize BP surges, which negatively affects chemoreceptor-related processes of respiratory and BP regulation. With the HTN progression, cerebrovascular dysregulation occurs depending on the BP level. Moreover, hypocapnia is accompanied by the reduction of intracranial venous tone which can lead to increased intracranial pressure and problems with BP regulation in the brain. The threshold level of cardiovascular CO₂-reactivity is normally higher than the threshold level of cerebrovascular CO₂-reactivity. The changes in cardiovascular CO₂-reactivity occur already in the initial period of HTN. Compared to healthy people, hypertensive patients develop slower BP reaction to hyper/hypocapnia, and hypercapnia induced low BP does not restore to the baseline level that can result from the BP dysregulation. In general, cerebrovascular CO₂-reactivity is decreased in HTN patients. However, the cerebrovascular vasodilator function is preserved better than the vasoconstrictor reserve demonstrating that cerebral vessel remodeling in HTN is characterized by luminal narrowing due to the vascular wall hypertrophy.

Key words: arterial hypertension, hypocapnia, hypercapnia, cerebrovascular reactivity, cardiovascular reactivity

For citation: Kulikov VP, Kuznetsova DV, Zarya AN. Role of cerebrovascular and cardiovascular CO₂-reactivity in the pathogenesis of arterial hypertension. *Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension*. 2017;23(5):433–446. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-433-446

Введение

Напряжение углекислого газа в артериальной крови (PaCO₂) играет исключительно важную роль в регулировании мозгового кровотока. Увеличение PaCO₂ (гиперкапния) приводит к расширению мозговых артериол и прекапиллярных сфинктеров, что снижает региональное сосудистое сопротивление и стимулирует мозговой кровоток (МК), в то время

как снижение PaCO₂ (гипокапния) приводит к сужению резистивных артериальных сосудов мозга с последующим снижением МК [1, 2]. Механизм вазодилатации церебральных резистивных сосудов при гиперкапнии связывают с CO₂-опосредованным снижением внеклеточного pH [3, 4], активацией K⁺-каналов в сосудистых гладкомышечных клетках [5, 6], усилением синтеза эндотелиальной и нейрональ-

ной NO-синтазы с накоплением NO и циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) [7, 8]. Все это в итоге ведет к снижению содержания внутриклеточного кальция и расслаблению гладкомышечных клеток со снижением сосудистого тонуса. Считается, что вазоконстрикторный эффект гипоксии, в отличие от гиперкапнической вазодилатации, обусловлен исключительно изменением pH и увеличением концентрации внутриклеточного Ca^{2+} в гладкомышечных клетках, что приводит к повышению тонуса церебральных сосудов [9]. Основные механизмы контроля мозгового кровообращения схематически показаны на рисунке 1.

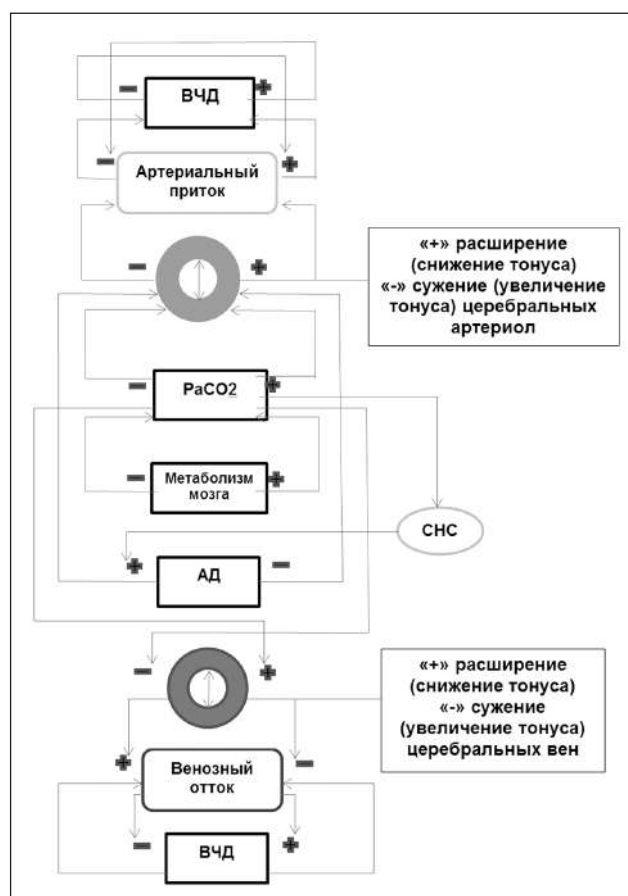
Также хорошо известно, что углекислый газ эффективно изменяет системное артериальное давление (АД). Гиперкапния приводит к повышению АД за счет активации симпатической нервной системы (СНС) посредством возбуждения центральных и периферических хеморецепторов и, как следствие, увеличения сосудистого тонуса и сердечного выброса [10, 11]. Соответственно при гипоксии происходит снижение АД [12].

Из этого следует, что углекислый газ двояко влияет на тонус кровеносных сосудов. При непосредственном воздействии на гладкомышечные клетки CO_2 — вазодилататор. Но на системном уровне он вазоконстриктор, опосредующий свой эффект через активацию СНС.

Представляется очевидным, что, обладая столь выраженными эффектами на сосудистый тонус и системную гемодинамику, CO_2 должен играть существенную роль в патогенезе артериальной гипертензии (АГ). Однако в современных патофизиологических концепциях АГ углекислому газу уделяется мало внимания. Между тем хроническая гипервентиляция и гипоксия встречаются чрезвычайно часто, учитывая распространенность психоэмоционального стресса и неврозов. Приступы дыхательной недостаточности с гиперкапнией могут стимулировать гипервентиляцию и гипоксию в межприступный период, как например, при бронхиальной астме и апноэ во время сна [13]. Такие изменения PaCO_2 могут играть существенную роль в патогенезе АГ. Например, обструктивное апноэ во время сна с хронической интермиттирующей (периодической) гипоксией является независимым фактором риска АГ [14]. Важно, что апноэ во время сна характеризуется не только периодической гипоксией, но также чередованием гиперкапнии и гипоксии.

Для обозначения широко распространенных отклонений в PaCO_2 мы ввели термин «дискапния». **Дискапния** — типовой патологический процесс, характеризующийся стойкими или чередующимися отклонениями от состояния нормокапнии в сторону

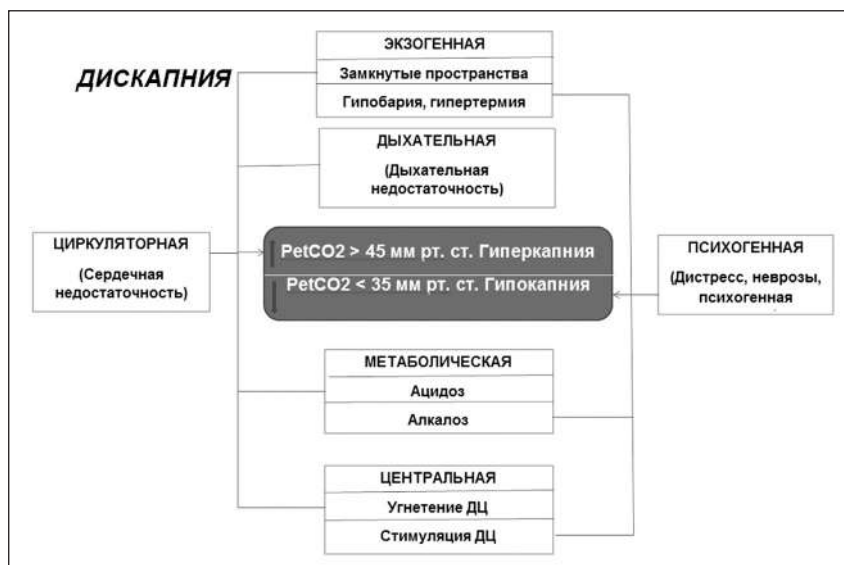
Рисунок 1. Основные механизмы контроля мозгового кровообращения



Примечание: АД — артериальное давление; PaCO_2 — напряжение CO_2 в артериальной крови; ВЧД — внутричерепное давление; СНС — симпатическая нервная система.

повышения (гиперкапния) или понижения (гипокапния) PaCO_2 . Как известно, содержание в организме CO_2 характеризуется тремя состояниями — нормокапния/гиперкапния/гипокапния, в отличие от кислорода, для которого в реальных условиях существует только два состояния — нормоксия и гипоксия, что связано с близким к 100-процентному нормальным насыщением гемоглобина кислородом. Патофизиологические варианты дискапнии схематически показаны на рисунке 2. Аналогично гипоксии дискапния развивается при изменении атмосферного давления и парциального давления дыхательных газов (экзогенная), при дыхательной и сердечной недостаточности (респираторная, циркуляторная), при нарушениях метаболизма (гиперкапния при метаболическом ацидозе и гипокапния при алкалозе), при угнетении (гиперкапния) и стимуляции (гипокапния) дыхательного центра (центральная). Особое место занимает широко распространенная психогенная дискапния, развивающаяся вследствие гипервентиляции при стрессах и неврозах и характеризующаяся гипокапнией и нормоксией.

Рисунок 2. Патофизиологические варианты дискапнии



Примечание: PetCO₂ — парциальное давление углекислого газа в альвеолярном воздухе; ДЦ — дыхательный центр.

В настоящей работе представлены данные литературы и опубликованных нами ранее исследований, которые, на наш взгляд, свидетельствуют об участии дискапнии в патогенезе первичной АГ.

Психоэмоциональный стресс, гипокапния и артериальная гипертензия

Говоря об участии дискапнии в патогенезе АГ, прежде всего мы имеем в виду механизмы АГ, связанные с психоэмоциональным возбуждением. Психоэмоциональный стресс традиционно рассматривается в качестве важного звена патогенеза первичной артериальной гипертензии, начиная от известной «нейрогенной теории» Ланга Г. Ф. и Мясникова А. Л. [15]. Психоэмоциональное напряжение рассматривается в качестве одного из трех важнейших патофизиологических механизмов АГ и в концепции Folkow [16]. Опубликованные недавно данные метаанализа подтверждают роль хронического психоэмоционального напряжения в качестве фактора риска АГ [17]. В этой работе показано, что психологический стресс связан с повышенным риском развития АГ (отношение шансов: ОШ = 2,40, 95-процентный доверительный интервал: 95 % ДИ = 1,65–3,49), а лица с АГ характеризуются более высоким уровнем психосоциального стресса по сравнению с нормотензивными пациентами (ОШ = 2,69, 95 % ДИ = 2,32–3,11). Современные доказательные исследования свидетельствуют, что стресс запускает неблагоприятные изменения гемодинамики и стресс-реактивности, приводящие к АГ, сердечно-сосудистым заболеваниям и их осложнениям [18, 19].

Однако при этом не учитывается, что стресс всегда сопровождается гипервентиляцией и ги-

покапнией. У здорового человека на уровне моря объем легочной вентиляции регулируется по РаСО₂ путем сравнения заданного уровня в дыхательном центре (установка) с информацией, приходящей от хеморецепторов, и обеспечивает его поддержание на уровне 35–45 мм рт. ст. [20] Выраженные эмоции (страх, паника, агрессия) сопровождаются возбуждением ЦНС, симпатической активацией, подъемом АД и гипервентиляцией. Гипервентиляция поддерживается благодаря вызванному возбуждением ЦНС временному игнорированию установки по РаСО₂ [21]. Тревога, страх, паника вызывают учащение и углубление дыхания со снижением РаСО₂ вплоть до респираторного алкалоза [22]. При продолжительных отрицательных эмоциях, тревожных расстройствах и бронхиальной астме хемочувствительность к СО₂ повышается, что поддерживает постоянную гипервентиляцию и хроническую гипокапнию [23–25].

Как было сказано выше, гипокапния приводит к снижению кровяного давления и может быть физиологическим фактором, препятствующим опасному подъему и стабилизации высокого АД при стресс-индуцированной симпатической активации. Однако продолжительный стресс ведет к гипервентиляционному синдрому с хронической гипокапнией и алкалозом, что, напротив, может приводить к нарушениям метаболизма, регуляции АД и стабилизации АГ.

Ключевым механизмом гипертензивного эффекта хронической гипервентиляции может быть изменение чувствительности хеморецепторов к СО₂, О₂, Н⁺, аналогично тому, как это происходит при формировании стрессорной гипервентиляции [24]. Повышение чувствительности каротидных

хеморецепторов к кислороду экспериментально установлено при хронической интермиттирующей гипоксии с активацией каротидного хеморефлекса и повышением симпатического тонуса, ведущего к гипертензии [14]. По мнению авторов, с этим могут быть связаны симпатическая гиперактивность и кардиореспираторная гиперреактивность на гипоксию у пациентов и животных, подвергшихся воздействию интермиттирующей гипоксии. Повышенная чувствительность центральных хеморецепторов к CO_2 является ключевым фактором гипертонуса симпатической нервной системы, гипервентиляции и высокого АД у спонтанно гипертензивных крыс [26]. Существует четкая связь между увеличенной афферентной сигнализацией от каротидных хеморецепторов с симпатической сверхактивностью при сердечной недостаточности [27]. Автор отмечает, что величина вентиляторного ответа на активацию периферических хеморецепторов пропорциональна уровню частоты сердечных сокращений (тахикардия) и кровяного давления (гипертензия).

Все больше экспериментальных доказательств подтверждают концепцию о решающем вкладе аномально повышенной чувствительности каротидной хеморецепции в избыточную активацию симпатической нервной системы и развитие кардиометаболической патологии [28, 29]. Показано, что селективная абляция каротидных телец повышает выживаемость в экспериментальных моделях сердечной недостаточности [30, 31], предупреждает развитие инсулинорезистентности и АГ у крыс, находившихся на диете с высоким содержанием жиров [32], и ослабляет гипертензию, индуцированную хронической интермиттирующей гипоксией в крысиной модели обструктивного апноэ во сне [33].

Абляция каротидных телец была предложена и для лечения тяжелой и резистентной АГ у человека [29]. При этом существуют технические сложности и проблемы безопасности интервенции на каротидных тельцах [27]. В этом отношении перспективными могут быть респираторные тренировки, задачей которых как раз и является восстановление чувствительности хеморецепторов к CO_2 [13]. Ранее нами было показано снижение цереброваскулярной CO_2 -реактивности при регулярных респираторных тренировках с гиперкапнической гипоксией у людей [34], что можно объяснить снижением чувствительности соответствующих хеморецепторов под влиянием периодической гиперкапнии. С восстановлением чувствительности хеморецепторов можно связывать и терапевтическую эффективность гиперкапнической гипоксии, создаваемой по методу Бутейко или аппаратным методом с использовани-

ем возвратного дыхания [13]. Можно полагать, что ключевую роль в этом воздействии играет гиперкапния. Так, было показано, что гиперкапния оказывает более выраженный по сравнению с гипоксией эффект на увеличение толерантности головного мозга к ишемии/гипоксии, а их сочетанное применение (гиперкапническая гипоксия) существенно эффективнее изолированного [35, 36]. Кроме того, известно, что реакция МК на сочетанное воздействие гипоксии и гиперкапнии в основном определяется уровнем PaCO_2 , а не дефицитом PaO_2 [37].

Важной для диагностики, прогноза и подбора терапии на начальном этапе развития АГ может стать оценка нарушения реакции АД на гипер/гипокапнию (кардиоваскулярная реактивность, KBPCO_2), подобно тому как исследование цереброваскулярной реактивности на CO_2 (CBPCO_2) является авторитетным тестом при нарушениях мозгового кровообращения. По мнению P. Niewinski (2017), тестирование кардиоваскулярной реактивности на гиперкапнию или гипоксию может быть важным для контроля устранения гиперсимпатикотонии при лечении сердечной недостаточности, тем более что все ответы на активацию периферических хеморецепторов (легочная вентиляция, частота сердечных сокращений и АД) могут быть измерены неинвазивными, безопасными и воспроизводимыми методами [27].

Еще одним важным механизмом гипертензивного эффекта хронической гипервентиляции и гипокапнии может быть усиление оксидативного стресса, который играет существенную роль в патогенезе АГ, вызывая повреждение эндотелия и эндотелиальную дисфункцию [38]. Дело в том, что углекислый газ существенно усиливает антиоксидантную активность [39], активируя супероксиддисмутазу, стабилизируя комплекс железо-трансферрин, нейтрализуя активные формы кислорода, связываясь с пероксинитритом, затем переходя в нитрокарбонат и при соединении с водой образуя карбокси-анион и нитроксид-анион [40–42].

В эксперименте, моделирующем воздействие гипоксии и гиперкапнии на беспозвоночных животных [43], было показано, что эти два фактора в умеренном режиме способствуют активации системы антиоксидантной защиты клеток при повреждении, увеличивая транскрипцию генов цитоплазматической Mn-супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и пептид-метионин-оксид-редуктазы. Эта антиоксидантная активность CO_2 может иметь существенный терапевтический потенциал при АГ, как, например, показанная нами ранее высокая эффективность гиперкапнической гипоксии при экспериментальном инсульте [44].

Гипокапния, церебральная ауторегуляция и артериальная гипертензия

Как нам представляется, мозговому кровообращению и нарушению ЦВРСО₂, так же как и дискапнии, в целом отводится недостаточно места в патогенезе АГ. Мозгу жизненно необходим не только относительно большой, но главное — постоянный объем перфузии. Только так могут быть обеспечены функции мозга, включая работу сосудодвигательного центра, каротидный хеморефлекс и нейрогенную регуляцию АД. Как известно, нейроны чрезвычайно чувствительны к гипоксии, возникающей при снижении артериального притока крови к мозгу (ишемия). Но и гиперемия так же губительна для мозга, находящегося в замкнутой черепной коробке, так как приводит к внутричерепной гипертензии и нарушению мозговой перфузии (рис. 1). Постоянство мозговой перфузии обеспечивается благодаря уникальному механизму ауторегуляции мозгового кровообращения. Как известно, церебральная ауторегуляция заключается в поддержании постоянного объема мозгового кровотока в условиях изменения среднего гемодинамического давления в пределах 50–170 мм рт. ст. [45]. В ответ на увеличение системного АД тонус мозговых резистивных сосудов возрастает, что защищает мозг от гиперперфузии и гиперемии. При падении АД, напротив, сосуды мозга расширяются, сопротивление падает, что предотвращает падение мозговой перфузии.

Механизм мозговой ауторегуляции до конца не установлен. Важную роль в этом механизме, вероятно, играет миогенная регуляция сосудистого тонуса (феномен Бейлиса) [46]. Главная проблема заключается в том, что выход РаСО₂ за пределы нормокапнии делает ауторегуляцию неэффективной [47, 48]. Из-за выраженного сосудодвигательного эффекта СО₂ в условиях дискапнии мозговые сосуды утрачивают способность нивелировать скачки АД и поддерживать при этом постоянную перфузию. Поэтому возникающее при дискапнии нарушение МК может приводить к нарушению функции сосудодвигательного центра и нарушению контроля АД. В подтверждение этого можно привести результаты исследования, показавшего зависимость от степени повышения АД нарушение ауторегуляции МК у пациентов с АГ [49]. Возникающие под влиянием дискапнии нарушения цереброваскулярной функции оказывают воздействие на связанные с хеморецепторами процессы регуляции дыхания и АД. Так, обусловленное изменением РаСО₂ изменение рН на уровне центральных хеморецепторов приводит к изменению МК, которое в свою очередь сказывается на центральном управлении дыханием [50, 51]. Исследо-

вания показали корреляционную связь сниженной ЦВРСО₂ с возникновением центрального апноэ во сне у пациентов с застойной сердечной недостаточностью [52], а также связь с обструктивным апноэ во сне [53].

Церебральная венозная СО₂-реактивность и артериальная гипертензия

Установленная недавно более высокая по сравнению с артериальной церебральная венозная реактивность на СО₂ [54] не позволяет игнорировать возможную роль нарушений церебральной венозной циркуляции при дискапнии в патогенезе АГ. Цереброваскулярная СО₂-реактивность рассматривается почти исключительно с позиции регуляции артериального притока крови к мозгу. Очевидно, что для предотвращения губительной для мозга гиперемии увеличение притока требует усиления оттока. Исходя из этого, можно ожидать выраженную реакцию церебральной венозной гемодинамики на гиперкапнию.

Мы исследовали реакцию на гиперкапнию кровотока в венах мозга [54]. Типичная реакция заключалась в существенном увеличении скорости кровотока в базальных венах. Коэффициент реактивности составил $60 \pm 22,7\%$ (ДИ 52,9–67,2%), что более чем в два раза превышает реакцию артериального кровотока в средней мозговой артерии (СМА). Такое выраженное увеличение скорости кровотока во внутричерепных венах при гиперкапнии невозможно объяснить лишь пассивной реакцией оттока на увеличение притока. Вероятно, наряду с пассивным механизмом гиперкапнии задействует активный механизм стимуляции венозного оттока в виде веноконстрикции. Принципиальная возможность СО₂-индуцированной веноконстрикции была показана в эксперименте на животных [55]. Еще одним подтверждением этому могут быть результаты исследования церебральной венозной СО₂-реактивности у пациентов с сотрясением головного мозга, сопровождающимся дистонией церебральных вен [56]. Результаты исследования показали, что реакция на гиперкапнию кровотока в базальной вене у пациентов с сотрясением головного мозга, в отличие от здоровых, не превышала таковой в СМА. Эти результаты можно объяснить утратой при сотрясении головного мозга активной СО₂-индуцированной веноконстрикции с сохранением только пассивной реакции венозного оттока на увеличение артериального притока.

Выраженная церебральная венозная реактивность на СО₂ предполагает нарушение венозного оттока от мозга при гипервентиляции и гипокапнии, что может быть причиной повышения внутричереп-

ного давления и нарушения функционального состояния мозга, в том числе его участия в контроле АД.

Цереброваскулярная и кардиоваскулярная CO_2 -реактивность в норме

Методология исследования эффектов дискапнии на церебральную и системную гемодинамику заключается в одновременном синхронном мониторинге в реальном времени скорости мозгового кровотока, АД и парциального давления CO_2 в альвеолярном воздухе (PetCO_2), как это было подробно описано нами ранее [57].

Скорость мозгового кровотока в сегменте М1 средней мозговой артерии (СМА) регистрировали с помощью транскраниальной доплерографии (ТКДГ), с 2 МГц импульсно-волновыми датчиками (Angiodin Universal, BIOS, Russia). Датчики были закреплены в области средних темпоральных акустических окон с обеих сторон с помощью специального головного шлема. ТКДГ измеряет линейную скорость кровотока в СМА, а не церебральную перфузию как таковую. Тем не менее исследования показывают, что линейная скорость кровотока в СМА представляет собой надежный и достоверный показатель мозговой перфузии [58–60]. Кроме того, ТКДГ позволяет проводить билатеральное исследование МК, а также обладает достаточным временным разрешением для оценки цереброваскулярной реактивности.

При исследовании МК и системного АД мы проводили капнографический контроль с оценкой PetCO_2 (end-tidal partial pressure of CO_2), который отличается от PaCO_2 всего на 1–2 мм рт. ст. и адекватно отражает его значение [61]. Капнографический контроль осуществлялся на протяжении всего исследования (OEM module, Oridion, USA).

В течение всего исследования проводили мониторинг среднего АД (mean arterial blood pressure, MAP, мм рт. ст.) методом пальцевой фотоплетизмографии, используя непрерывное beat-to-beat (от сокращения к сокращению) неинвазивное измерение, на левых среднем и указательном пальцах (CNAF Monitor 500, CNSystems, Austria).

Сатурацию артериальной крови кислородом (SpO_2 , %) измеряли методом пульсоксиметрии (BPM-200, Biosys, Korea).

Для создания гиперкапнии мы использовали метод возвратного дыхания через дыхательный контур, как и многие другие авторы [62, 63]. При использовании дыхательного контура не требуется наличия дополнительного оборудования и газовых смесей. При возвратном дыхании возникает не только гиперкапния, но и гипоксия. Однако реакция МК на сочетанное воздействие гипоксии и гипер-

капнии в основном определяется уровнем PaCO_2 , а не дефицитом PaO_2 [37], поэтому мы выбрали возвратное дыхание для оценки влияния гиперкапнии на скорость МК. Для создания гипокапнии мы использовали метод произвольной гипервентиляции с частотой один дыхательный цикл за 2 секунды на протяжении 2 минут.

Добровольцы проходили три этапа исследования: покой (baseline), возвратное дыхание (rebreathing) и гипервентиляция (hyperventilation). На первом этапе испытуемые в течение 5 минут дышали комнатным воздухом (нормокапния). Вторым этапом было возвратное дыхание, с помощью которого мы создавали гиперкапнию. Для этого к маске присоединялся дыхательный контур (Карбоник, Россия) с дополнительным объемом мертвого пространства 1000 мл, и испытуемые дышали через него в течение 10 минут. Это обеспечивало повышение PetCO_2 на 10–15 мм рт. ст. После возвратного дыхания следовал пятиминутный отдых, в течение которого гемодинамические параметры и капнограмма возвращались к исходным значениям. Затем следовал этап гипервентиляции, с помощью которого мы создавали гипокапнию со снижением PetCO_2 на 10–15 мм рт. ст.

Создаваемые с помощью возвратного дыхания и гипервентиляции гиперкапния и гипокапния позволяют охватить широкий диапазон PetCO_2 . Однако мы не стали создавать постепенное увеличение CO_2 от гипокапнии до гиперкапнии, как в методе возвратного дыхания Duffin [64], так как считаем, что более физиологичным является создание повышения и снижения PaCO_2 от исходного состояния нормокапнии.

В покое среднее (SD) PetCO_2 для всей выборки составляло 33,6 (3,1) мм рт. ст., что было несколько меньше классических представлений о нормокапнии (35–45 мм рт. ст.). При этом у женщин среднее (SD) PetCO_2 составляло 31,8 (1,2) мм рт. ст., а у мужчин — 35,1 (3,5) мм рт. ст. Такое снижение PetCO_2 при спокойном дыхании у здоровых женщин можно объяснить особенностями вентиляции в зависимости от фазы менструального цикла. Мы тестировали женщин в лютеиновой и начале фолликулярной фазы менструального цикла, когда уровень эстрогенов наименьший, для минимизации влияния повышенного эстрогенного фона на цереброваскулярную реактивность [65]. Известно, что в этот же период менструального цикла наблюдаются функциональная гипервентиляция и снижение PaCO_2 на 2,5–3 мм рт. ст. [66]

Данные линейной скорости кровотока в правой и левой СМА (MCAv left and right), PetCO_2 , среднего АД (MAP) и SpO_2 были усреднены в течение

5-минутного периода нормокапнии для каждого испытуемого. На этом основании были рассчитаны средние значения ($M \pm SD$) указанных параметров для всей выборки. Были вычислены максимальные изменения всех параметров при возвратном дыхании и гипервентиляции по сравнению с состоянием покоя (Δ), их абсолютное и процентное значение. Данные MCAv за каждые 10 секунд возвратного дыхания и гипервентиляции были преобразованы в процентное изменение от среднего значения в покое (%MCAv left and right). Затем %MCAv left and right были сопоставлены с $P_{ET}CO_2$. Абсолютное изменение скорости МК было стандартизовано на 1 мм рт. ст. $P_{ET}CO_2$.

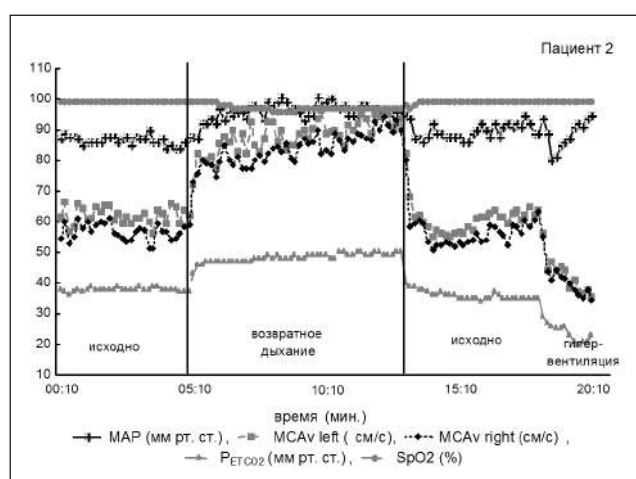
Для оценки сосудистой мозговой реактивности на CO_2 рассчитывали индекс цереброваскулярной реактивности на гиперкапнию (CVRhyper CO_2) и гипокапнию (CVRhypo CO_2) по Lindegaard с соавторами (1986) по формулам [67]:

$$CVR_{hyperCO_2} = (\Delta MCAv_{hyper} / MCAv_{norm}) / \Delta P_{ETCO_2 hyper} \times 100,$$

$$CVR_{hypoCO_2} = (\Delta MCAv_{hypo} / MCAv_{norm}) / \Delta P_{ETCO_2 hypo} \times 100,$$

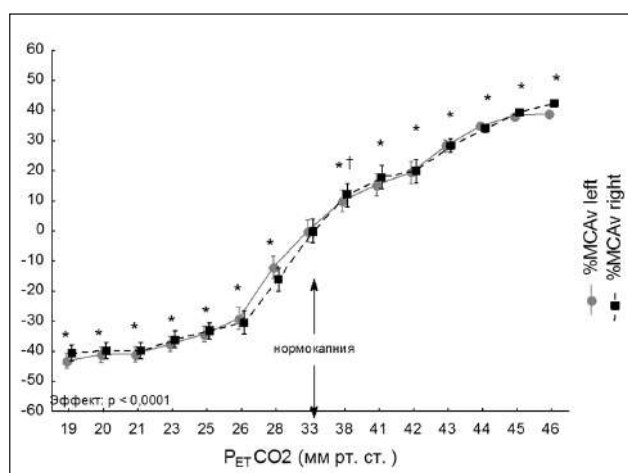
где MCAv norm — значение MCAv при нормокапнии, $\Delta MCAv_{hyper}$ ($\Delta MCAv_{hypo}$) — изменение MCAv при гиперкапнии (гипокапнии) относительно MCAv norm, $\Delta P_{ETCO_2 hyper}$ ($\Delta P_{ETCO_2 hypo}$) — изменение $P_{ET}CO_2$ при гиперкапнии (гипокапнии) относительно $P_{ET}CO_2$ при нормокапнии.

Рисунок 3. Типичная реакция исследуемых параметров (субъект 2) в покое, при возвратном дыхании и гипервентиляции [57]



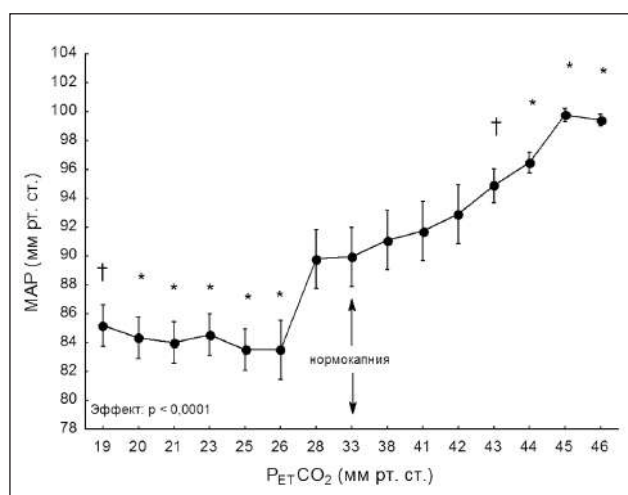
Примечание: MAP (мм рт. ст.) — среднее артериальное давление (middle arterial blood pressure); MCAv left (см/с) — скорость кровотока в левой средней мозговой артерии (mean cerebral artery); MCAv right (см/с) — скорость кровотока в правой средней мозговой артерии; $P_{ET}CO_2$ (мм рт. ст.) — парциальное давление CO_2 в альвеолярном воздухе; SpO_2 (%) — сатурация артериальной крови кислородом.

Рисунок 4. Влияние парциального давления углекислого газа в альвеолярном воздухе на процентное изменение от среднего значения скорости кровотока по правой и левой средним мозговым артериям в покое [57]



Примечание: Процентное изменение от среднего значения скорости кровотока по правой и левой средним мозговым артериям (middle cerebral artery, MCA) в покое (%MCAv left and right) представлены в виде средних наименьших квадратов для каждого значения парциального давления углекислого газа в альвеолярном воздухе ($P_{ET}CO_2$). Вертикальные полосы обозначают 0,95 доверительные интервалы. * — $p < 0,01$ и † — $p < 0,05$ для %MCAv left and right при соответствующих значениях $P_{ET}CO_2$ гиперкапнии и гипокапнии против %MCAv left and right при нормокапнии: $P_{ET}CO_2 = 33$ мм рт. ст.

Рисунок 5. Влияние уровня парциального давления углекислого газа в альвеолярном воздухе на среднее артериальное давление [57]



Примечание: Данные среднего артериального давления (middle arterial blood pressure, MAP) представлены в виде средних наименьших квадратов для каждого значения парциального давления углекислого газа в альвеолярном воздухе ($P_{ET}CO_2$). Вертикальные полосы обозначают 0,95 доверительные интервалы. * — $p < 0,01$ и † — $p < 0,05$ для MAP при соответствующих значениях $P_{ET}CO_2$ против MAP при нормокапнии: $P_{ET}CO_2 = 33$ мм рт. ст.

Диапазон изменения $P_{et}CO_2$ у здоровых молодых людей при использовании возвратного дыхания и гипервентиляции по нашим данным [57] составлял от 19 до 48 мм рт. ст. (рис. 3). Максимальный прирост скорости МК при этом был равен 185% (от 35 до 100 см/с).

Изменение скорости МК по отношению к нормокапнии ($P_{et}CO_2$ 33 мм рт. ст.) возникало при достижении $P_{et}CO_2$ 38 мм рт. ст. при возвратном дыхании и при снижении $P_{et}CO_2$ до 28 мм рт. ст. при гипервентиляции (рис. 4). Следовательно, изменение $P_{et}CO_2$ уже на 5 мм рт. ст. в сторону снижения или увеличения вызывает реакцию скорости МК.

Гиперкапния приводила к закономерному увеличению МАР, а гипокапния — к его снижению (рис. 5). Значимый прирост МАР при гиперкапнии возникал при достижении $P_{et}CO_2$ 43 мм рт. ст. В исследовании Battisti–Charbonney с соавторами (2011) пороговое значение $P_{et}CO_2$ для МАР при возвратном дыхании составило 44,4 мм рт. ст., что практически идентично нашим результатам [68].

Пороговое значение $P_{et}CO_2$ для МАР во время гипокапнии, вероятно, ранее не изучали. В нашем исследовании было выявлено значимое снижение МАР при достижении порогового значения $P_{et}CO_2$ 26 мм рт. ст. (рис. 5). При дальнейшем снижении $P_{et}CO_2$ МАР оставалось сниженным.

В нашем исследовании было установлено существенное изменение индексов цереброваскулярной реактивности на CO_2 при достижении порогов реакции со стороны артериального давления [57]. Так, $CVR_{hyper}CO_2$ изменяется при увеличении уровня $P_{et}CO_2$. При $P_{et}CO_2$ 38–43 мм рт. ст. среднее (SD) $CVR_{hyper}CO_2$ составляло 2,3 (1,4)%/мм рт. ст., а при увеличении $P_{et}CO_2$ более 43 мм рт. ст. $CVR_{hyper}CO_2$ увеличивалась до 3,3 (1,2)%/мм рт. ст. ($p < 0,01$). Так как порог $P_{et}CO_2$ для МАР также составлял 43 мм рт. ст., то становится очевидным, что именно увеличение церебрального перфузионного давления на фоне роста МАР и вызванной гиперкапнией несостоятельности ауторегуляции МК способствовало большему приросту скорости МК на 1 мм рт. ст. $P_{et}CO_2$ при достижении порога $P_{et}CO_2$ 43 мм рт. ст.

Аналогично гиперкапнии, цереброваскулярная реактивность на гипокапнию также была связана с пороговым значением $P_{et}CO_2$, при котором наблюдалась реакция со стороны МАР [57]. Так, $CVR_{hypo}CO_2$ значимо возрастала при достижении $P_{et}CO_2$ 26 мм рт. ст., затем снижалась, а при 23 мм рт. ст. $P_{et}CO_2$ и дальнейшем его снижении до 19 мм рт. ст. $CVR_{hypo}CO_2$ не изменялась. Такие результаты можно объяснить, во-первых, пределами сужения церебральных сосудов при

гипокапнии. Максимальное сужение резистивных сосудов имело место, вероятно, при снижении $P_{et}CO_2$ до 23 мм рт. ст., так как при большем снижении $P_{et}CO_2$ $CVR_{hypo}CO_2$ не изменялась. Во-вторых, на скорость МК и $CVR_{hypo}CO_2$ может влиять и снижение МАР с соответствующим снижением церебральной перфузии. Максимально МАР снижалось при 26 мм рт. ст. $P_{et}CO_2$ (рис. 5), при этом же значении наблюдалась и максимальная $CVR_{hypo}CO_2$. Среднее (SD) $CVR_{hypo}CO_2$ при 28 мм рт. ст. $P_{et}CO_2$ составило 3,6 (2,5)%/мм рт. ст., а при 26–25 мм рт. ст. $P_{et}CO_2$ составляло 5,9 (3,9)%/мм рт. ст. ($p < 0,01$).

В этом исследовании [57] мы выявили пороговое значение $P_{et}CO_2$ для МАР при гиперкапнии, которое составило 43 мм рт. ст. Результат оказался практически идентичен с другими работами. Нами впервые был обнаружен порог $P_{et}CO_2$ для МАР при гипокапнии, который составил 26 мм рт. ст. Мы также обнаружили порог $P_{et}CO_2$ для CVR_{CO_2} . При возвратном дыхании $CVR_{hyper}CO_2$ была постоянна до 43 мм рт. ст. $P_{et}CO_2$, затем увеличивалась. При гипервентиляции $CVR_{hypo}CO_2$ значимо изменялась при снижении $P_{et}CO_2$ до 26 мм рт. ст.

Таким образом, были установлены пороговые уровни, которые разграничивают реакцию на CO_2 мозгового кровообращения и АД. МК более чувствительно к изменению давления CO_2 в альвеолах ($P_{et}CO_2$). Изменение $P_{et}CO_2$ уже на 5 мм рт. ст. в сторону снижения или увеличения вызывает реакцию скорости МК. Реакция системного АД включается при более существенных изменениях содержания CO_2 от уровня нормокапнии. Порог гипертензивной реакции соответствует увеличению $P_{et}CO_2$ на 9 мм рт. ст., а порог гипотензивной реакции — его снижению на 7 мм рт. ст. В пределах пороговых значений $P_{et}CO_2$ от 26 до 43 мм рт. ст. АД не изменяется, а значит, скорость МК и CVR_{CO_2} определяется реакцией на CO_2 мозговых сосудов, что отражает «истинную» цереброваскулярную CO_2 -реактивность, независимую от АД. При преодолении пороговых значений $P_{et}CO_2$ для реакции АД происходит увеличение индексов CVR_{CO_2} , что свидетельствует о срыве церебральной ауторегуляции.

Цереброваскулярная и кардиоваскулярная CO_2 -реактивность при артериальной гипертензии

Особенности реакции МК и АД на гипер/гипокапнию были исследованы на добровольцах с установленной эссенциальной АГ и с повышенным на момент исследования систолическим АД более 139 мм рт. ст., при нормальном или повышенном более 89 мм рт. ст. диастолическом АД [69]. Сред-

нее АД (МАР, Ме (25; 75%)) у пациентов с АГ на момент исследования составляло 109,7 (105,3; 112,8) мм рт. ст., что было значимо больше, чем у здоровых добровольцев — 85,6 (80,7; 90,0) мм рт. ст. ($p < 0,001$).

Несмотря на различие в величине АД, группы здоровых и АГ в нашем исследовании [69] не различались между собой по скорости кровотока в СМА. Отсутствие различий параметров кровотока в СМА у пациентов с АГ по сравнению со здоровыми отмечали и другие исследователи [70, 71]. Такие различия, в основном в виде увеличения сосудистого сопротивления в интракраниальных артериях, проявляются при прогрессировании АГ [49].

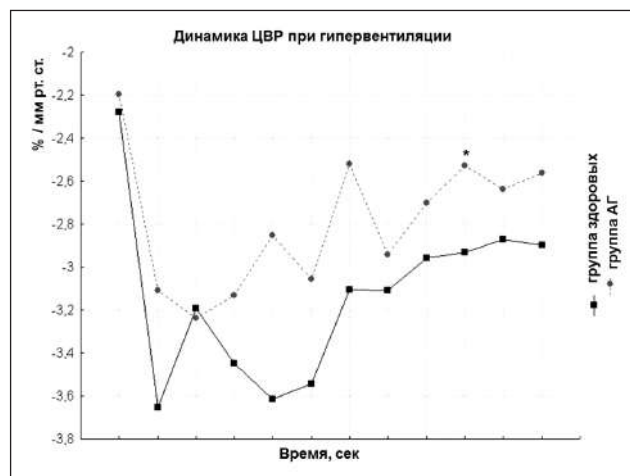
Отсутствие различий в параметрах гемодинамики в интракраниальных артериях при АГ в состоянии покоя, особенно на начальном этапе развития заболевания, можно объяснить действием механизма церебральной ауторегуляции, поддерживающего постоянство церебрального кровотока в условиях изменения системного АД [45]. Известно, что при АГ кривая церебральной ауторегуляции смещается в сторону более высоких значений АД [72], защищая мозг от гиперперфузии, но делая его более уязвимым к понижению перфузионного давления. Ранее нами сообщалось о зависимом от степени повышения АД нарушении церебральной ауторегуляции [49].

В качестве основного механизма такого «сдвига» ауторегуляции при АГ выступает ремоделирование стенки церебральных артерий, в результате чего происходят утолщение сосудистой стенки и сужение просвета сосудов [73]. В состоянии покоя гипертоническое ремоделирование церебральных сосудов проявляется увеличением церебрального сосудистого сопротивления [49].

У пациентов с АГ МАР при возвратном дыхании значимо повышалось на 40 с, в то время, как в группе здоровых — на 30 с. Особенностью реакции на гипокапнию у пациентов с АГ по сравнению со здоровыми было не восстановление МАР у пациентов с АГ после его снижения, в то время как у здоровых МАР значимо снижалось с 20 по 90 с, а затем восстанавливалось. Из этого следует, что уже на начальном этапе развития АГ у молодых пациентов кардиоваскулярная реактивность изменяется. В целом эти изменения можно охарактеризовать как снижение лабильности АД при дискапнии.

Цереброваскулярная реактивность на гиперкапнию у пациентов с АГ в нашем исследовании [69] принципиально не отличалась от таковой у здоровых. В основном это характерно для молодых пациентов с АГ [12], а также для пациентов с ми-

Рисунок 6. Динамика цереброваскулярной реактивности на гипокапнию в группе здоровых и группе артериальной гипертензии [69]



Примечание: Значения цереброваскулярной реактивности на гипокапнию (ЦВР гипоСО₂) соответствуют каждому 10 секундам гипервентиляции; * $p < 0,05$ в сравнении со здоровыми.

нимальными цереброваскулярными поражениями. В других исследованиях сообщалось о снижении ЦВРСО₂ на гиперкапнию при АГ [75–79]. Эти противоречия могут быть связаны с наличием у пациентов сопутствующей цереброваскулярной патологии [75] и использованием разных методик оценки цереброваскулярной реактивности. Так, помимо возвратного дыхания для создания гиперкапнии [76] использовали пробу с ацетазоламидом [75].

Однако ЦВРСО₂ на гипокапнию при АГ в нашем исследовании [69] была ниже в сравнении со здоровыми (рис. 6). Аналогичное снижение было показано в работе G. Settakis с соавторами (2006) [80].

В целом представленные результаты свидетельствуют о снижении ЦВРСО₂ при АГ. При этом вазодилатационный резерв мозговых сосудов, вероятно, сохраняется в большей степени, чем вазоконстрикторный. Это логично, если учесть характер ремоделирования мозговых сосудов при АГ, для которого характерно сужение просвета за счет гипертрофии стенки [73]. Одним из важных проявлений ремоделирования мозговых сосудов при АГ является увеличение сосудистого сопротивления в интракраниальных артериях в покое у пациентов при 2–3-й степени повышения АД [49]. Естественно, что такое ремоделирование прежде всего снижает резерв для вазоконстрикции.

Заключение

Выраженные эмоции приводят к возбуждению ЦНС, симпатической активации, подъему АД и гипервентиляции. При продолжительных отрицательных эмоциях хемочувствительность к СО₂ повы-

шается, что поддерживает постоянную гипервентиляцию и хроническую гипокапнию. Гипокапния вызывает снижение кровяного давления и является, вероятно, физиологическим фактором, препятствующим опасному подъему и стабилизации высокого АД при стресс-индуцированной симпатической активации. Однако продолжительный стресс ведет к гипервентиляционному синдрому с хронической гипокапнией и алкалозом, что, напротив, может приводить к нарушению регуляции АД и стабилизации артериальной гипертензии (АГ). Ключевым механизмом гипертензивного эффекта хронической гипервентиляции является, вероятно, изменение чувствительности хеморецепторов к CO_2 . Респираторные тренировки с периодической гиперкапнией имеют существенный терапевтический потенциал при АГ, восстанавливая чувствительность хеморецепторов к CO_2 и усиливая антиоксидантную активность.

Постоянство мозговой перфузии при изменении системного АД обеспечивается благодаря механизму церебральной ауторегуляции. Однако выход за пределы нормокапнии нарушает ауторегуляцию, и мозговые сосуды утрачивают способность нивелировать скачки АД. Это нарушение цереброваскулярной функции оказывает неблагоприятное воздействие на связанные с хеморецепторами процессы регуляции дыхания и АД.

При гипокапнии снижается тонус внутричерепных вен и падает скорость венозного оттока от мозга, что может быть причиной повышения внутричерепного давления и нарушения участия мозга в контроле АД.

Установлены пороговые уровни, которые ограничивают реакцию на CO_2 мозгового кровотока (МК) и АД. МК более чувствителен к изменению давления CO_2 в альвеолах (PetCO_2). Изменение PetCO_2 уже на 5 мм рт. ст. в сторону снижения или увеличения вызывает реакцию скорости МК. Реакция системного АД включается при более существенных изменениях содержания CO_2 от уровня нормокапнии. Порог гипертензивной реакции соответствует увеличению PetCO_2 на 9 мм рт. ст., а порог гипотензивной реакции — его снижению на 7 мм рт. ст. В пределах пороговых значений PetCO_2 от 26 до 43 мм рт. ст. АД не изменяется, а значит, скорость МК и ЦВР CO_2 определяется реакцией на CO_2 мозговых сосудов, что отражает «истинную» цереброваскулярную CO_2 -реактивность, независимую от АД. При преодолении пороговых значений PetCO_2 для реакции АД происходит увеличение индексов ЦВР CO_2 , что свидетельствует о срыве церебральной ауторегуляции.

Параметры МК у пациентов с АГ в состоянии покоя, особенно на начальном этапе развития забо-

левания, не имеют существенных отличий от здоровых, что отражает сохранность механизма церебральной ауторегуляции. Развитие АГ сопровождается сдвигом кривой ауторегуляции вправо к более высоким значениям АД и увеличением церебрального сосудистого сопротивления из-за ремоделирования сосудов с увеличением толщины стенки и сужением просвета. При прогрессировании АГ возникает зависимое от степени повышения АД нарушение церебральной ауторегуляции.

Кардиоваскулярная CO_2 -реактивность изменяется уже на начальном этапе развития АГ. В отличие от здоровых, реакция АД на гипер/гипокапнию у пациентов с АГ развивается медленнее, и величина АД не восстанавливается после его снижения на гипокапнию. В целом эти изменения можно охарактеризовать как снижение лабильности АД при дискапнии, что может отражать нарушение механизма контроля АД.

Цереброваскулярная CO_2 -реактивность при АГ в целом снижается. При этом вазодилатационный резерв мозговых сосудов сохраняется в большей степени, чем вазоконстрикторный, так как преимущественно снижается ЦВР CO_2 на гипокапнию. Это логично, если учесть характер ремоделирования мозговых сосудов при АГ, для которого характерно сужение просвета за счет гипертрофии стенки.

Согласно нашей гипотезе, развитие АГ включает гипервентиляцию и гипокапнию как неизбежную типовую реакцию на психоэмоциональный стресс, которая приводит к повышению чувствительности центральных и периферических хеморецепторов и гиперактивации СНС, нарушению церебральной ауторегуляции и участия мозга в контроле АД. Все это способствует повышению и стабилизации повышенного АД. Мы отдаем себе отчет в чрезвычайной сложности и огромном объеме исследований, необходимых для проверки этой гипотезы. Однако приведенные в настоящей статье факты, на наш взгляд, хотя бы частично подтверждают выдвинутую гипотезу.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Ainslie PN, Duffin J. Integration of cerebrovascular CO_2 reactivity and chemoreflex control of breathing: mechanisms of regulation, measurement, and interpretation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2009;296(5):R1473–R1495. doi:10.1152/ajpregu.91008.2008
2. Ainslie PN, Subudhi AW. Invited review: cerebral blood flow at high altitude. *High Alt Med Biol*. 2014;15(2):133–40. doi:10.1089/ham.2013.1138

3. Wahl M, Deetjen P, Thureau K, Ingvar DH, Lassen NA. Micropuncture evaluation of the importance of perivascular pH for the arteriolar diameter on the brain surface. *Pflugers Arch.* 1970;316(2):152–63.
4. Tian R, Vogel P, Lassen NA, Mulvany MJ, Andreassen F, Aalkjaer C. Role of extracellular and intracellular acidosis for hypercapnia-induced inhibition of tension of isolated rat cerebral arteries. *Circ Res.* 1995;76(2):269–75.
5. Davies NW. Modulation of ATP-sensitive K⁺ channels in skeletal muscle by intracellular protons. *Nature.* 1990;343(6256):375–7. doi:10.1038/343375a0
6. Huckstepp RT, Dale N. CO₂-dependent opening of an inwardly rectifying K⁺ channel. *Pflugers Arch.* 2011;461(3):337–44. doi:10.1007/s00424-010-0916-z
7. Faraci FM, Brian JE Jr. Nitric oxide in the cerebral circulation. *Stroke.* 1994; 25(3):692–703. doi:10.1161/01.str.25.3.692
8. Ide K, Worthley M, Anderson T, Poulin MJ. Effects of the nitric oxide synthase inhibitor L-NMMA on cerebrovascular and cardiovascular responses to hypoxia and hypercapnia in humans. *J Physiol.* 2007;584(Pt 1): 321–32.
9. Dietrich HH, Kimura M, Dacey RG Jr. N omega-nitro-L-arginine constricts cerebral arterioles without increasing intracellular calcium levels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1994;266(4 Pt 2): H1681–H1686.
10. Kelman GR, Prys-Roberts C. The influence of artificial ventilation on cardiac output in the anaesthetized human. *J Physiol.* 1967;191(2):87–9.
11. Shoemaker JK, Vovk A, Cunningham DA. Peripheral chemoreceptor contributions to sympathetic and cardiovascular responses during hypercapnia. *Can J Physiol Pharmacol.* 2002;80(12):1136–44.
12. Claassen JA., Levine BD., Zhang R. Cerebral vasomotor reactivity before and after blood pressure reduction in hypertensive patients. *Am J Hypertens.* 2009;22(4):384–91. doi:10.1038/ajh.2009.2
13. Гришин О. В. Психогенная одышка и гипервентиляционный синдром: монография. Новосибирск: Манускрипт, 2012. 224 с. [Grishin OV. Psychogenic dyspnea and hyperventilation syndrome: monograph. Novosibirsk: Manuscript, 2012. In Russian].
14. Iturriaga R, Oyarce MP, Dias ACR. Role of carotid body in intermittent hypoxia-related hypertension. *Curr Hypertens. Rep.* 2017;19(5):38. doi:10.1007/s11906-017-0735-0
15. Гогин Е. Е. Гипертоническая болезнь: основы патогенеза, диагностика и выбор лечения. *Consilium Medicum.* 2004;05:324–330. [Gogin EE. Hypertensive disease: the basis of pathogenesis, diagnosis and treatment options. *Consilium Medicum.* 2004;05:324–330. In Russian].
16. Folkow B. Pathophysiology of hypertension: differences between young and elderly. *J Hypertens Suppl.* 1993;11(4):21–4.
17. Liu MY, Li N, Li WA, Khan H. Association between psychosocial stress and hypertension: a systematic review and meta-analysis. *Neurol Res.* 2017; 39(6):573–580. doi:10.1080/01616412.2017
18. Huang Y, Wang S, Cai X, Mai W, Hu Y, Tang H et al. Prehypertension and incidence of cardiovascular disease: a meta-analysis. *BMC Med.* 2013;11:177. doi:10.1186/1741-7015-11-177
19. Mancia G1, Fagard R, Narkiewicz K, Redón J, Zanchetti A, Böhm M et al. ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens.* 2013;31(7):1281–1357. doi:10.1097/01.hjh.0000431740.32696.cc
20. Сафонов В. А., Тарасова Н. Н. Нервная регуляция дыхания. *Физиология человека.* 2006;32(4):64–76. [Safonov VA, Tarasova NN. Nervous control of respiration. *Phiziologiya Cheloveka = Human Physiology.* 2006;32(4):64–76. In Russian].
21. Han JN, Stegen K, Simkens K, Cauberghs M, Schepers R, Van den Berg O et al. Unsteadiness of breathing in patients with hyperventilation syndrome and anxiety disorders. *Eur Respir J.* 1997;10(1):167–76.
22. Ritz T, Wilhelm FH, Gerlach AL, Kullowatz A, Roth WT. End-tidal pCO₂ in blood fobics during viewing of emotion- and disease related films. *Psychosom Med.* 2005;67(4):661–8. doi:10.1097/01.psy.0000170339.06281.07
23. Абросимов В. Н., Гармаш В. Я. Гипервентиляционный синдром. *Терапевтический архив.* 1988;10:136. [Abrosimov VN, Garmash VYA. Hyperventilation syndrome. *Ther Arkh.* 1988;10:136. In Russian].
24. Гришин О. В., Зинченко М. И., Гришин В. Г. Отдаленные результаты коррекции гипервентиляционного синдрома методом респираторного биоуправления при астме у детей. *Бюл. СО РАМН.* 2007;3(27):103–108. [Grishin OV, Zinchenko MI, Grishin VG. The long-term effects of correction of the hyperventilation syndrome with respiratory biofeedback in asthmatic children. *Byulleten SO RAMN = Bulletin of the SB RAMS.* 2007;3(27):103–108. In Russian].
25. Izdebska E, Izdebski J, Cybulska I, Makowiecka-Ciesla M, Trzebski A. Moderate exercise training reduces arterial chemoreceptor reflex drive in mild hypertension. *J Physiol Pharmacol.* 2006;57(Suppl. 11): 93–102.
26. Li A, Roy SH, Nattie EE. An augmented CO₂ chemoreflex and overactive orexin system are linked with hypertension in young and adult spontaneously hypertensive rats. *J Physiol.* 2016;594(17):4967–80. doi:10.1113/JP272199
27. Niewinski P. Carotid body modulation in systolic heart failure from the clinical perspective. *J Physiol.* 2017;595(1):53–61. doi:10.1113/JP271692
28. Iturriaga R, Andrade DC, Del Rio R. Enhanced carotid body chemosensory activity and the cardiovascular alterations induced by intermittent hypoxia. *Front Physiol.* 2014;5:468. doi:10.3389/fphys.2014.00468
29. Iturriaga R, Del Rio R, Idiaquez J, Somers VK. Carotid body chemoreceptors, sympathetic neural activation, and cardiometabolic disease. *Biol Res.* 2016;49:13. doi:10.1186/s40659-016-0073-8
30. Del Rio R, Marcus NJ, Schultz HD. Carotid chemoreceptor ablation improves survival in heart failure: rescuing autonomic control of cardiorespiratory function. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(25):2422–30. doi:10.1016/j.jacc.2013.07.079
31. Del Rio R. The carotid body and its relevance in pathophysiology. *Exp Physiol.* 2015;100(2):121–3. doi:10.1113/expphysiol.2014.079350
32. Ribeiro MJ, Sacramento JF, Gonzalez C, Guarino MP, Monteiro EC, Conde SV. Carotid body denervation prevents the development of insulin resistance and hypertension induced by hypercaloric diets. *Diabetes.* 2013;62(8):2905–16. doi:10.2337/db12-1463
33. Fletcher EC, Lesske J, Behm R, Miller CC 3rd, Stauss H, Unger T. Carotid chemoreceptors, systemic blood pressure, and chronic episodic hypoxia mimicking sleep apnea. *J Appl Physiol.* 1992;72(5):1978–84.
34. Kulikov V, Beshpalov A, Yakushev N. The state of cerebral hemodynamics in conditions of prolonged adaptation to hypercapnic hypoxia. *Neurosci Behav Physiol.* 2009;39(3):269–73. doi:10.1007/s11055-009-9121-y
35. Tregub P, Kulikov V, Beshpalov A. Tolerance to acute hypoxia maximally increases in case of joint effect of normobaric hypoxia and permissive hypercapnia in rats. *Pathophysiology.* 2013;20(3):165–70. doi:10.1016/j.pathophys.2013.09.001
36. Tregub P, Kulikov V, Motin Y, Beshpalov A, Osipov I. Combined exposure to hypercapnia and hypoxia provides its maximum neuroprotective effect during focal ischemic injury in the brain. *J*

- Stroke Cerebrovasc Dis. 2015;24(2):381–7. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2014.09.003
37. Ainslie PN, Poulin MJ. Ventilatory, cerebrovascular, and cardiovascular interactions in acute hypoxia: regulation by carbon dioxide. *J Appl Physiol*. 2004; 97(1):149–59.
38. Moon JS, Won KC. Oxidative stress: link between hypertension and diabetes. *Korean J Intern Med*. 2017;32(3):439–41. doi:10.3904/kjim.2017.153
39. Zakynthinos S, Katsaounou P, Karatza MH, Roussos C, Vassilakopoulos T. Antioxidants increase the ventilatory response to hyperoxic hypercapnia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175(1):62–8. doi:10.1164/rccm.200606–842OC
40. Barth A, Bauer R, Gedrange T, Walter B, Klinger W, Zwienen U. Influence of hypoxia and hypoxia/hypercapnia upon brain and blood peroxidative and glutathione status in normal weight and growth-restricted newborn piglets. *Exp Toxicol Pathol*. 1998;50(4–6):402–10. doi:10.1016/S0940–2993(98)80026–2
41. Zhao ZS, Khan S, O'Brien PJ. Catecholic iron complexes as cytoprotective superoxide scavengers against hypoxia: reoxygenation injury in isolated hepatocytes. *Biochem Pharmacol*. 1998;56(7):825–30.
42. Goss SP, Singh RJ, Kalyanaraman B. Bicarbonate enhances the peroxidase activity of Cu, Zn-superoxide dismutase. Role of carbonate anion radical. *J Biol Chem*. 1999;274(40):28233–9.
43. Kniffin CD, Burnett LE, Burnett KG. Recovery from hypoxia and hypercapnic hypoxia: impacts on the transcription of key antioxidants in the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2014;170:43–9. doi:10.1016/j.cbpb.2014.01.006
44. Куликов В. П., Беспалов А. Г., Якушев Н. Н. Эффективность тренировок с гиперкапнической гипоксией в реабилитации ишемического повреждения головного мозга в эксперименте. *Вестник восстановительной медицины*. 2008;2:59–61. [Kulikov VP, Bespalov AG, Yakusev NN. The effectiveness of training with hypercapnic hypoxia in the rehabilitation of ischemic brain damage in an experiment. *Vestnik Vosstanovitel'noj Meditsiny* = *Journal of Rehabilitation*. 2008;2:59–61. In Russian].
45. Lassen NA. Cerebral blood flow and oxygen consumption in man. *Physiol Rev*. 1959;39(2):183–238.
46. Tan CO, Hamner JW, Taylor JA. The role of myogenic mechanisms in human cerebrovascular regulation. *J Physiol*. 2013;591(20):5095–105. doi:10.1113/jphysiol.2013.259747
47. Aaslid R, Lindegaard KF, Sorteberg W, Nornes H. Cerebral autoregulation dynamics in humans. *Stroke*. 1989;20(1):45–52.
48. Panerai RB, Deverson ST, Mahony P, Hayes P, Evans DH. Effect of CO₂ on dynamic cerebral autoregulation measurement. *Physiol Meas*. 1999;20(3):265–75.
49. Куликов В. П., Смирнов К. В., Сидор М. В. Транскраниальная стресс-доплерография в оценке нарушения ауторегуляции мозгового кровообращения при гипертонической болезни. *Эхография*. 2000;1(4):435–9. [Kulikov VP, Smirnov KV, Sidor MV. Transcranial stress-dopplerography in the evaluation of the disorder of autoregulation of cerebral circulation in humans with hypertension. *Ehografiya* = *Echography*. 2000;1(4):435–9. In Russian].
50. Fan J, Burgess K, Basnyat R, Thomas K, Peebles K, Lucas SJ et al. Influence of high altitude on cerebrovascular and ventilatory responsiveness to CO₂. *J Physiol*. 2010;588(Pt 3):539–49. doi:10.1113/jphysiol.2009.184051
51. Lucas SJ, Burgess KR, Thomas KN, Donnelly J, Peebles KC, Lucas RA et al. Alterations in cerebral blood flow and cerebrovascular reactivity during 14 days at 5050 m. *J Physiol*. 2011; 589(Pt 3):741–53. doi:10.1113/jphysiol.2010.192534
52. Xie A, Skatrud JB, Khayat R, Dempsey JA, Morgan B, Russell D. Cerebrovascular response to carbon dioxide in patients with congestive heart failure. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172(3):371–8. doi:10.1164/rccm.200406–807OC
53. Burgess KR, Fan JL, Peebles KC, Thomas KN, Lucas S, Lucas R et al. Exacerbation of obstructive sleep apnea by oral indomethacin. *Chest*. 2010;137(3):707–10. doi:10.1378/chest.09–1329
54. Куликов В. П., Дическул М. Л., Добрынина К. А. Реакция церебральной венозной гемодинамики на гиперкапнию. *Росс. Физиол. журнал им. И. М. Сеченова*. 2007;93(8):852–859. [Kulikov VP, Dicheskul ML, Dobrynina KA. Venous hemodynamics response to hypercapnia. *Rossiiskii Fiziologicheskii Zhurnal* = *Russian Physiology Journal*. 2007;93(8):852–859. In Russian].
55. Gaddis ML, MacAnespie CL, Rothe CF. Vascular capacitance responses to hypercapnia of the vascularly isolated head. *Am J Physiol*. 1986;251(1 Pt 2):H164–170.
56. Дическул М. Л., Куликов В. П. Артериальная и венозная мозговая реактивность в остром периоде сотрясения головного мозга. *Журн. неврол. и психиат. им. С. С. Корсакова*. 2009;11:65–68. [Dicheskul ML, Kulikov VP. Arterial and venous brain reactivity in the acute period of brain concussion. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 2009;11:65–68. In Russian].
57. Kuznetsova D, Kulikov V. Cerebrovascular and systemic hemodynamic response to carbon dioxide in humans. *Blood Press Monit*. 2014;19(2):81–9. doi:10.1097/MBP.0000000000000033
58. Giller CA, Bowman G, Dyer H, Mootz L, Krippner W. Cerebral arterial diameters during changes in blood pressure and carbon dioxide during craniotomy. *Neurosurgery*. 1993;32(5):737–41.
59. Valdeuzza JM, Balzer JO, Villringer A, Vogl TJ, Kutter R, Einhaupl KM. Changes in blood flow velocity and diameter of the middle cerebral artery during hyperventilation: assessment with MR and transcranial Doppler sonography. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1997;18(10):1929–34.
60. Peebles K, Celi L, McGrattan K, Murrell C, Thomas K, Ainslie PN. Human cerebrovascular and ventilatory CO₂ reactivity to end-tidal, arterial and internal jugular vein PCO₂. *J Physiol*. 2007;584(Pt 1):347–57.
61. Ito S, Mardimae A, Han J, Duffin J, Wells G, Fedorko L et al. Non-invasive prospective targeting of arterial P (CO₂) in subjects at rest. *J Physiol*. 2008;586(15):3675–82. doi:10.1113/jphysiol.2008.154716
62. Claassen JA, Zhang R, Fu Q, Witkowski S, Levine BD. Transcranial Doppler estimation of cerebral blood flow and cerebrovascular conductance during modified rebreathing. *J Appl Physiol*. 2007;102(3):870–7. doi:10.1152/japplphysiol.00906.2006
64. Duffin J, Mohan RM, Vasiliou P, Stephenson R, Mahamed S. A model of the chemoreflex control of breathing in humans: model parameters measurement. *Respir Physiol*. 2000;120(1):13–26.
65. Diomedes M, Cupini LM, Rizzato B, Ferrante F, Giacomini P, Silvestrini M. Influence of physiologic oscillation of estrogens on cerebral hemodynamics. *J Neurol Sci*. 2001;185(1):49–53.
66. Slatkowska L, Jensen D, Davies GA, Wolfe LA. Phasic menstrual cycle effects on the control of breathing in healthy women. *Respir Physiol Neurobiol*. 2006; 154(3):379–88.
67. Lindegaard KF, Grolimund P, Aaslid R, Nornes H. Evaluation of cerebral AVM's using transcranial Doppler ultrasound. *J Neurosurg*. 1986;65(3):335–44.
68. Battisti-Charbonney A, Fisher J, Duffin J. The cerebrovascular response to carbon dioxide in humans. *J Physiol*. 2011;589(Pt 12):3039–48. doi:10.1113/jphysiol.2011.206052
69. Куликов В. П., Кузнецова Д. В. Цереброваскулярная реактивность у юношей с артериальной гипертензией. *Клиническая физиология регионарного кровообращения*. 2013;1:61–67. [Kulikov VP, Kuznetsova D. Cerebrovascular reactivity in young

males with arterial hypertension. *Klinicheskaya Fiziologiya Krovoobrascheniya* = Clinical Physiology of Blood Circulation. 2013;1:61–67. In Russian].

70. Логачева И. В., Иванова И. В., Почепцова Л. В., Цыпляшова И. В., Перевозчикова О. С., Кривилева С. П. Состояние мозговой гемодинамики и цереброваскулярной реактивности у больных артериальной гипертензией. *Артериальная гипертензия*. 2005;11(4):245–248. [Logacheva IV, Ivanova IV, Pocheptsova LV, Tsyplyashova IV, Perevozchikova OS, Krivileva SP. Cerebral hemodynamics and cerebrovascular responsiveness in patients with arterial hypertension. *Arterial'naya Gipertenziya* = Arterial Hypertension. 2005;11(4):245–248. In Russian].

71. Malatino LS, Bellofiore S, Costa MP, Lo Manto G, Finocchiaro F, Di Maria GU. Cerebral blood flow velocity after hyperventilation-induced vasoconstriction in hypertensive patients. *Stroke*. 1992;23(12):1728–32.

72. Strandgaard S, Paulson OB. Cerebral blood flow in untreated and treated hypertension. *Neth J Med*. 1995;47(4):180–4.

73. Heagerty AM, Aalkjaer C, Bund SJ, Korsgaard N, Mulvany MJ. Small artery structure in hypertension. Dual processes of remodeling and growth. *Hypertension*. 1993;21(4):391–7. doi:10.1161/01.HYP.21.4.391

74. Oku N, Kitagawa K, Imaizumi M, Takasawa M, Piao R, Kimura Y. et al. Hemodynamic influences of losartan on the brain in hypertensive patients. *Hypertens Res*. 2005;28(1):43–9. doi:10.1291/hypres.28.43

75. Ficzer A, Valikovic A, Fülesdi B, Juhász A, Czuriga I, Csiba L. Cerebrovascular reactivity in hypertensive patients: a transcranial Doppler study. *J Clin Ultrasound*. 1997;25(7):383–9.

76. Maeda H, Matsumoto M, Handa N, Hougaku H, Ogawa S, Itoh T et al. Reactivity of cerebral blood flow to carbon dioxide in hypertensive patients: evaluation by the transcranial Doppler method. *J Hypertens*. 1994;12(2):191–7.

77. Settakis G, Páll D, Molnár C, Bereczki D, Csiba L, Fülesdi B. Cerebrovascular reactivity in hypertensive and healthy adolescents: TCD with vasodilatory challenge. *J Neuroimaging*. 2003;13(2):106–12. doi:10.1111/j.1552-6569.2003.tb00166.x

78. Hajjar I, Zhao P, Alsop D, Novak V. Hypertension and cerebral vasoreactivity: a continuous arterial spin labeling magnetic resonance imaging study. *Hypertension*. 2010;56(5):859–64. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.160002

79. Wong LJ, Kupferman J. C., Prohovnik I, Kirkham FJ, Goodman S, Paterno K, et al. Hypertension impairs vascular reactivity in the pediatric brain. *Stroke*. 2011; 42(7):1834–8. doi:10.1161/STROKEAHA.110.607606

80. Settakis G, Páll D, Molnár C, Katona E, Bereczki D, Fülesdi B. Hyperventilation-induced cerebrovascular reactivity among hypertensive and healthy adolescents. *Kidney Blood Press Res*. 2006;29(5):306–11.

Информация об авторах

Куликов Владимир Павлович — доктор медицинских наук, профессор Алтайского медицинского института последипломного образования;

Кузнецова Дарья Владимировна — доцент кафедры патологической физиологии Алтайского государственного медицинского университета;

Заря Артем Николаевич — аспирант кафедры патологической физиологии Алтайского государственного медицинского университета.

Author information

Vladimir P. Kulikov, MD, PhD, DSc, Professor, Altai Medical Institute of Postgraduate Education;

Daria V. Kuznetsova, MD, PhD, Associate Professor, Department of Pathological Physiology, Altai State Medical University;

Artem N. Zarya, MD, Postgraduate Student, Department of Pathological Physiology, Altai State Medical University.

ISSN 1607-419X

ISSN 2411-8524 (Online)

УДК 611.018.74:616.12-008.331.1

Морфофункциональные изменения эндотелия в патогенезе гипертонической болезни

К. А. Сысоев^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский
центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение
науки «Институт физиологии имени И. П. Павлова»
Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Сысоев Кирилл Александрович,
ФГБУН «Институт физиологии
им. И. П. Павлова» РАН,
наб. Макарова, д. 6,
Санкт-Петербург, Россия, 199034.
E-mail: sysoev@infran.ru

Статья поступила в редакцию
07.07.17 и принята к печати 21.08.17.

Резюме

Эндотелий представляет собой многоуровневую клеточную структуру, пронизывающую все органы и системы организма. Гипертоническая болезнь (ГБ) является заболеванием, в основе патогенеза которого лежит нарушение регуляции тонуса магистральных артерий. Патогенетические основы ГБ, несмотря на интенсивные усилия, остаются неясными. Бесспорна неблагоприятная роль эмоционального стресса, гиподинамии, ожирения и нарушений водно-солевого обмена. Вместе с тем точные механизмы и предикторы развития артериальной гипертензии (АГ) в настоящее время не определены. Это препятствует профилактике и выявлению эссенциальной гипертензии на ранней стадии. Изучение функции эндотелия как мишени и предрасполагающего фона развития ГБ является задачей, имеющей как исследовательское, так и прикладное, клиническое значение. Действительно, если удастся выявить патогномоничные для развития АГ изменения эндотелиальной функции, — это позволит прояснить патогенетические основы заболевания и разработать адекватные медикаментозные схемы терапии. В обзоре рассмотрены накопленные на настоящее время данные по участию эндотелиальных клеток (ЭК) в развитии ГБ. Показан вклад изменений липидного обмена в физиологическое состояние эндотелиальной выстилки. Освещена роль нарушений эндотелиальной функции в увеличении продукции активных форм кислорода и дефектов метаболизма оксида азота. Продемонстрирована изученная авторскими коллективами активность следующих ферментных систем: НАДФН (никотинамидадениндинуклеотидфосфат)-оксидазы, циклооксигеназы, ксантиноксидоредуктазы и эндотелиальной NO-синтазы. Взаимодействие эндотелия и внеклеточного матрикса, а также эндотелия и гладкомышечных клеток также приведено согласно литературным данным. Освещена роль грелина, продуцируемого эндотелием в регуляции сосудистого тонуса. Показаны методические подходы к изучению ЭК *in vitro* в условиях гипоксии. Основным итогом проведенного анализа литературных данных является необходимость исследования функции эндотелия в условиях гипоксии *in vitro*, а также влияние тканевой и гемической гипоксии *in vivo*, что позволит установить вклад функциональных нарушений эндотелия в развитие ГБ.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, гипертоническая болезнь, эндотелий, эндотелиальные клетки

Для цитирования: Сысоев К. А. Морфофункциональные изменения эндотелия в патогенезе гипертонической болезни. Артериальная гипертензия. 2017;23(5):447–456. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-447-456

Morphofunctional alterations in endothelium in the pathogenesis of essential hypertension

K. A. Sysoev^{1,2}

¹ Almazov National Medical Research Centre,
St Petersburg, Russia

² Pavlov Institute of Physiology, St Petersburg, Russia

Corresponding author:

Kirill A. Sysoev,
Pavlov Institute of Physiology,
6 Makarov embankment, St Petersburg,
199034 Russia.
E-mail: sysoev@infran.ru

Received 7 July 2017;
accepted 21 August 2017.

Abstract

Endothelium is a multilevel cellular structure that permeates all organs and systems of the body. A disorder of the regulation of the arterial tone underlies essential hypertension. However, its pathogenesis basis, despite intense efforts, remains unclear. The unfavorable role of emotional stress, hypodynamia, obesity and disorder of water-salt metabolism is obvious. However, the exact mechanisms and predictors of the development of arterial hypertension (HTN) are not currently defined. This opposes the prevention and detection of essential hypertension at an early stage. The investigation of endothelial function as a target and a predisposing factor for HTN development is promising and implies both scientific and applied clinical significance. Indeed, understanding of pathognomonic endothelial alterations for HTN development will clarify its pathogenesis and will help the development of the adequate treatment protocols. The paper reviews current data on the involvement of endothelial cells (EC) in the development of HTN. The role of lipid disorders in the physiological state of the endothelium is shown. The role of endothelial dysfunction in increasing production of active oxygen species and disorders in the nitric oxide metabolism is highlighted. The activity of the following enzyme is reviewed: NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) oxidase, cyclooxygenase, xanthine oxidoreductase and endothelial NO synthase. The interaction of the endothelium and the extracellular matrix, as well as endothelium and smooth muscle cells, is also given according to the literature data. The role of ghrelin, produced by endothelium, in the regulation of vascular tone is highlighted. Methods of the EC assessment in vitro under hypoxia are presented. Based on the literature review, it is clear that the assessment of the endothelium under hypoxia is highly important, as well as the investigation of the influence of tissue and hemic hypoxia in vivo. These studies will help to establish the contribution of functional endothelial disturbances to the development of HTN.

Key words: arterial hypertension, essential hypertension, endothelium, endothelial cells

For citation: Sysoev KA. Morphofunctional alterations in endothelium in the pathogenesis of essential hypertension. *Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension*. 2017;23(5):447–456. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-447-456

Введение

Гипертоническая болезнь (ГБ), именуемая также эссенциальной гипертензией, либо артериальной гипертензией (АГ), представляет серьезную медико-социальную проблему. Возраст дебюта заболевания неуклонно снижается. Несмотря на интенсивные усилия, патогенез ГБ остается неясным. К факторам риска относят эмоциональный стресс, гиподинамию, ожирение и нарушение водно-солевого балан-

са. Однако разнообразие клинических проявлений и вариантов течения ГБ диктует поиск триггерных факторов, непосредственно запускающих патологический процесс. Состояние эндотелия критически важно для регуляции воздействия гуморальных субстанций и форменных элементов крови на тонус сосудистой стенки. Очевидно, что физиологически полноценный эндотелиальный барьер способствует эффективной регуляции сосудистого тонуса

посредством избирательной проницаемости для клеток крови и селективного ответа на возбуждающие стимулы. Особое значение имеет адгезивная способность эндотелиальных клеток (ЭК), так как чрезмерная адгезивность приводит к нарушению трансэндотелиальной миграции, а недостаточность адгезии нарушает межклеточное взаимодействие. Эндотелий имеет ряд особенностей, отличающих его от других типов клеток: широкий спектр синтезируемых субстанций (регуляторы гемостаза, сосудистого тонуса, проницаемости, а также цитокины), морфологические особенности (кавеолы, везикулы, липидные рафты, тельца Вайбеля–Паляде) и способность формировать щелевые контакты ввиду наличия изоширенного рецепторного аппарата. Примечательно, что эндотелий находится под постоянным воздействием гемодинамических сил (напряжение сдвига), форменных элементов крови (адгезия, агрегация, трансэндотелиальная миграция), а также участвует в межмолекулярных и межклеточных взаимодействиях со структурами, расположенными в глубине сосудистой стенки.

Значительное влияние на эндотелий оказывает состояние липидного обмена. ЭК несут рецепторы для липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), являясь естественным резервуаром для связывания избытка ЛПНП. Постоянно взаимодействуя с клетками периферической крови, эндотелий осуществляет контроль миграции клеток в глубину сосудистой стенки. Так как кровоток зависит от ширины просвета сосудистого русла, принципиальное значение имеет баланс протромботических и антипротромботических факторов, продуцируемых эндотелием, что необходимо для регуляции адгезии тромбоцитов.

Важным аспектом является продукция эндотелием компонентов внеклеточного матрикса (ВКМ): фибронектина, ламинина, коллагена и протеогликанов. Жесткость сосудистой стенки напрямую зависит от структуры ВКМ. Преобладание эластина увеличивает гибкость сосудистой стенки, а избыток коллагена приводит к ригидности.

Продукция ЭК ростовых факторов — трансформирующего ростового фактора бета (TGF- β), инсулиноподобного фактора роста (IGF), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) — способствует перестройке сосудистой стенки при нарушенной регуляции. Провоспалительные цитокины (интерлейкин 1 бета (IL-1 β), фактор некроза опухоли альфа (TNF- α), IL-6) и хемокины (моноцитарный хемотаксический фактор 1 (MCP-1), эотаксин-3, IL-8; хемокин, экспрессируемый и секретируемый Т-клетками при активации (RANTES)), синтезиру-

емые эндотелием, способствуют активации и проникновению в глубокие слои сосудистой стенки лейкоцитов (моноцитов, лимфоцитов, нейтрофилов и эозинофилов). Продукция эндотелием активных форм кислорода (АФК), обладающих вазоконстрикторным эффектом, обеспечивает повышенный тонус мышечного слоя сосудистой стенки.

Все вышеперечисленные процессы вносят вклад в развитие АГ. Вместе с тем в процессе исследования возникает трудноразрешимая проблема, а именно: является дисфункция эндотелия причиной либо следствием АГ?

Последствия нарушения липидного обмена для эндотелия

Как было сказано выше, эндотелий сосудов представляет собой резервуар для связывания избытка ЛПНП. В исследовании V. Lubrano и S. Balzan [1] была освещена роль лектиноподобного рецептора для ЛПНП (LOX-1) в патогенезе сосудистых нарушений, включающих эссенциальную гипертензию. LOX-1 — рецептор, селективный для эндотелия [2]. Повышенная концентрация ЛПНП ведет к снижению продукции NO вследствие подавления активности eNOS [3]. Существует точка зрения, что биодоступность NO снижается под воздействием гиперхолестеринемии, повышающей активность аргиназы, что в свою очередь приводит к уменьшению субстрата для eNOS [4]. Уровень sLOX-1 (растворимой формы LOX-1) в сыворотке крови пациентов с гиперхолестеринемией сочетался с уменьшением NO-зависимой вазодилатации [3]. Повышенная экспрессия LOX-1 на клетках эндотелия у гипертензивных пациентов усиливает вазоконстрикцию и ведет к прогрессированию АГ вследствие усиления тканевой гипоксии.

Нарушение активности НАДФН-оксидазы — фактор прогрессирования артериальной гипертензии

Особую значимость в регуляции артериального давления (АД) имеет фермент НАДФН (никотинамидадениндинуклеотидфосфат)-оксидаза (NOX). В настоящее время известно 7 вариантов NOX. Эндотелий является одним из основных источников NOX в норме и при АГ, продуцируя NOX1, NOX2, NOX4 и NOX5. Супероксид-анион, который образуется при окислении НАДФН, обладает выраженным сигнальным эффектом, влияя на ослабление сосудистого тонуса. Вазорелаксация опосредуется оксидом азота, вырабатываемым под действием eNOS. Липофильность позволяет NO диффундировать, проникая в цитоплазму гладкомышечных клеток, где повышается уровень циклического гу-

анозинмонофосфата (цГМФ), что приводит к снижению уровня внутриклеточного кальция и расслаблению. Супероксид-анион взаимодействует с NO, образуя пероксинитрит, вызывающий вазоконстрикцию. Проведено несколько исследований, где продемонстрирована роль NOX в развитии АГ [5–7]. Мыши с нокаутом гена NOX2 (NOX2^{-/-}) оказались резистентными к гипертензии, вызванной ангиотензином II (АНГ-II) [5]. Также у мышей NOX2^{-/-} наблюдалась лучшая биодоступность NO по сравнению с контролем. Проводились экспериментальные исследования по изучению ингибиторов NOX2. У крыс линии SHR специфический ингибитор NOX2 (VAS 2870) уменьшал уровень АФК в ткани аорты, улучшая функцию эндотелия [5].

Повышенный синтез супероксид-аниона, по данным T. R. Nurkiewicz и соавторов (2010), приводит к нарушению сигнальных механизмов в эндотелиальных и гладкомышечных клетках путем уменьшения уровня тетрагидробиоптерина — ключевого кофактора, необходимого для продукции оксида азота [8]. Повышенное образование пероксинитрита при взаимодействии супероксид-аниона с оксидом азота способствует образованию порочного круга: увеличение содержания супероксид-аниона приводит к повышению уровня пероксинитрита, что снижает активность эндотелиальной NO-синтазы (eNOS), уменьшая синтез оксида азота [9]. Важно, что здоровый эндотелий обладает противовоспалительным эффектом вследствие ингибирования лейкоцитарной адгезии. Подавление активности eNOS приводит к усилению экспрессии молекул адгезии и активации такого хемокина, как MCP-1 [10]. Важным источником АФК помимо эндотелия являются гладкомышечные клетки, так как окисление НАДФН составляет непереносимое условие мышечного сокращения.

Циклооксигеназа как показатель состояния эндотелия

Другим важным аспектом повышения уровня АФК является активность фермента циклооксигеназы (COX). Существуют две изоформы циклооксигеназы: COX-1 и COX-2 [11]. В то время как COX-1 экспрессируется конститутивно, COX-2 активируют различные стимулы, включая провоспалительные и ростовые факторы [12]. Важнейшим источником COX является эндотелий. Согласно данным A. Virdis и S. Taddei [13], в эндотелии артериол пациентов с ГБ имеет место повышение активности COX-2, что является фактором подавления действия NO, и, по мнению авторов, служит основным источником продукции АФК у гипертензивных пациентов.

Ксантиноксидоредуктаза повышает продукцию эндотелием активных форм кислорода

Соотношение продуцируемых эндотелием АФК и NO также определяется активностью ксантиноксидоредуктазой (XOR) [14]. XOR метаболизирует пуриновые основания, катализируя окисление гипоксантина в ксантин, с дальнейшим образованием мочевой кислоты. Структурно XOR представляет собой гомодимер, каждая субъединица которого состоит из четырех окислительно-восстановительных участков: молибденсодержащий кофактор (Mo-co), флавинадениндинуклеотид (FAD) и два железосерных участка (Fe/S). Mo-co состоит из производного птерина и одного атома молибдена, который связан с дитиолоном, двумя атомами кислорода и атомом серы. Mo-co является местом окисления гипоксантина и ксантина, тогда как восстановление NAD⁺ и O₂ происходит в FAD. Два кластера Fe/S обеспечивают канал для потока электронов между Mo-co и FAD. Различающиеся по спектрам их специфического электронного парамагнитного резонанса (ЭПР), эти Fe/S-центры оба ферредоксинового типа, но не идентичны [15]. За последние 40 лет сложилось мнение, что возрастание активности ксантиноксидазы при ишемии, гипоксии либо воспалении приводит к увеличению выработки АФК, что опосредует неблагоприятные клинические проявления. Однако недавние исследования выявили, что ксантиноксидаза в условиях патологии стимулирует выработку NO. Действительно, в отсутствие кислорода и при кислом pH ксантин-оксидаза демонстрирует нитрит-редуктазную активность, катализируя восстановление NO₂⁻ в NO в присутствии ксантина либо НАДН в качестве субстратов (доноров электронов) [16].

Производство эндотелием грелина способствует вазодилатации

В последнее время появились данные о роли грелина в развитии эндотелиальной дисфункции. Первоначально грелин был описан как субстрат, секретируемый клетками желудка [17]. Затем появились данные о продукции грелина ЭК [18], а также об экспрессии рецепторов на поверхности эндотелиоцитов [19]. Было получено доказательство об особой роли грелина у пациентов с метаболическим синдромом. При внутриаартериальном введении грелин способствовал уменьшению эндотелиальной дисфункции, повышая доступность NO [20]. Антиоксидантные свойства грелина также были изучены: был обнаружен ингибирующий эффект грелина на продукцию НАДФН-оксидазы [21]. Получены доказательства действия грелина на тонус сосудистой стенки у пациентов с метаболиче-

ским синдромом. Введение в артерию предплечья грелина купировало эндотелиальную дисфункцию, увеличивая доступность NO [20] и устраняя дисбаланс между NO и эндотелином-1 (ЭТ-1) [22], что способствовало восстановлению равновесия между тоническими и дилатационными воздействиями.

Нарушение взаимодействия эндотелия и гладкомышечных клеток — путь прогрессирования артериальной гипертензии

Для патогенеза ГБ большое значение имеет взаимодействие эндотелия и гладкомышечных клеток сосудов (ГКС). Поляризация ГКС определяет состояние сосудистого тонуса. Ввиду наличия щелевых контактов между ЭК и ГКС величина и знак заряда мембраны ЭК определяет поляризацию ГКС. Основная движущая сила гиперполяризации ЭК — это увеличение концентрации внутриклеточного кальция, что приводит к открытию кальций-связанных калиевых каналов [23]. Далее происходит гиперполяризация ГКС, которая может стимулироваться как непосредственно вследствие щелевого контакта, так и опосредованно путем выхода NO, H_2O_2 и K^+ [25].

Нарушения эндотелиальной функции у спонтанно гипертензивных крыс

Одним из подходов к изучению роли эндотелиальной дисфункции в патогенезе АГ является использование линии спонтанно гипертензивных крыс (SHR). При исследовании уровня NO у крыс линии SHR несколькими научными группами выявился широкий разброс данных по содержанию метаболита. Наблюдался уменьшенный [26], нормальный [27] и даже повышенный [28] уровень NO, продуцируемый эндотелием сосудистой стенки.

В недавнем исследовании S. Al-Gburi и соавторов (2017) изучалась роль эндотелия в развитии адренергической регуляции тонуса сосудистой стенки у крыс линии SHR в зависимости от пола животных [29]. У самок SHR-крыс наблюдалось менее выраженное по сравнению с самцами α -адренергическое повышение тонуса сосудистой стенки аорты, в то время как индуцируемое через β -адренорецепторы расслабление стенки сосудистого русла аорты было более эффективным. Методом иммуногистохимии авторами установлено, что экспрессия α -адренорецепторов наблюдалась преимущественно на гладкомышечных клетках сосудистой стенки, в то время как β -адренорецепторы были представлены в основном на ЭК. Данные не различались у самцов и самок. Авторы заключают, что β -адренергическая вазодилатация сосудистой стенки опосредуется NO, продуцируемым ЭК.

В то же время авторами не выявлено доказательств влияния эстрогенов на β -адренергическую регуляцию тонуса сосудистой стенки. Таким образом, остается неясным, что является главным фактором половых различий адренергической регуляции сосудистого тонуса.

Эндотелий и натрийуретический пептид С-типа

В исследовании С. Caniffi и соавторов (2016) проводилось изучение роли натрийуретического пептида С-типа (CNP) у крыс линий Wistar и HRS [30]. CNP является одним из выделяемых эндотелием гиперполяризующих факторов. Роль CNP в патогенезе эссенциальной гипертензии важна вследствие расслабляющего воздействия на тонус сосудистой стенки. Авторами было продемонстрировано, что обусловленное CNP расслабление стенки аорты как у нормо-, так и у гипертензивных крыс опосредуется продукцией NO и открытием калиевых каналов. Возрастающее периферическое сопротивление и жесткость сосудистой стенки являются основными факторами, способствующими росту АД. Помимо структурных изменений жесткость стенок сосудов зависит от функциональной полноценности эндотелия. Авторы резюмируют, что в случае развития АГ имеет место нарушение механизмов CNP-обусловленного эффекта релаксации.

К. Nakao и соавторами (2017) проводилось изучение влияния CNP, продуцируемого эндотелием, на активность гуанилатциклазы В (GCB) гладкомышечной мускулатуры [31]. В эксперименте *in vivo* авторы изучали данные взаимодействия у мышей, нокаутированных по генам эндотелиального CNP и гладкомышечной GCB [31]. Мыши с отсутствующим геном эндотелиальной CNP демонстрировали значительное повышение кровяного давления и выраженный острый гипертензивный ответ на введение ингибитора NO-синтазы [31]. В тесте с ацетилхолином при исследовании колец брыжечной артерии вазорелаксация у мышей CNP^{-/-} была нарушена по сравнению с беспородными мышами. Также мыши CNP^{-/-} отличались повышенным уровнем ЭТ-1 и значительно сниженным ответом на введение антагониста рецептора ЭТ-1. Напротив, у мышей GCB^{-/-} не наблюдалось повышения АД по сравнению с беспородными мышами. Вазорелаксация ацетилхолином брыжеечных артерий также была подобна таковой у контрольной группы. В то же время индукция вазорелаксации с помощью CNP у GCB^{-/-} мышей была отрицательной по сравнению с беспородными мышами. Авторы заключили, что выделяемый эндотелием CNP способствует регуляции сосудистого тонуса и системного АД,

поддерживая функциональность эндотелия независимо от гладкомышечной GCB [31].

Эндотелий и жесткость сосудистой стенки

Жесткость сосудистой стенки является фактором прогрессирования АГ. Эндотелий непосредственно контактирует с компонентами ВКМ. ВКМ — основной структурный элемент, обеспечивающий жесткость сосудистой стенки. Просвет магистральных сосудов расширяется во время систолы для размещения объема крови фракции выброса, после чего в диастолу происходит перфузия тканей [32]. В значительной мере эффективность кровенаполнения определяется эластичностью, растяжимостью и восприимчивостью артериальных сосудов [32]. Снижение эластичности и возрастание жесткости приводят к повышению усилий по распределению кровотока, увеличению систолического давления, перегрузке объемом, гипертрофии миокарда и кардиоваскулярным нарушениям. Жесткость аортальной стенки влияет на микроциркуляцию и наоборот [32]. TGF- β является одним из основных стимулов перестройки ВКМ. ЭК значимо продуцируют TGF- β в активированном состоянии. Активирующими событиями являются гипоксия, напряжение сдвига и повышенная вязкость крови. Повышение активности TGF- β напрямую приводит к возрастанию синтеза фибронектина и коллагена, а также опосредованно стимулирует продукцию ВКМ через подавление коллагеназы и стимулирование образования TIMP, тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ [32]. ET-1 пептид, секретируемый ЭК, обладает мощным вазоконстрикторным эффектом. Помимо митогенного и гипертрофического действия, ET-1 способен активировать перестройку ВКМ и стимулировать выработку фибробластами коллагена [32].

Нарушения микроциркуляции и артериальная гипертензия

Особое значение для функции эндотелия в развитии АГ имеет состояние микроциркуляции. Традиционно роль микроциркуляции артерий сводится к регуляции сосудистого сопротивления и поддержания метаболизма с помощью кровотока [33]. Мышечное сокращение артериальной стенки защищает нижележащие сосуды от повреждения вследствие роста давления, предотвращает избыточную перфузию тканей и создает резерв тока крови [33]. Также сосудистый тонус регулируется межклеточным электрическим соединением и субстанциями, синтезируемыми эндотелием: оксидом азота, простациклином, ET-1 и тромбоксаном A₂. Каждый из выделяемых эндотелием медиаторов проникает

в глубину сосудистой стенки, действуя на ГКС, вызывая дилатацию, гипертрофию либо фиброз. Также данные медиаторы способны проникать в глубину паренхимы. Особенно это касается капиллярного русла с его большой площадью в отсутствие ГКС, где эндотелий оказывает паракринный эффект на ткань паренхимы. Тканевая гипоксия, наблюдаемая при АГ, усиливает нарушения микроциркуляции, что ведет к прогрессированию заболевания.

Эндотелий и рецепторы, активируемые пероксисомным пролифератором

Особую группу сигнальных молекул, экспрессированных в цитоплазме ЭК, представляют рецепторы, активируемые пероксисомным пролифератором (PPAR). PPAR принадлежат к первому суперсемейству ядерных гормональных рецепторов. Данные рецепторы вовлечены во множество процессов гомеостатического и протективного характера, включая функционирование сердечно-сосудистой системы, регуляцию метаболизма, иммунитет, воспаление, тромбоз, ангиогенез и опухолевый рост. Описано три вида PPAR: PPAR- α , PPAR- β/δ и PPAR- γ . Для каждого из рецепторов существует свой путь регуляции АД. PPAR- α регулирует транспорт и окисление жирных кислот и обратное всасывание холестерина [34]. По данным С. Glineur и соавторов (2013), фенофибрат, являющийся агонистом PPAR- α , снижает продукцию ET-1 эндотелием за счет различных механизмов [35]. Во-первых, подавляется активность промотора ET-1 [35]. Во-вторых, уменьшается активность TGF- β , стимулирующего продукцию ET-1 [35]. В-третьих, стимулируется продукция транскрипционного фактора KLF-11 [35]. В работе Š. Jichova и соавторов (2016) проводилось экспериментальное исследование эффекта фенофибрата на течение злокачественной гипертензии у крыс линии TGR [36]. Авторы заключили, что антигипертензивное действие фенофибрата основано на подавлении активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), в частности АНГ-II. Причем подавлялась как системная, так и внутрипочечная трансформация АНГ-I в АНГ-II [36].

Участие PPAR- γ в регуляции АД осуществляется тремя путями: активация сигнальных путей MAPK (митоген-активируемая протеинкиназа) и PI3K (фосфоинозитид-3-киназа), модуляция РААС и стимулирование образования eNOS [37].

Влияние гипоксии на функциональную активность эндотелия

Особое значение в патогенезе АГ имеет состояние микроциркуляции магистральных артерий. Эф-

эффективность процессов ангиогенеза капиллярного русла крупных сосудов определяет адекватность метаболизма. В условиях гипоксии происходит нарушение окислительно-восстановительных механизмов поддержания сосудистого тонуса: избыточное образование АФК, накопление продуктов деградации ВКМ, уменьшение биодоступности оксида азота. Все перечисленные события ведут к формированию порочного круга: гипоксия, повышение тонуса сосудистой стенки, гипертрофия гладкой мускулатуры, продукция АФК, повреждение эндотелия, ухудшение микроциркуляции и усиление гипоксии. ЭК являются важным источником продукции специализированной группы белков, называемых факторами, индуцируемыми гипоксией (*hypoxia-inducible factors* — HIF). Хотя гипоксия является наиболее мощным фактором, провоцирующим ангиогенез, при хроническом недостатке уровня кислорода в тканях вновь образуемая капиллярная сеть не обладает полноценной эффективностью. В исследовании T. D. Nauta и соавторов (2017) изучалось воздействие гипоксии *in vitro* на ЭК микроциркуляторного русла (hMVEC), а также продукцию HIF-2 α hMVEC [38]. При нормальных условиях культивирования (20% O₂) с добавлением фактора роста эндотелия сосудов А (VEGF-A) и TNF- α ЭК прорастали в 3D фибриновую матрицу через 7 дней. В то время как в условиях гипоксии (1% O₂) прорастание hMVEC было сильно затруднено. Выключение гена HIF-2 α с помощью si-RNA частично восстанавливало прорастание в условиях гипоксии и увеличивало эффект при нормоксии, что указывает на ингибирующую роль HIF-2 α на прорастание эндотелия как при нормальном содержании кислорода, так и при гипоксии. В исследовании C. Befani и P. Liakos (2017) изучалось *in vitro* воздействие гипоксии на ЭК микроциркуляторного русла (линия HMEC-1), а также продукцию HIF-1 α и HIF-2 α [39]. Авторами отмечено, что для HIF-1 α максимальное воздействие гипоксии (четырекратное увеличение по сравнению с контролем) наблюдалось через 16 часов культивирования; в дальнейшем через 24–48 часов происходило постепенное снижение воздействия (двукратный рост). В то время как продукция HIF-2 α увеличивалась в 30 раз через 8 часов культивирования и оставалась повышенной в 20 раз спустя 48 часов. Авторами проводилась оценка транскрипционной активности генов HIF под воздействием гипоксии и при нормальных условиях после 4 и 24 часов культивирования. Выявлено, что в условиях гипоксии в клетках HMEC-1 транскрипционная активность HIF возрастала при культивировании в течение 4 часов в 10 раз, а через 24 часа — в 70 раз по сравнению с контролем.

В этом же эксперименте индуцированная гипоксией экспрессия мРНК ингибитора активатора плазминогена 1 (PAI-1, хорошо известного как мишень для HIF-2 α) оставалась повышенной спустя 48 часов после культивирования. Экспрессия мРНК VEGF, который регулируется HIF-1 α и HIF-2 α , также повышалась под воздействием гипоксии и оставалась увеличенной после 48 часов культивирования. Пролиферативная активность HMEC-1 также изучалась в условиях гипоксии. Авторами было отмечено 30-процентное снижение пролиферации после 48 часов культивирования и 60-процентное — через 72 часа. Хемотактическая активность HMEC-1 также подверглась оценке в условиях гипоксии. Для оценки хемотаксиса использовались фильтры (размер пор 8 мкм), покрытые ламинином-1 и коллагеном IV. Хемотактическая активность HMEC-1 в условиях гипоксии существенно (на 50%) повышалась спустя 24 часа после культивирования вне зависимости от типа матрикса [39].

Для продукции НАДФН-оксидазы ЭК существует механизм стимуляции, связанный с ЭТ-1 [40]. Так, ЭТ-1 индуцирует экспрессию NOX2 эндотелием *in vitro*, а также продукцию АФК *ex vivo* ЭК выделенной артерии путем активации рецептора к ЭТ-1 [40]. ЭТ-1 также стимулирует образование супероксид-аниона при экспериментальной модели легкой гипертензии [40]. Существует также и обратная зависимость: в результате активности ЭТ-1 супероксид-анион, образующийся под действием NOX2, вызывает вазоконстрикцию [40].

Известно, что в ЭК митохондрии являются основным источником супероксид-аниона. В исследовании A. Koziel и W. Jarmuszkiewicz (2017) проводилось изучение влияния хронической гипоксии на окислительный метаболизм митохондрий ЭК [41]. Клетки эндотелия пупочной вены (HUVEC) культивировались в течение 6 дней при содержании кислорода 1%. Изучался эффект гипоксии как на уровне клетки, так и в выделенных митохондриях. В ЭК гипоксия угнетала тканевое дыхание при окислении аминокислот, жирных кислот и углеводов, в то же время стимулируя окисление кетогенных аминокислот. Гипоксия увеличивала продукцию АФК как в митохондриях, так и в цитоплазме, хотя антиоксидантная система (SOD1 и SOD2) и жизнеспособность клеток не изменялись. В митохондриях ЭК, подвергшихся гипоксии, увеличивалась активность цепи переноса электронов II комплекса (сукцината), а подавлялась — I комплекса (НАДФН). Активность II комплекса повышалась вследствие сукцинат-устойчивой продукции АФК, в основном благодаря обратному электронному транспорту. В целом авторы сделали очевидное за-

ключение, что хроническая гипоксия обуславливает переключение с аэробного на анаэробный метаболизм [41]. В работе Р. Hernansanz-Agustín и соавторов (2017) исследовалось влияние острой гипоксии на тканевое дыхание ЭК. Авторами было выявлено подавление I комплекса переноса электронов [42]. По мнению авторов, следствием острой гипоксии является активация обменника Na^+/H^+ , что ведет к росту продукции АФК [42]. Представляется, что существенным фактором прогрессирования АГ является тканевая гипоксия, способствующая продукции АФК и приводящая к стойкому повышению сосудистого тонуса.

АНГ-II, действуя через рецепторы к АНГ-II 1-го типа (AT-1R), способствует активации NOX, стимулируя продукцию АФК [43]. При гипертензии с участием АНГ-II АФК, продуцируемые под действием NOX-1, способствуют повреждению почек [43].

Эндотелий, иммунные нарушения и артериальная гипертензия

По данным Р. R. De Batista и соавторов (2014), экспрессия рецептора врожденного иммунитета TLR4 на клетках эндотелия повышается под действием РААС, способствуя поддержанию АГ [44]. Помимо этого, возрастание экспрессии TLR4 приводит к активации оксидативного стресса. Эссенциальная гипертензия трактуется авторами как воспалительный процесс низкой интенсивности [44].

Согласно G. F. Vomfim и соавторам (2012), активация TLR4 на ЭК приводит к умеренному воспалению и усиливает тонус сосудов у спонтанно гипертензивных крыс [45]. Также активирующее действие АНГ-II на TLR-4 приводило к дисфункции эндотелия, включая оксидативный стресс и активацию сигнальных путей $\text{MyD88 JNK/NF-}\kappa\text{B}$ [46]. В свою очередь подавление TLR-4 снижало продукцию АФК и стимулированную MyD88 продукцию IL-6 на эндотелии спонтанно гипертензивных крыс [47]. Митохондриальная внеклеточная ДНК также способствует гипертензии ввиду активации TLR-9 [48].

Т-регуляторные лимфоциты (Treg) также участвуют в патогенезе АГ. В исследовании М. О. Mian и соавторов (2016) изучалось влияние АНГ-II на дисфункцию и ремоделирование эндотелия у мышей $\text{Rag1}^{-/-}$ при дефиците FOXP3-позитивных Treg. У таких животных наблюдался усиленный ответ на АНГ-II в виде провоспалительной поляризации моноцитов/макрофагов и повреждения микрососудов по сравнению с мышами $\text{Rag1}^{-/-}$ без дефицита Treg.

Заключение

Таким образом, эндотелий при ГБ играет двоякую роль: с одной стороны, является отражением функциональных нарушений, а с другой — фактором прогрессии заболевания. Точные механизмы участия ЭК в запуске, развитии заболевания и поддержании порочных кругов патологического процесса требуют дальнейшего изучения. Вместе с тем имеется значительный массив данных, указывающих на ведущую роль эндотелиальной дисфункции в развитии АГ. Прежде всего, это дефект регуляторных механизмов продукции АФК и NO. Действительно, повышенная продукция NO при усиленном образовании супероксид-аниона ведет не к ослаблению тонуса, а к росту вазоконстрикции вследствие синтеза пероксинитрита. Продукция ЭК ростовых факторов (TGF- β) стимулирует синтез коллагена и ведет к возрастанию жесткости стенки магистральных артерий, что усугубляет течение ГБ.

В свете выявленных патологических изменений функционирования эндотелия при ГБ представляется наиболее обоснованной следующая цепочка активационных событий: гиподинамия, характерная для пациентов с ГБ, ведет к тканевой гипоксии, что нарушает микроциркуляцию артерий резистивного типа, повышает активность вазоконстрикторов (ЭТ-1), стимулирует ангиогенез, который из-за неполноценности новообразованной капиллярной сети ведет к прогрессированию функциональных нарушений (усиливает вазоконстрикцию). Для дальнейшего изучения роли эндотелия в запуске и развитии ГБ требуются исследования как на экспериментальном, так и на клиническом материале. В частности, необходимо изучать взаимодействие клеток крови с эндотелием *in vitro* и *in vivo* как у спонтанно гипертензивных крыс, так и у пациентов с ГБ. Анализ полученных данных поможет выявить точные механизмы роли эндотелия в патогенезе АГ.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Работа поддержана программой Президиума РАН I.19 П, проект 0134–2015–0002. / The paper is supported by the Program of the Panel of the Russian Academy of Sciences I.19P, project # 0134–2015–0002.

Список литературы/References

1. Lubrano V, Balzan S. Roles of LOX-1 in microvascular dysfunction. *Microvasc Res.* 2016;105:132–40. doi:10.1016/j.mvr.2016.02.006
2. Chen M, Masaki T, Sawamura T. LOX-1, the receptor for oxidized low-density lipoprotein identified from endothelial cells: implications in endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Pharmacol Ther.* 2002;95(1):89–100.

3. Kenney WL, Cannon JG, Alexander LM. Cutaneous microvascular dysfunction correlates with serum LDL and sLOX-1 receptor concentrations. *Microvasc Res.* 2013;85:112–17. doi:10.1016/j.mvr.2012.10.010
4. Holowatz LA, Santhanam L, Webb A, Berkowitz DE, Kenney WL. Oral atorvastatin therapy restores cutaneous microvascular function by decreasing arginase activity in hypercholesterolaemic humans. *J Physiol.* 2011;589(Pt 8):2093–103. doi:10.1113/jphysiol.2010.203935
5. García-Redondo AB, Aguado A, Briones AM, Salas M. NADPH oxidases and vascular remodeling in cardiovascular diseases. *Pharmacol Res.* 2016;114:110–20. doi:10.1016/j.phrs.2016.10.015
6. Forte M, Nocella C, De Falco E, Palmerio S, Schirone L, Valenti V et al. The pathophysiological role of NOX2 in hypertension and organ damage. *High Blood Press Cardiovasc Prev.* 2016;23(4):355–64. doi:10.1007/s40292-016-0175-y
7. Sahoo S, Meijles DN, Pagano PJ. NADPH oxidases: key modulators in aging and age-related cardiovascular diseases? *Clin Sci (Lond).* 2016;130(5):317–35. doi:10.1042/CS20150087
8. Nurkiewicz TR, Wu G, Li P, Boegehold MA. Decreased arteriolar tetrahydrobiopterin is linked to superoxide generation from nitric oxide synthase in mice fed high salt. *Microcirculation.* 2010;17(2):147–57. doi:10.1111/j.1549-8719.2009.00014.x
9. Channon KM. Tetrahydrobiopterin: Regulator of endothelial nitric oxide synthase in vascular disease. *Trends Cardiovasc Med.* 2004;14(8):323–27. doi:10.1016/j.tcm.2004.10.003
10. Dinh QN, Drummond GR, Sobey CG, Chrissobolis S. Roles of inflammation, oxidative stress, and vascular dysfunction in hypertension. *Biomed Res Int.* 2014;2014:406960. doi:10.1155/2014/406960
11. Simmons DL, Botting RM, Hla T. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol Rev.* 2004;56(3):387–437. doi:10.1124/pr.56.3.3
12. Feletou M, Huang Y, Vanhoutte PM. Endothelium-mediated control of vascular tone: COX-1 and COX-2 products. *Br J Pharmacol.* 2011;164(3):894–912. doi:10.1111/j.1476-5381.2011.01276.x
13. Viridis A, Taddei S. Endothelial dysfunction in resistance arteries of hypertensive humans: old and new conspirators. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2016;67(6):451–57. doi:10.1097/FJC.0000000000000362
14. Kelley EE. A new paradigm for XOR-catalyzed reactive species generation in the endothelium. *Pharmacol Rep.* 2015;67(4):669–74. doi:10.1016/j.pharep.2015.05.004
15. Enroth C, Eger BT, Okamoto K, Nishino T, Nishino T, Pai EF. Crystal structures of bovine milk xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase: Structure-based mechanism of conversion. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97(20):10723–8.
16. Maia LB, Moura JJ. Nitrite reduction by xanthine oxidase family enzymes: a new class of nitrite reductases. *J Biol Inorg Chem.* 2011;16(3):443–460. doi:10.1007/s00775-010-0741-z
17. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone releasing acylated peptide from stomach. *Nature.* 1999;402(6762):656–660. doi:10.1038/45230
18. Kleinz MJ, Maguire JJ, Skepper JN, Davenport AP. Functional and immunocytochemical evidence for a role of ghrelin and des-octanoyl ghrelin in the regulation of vascular tone in man. *Cardiovasc Res.* 2006;69(1):227–35. doi:10.1016/j.cardiores.2005.09.001
19. Iglesias MJ, Pineiro R, Blanco M, Gallego R, Diéguez C, Gualillo O et al. Growth hormone releasing peptide (ghrelin) is synthesized and secreted by cardiomyocytes. *Cardiovasc Res.* 2004;62(93):481–488. doi:10.1016/j.cardiores.2004.01.024
20. Tesaro M, Schinzari F, Iantorno M, Rizza S, Melina D, Lauro D et al. Ghrelin improves endothelial function in patients with metabolic syndrome. *Circulation.* 2005;112(19):2986–92. doi:10.1161/circulationaha.105.553883
21. Kawczynska-Drozd A, Olszanecki R, Jawien J, Brzozowski T, Pawlik WW, Korbut R et al. Ghrelin inhibits vascular superoxide production in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens.* 2006;19(7):764–7. doi:10.1016/j.amjhyper.2006.01.022
22. Tesaro M, Schinzari F, Rovella V, Di Daniele N, Lauro D, Mores N et al. Ghrelin restores the endothelin 1/nitric oxide balance in patients with obesity-related metabolic syndrome. *Hypertension.* 2009;54(5):995–1000. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.137729
23. de Wit C, Griffith TM. Connexins and gap junctions in the EDHF phenomenon and conducted vasomotor responses. *Pflugers Arch.* 2010;459(6):897–914. doi:10.1007/s00424-010-0830-4
24. Maguire JJ, Skepper JN, Skepper JN, Davenport AP. Functional and immunocytochemical evidence for a role of ghrelin and des-octanoyl ghrelin in the regulation of vascular tone in man. *Cardiovasc Res.* 2006;69(1):227–235.
25. Félétou M, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent hyperpolarizations: past beliefs and present facts. *Ann Med.* 2007;39(7):495–516.
26. Chou TC, Yen MH, Li CY, Ding YA. Alterations of nitric oxide synthase expression with aging and hypertension in rats. *Hypertension.* 1998;31(2):643–8.
27. Kondrashov A, Vrankova S, Dvořánová I, Sevcík R, Parohová J, Barta A et al. The effects of new Alibernet red wine extract on nitric oxide and reactive oxygen species production in spontaneously hypertensive rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2012;2012:806285. doi:10.1155/2012/806285
28. Nava E, Noll G, Luscher TF. Increased activity of constitutive nitric oxide synthase in cardiac endothelium in spontaneous hypertension. *Circulation.* 1995;91(9):2310–3.
29. Al-Ghuri S, Deussen A, Zatschler B, Weber S, Künzel S, El-Armouche A et al. Sex-difference in expression and function of beta-adrenoceptors in macrovessels: role of the endothelium. *Basic Res Cardiol.* 2017;112(3):29. doi:10.1007/s00395-017-0617-2
30. Caniffi C, Cerniello FM, Gobetto MN, Sueiro ML, Costa MA, Arranz C. Vascular tone regulation induced by C-type natriuretic peptide: differences in endothelium-dependent and independent mechanisms involved in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *PLoS One.* 2016;11(12):e0167817. doi:10.1371/journal.pone.0167817
31. Nakao K, Kuwahara K, Nishikimi T, Nakagawa Y, Kinoshita H, Minami T et al. Endothelium-derived C-type natriuretic peptide contributes to blood pressure regulation by maintaining endothelial integrity. *Hypertension.* 2017;69(2):286–296. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.08219
32. Harvey A, Montezano AC, Lopes RA, Rios F, Touyz RM. Vascular fibrosis in aging and hypertension: molecular mechanisms and clinical implications *Can J Cardiol.* 2016;32(5):659–68. doi:10.1016/j.cjca.2016.02.070
33. Gutterman DD, Chabowski DS, Kadlec AO, Durand MJ, Freed JK, Ait-Aissa K et al. The human microcirculation. Regulation of flow and beyond. *Circ Res.* 2016;118(1):157–72. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.305364
34. Fruchart JC. Peroxisome proliferator-activated receptor- α (PPAR α): at the crossroads of obesity, diabetes and cardiovascular disease. *Atherosclerosis.* 2009;205(1):1–8. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2009.03.008
35. Glineur C, Gross B, Neve B, Rommens C, Chew GT, Martin-Nizard F et al. Fenofibrate inhibits endothelin-1 expression by peroxisome proliferator-activated receptor α -dependent and independent mechanisms in human endothelial cells.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2013;33(3):621–8. doi:10.1161/ATVBAHA.112.300665

36. Jichová Š, Doleželová Š, Kopkan L, Kompanowska-Jeziarska E, Sadowski J, Červenka L. Fenofibrate attenuates malignant hypertension by suppression of the renin-angiotensin system: a study in Cyp11a1-Ren-2 transgenic rats. *Am J Med Sci*. 2016;352(6):618–630. doi:10.1016/j.amjms.2016.09.008

37. Kvandová M, Majzúnová M, Dovinová I. The role of PPARgamma in cardiovascular diseases. *Physiol Res*. 2016;65(S3): S343–S363.

38. Nauta TD, van den Broek M, Gibbs S, van der Pouw-Kraan TC, Oudejans CB, van Hinsbergh VW et al. Identification of HIF-2 α -regulated genes that play a role in human microvascular endothelial sprouting during prolonged hypoxia in vitro. *Angiogenesis*. 2017;20(1):39–54. doi:10.1007/s10456-016-9527-4

39. Befani C, Liakos P. Hypoxia upregulates integrin gene expression in microvascular endothelial cells and promotes their migration and capillary-like tube formation. *Cell Biol Int*. 2017;41(7):769–778.

40. Daiber A, Di Lisa F, Oelze M, Kröller-Schön S, Steven S, Schulz E et al. Crosstalk of mitochondria with NADPH oxidase via reactive oxygen and nitrogen species signalling and its role for vascular function. *Br J Pharmacol*. 2017;174(12):1670–1689. doi:10.1111/bph.13403

41. Koziel A, Jarmuszkiewicz W. Hypoxia and aerobic metabolism adaptations of human endothelial cells. *Pflugers Arch*. 2017;469(5–6):815–27. doi:10.1007/s00424-017-1935-9

42. Hernansanz-Agustín P, Ramos E, Navarro E, Parada E, Sánchez-López N, Peláez-Aguado L et al. Mitochondrial complex I deactivation is related to superoxide production in acute hypoxia. *Redox Biol*. 2017;12:1040–1051. doi:10.1016/j.redox.2017.04.025

43. Biancardi VC, Bomfim GF, Reis WL, Al-Gassimi S, Nunes KP. The interplay between Angiotensin II, TLR4 and hypertension. *Pharmacol Res*. 2017;120:88–96. doi:10.1016/j.phrs.2017.03.017

44. De Batista PR, Palacios R, Martín A, Hernanz R, Médiçi CT, Silva MA et al. Toll-like receptor 4 upregulation by angiotensin II contributes to hypertension and vascular dysfunction through reactive oxygen species production. *PloS One*. 2014;9(8): e104020. doi:10.1371/journal.pone.0104020

45. Bomfim GF, Dos Santos RA, Oliveira MA, Giachini FR, Akamine EH, Tostes RC et al. Toll-like receptor 4 contributes to blood pressure regulation and vascular contraction in spontaneously hypertensive rats. *Clin Sci (Lond)*. 2012;122(12):535–543. doi:10.1111/bph.13117

46. Hernanz R, Martinez-Revelles S, Palacios R, Martin A, Cachafeiro V, Aguado A et al. Toll-like receptor 4 contributes to vascular remodelling and endothelial dysfunction in angiotensin II-induced hypertension. *Br J Pharmacol*. 2015;172(12):3159–3176. doi:10.1111/bph.13117

47. Bomfim GF, Echem C, Martins CB, Costa TJ, Sartoretto SM, Dos Santos RA et al. Toll-like receptor 4 inhibition reduces vascular inflammation in spontaneously hypertensive rats. *Life Sci*. 2015;122:1–7. doi:10.1016/j.lfs.2014.12.001

48. McCarthy CG, Wenceslau CF, Gouloupoulou S, Ogbi S, Baban B, Sullivan JC et al. Circulating mitochondrial DNA and Toll-like receptor 9 are associated with vascular dysfunction in spontaneously hypertensive rats. *Cardiovasc Res*. 2015;107(1):119–130. doi:10.1093/cvr/cvv137

49. Mian MO, Barhoumi T, Briet M, Paradis P, Schiffrin EL. Deficiency of T-regulatory cells exaggerates angiotensin II-induced microvascular injury by enhancing immune responses. *J Hypertens*. 2016;34(1):97–108. doi:10.1097/HJH.0000000000000761

Информация об авторе

Сысоев Кирилл Александрович — лаборатория сердечно-сосудистой и лимфатической систем Института физиологии им. И. П. Павлова РАН; научный сотрудник НИО ишемической болезни сердца ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information

Kirill A. Sysoev, Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences; Researcher, Research Department of Coronary Heart Disease, Almazov National Medical Research Centre.

ISSN 1607-419X

ISSN 2411-8524 (Online)

УДК 616.12-008.331.1: 616.12-008.46

Гипертоническая болезнь и хроническая сердечная недостаточность с сохраненной сократительной способностью левого желудочка: фокус на гендер-специфические особенности провоспалительного статуса

А. В. Барсуков¹, А. Ю. Сеидова², А. В. Гордиенко¹,
А. И. Сергеев¹, С. В. Лейчинский²

¹ Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Медико-санитарная часть Министерства внутренних дел России по Санкт-Петербургу и Ленинградской области», Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Барсуков Антон Владимирович,
ВМА им. С. М. Кирова МО РФ,
ул. Академика Лебедева, д. 6,
Санкт-Петербург, 194044.
E-mail: avbarsukov@yandex.ru

Статья поступила в редакцию
26.02.17 и принята к печати 23.03.17.

Резюме

Актуальность. Гипертоническая болезнь (ГБ) представляет собой наиболее значимый фактор, ассоциированный с развитием хронической сердечной недостаточности (ХСН) с сохраненной фракцией выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ). Системное низкоинтенсивное воспаление считается важным элементом патогенеза и артериальной гипертензии, и ХСН. **Цель исследования** — с учетом гендерной принадлежности установить особенности показателей провоспалительного статуса у пациентов среднего возраста с ГБ, осложненной клинически нетяжелой ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ. **Материалы и методы.** Обследовано 165 человек среднего возраста. Основную группу составили 104 пациента с ГБ, осложненной ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ (в том числе 55 мужчин). Диагноз ХСН подтверждали повышенным содержанием в плазме крови N-концевого предшественника мозгового натрийуретического пептида и данными теста с 6-минутной ходьбой. У лиц основной группы была верифицирована 1-я или 2-я степень диастолической дисфункции левого желудочка (ДД ЛЖ). Группу сравнения составили 30 пациентов с ГБ II стадии (в том числе 15 мужчин), а группу контроля — 31 нормотензивное лицо (в том числе 15 мужчин). У всех обследованных определили содержание в сыворотке крови С-реактивного белка (СРБ), фактора некроза опухоли альфа (ФНО-α), интерлейкина-6 (ИЛ-6). Полученные данные обработаны с помощью программы Statistica for Windows (версия 10.0). **Результаты.** В каждой группе обследованных лиц содержание маркеров провоспалительного статуса в крови оказалось нормальным. У мужчин основной группы уровни СРБ, ФНО-α, ИЛ-6 значительно превышали таковые у женщин. У мужчин и женщин с ГБ в сочетании с ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ величины каждого из этих показателей превосходили таковые у мужчин и женщин группы сравнения. Полученные данные у лиц основной группы были также оценены селективно с учетом особенностей ДД ЛЖ. Содержание СРБ, ФНО-α, ИЛ-6 в крови у мужчин значительно превышало таковое у женщин (в пределах выборок с одинаковой степенью ДД ЛЖ). У пациентов со 2-й степенью ДД ЛЖ наблюдались более высокие уровни СРБ, ФНО-α, ИЛ-6 в крови, чем у субъектов с 1-й степенью ДД ЛЖ (в пределах мужской и женской выборок). **Заключение.** По сравнению с женщинами

мужчинам с ГБ, осложненной ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ, свойственно значительно более высокое содержание в крови СРБ, ФНО- α , ИЛ-6. Присоединение к гипертензии ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ сопровождается усилением напряженности провоспалительного паттерна как среди мужчин, так и среди женщин. Принадлежность ко 2-й степени ДД ЛЖ ассоциирована с ухудшением провоспалительного паттерна относительно 1-й степени ДД ЛЖ.

Ключевые слова: гипертоническая болезнь, хроническая сердечная недостаточность, сохраненная фракция выброса левого желудочка, диастолическая дисфункция левого желудочка, провоспалительный статус

Для цитирования: Барсуков А. В., Сеидова А. Ю., Гордиенко А. В., Сергеев А. И., Лейчинский С. В. Гипертоническая болезнь и хроническая сердечная недостаточность с сохраненной сократительной способностью левого желудочка: фокус на гендер-специфические особенности провоспалительного статуса. Артериальная гипертензия. 2017;23(5):457–467. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-457-467

Hypertension and chronic heart failure with preserved left ventricular ejection fraction: focus on gender-specific features of the proinflammatory status

A. V. Barsukov¹, A. Yu. Seyidova², A. V. Gordienko¹,
A. I. Sergeev¹, S. V. Leychinsky²

¹ Military Medical Academy named after S. M. Kirov,
St Petersburg, Russia

² Health Unit of Internal Ministry of the Russian Federation
in St Petersburg and Leningrad region,
St Petersburg, Russia

Corresponding author:

Anton V. Barsukov,
Military Medical Academy named
after S. M. Kirov,
6 Akademician Lebedev street,
St Petersburg, 194044 Russia.
E-mail: avbarsukov@yandex.ru

Received 26 February 2017;
accepted 23 March 2017.

Abstract

Background. Hypertension (HTN) represents the most significant factor associated with the development of chronic heart failure (CHF) with preserved left ventricular ejection fraction (LVEF). Low-intensity systemic inflammation is considered an important element for the pathogenesis of both HTN and CHF. **Objective.** To set gender-dependent features of pro-inflammatory status in middle-aged patients with HTN complicated by non-severe CHF with preserved LVEF. **Design and methods.** The study involved 165 middle-aged subjects. The main study group comprised 104 patients (including 55 males) with HTN complicated by CHF with preserved LVEF. CHF diagnosis was confirmed by the elevated blood plasma N-terminal brain natriuretic peptide precursor and 6-minute walk test. Also, the main group was stratified depending on the presence of the 1st or the 2nd grade of left ventricular diastolic dysfunction (LVDD). The comparison group consisted of 30 patients with stage II HTN (including 15 males), and a control group — of 31 normotensive individuals (including 15 males). In all subjects we measured serum levels of C-reactive protein (CRP), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin-6 (IL-6). The data were processed by the program Statistica for Windows (version 10.0). **Results.** In each group the blood markers of proinflammatory status were normal. Males of the main group showed higher levels of CRP, TNF-alpha, IL-6 than females. Hypertensive males and females with CHF with preserved LVEF demonstrated significantly higher indices of all parameters than in the comparison group. We also analyzed data depending

on LVDD. Serum levels of CRP, TNF- α , IL-6 in males were significantly greater than in females (within the samples with the same LVDD grade). In patients with the 2nd LVDD serum levels of CRP, TNF- α , IL-6 were significantly greater than in subjects with the 1st LVDD grade (both among males and females). **Conclusions.** In comparison with females, males with HTN complicated by CHF with preserved LVEF have significantly higher CRP, TNF- α , IL-6 serum levels. Development of CHF with preserved LVEF in HTN patients is associated with increased intensity of the pro-inflammatory pattern among both males and females. Regardless of gender and clinical status of CHF, hypertensive patients with the 2nd grade of LVDD are characterized by higher serum levels of CRP, TNF- α , IL-6 compared to those with the 1st grade of LVDD.

Key words: hypertension, chronic heart failure, preserved left ventricular ejection fraction, left ventricular diastolic dysfunction, pro-inflammatory status

For citation: Barsukov AV, Seyidova AY, Gordienko AV, Sergeev AI, Leychinsky SV. Hypertension and chronic heart failure with preserved left ventricular ejection fraction: focus on gender-specific features of the proinflammatory status. Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension. 2017;23(5):457–467. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-457-467

Введение

Артериальная гипертензия (АГ) прочно занимает лидирующие позиции среди популяционных факторов риска сердечной недостаточности в различных регионах мира [1–4]. Формирование так называемого гипертонического сердца составляет основу патогенеза весьма часто обнаруживаемых расстройств сократительной и релаксационной (диастолической) функций левого желудочка (ЛЖ). Известно, что приблизительно половина всех случаев хронической сердечной недостаточности (ХСН) протекает с нормальным состоянием сократительной функции ЛЖ. Твердо доказано доминирующее значение гипертонической болезни (ГБ) в возникновении ХСН с сохраненной фракцией выброса (ФВ) ЛЖ [5, 6]. Типичный клинический портрет современного пациента с ХСН, протекающей с нормальной систолической функцией ЛЖ, предполагает сочетание таких признаков, как пожилой возраст, женский пол, гипертензия, ожирение, сахарный диабет 2-го типа, метаболический синдром, почечная дисфункция, низкий уровень физической активности [7, 8]. Польза конкретных лечебных подходов у больных с подобным вариантом ХСН убедительно не определена [9]. Ограничением существующих на текущем этапе представлений о ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ, по-видимому, следует считать обобщенный анализ полученных данных в когортах, включавших значительную долю лиц различного (в том числе и старческого) возраста с перенесенным инфарктом миокарда, фибрилляцией предсердий, наличием высоких функциональных классов сердечной недостаточности, сахарным диабетом 2-го типа, конечной стадией хронической болезни почек, морбидным ожирением, бронхообструктивной патологией. Относительно недавно сформулированная концепция развития ХСН, в основе которой лежит парадигма о системном низкоинтенсивном воспалении, может иметь

большое значение не только для совершенствования представлений о патогенезе данного заболевания, но и оптимизации лечебных решений. Вместе с тем очевиден недостаток в научных исследованиях, направленных на уточнение особенностей хронического низкоинтенсивного системного воспаления, дисфункции эндотелия, расстройств нейрогормональной регуляции кровообращения, поражения органов-мишеней при ГБ, осложненной ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ в относительно однородных тщательно отобранных исследовательских выборках, учитывающих демографические факторы.

Цель исследования — с учетом гендерной принадлежности установить особенности показателей провоспалительного статуса у пациентов среднего возраста с гипертонической болезнью, осложненной клинически нетяжелой ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ.

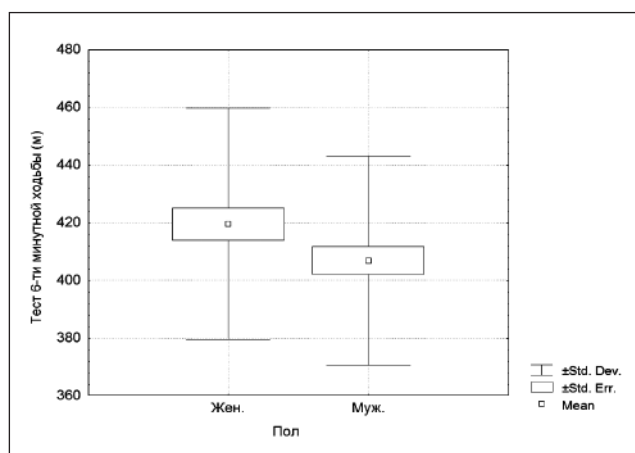
Материалы и методы

Работа выполнена по результатам исследований, проведенных на клинической базе кафедры госпитальной терапии ФГБВОУ ВО «ВМА им. С. М. Кирова» Минобороны РФ — в ФКУЗ МСЧ МВД России по СПб и ЛО. На этапе прескрининга изучили 470 единиц медицинской документации (амбулаторных карт, медицинских книжек, историй болезни) субъектов в возрасте 45–59 лет, в результате чего отобрали 165 из них. Основную группу составили 104 пациента (55 мужчин и 47 женщин), страдавших ГБ, осложненной ХСН с сохраненной систолической функцией ЛЖ. По признаку наличия сердечной недостаточности у включенных в исследование лиц основной группы была верифицирована III стадия ГБ, уровень повышения артериального давления (АД) соответствовал 1–2-й степени гипертензии. Последующая оценка лабораторных данных в мужской и женской подгруппах осуществлялась

с учетом обеспечения их сопоставимости по возрасту, индексу массы тела (ИМТ), офисному уровню систолического и диастолического АД, частоте сердечных сокращений (ЧСС) в покое. Стадию ГБ и степень АГ устанавливали согласно текущим отечественным и европейским рекомендациям экспертов [10, 11]. Диагноз ХСН с сохраненной систолической функцией ЛЖ устанавливали в соответствии с Национальными рекомендациями по диагностике и лечению ХСН (ОССН, РКО и РНМОТ) [12].

В основную группу включали пациентов с клинической картиной, соответствующей низкому функциональному классу ХСН, наличием ФВ ЛЖ $\geq 50\%$, синусовым ритмом, содержанием в плазме крови N-концевого предшественника мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) > 125 пг/мл. Уровень NT-proBNP определяли методом иммуноферментного анализа на аппарате COBAS H 232 KIT (Франция). Функциональный класс ХСН подтверждали результатами теста с 6-минутной ходьбой (рис. 1). Представление о наличии ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ дополняли наличием по меньшей мере одного из следующих критериев, рекомендованных экспертами Европейского общества кардиологов (2016): наличия гипертрофии ЛЖ (доказанной по признаку значения индекса массы миокарда ЛЖ (ИММЛЖ > 115 г/м² (М) или > 95 г/м² (Ж)), дилатации левого предсердия (ЛП) (индекса объема ЛП > 34 мл/м²), нарушения диастолической функции ЛЖ [9].

Рисунок 1. Оценка функционального класса хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса левого желудочка у мужчин и женщин с гипертонической болезнью, включенных в основную группу (по результатам теста 6-минутной ходьбы)



Критериями исключения из исследования считали: 3-ю степень АГ при офисном измерении АД, вторичный характер АГ, инфаркт миокарда в анамнезе, некоронарогенные заболевания миокарда

(кардиомиопатии, миокардиты), клапанные пороки сердца, фибрилляцию предсердий и иную клинически значимую аритмию сердца, хроническую болезнь почек 5-й стадии, любую клинически значимую бронхолегочную патологию, нарушение функции щитовидной железы, острые воспалительные заболевания или обострения хронических заболеваний в течение 2 недель до включения в исследование, онкологические заболевания, невозможность обеспечения должного качества эхокардиографии или невозможность оценки диастолической функции ЛЖ в достаточном объеме.

У включенных в основную группу пациентов из мужской и женской выборки диагностирован преимущественно 2-й функциональный класс ХСН, выявлено практически одинаковое содержание в крови NT-proBNP ($p > 0,05$). Получаемая антигипертензивная и иная терапия кардиоваскулярной направленности оказалась сопоставимой у мужчин и женщин основной группы по характеру и охвату участников. Встречаемость в мужской и женской выборках таких признаков, как статус курения (50,6 и 45,5 % соответственно, $p = 0,14$), сахарный диабет 2-го типа (21,6 и 14,3 % соответственно, $p = 0,07$), стенокардия напряжения 1–2-го функционального класса (15,2 и 10,3 % соответственно, $p = 0,26$), хроническая болезнь почек ≥ 3 -й стадии (16,3 и 17,1 % соответственно, $p = 0,45$) оказалась сопоставимой. ИММЛЖ у обследованных мужчин закономерно превышал таковой у женщин ($p = 0,03$), индексы объема ЛП у мужчин и женщин не различались ($p = 0,24$).

Лица основной группы были подразделены не только по гендерному признаку, но и по степени диастолической дисфункции ЛЖ (ДД ЛЖ). При этом мы руководствовались рекомендациями по оценке диастолической функции ЛЖ Европейской ассоциации специалистов по методам визуализации сердечно-сосудистой системы и Американского общества эхокардиографии (EACI/ASE, 2016) [13]. Среди обследованных лиц с АГ в сочетании с ХСН не наблюдалось таковых с 3-й степенью ДД ЛЖ. В пользу 1-й степени ДД ЛЖ (у 82 участников исследования) свидетельствовало сочетание таких ультразвуковых критериев, как: отношение скорости трансмитрального потока в раннюю и позднюю фазы диастолы $Ve/Va \leq 0,8$; отношение $E/e' < 10$; пиковая скорость трикуспидальной регургитации < 280 см/с, нормальный или увеличенный индекс объема ЛП. У 22 пациентов верифицировали 2-ю степень ДД ЛЖ при сочетании следующих критериев: значения $0,8 < Ve/Va < 2,0$ отношении $E/e' 10-14$; пиковой скорости трикуспидальной регургитации ≥ 280 см/с, индексе объема ЛП > 34 мл/м²

[13]. Общая характеристика обследованных мужчин и женщин с ГБ, осложненной ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ, приведена в таблице 1.

В качестве группы сравнения нами были отобраны 30 лиц (15 мужчин и 15 женщин) с ГБ II стадии (1–2-я степень повышения АД) без клинических проявлений ХСН, имевших нормальную систолическую и диастолическую функции ЛЖ и не имевших критериев исключения. В качестве группы контроля отобран 31 нормотензивный человек (15 мужчин и 16 женщин) без клинически значимой патологии. Лица группы контроля, сравнения и основной группы были сопоставимы по возрасту. В таблице 2 представлена общая характеристика обследо-

ую и диастолическую функции ЛЖ и не имевших критериев исключения. В качестве группы контроля отобран 31 нормотензивный человек (15 мужчин и 16 женщин) без клинически значимой патологии. Лица группы контроля, сравнения и основной группы были сопоставимы по возрасту. В таблице 2 представлена общая характеристика обследо-

Таблица 1

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ ОСНОВНОЙ ГРУППЫ (С ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ, ОСЛОЖНЕННОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ С СОХРАНЕННОЙ СИСТОЛИЧЕСКОЙ ФУНКЦИЕЙ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА) (M ± sd)

Показатель	Мужчины (n = 55)	Женщины (n = 49)	Значение p
Возраст, годы	53,7 ± 6,4	51,5 ± 6,2	0,19
ИМТ, кг/м ²	33,6 ± 5,2	30,3 ± 3,6	0,12
Гликированный гемоглобин, %	6,08 ± 0,09	5,92 ± 0,08	0,39
N-концевой предшественник МНП, пг/мл	287 ± 96,9	282 ± 105	0,84
Офисное САД, мм рт. ст.	156 ± 8,8	148 ± 6,4	0,18
Офисное ДАД, мм рт. ст.	90,2 ± 4,4	85,5 ± 5,7	0,32
ЧСС в покое, мин.	74,3 ± 12,5	76,1 ± 8,7	0,21
Фракция выброса, %	62,8 ± 0,68	61,6 ± 0,73	0,27
ИММЛЖ, г/м ²	128 ± 1,52	121 ± 1,17	0,03
Индекс объема ЛП, мл/м ²	36,7 ± 0,36	36,1 ± 0,34	0,24
E/e' среднее, ед.	9,85 ± 0,40	8,63 ± 0,38	0,03
e' среднее, м/с	7,41 ± 0,23	8,31 ± 0,24	0,009

Примечание: ИМТ — индекс массы тела; САД — систолическое артериальное давление; ДАД — диастолическое артериальное давление; ЧСС — частота сердечных сокращений; ИММЛЖ — индекс массы миокарда левого желудочка; ЛП — левое предсердие.

Таблица 2

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УЧАСТНИКОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ИЗ ГРУПП СРАВНЕНИЯ И КОНТРОЛЯ (M ± sd)

Исходный показатель	Группа сравнения (пациенты с ГБ без ХСН)		Группа контроля (лица без клинически значимой патологии)	
	Мужчины (n = 15)	Женщины (n = 15)	Мужчины (n = 15)	Женщины (n = 15)
Возраст, годы	50,4 ± 5,3	49,8 ± 6,7	51,3 ± 4,2	50,1 ± 4,5
ИМТ, кг/м ²	28,6 ± 3,4	29,2 ± 3,1	22,6 ± 1,7	23,2 ± 1,8
Гликированный гемоглобин, %	5,78 ± 0,09	5,62 ± 0,08	5,28 ± 0,06	5,32 ± 0,05
САД, мм рт. ст.	142,5 ± 10,3	145,3 ± 9,8	120,5 ± 7,6	117,1 ± 12,5
ДАД, мм рт. ст.	90,7 ± 12,5	92,4 ± 10,4	75,7 ± 5,1	70,5 ± 7,2
ЧСС, уд/мин	72,4 ± 6,3	76,3 ± 8,7	66,1 ± 7,9	70,5 ± 6,7
ИММЛЖ, г/м ²	121,5 ± 3,8	105,2 ± 7,1	98,9 ± 6,2	91,1 ± 3,3
Индекс объема ЛП, мл/м ²	29,2 ± 1,4	27,6 ± 2,2	26,7 ± 2,4	26,2 ± 1,9
E/e' среднее, ед.	6,66 ± 0,61	6,46 ± 0,63	6,4 ± 0,63	5,9 ± 0,6
e' среднее, м/с	11,81 ± 1,37	12,06 ± 1,09	11,71 ± 1,03	11,93 ± 1,12

Примечание: ГБ — гипертоническая болезнь; ХСН — хроническая сердечная недостаточность; ИМТ — индекс массы тела; САД — систолическое артериальное давление; ДАД — диастолическое артериальное давление; ЧСС — частота сердечных сокращений; ИММЛЖ — индекс массы миокарда левого желудочка; ЛП — левое предсердие.

ванных лиц из групп сравнения и контроля. Как следует из приведенных данных, обследованные обеих групп были среднего возраста, характеризовались нормальными значениями ЧСС покоя. У лиц группы сравнения выявлен повышенный ИМТ, а у субъектов группы контроля — нормальный.

У отобранных после оценки критериев включения/исключения пациентов, а также лиц групп сравнения и контроля в утренние часы натощак исследовали содержание в сыворотке крови С-реактивного белка (СРБ), фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α), интерлейкина-6 (ИЛ-6). Уровень СРБ в венозной крови испытуемых исследовали методом иммуноферментного анализа на аппарате Sapphire-400 (Италия), при этом нормальным уровнем считали таковой менее 5,0 мг/л. Содержание ФНО- α и ИЛ-6 в сыворотке крови оценивали посредством твердофазного иммуноферментного метода с использованием высокочувствительных тест-систем («ВЕКТОР-БЕСТ», Новосибирск). Референсным интервалом условной нормы ФНО- α считали 0–6 пг/мл, а ИЛ-6 — 6–10 пг/мл.

Полученные данные были обработаны с помощью программы Statistica for Windows (версия 10.0). Проверку нормальности распределения проводили методом Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллиефорса. Дихотомические и порядковые качественные данные выражались в виде частот (n) — число объектов с одинаковым значением признака и долей (%). Оценку групповых различий проводили путем определения значения t-критерия Стьюдента (сравнения средних выборок, имеющих нормальное распределение переменных) и зависимости между категориальными переменными по Пирсону (критерия χ^2). Критическим уровнем значимости считали $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

В таблице 3 приведены значения провоспалительных показателей у пациентов с ГБ без ХСН и практически здоровых лиц. Как следует из данных, отраженных в этой таблице, содержание СРБ, ФНО- α , ИЛ-6 в крови у мужчин с ГБ без ХСН находилось в нормальном диапазоне значений, но существенно превышало таковое у мужчин без клинически значимой патологии ($p = 0,001$; $p = 0,002$; $p = 0,004$ соответственно). Уровни СРБ, ФНО- α , ИЛ-6 в крови у женщин с ГБ без ХСН также превосходили аналогичные показатели у женщин без клинически значимой патологии ($p = 0,001$; $p = 0,003$; $p = 0,002$ соответственно). Примечательно, что среди мужчин и женщин в пределах группы сравнения и группы контроля не наблюдалось значимых различий изученных показателей провоспалительного статуса ($p > 0,05$).

Показатели провоспалительного статуса у обследованных пациентов с АГ, осложненной ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ, приведены в таблице 4. Уровень каждого медиатора воспаления у мужчин и женщин находился в референсном диапазоне значений. Как следует из данных этой таблицы, мужчины характеризовались более высокими значениями СРБ, ФНО- α и ИЛ-6 в крови по сравнению с женщинами ($p = 0,001$; $p = 0,002$; $p = 0,001$ соответственно). У мужчин основной группы уровень СРБ, ФНО- α и ИЛ-6 значительно превосходил таковой у мужчин группы сравнения ($p < 0,001$ для каждого показателя). У женщин основной группы уровень этих показателей также оказался выше, чем у женщин группы сравнения (СРБ: $p > 0,05$; ФНО- α : $p < 0,001$; ИЛ-6: $p < 0,01$).

Полученные данные у мужчин и женщин основной группы мы оценили селективно с учетом осо-

Таблица 3

ПОКАЗАТЕЛИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СТАТУСА У ЛИЦ ГРУППЫ СРАВНЕНИЯ И КОНТРОЛЯ (M $\pm$ sd)

Показатель	Группа сравнения (пациенты с ГБ без ХСН)		Группа контроля (лица без клинически значимой патологии)		Значимость различий между подгруппами (1 к 2, 1 к 3, 3 к 4, 2 к 4) (p-значение)
	1	2	3	4	
	Мужчины n = 15	Женщины n = 15	Мужчины n = 15	Женщины n = 16	
СРБ, мг/л	3,58 $\pm$ 0,98	3,42 $\pm$ 1,02	1,95 $\pm$ 1,72	1,85 $\pm$ 1,42	1 к 3, $p = 0,001$ 2 к 4, $p = 0,001$
ФНО- α , пг/мл	3,68 $\pm$ 1,06	3,33 $\pm$ 0,77	2,43 $\pm$ 1,53	2,29 $\pm$ 1,55	1 к 3, $p = 0,002$ 2 к 4, $p = 0,003$
ИЛ-6, пг/мл	3,42 $\pm$ 0,86	3,09 $\pm$ 0,68	2,76 $\pm$ 1,07	2,81 $\pm$ 1,01	1 к 3, $p = 0,004$ 2 к 4, $p = 0,002$

Примечание: СРБ — С-реактивный белок; ФНО- α — фактор некроза опухоли альфа; ИЛ-6 — интерлейкин-6.

Таблица 4

**ПОКАЗАТЕЛИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СТАТУСА У МУЖЧИН И ЖЕНЩИН
С ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ, ОСЛОЖНЕННОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ
С СОХРАНЕННОЙ СИСТОЛИЧЕСКОЙ ФУНКЦИЕЙ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА (M ± sd)**

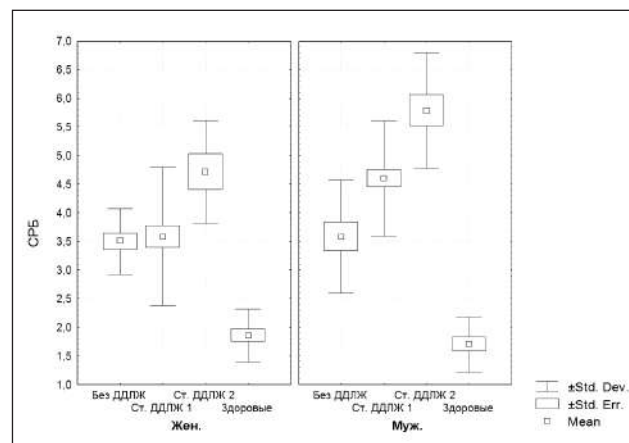
Показатель	Мужчины n = 55	Женщины n = 49	Значимость различий по межгендерному признаку (p-значение)
СРБ, мг/л	4,91 ± 0,15***	3,77 ± 0,17	0,001
ФНО-α, пг/мл	5,81 ± 0,24***	4,74 ± 0,29***	0,002
ИЛ-6, пг/мл	5,52 ± 0,29***	4,21 ± 0,22**	0,001

Примечание: СРБ — С-реактивный белок; ФНО-α — фактор некроза опухоли альфа; ИЛ-6 — интерлейкин-6. Различия показателей у мужчин основной группы и мужчин группы сравнения, а также у женщин основной группы и женщин группы сравнения статистически значимы (** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$).

бенностей нарушений диастолической функции ЛЖ. В соответствии с критериями, предложенными S. F. Nagueh и соавторами (2016) [13], 1-я степень ДД ЛЖ была определена у 41 мужчины и 41 женщины, а 2-я степень — у 14 мужчин и 8 женщин. В результате такого подхода оказалось, что уровень СРБ в крови у мужчин с 1-й степенью ДД ЛЖ существенно уступал таковому у мужчин со 2-й степенью ДД ЛЖ ($p = 0,001$), но значимо его превосходил у женщин с 1-й степенью ДД ЛЖ ($p = 0,001$). Содержание СРБ у мужчин со 2-й степенью ДД ЛЖ значимо превосходило таковое у женщин со 2-й степенью ДД ЛЖ ($p = 0,012$). У женщин с 1-й степенью ДД ЛЖ уровень СРБ оказался меньше, чем у женщин со 2-й степенью ДД ЛЖ ($p = 0,003$). Концентрация ФНО-α у мужчин с 1-й степенью ДД ЛЖ существенно уступала таковой у мужчин со 2-й степенью ДД ЛЖ ($p = 0,001$), но существенно его превосходила у женщин с 1-й степенью ДД ЛЖ ($p = 0,005$). Содержание ФНО-α у мужчин со 2-й степенью ДД ЛЖ несколько превосходило таковое у женщин со 2-й степенью ДД ЛЖ ($p = 0,06$). У женщин с 1-й степенью ДД ЛЖ уровень ФНО-α оказался меньше, чем у женщин со 2-й степенью ДД ЛЖ ($p = 0,001$). Концентрация ИЛ-6 у мужчин с 1-й степенью ДД ЛЖ значимо уступала таковой у мужчин со 2-й степенью ДД ЛЖ ($p = 0,001$), но значимо его превосходила у женщин с 1-й степенью ДД ЛЖ ($p = 0,015$). Содержание ИЛ-6 у мужчин со 2-й степенью ДД ЛЖ отчетливо превосходило таковое у женщин со 2-й степенью ДД ЛЖ ($p = 0,001$). У женщин с 1-й степенью ДД ЛЖ уровень ИЛ-6 оказался меньше, чем у женщин со 2-й степенью ДД ЛЖ ($p = 0,001$). Применительно к содержанию СРБ, ФНО-α и ИЛ-6 в крови обследованных лиц прослеживалась закономерность, выражавшаяся в том, что каждый из указанных параметров провоспалительного статуса у мужчин значительно превышал таковой у женщин (в пределах выборок с одинаковой степенью ДД

ЛЖ), а у лиц со 2-й степенью ДД ЛЖ существенно превосходил аналогичный у субъектов с 1-й степенью ДД ЛЖ (в пределах мужской и женской выборки). На рисунках 2, 3, 4 наглядно показаны уровни СРБ, ФНО-α, ИЛ-6 у всех категорий обследованных лиц с учетом их гендерной принадлежности, а также разделения пациентов с ХСН на подгруппы в зависимости от степени ДД ЛЖ.

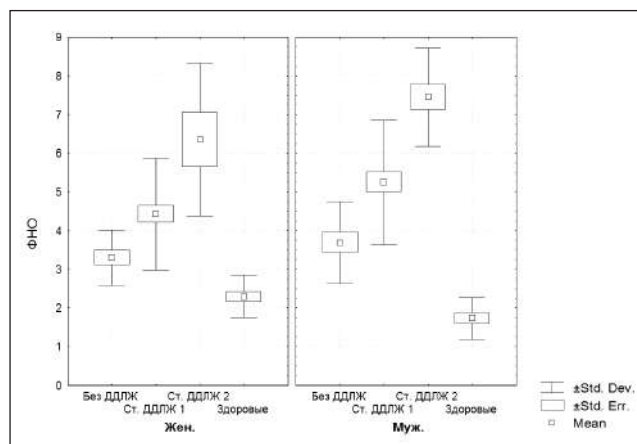
**Рисунок 2. Показатели содержания
С-реактивного белка в крови (мг/л)
в обследованных группах
с учетом гендерной принадлежности**



Примечание: Обследованные группы: пациенты с гипертонической болезнью без хронической сердечной недостаточности и диастолической дисфункции левого желудочка (группа сравнения), больные гипертонической болезнью с хронической сердечной недостаточностью и диастолической дисфункцией левого желудочка 1-й и 2-й степени, здоровые лица (группа контроля). СРБ — С-реактивный белок; ДД ЛЖ — диастолическая дисфункция левого желудочка (1-й и 2-й степени).

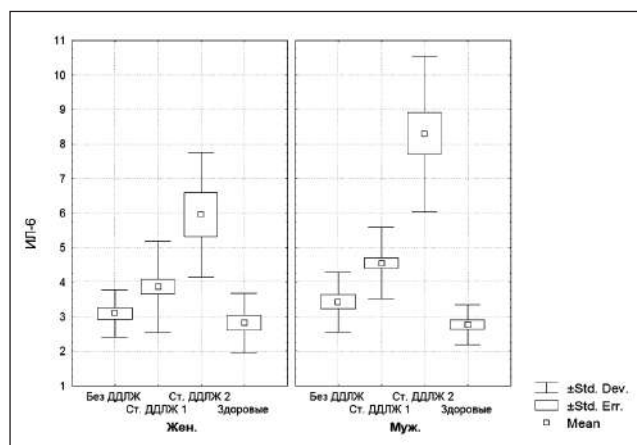
Итак, показатели провоспалительного статуса (СРБ, ФНО-α, ИЛ-6), соответствуя нормативному диапазону значений, оказались выше у мужчин, чем у женщин, как при неосложненной АГ, так и при наличии ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ. Присоединение

Рисунок 3. Показатели содержания фактора некроза опухоли альфа в крови (пг/мл) в обследованных группах с учетом гендерной принадлежности



Примечание: Обследованные группы: пациенты с гипертонической болезнью без хронической сердечной недостаточности и диастолической дисфункции левого желудочка (группа сравнения), больные гипертонической болезнью с хронической сердечной недостаточностью и диастолической дисфункцией левого желудочка 1-й и 2-й степени, здоровые лица (группа контроля). ФНО — фактор некроза опухоли; ДД ЛЖ — диастолическая дисфункция левого желудочка (1-й и 2-й степени).

Рисунок 4. Показатели содержания интерлейкина-6 в крови (пг/л) в обследованных группах с учетом гендерной принадлежности



Примечание: Обследованные группы: пациенты с гипертонической болезнью без хронической сердечной недостаточности и диастолической дисфункции левого желудочка (группа сравнения), больные гипертонической болезнью с хронической сердечной недостаточностью и диастолической дисфункцией левого желудочка 1-й и 2-й степени, здоровые лица (группа контроля). ИЛ-6 — интерлейкин-6; ДД ЛЖ — диастолическая дисфункция левого желудочка (1-й и 2-й степени).

сердечной недостаточности было ассоциировано с дополнительным приростом уровня СРБ, ФНО- α , ИЛ-6 в крови и у мужчин, и у женщин. Более тяжелая (вторая) степень ДД ЛЖ характеризовалась большими значениями этих лабораторных маркеров воспаления относительно начальной (первой)

степени ДД ЛЖ как среди мужчин, так и среди женщин.

Обсуждая полученные данные, следует указать на специфичность обследованной нами выборки. Включенные в исследование пациенты основной группы характеризовались мягким умеренным повышением АД (несмотря на применение большинством из них различных антигипертензивных препаратов), что было установлено в офисных условиях и соответствовало дизайну исследования. У абсолютного большинства мужчин и женщин основной группы было диагностировано абдоминальное ожирение алиментарно-конституционального генеза 1–2-й степени, а у части из них — сахарный диабет 2-го типа. В приведенной выборке обследованных лиц на основе современных критериев была верифицирована ХСН с сохраненной сократительной способностью ЛЖ. Согласно дизайну работы, у всех пациентов отмечалась ХСН вследствие эссенциальной гипертензии. В значительной мере эти особенности клинического портрета предопределили специфичность их провоспалительного паттерна относительно групп сравнения и контроля. Оценка изученных показателей выполнена с учетом обеспеченной по ряду признаков сопоставимости обследованных мужчин и женщин. Таким образом, следует подчеркнуть, что интерпретация полученных данных не может быть выполнена исключительно с позиций дисфункции ЛЖ, но должна учитывать весь комплекс факторов, ответственных за провоспалительный паттерн.

Действительно, в течение последних двух десятилетий в научных изданиях активно обсуждается патогенетическое и прогностическое значение воспаления при кардиоваскулярных заболеваниях. Твердо доказано, что неспецифическое низкоинтенсивное воспаление, наблюдаемое при ГБ, ассоциировано с поражением органов-мишеней [14–16]. Вместе с тем в литературе не представлено убедительных сведений о гендерных различиях медиаторов воспаления при ГБ и ХСН. В нашей же работе отчетливо прослеживается преобладание уровней изученных показателей у мужчин над таковыми у женщин только при наличии присоединившейся ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ.

Воспалительный фенотип характерен для сопутствующих гипертензии состояний (атеросклероз, ожирение, метаболический синдром, сахарный диабет, фибрилляция предсердий, сердечная недостаточность) [17–19]. В реализации клинических проявлений кардиоваскулярных заболеваний большое значение имеет тесный патогенетический альянс воспаления, оксидативного стресса, дислипиде-

мии, эндотелиальной дисфункции, существующий в условиях гиперактивности нейрогуморальных регуляторных систем (симпатоадреналовой, ренин-ангиотензин-альдостероновой).

Актуальным патогенетическим звеном проблемы низкоинтенсивного системного воспаления при ГБ служит абдоминальное ожирение как практически обязательный компонент метаболического синдрома. Висцеральная жировая ткань — активный эндокринный орган, продуцирующий резистин, лептин, адипонектин, грелин, экстрагонадные стероиды с эстрогеновой активностью, цитокины, ангиотензиноген, ингибитор активатора плазминогена-1, липопротеинлипазу, адипсин, ИЛ-6, ФНО- α , ретинолсвязывающий протеин-4 и другие адипокины [20, 21].

Цитокины представляют собой низкомолекулярные белки и полипептиды, продуцируемые и секретируемые во всем организме. Они вовлечены в механизмы иммунной дисфункции, воспаления, восстановления тканей, клеточного роста, апоптоза, инсомнии, а также различных физиологических процессов. Избыточная экспрессия цитокинов, как правило, отражает тяжесть клинических проявлений кардиоваскулярного заболевания, включая резистентную АГ, сердечную недостаточность. Принято считать, что такие цитокины, как ФНО- α , интерферон- α , ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-17, вовлеченные в регуляцию ответа иммунной системы, наделены многочисленными, преимущественно провоспалительными функциями в организме, а ИЛ-4, ИЛ-10 — противовоспалительными. Трансформирующий фактор роста бета, секретируемый в раннюю фазу иммунного ответа, обладает противовоспалительными свойствами, однако по мере стабилизации заболевания этот белок способствует прогрессированию фиброза [22–24]. О том, что выраженность воспалительного фенотипа при метаболическом варианте АГ в определенной мере ассоциирована с характером поражения органов-мишеней и коморбидной патологии (гипертрофии ЛЖ, дилатации ЛП, сахарного диабета 2-го типа, фибрилляции предсердий, неалкогольной жировой болезни печени), нами сообщалось в ранее опубликованных работах [25–28].

В последние два десятилетия получены твердые доказательства того, что гиперэкспрессия провоспалительных цитокинов играет важную роль в патогенезе ХСН [29]. Установлено неблагоприятное влияние иммунной активации, присущей пациентам с ХСН со сниженной сократительной способностью ЛЖ, на выживаемость при долгосрочном наблюдении. Вместе с тем известно, что лица с ХСН в сочетании с сохраненной ФВ этой камеры

сердца, которым свойственен менее выраженный цитокиновый шторм, характеризуются несколько лучшим, но в целом неблагоприятным отдаленным прогнозом.

Продуцируемые интрамиокардиально провоспалительные цитокины могут поступать в системный кровоток и напрямую оказывать стимулирующее влияние на иммунную систему, что реализуется активацией молекул клеточной адгезии, моноклеарных клеток, с последующим синтезом последними нового пула провоспалительных цитокинов [30].

Воспалительный компонент, сопутствующий локальной экспрессии ФНО- α , считается важным фактором дисфункции и ремоделирования миокарда при ХСН [31]. Для сердечной недостаточности характерен некий порочный круг, при котором цитокины стимулируют миофибробласты, в результате чего ускоряется развитие интерстициального фиброза в миокарде и ухудшается его диастолическая функция. Механический стресс, обусловленный ДД ЛЖ, служит стимулом для гиперпродукции хемокинов, влияющих на активность воспалительных клеток, замыкающих порочный круг.

При незначительном повышении интрамиокардиального и сывороточного содержания провоспалительных цитокинов (в частности, ФНО- α , ИЛ-6), присущем для ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ, как правило, наблюдаются минимальная интерстициальная инфильтрация миокарда, незначительная умеренная гиперэкспрессия натрийуретических пептидов, очень характерны гипертрофия ЛЖ и ухудшение диастолической функции этой камеры сердца [32].

Выявленная нами фактически линейная зависимость уровня медиаторов воспаления и релаксационных нарушений ЛЖ нашла подтверждение и в работах других авторов. Так, С. К. Wu и соавторы (2011) указали на наличие ассоциации уровня ФНО- α и ИЛ-6 в крови с тканевыми доплерографическими параметрами диастолической функции ЛЖ (прямая связь с показателем E/e' и отрицательная связь с показателем e') у пациентов с ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ [33]. Авторами было отмечено, что способность кардиомиоцитов синтезировать ФНО- α возрастает по мере увеличения напряжения стенки сердца конечного диастолического давления в полости ЛЖ, то есть при диастолическом стрессе. В целом в настоящей работе удалось показать, что содержание СРБ, ФНО- α , ИЛ-6 отчетливо зависит от тяжести миокардиальной диастолической дисфункции как среди мужчин, так и женщин.

Выводы

1. По сравнению с женщинами, мужчины с ГБ, осложненной ХСН с сохраненной сократительной способностью ЛЖ, характеризуются более высоким содержанием в крови таких маркеров провоспалительного статуса, как СРБ, ФНО- α , ИЛ-6.

2. Формирование клинического синдрома ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ при ГБ ассоциировано с усилением напряженности провоспалительного паттерна как среди мужчин, так и женщин.

3. Независимо от гендерной принадлежности, у пациентов с ГБ в сочетании со 2-й степенью ДД ЛЖ наблюдаются значительно более высокие (относительно 1-й степени) величины концентрации СРБ, ФНО- α , ИЛ-6 в крови.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Терещенко С.Н., Жиров И.В., Нарусов О.Ю., Мареев Ю.В., Затеишчиков Д.А., Осмоловская Ю.Ф. и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению хронической и острой сердечной недостаточности. Кардиол. вестн. 2016;11(2):3–33. [Tereshchenko SN, Zhirov IV, Narusov OYu, Mareev YuV, Zateishchikov DA, Osmolovskaya YuF et al. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of chronic and acute heart failure. Kardiologicheskii Vestnik = Cardiology Bulletin. 2016;11(2):3–33. In Russian].
2. Фомин И.В. Хроническая сердечная недостаточность в Российской Федерации: что мы сегодня знаем и что должны делать. Рос. кардиол. журн. 2016;8(8):7–13. Fomin IV. Chronic heart failure in Russian Federation: what do we know and what to do? Russian Journal of Cardiology. 2016;8(8):7–13. In Russian].
3. Aivaldi VM, Lenzi J, Castaldini I, Urbinati S, Di Pasquale G, Morini M et al. Hospital readmissions of patients with heart failure: the impact of hospital and primary care organizational factors in Northern Italy. PLoS One. 2015;10(5): e0127796.
4. Mebazaa A, Yilmaz M, Levy P, Ponikowski P, Peacock WF, Laribi S et al. Recommendations on pre-hospital & hospital management of acute heart failure: a consensus paper from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, the European Society of Emergency Medicine and the Society of Academic Emergency Medicine. Eur J Heart Fail. 2015;17(6):544–558.
5. Fonarow G, Stough W, Abraham W, Albert NM, Gheorghiade M, Greenberg BH et al. Characteristics, treatments, and outcomes of patients with preserved systolic function hospitalized for heart failure. J Am Coll Cardiol. 2007;50(8):768–777.
6. Lam CSP, Roger VL, Rodeheffer RJ, Borlaug BA, Enders FT, Redfield MM. Pulmonary hypertension in heart failure with preserved ejection fraction. J Am Coll Cardiol. 2009;53(13):1119–1126.
7. Ammar KA, Jacobsen SJ, Mahoney DW, Kors JA, Redfield MM, Burnett JC Jr et al. Prevalence and prognostic significance of heart failure stages: 39 application of the American College of Cardiology. American Heart Association heart failure staging criteria in the 40 community. Circulation. 2007;115(12):1563–1570.
8. Ho J, Gona P, Pencina M, Tu JV, Austin PC, Vasan RS et al. Discriminating clinical features of heart failure with preserved vs. reduced ejection fraction in the community. Eur Heart J. 2012;33(14):1734–1741. doi:10.1093/eurheartj/ehs070.
9. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JG, Coats AJ et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. Eur J Heart Fail. 2016;18(8):883–1084.
10. Чазова И.Е., Ратова Л.Г., Бойцов С.А., Небиеридзе Д.В. Диагностика и лечение артериальной гипертензии (Рекомендации Российского медицинского общества по артериальной гипертензии и Всероссийского научного общества кардиологов). Системные гипертензии. 2010;3:5–26. [Chazova IE, Ratova LG, Boitsov SA, Nebieridze DV. Diagnosis and treatment of hypertension (Recommendations of the Russian Medical Society for hypertension and of All-Russian Scientific Society of Cardiology). Systemnye Gipertenzii = Systemic Hypertension. 2010;3:5–26. In Russian].
11. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redón J, Zanchetti A, Böhm M et al. ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. Hypertension. 2013;31(7):1281–1357.
12. Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т., Арутюнов Г.П., Коротеев А.В., Мареев Ю.В., Овчинников А.Г. и др. Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН (четвертый пересмотр). Сердечная недостаточность. 2013;14(7):379–472. [Mareev VY, Ageev FT, Arutyunov GP, Koroteev AV, Mareev YuV, Ovchinnikov AG et al. National guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure (fourth revision). Heart Failure. 2013;14(7):379–472. In Russian].
13. Nagueh SF, Smiseth OA, Appleton CP, Byrd BF 3rd, Dokainish H, Edvardsen T et al. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. J Am Soc Echocardiogr. 2016;29(4):277–314. doi:10.1016/j.echo.2016.01.011.
14. Pedrinelli R, Dell’Omo G, Di Bello V, Pellegrini G, Pucci L, Del Prato S et al. Low-grade inflammation and microalbuminuria in hypertension. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2004;24(12):2414–2419.
15. Tsioufis C. Relation of left ventricular concentric remodeling to levels of C-reactive protein and serum amyloid A in patients with essential hypertension. Am J Cardiol. 2005;96(2):252–256.
16. Watanabe T, Yasunari K, Nakamura M, Maeda K. Carotid artery intima-media thickness and reactive oxygen species in hypertensive patients. J Hum Hypertens. 2006;20(5):336–340.
17. Chew BH, Mastura I, Shariff-Ghazali S, Lee PY, Cheong AT, Ahmad Z et al. Determinants of uncontrolled hypertension in adult type 2 diabetes mellitus: an analysis of the Malaysian diabetes registry 2009. Cardiovasc Diabetol. 2012;11:54. doi:10.1186/1475–2840–11–54.
18. Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. Diabetes Res Clin Pract. 2014;105(2):141–150.
19. Kologrivova IV, Suslova TE, Koshel’skaya OA, Vinitskaya IV, Trubacheva OA. System of matrix metalloproteinases and cytokine secretion in type 2 diabetes mellitus and impaired carbohydrate tolerance associated with arterial hypertension. Bull Exp Biol Med. 2014;156(5):635–638. doi:10.1007/s10517–014–2413–4.
20. Wajchenberg BL. Depot specific hormonal characteristics of subcutaneous and visceral adipose tissue and their relation to the metabolic syndrome. Horm Metab Res. 2002;34(11):616–621.
21. Rosen ED. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. Nature. 2006;14(444):847–853.
22. Davidson A, Diamond B. Advances in immunology: autoimmune diseases. N Engl J Med. 2001;345(5):340–350.

23. Williams J, Meyers J. Immune-mediated inflammatory disorders (I.M.I.D.s): the economic and clinical costs. *Am J Manag Care*. 2002;8(21):664–681.

24. Camelliti P, Borg TK, Kohl P. Structural and functional characteristic of cardiac fibroblasts. *Cardiovasc Res*. 2005;65(1):40–51.

25. Таланцева М. С., Жданов К. В., Шустов С. Б., Барсуков А. В., Козлов К. В., Свеклина Т. С. Особенности суточного профиля артериального давления у больных артериальной гипертензией в сочетании с хроническим с вирусным гепатитом С. Артериальная гипертензия. 2012;18(1):62–66. [Talentseva MS, Zhdanov KV, Shustov SB, Barsukov AV, Kozlov KV, Sveklina TS. Features of circadian blood pressure profile in patients with hypertension combined with chronic viral hepatitis C. *Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension*. 2012;18(1):62–66. In Russian].

26. Барсуков А. В., Таланцева М. С., Коровин А. Е., Миροхина М. А., Дыдышко В. Т., Васильев В. Н. Эссенциальная гипертензия и воспаление. *Вестн. Росс. Воен. Мед. Акад.* 2013;4(44):229–235. [Barsukov AV, Talentseva MS, Korovin AE, Mirokhina MA, Dydyshko VT, Vasiliev VN. Essential hypertension and inflammation. *Vestn. Ross. Militar. Med. Acad.* 2013;4(44):229–235. In Russian].

27. Свеклина Т. С., Таланцева М. С., Барсуков А. В. Метаболический синдром и воспаление: актуальные вопросы патогенеза. Клиническая лабораторная диагностика. 2013;3:7–10. [Sveklina TS, Talentseva MS, Barsukov AV. The metabolic syndrome and inflammation: actual issues of pathogenesis. *Klin Lab Diagnost.* 2013;3:7–10. In Russian].

28. Барсуков А. В. Гипертоническое сердце в терапевтической практике. ЭЛБИ-СПб, 2016. 384 с. [Barsukov AV. Hypertensive heart in therapeutic practice. ELBI-SPb, 2016. 384 p. In Russian].

29. Jahan A, Ullah M. The cytokines and heart failure-A review. *Cardiovasc J*. 2011;3(2):200–212.

30. Hwang S, Harris T, Wilson N, Maisel AS. Immune function in patients with chronic stable congestive heart failure. *Am Heart J*. 1993;125(6):1651–1658.

31. Kosar F, Aksoy Y, Ozguntekin G, Ozerol I, Varol E. Relationship between cytokines and tumour markers in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2008;8(3):270–274.

32. Niethammer M, Siebera M, von Haehling S, Anker SD, Munzel T, Horstick G et al. Inflammatory pathways in patients with heart failure and preserved ejection fraction. *Int J Cardiol*. 2008;129(1):111–117.

33. Wu CK, Lee JK, Chiang FT, Yang CH, Huang SW, Hwang JJ et al. Plasma levels of tumor necrosis factor- α and interleukin-6 are associated with diastolic heart failure through down regulation of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase. *Crit Care Med*. 2011;39(5):984–992.

Информация об авторах

Барсуков Антон Владимирович — доктор медицинских наук, профессор, заместитель начальника кафедры госпитальной терапии ФГБВОУ ВО «ВМА им. С. М. Кирова» Минобороны РФ;

Сеидова Алла Юрьевна — врач-кардиолог ФКУЗ МСЧ МВД России по СПб и ЛО;

Гордиенко Александр Волеславович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии ФГБВОУ ВО «ВМА им. С. М. Кирова» Минобороны РФ;

Сергеев Александр Иосифович — кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной терапии ФГБВОУ ВО «ВМА им. С. М. Кирова» Минобороны РФ;

Лейчинский Сергей Валентинович — кандидат медицинских наук, ведущий терапевт ФКУЗ МСЧ МВД России по СПб и ЛО.

Author information

Anton V. Barsukov, MD, PhD, DSc, Professor, Deputy Head, Department of Internal Diseases, Military Medical Academy named after S. M. Kirov;

Alla Yu. Seidova, MD, Cardiologist, Health Unit of Internal Ministry of the Russian Federation in St Petersburg and Leningrad region;

Aleksandr V. Gordienko, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Department of Internal Diseases, Military Medical Academy named after S. M. Kirov;

Aleksandr I. Sergeev, MD, PhD, Associate Professor, Department of Internal Diseases, Military Medical Academy named after S. M. Kirov;

Sergey V. Leychinsky, MD, PhD, MD, Leading Physician, Health Unit of Internal Ministry of the Russian Federation in St Petersburg and Leningrad region.

ISSN 1607-419X
ISSN 2411-8524 (Online)
УДК 616.12-092.9:615.22

Кардиопротективные эффекты некростатина-1s и некросульфонамида на модели длительной холодовой консервации донорского сердца крысы

Ю. В. Дмитриев, С. М. Минасян, Е. А. Демченко,
В. К. Байрашева, М. М. Галагудза^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Национальный медицинский исследовательский центр
имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет имени академика И. П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Дмитриев Юрий Валерьевич,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России, ул. Аккуратова,
д. 2, Санкт-Петербург, 197341, Россия
E-mail: yury.v.dmitriev@gmail.com

Статья поступила в редакцию
28.08.17 и принята к печати 01.10.17.

Резюме

Цель исследования. Изучить влияние ингибиторов некроптоза — некросульфонамида и некростатина-1s — на морфофункциональное состояние миокарда на модели длительной холодовой консервации донорского сердца крысы. **Материалы и методы.** Исследование проведено на 27 крысах стока Wistar. Животные были разделены на следующие группы: 1) контроль ($n = 7$), 2) диметилсульфоксид (ДМСО, $n = 6$), 3) некростатин-1s ($n = 8$), 4) некросульфонамид ($n = 6$). Все исследуемые соединения вводились внутривенно за 1 час до начала эксперимента. В качестве консервирующего агента был использован охлажденный до 4 °C кустодиол. ДМСО был использован в качестве растворителя для некростатина-1s и некросульфонамида. Во время эксперимента регистрировались давление в левом желудочке, частота сердечных сокращений и скорость коронарного потока. По окончании 8-часовой ишемии и 2-часовой реперфузии планиметрически оценивали размер некроза. **Результаты.** Некростатин-1s и некросульфонамид обладают кардиопротективными эффектами, о чем свидетельствуют значительно более низкие объемы некроза миокарда в данных группах, а также лучшие показатели внутрисердечной гемодинамики в период реперфузии. В группах некросульфонамида и некростатина-1s размер некроза миокарда составил $32,2 \pm 9,6$ и $29,0 \pm 9,2$ %, что значительно меньше, чем в группах контроля и ДМСО ($54,4 \pm 6,6$ и $59,2 \pm 5,6$ % соответственно; $p < 0,05$). В период реперфузии в группах некросульфонамида и некростатина-1s регистрировались более высокие значения пульсового внутрижелудочкового давления и скорости коронарного потока, а также более низкое диастолическое внутрижелудочковое давление, чем в группах контроля и ДМСО ($p < 0,05$). **Выводы.** Ингибиторы некроптоза некростатин-1s и некросульфонамид улучшают морфофункциональное состояние миокарда при длительной холодовой консервации донорского сердца.

Ключевые слова: некроптоз, холодовая консервация донорского сердца, кардиопротекция, ишемическое и реперфузионное повреждение миокарда, некросульфонамид, некростатин-1s

Для цитирования: Дмитриев Ю. В., Минасян С. М., Демченко Е. А., Байрашева В. К., Галагудза М. М. Кардиопротективные эффекты некростатина-1s и некросульфонамида на модели длительной холодовой консервации донорского сердца крысы. Артериальная гипертензия. 2017;23(5):468–471. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-468-471

Cardioprotective effects of necrostatin-1s and necrosulfonamide in the model of prolonged static cold storage of the donor rat heart

Yu. V. Dmitriev¹, S. M. Minasian¹, E. A. Demchenko¹,
V. K. Bayrasheva¹, M. M. Galagudza^{1,2}

¹ Almazov National Medical Research Centre,
St Petersburg, Russia

² First Pavlov Federal Medical University of St. Petersburg,
St Petersburg, Russia

Corresponding author:

Yuri V. Dmitriev,
Almazov National Medical
Research Centre,
2 Akkuratov str., St Petersburg,
Russia, 197341.
E-mail: yury.v.dmitriev@gmail.com

Received 28 August 2017;
accepted 1 October 2017.

Abstract

Objective. To investigate the effects of necroptosis inhibitors — necrosulfonamide and necrostatin-1s — on morphofunctional characteristics of the myocardium in the model of prolonged cold preservation of the donor rat heart. **Design and methods.** The study was performed on 27 Wistar rats. The animals were divided into the following groups: 1) control (n = 7), 2) dimethylsulfoxide (DMSO, n = 6), 3) necrostatin-1s (n = 8), 4) necrosulfonamide (n = 6). All test compounds were administered intraperitoneally 1 hour before the start of the experiment. Histidine-tryptophan-ketoglutarate (HTK) solution cooled to 4 °C was used as a preservative agent. DMSO was used as a solvent for necrostatin-1s and necrosulfonamide. During the experiment, left ventricular pressure, heart rate and coronary flow were recorded. At the end of 8-hour of ischemia and 2-hour of reperfusion, myocardial infarct size was planimetrically evaluated. **Results.** Necrostatin-1s and necrosulfonamide show cardioprotective effects, as evidenced by the significantly lower levels of myocardial necrosis in these groups, as well as the best indices of intracardiac hemodynamics during reperfusion. In the groups of necrosulfonamide and necrostatin-1s, myocardial infarct size was $32,2 \pm 9,6$ and $29,0 \pm 9,2$ %, respectively, which is significantly lower than in control groups and DMSO ($54,4 \pm 6,6$ and $59,2 \pm 5,6$ %, respectively, $p < 0,05$). During reperfusion in necrosulfonamide and necrostatin-1s groups, higher values of pulse intraventricular pressure and coronary flow rates were recorded, as well as lower diastolic intraventricular pressure, compared to control group and DMSO ($p < 0,05$). **Conclusions.** Necroptosis inhibitors necrostatin-1s and necrosulfonamide improve morphofunctional characteristics of the myocardium state during prolonged cold preservation of the donor heart.

Key words: necroptosis, cold preservation of the donor heart, cardioprotection, myocardial ischemia and reperfusion injury, necrosulfonamide, necrostatin-1s

For citation: Dmitriev YuV, Minasian SM, Demchenko EA, Bayrasheva VK, Galagudza MM. Cardioprotective effects of necrostatin-1s and necrosulfonamide in the model of prolonged static cold storage of the donor rat heart. *Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension*. 2017;23(5):468–471. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-468-471

Введение

Прогноз пациентов, перенесших операцию трансплантации сердца, во многом определяется качеством защиты миокарда донора от момента его изъятия до момента имплантации сердца реципиенту. Для защиты сердца от ишемиче-

ского и реперфузионного повреждения используют консервирующие растворы. В последние годы пристальное внимание исследователей привлекают данные о возможности использования в качестве кардиопротекторов ингибиторов некроптоза. Данный вид клеточной гибели характеризуется

морфологическими признаками некроза, но имеет молекулярные мишени для подавления, такие как RIP1/RIP3-киназы (receptor-interacting protein kinases, взаимодействующая с рецептором протеинкиназы I и III), MLKL-псевдокиназа (mixed lineage kinase domain-like, доменоподобный белок киназы смешанной линии) и другие.

В нашей предыдущей работе нами была продемонстрирована способность ингибитора некроптоза некростатина-1 (Nec-1) оказывать кардиопротективные эффекты в условиях длительной холодовой консервации изолированного сердца крысы [1]. К сожалению, Nec-1 обладает узкой терапевтической широтой и может в высоких концентрациях оказывать противоположный эффект в виде увеличения количества гибнущих клеток [2].

Цель настоящего исследования — изучить влияние высокоактивных и низкотоксичных ингибиторов некроптоза — некросульфонида (NSA) и некростатина-1s (Nec-1s) — на морфофункциональное состояние миокарда в условиях длительной холодовой консервации донорского сердца крысы.

Материалы и методы

Все эксперименты были проведены в соответствии с «Руководством по уходу и использованию лабораторных животных» (публикация Национального института здоровья, США № 85–23) и были одобрены локальным этическим комитетом.

Эксперименты выполнены на 27 крысах-самцах стока Wistar массой 250–350 г, наркотизированных хлоралгидратом в дозе 450 мг/кг. Животные были разделены на 4 группы: 1) контроль (Кон) ($n = 7$); 2) диметилсульфоксид (ДМСО) ($n = 6$); 3) NSA ($n = 6$); 4) Nec-1s ($n = 8$). Все животные за 1 час до эксперимента получили внутрибрюшинную инъекцию физиологического раствора (группа Кон), либо ДМСО (группа ДМСО), либо NSA или Nec-1s в ДМСО (группы NSA или Nec-1s соответственно). NSA и Nec-1s вводились внутрибрюшинно в дозе 1,65 мг/кг за 1 час до эксперимента. После изъятия сердца из грудной полости его подключали к модифицированному аппарату Лангендорфа. В стабилизационном периоде и в периоде реперфузии регистрировались диастолическое и пульсовое внутрижелудочковое давление (ДВЖД и ПВЖД соответственно), а также скорость коронарного потока (СКП). По окончании 10-минутного стабилизационного периода в сердце в течение 4 минут вводился охлажденный до 4 °С кустодиол (НТК). Затем перфузия сердца останавливалась на 8 часов с целью моделирования глобальной ишемии миокарда. В течение всего периода ишемии тем-

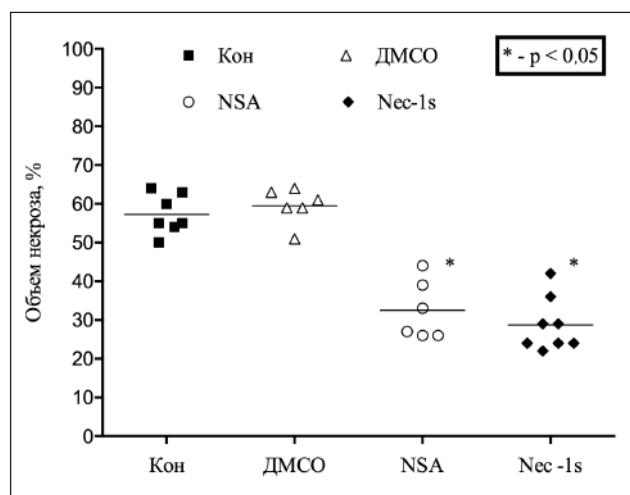
пература сердца поддерживалась на уровне 4 °С. По окончании 8-часового периода ишемии производилось возобновление перфузии оксигенированным раствором Кребса при температуре 37 °С. После 2-часовой реперфузии проводились окраска срезов сердца в 1-процентном растворе трифенилтетразолия хлорида (ТТХ) и расчет объема некроза миокарда.

Результаты представлены в виде «среднее $\pm$ среднеквадратическое отклонение». Значимость различий в размере некроза миокарда оценивали с помощью *U*-критерия Манна–Уитни с использованием программы Statistica 10.0. Различия между группами по внутрисердечной гемодинамике оценивали с помощью ANOVA теста с использованием критерия Тьюки в программе SPSS 24 (IBM Inc.). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

В группе NSA размер некроза миокарда составил $32,2 \pm 9,6\%$, что существенно ниже, чем в группах Кон и ДМСО ($54,4 \pm 6,6$ и $59,2 \pm 5,6\%$; $p < 0,05$). В группе Nec-1s размер некроза миокарда составил $29,0 \pm 9,2\%$ и также был существенно меньше, чем в группах Кон и ДМСО ($p < 0,05$) (рис.).

Объем некроза миокарда в экспериментальных группах



Примечание: ДМСО — диметилсульфоксид; Кон — контрольная группа; NSA — некросульфонида; Nec-1s — некростатин-1s; * — $p < 0,05$ по сравнению с группами Кон и ДМСО.

В группах NSA и Nec-1s во время реперфузии миокарда наблюдались значимо более высокие значения СКП по сравнению с группами Кон и ДМСО ($p < 0,01$ для каждой из групп). Также наблюдалось существенно меньшее значение ДВЖД и значимо большее значение ПВЖД в группах NSA и Nec-1s

по сравнению с группами Кон и ДМСО ($p < 0,05$ для каждого параметра и группы).

К настоящему времени кардиопротективные эффекты ингибиторов некроптоза при ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда доказаны в целом ряде исследований [3–6]. Однако в большинстве этих исследований в качестве ингибитора некроптоза выступал Nec-1, обладающий узкой терапевтической широтой. Исследования, посвященные наиболее перспективным с позиций трансляционной медицины ингибиторам некроптоза, таким как Nec-1s и NSA, до настоящего времени отсутствуют. Кроме того, работы, в которых изучается значение некроптоза при трансплантации донорского сердца, единичны. Фактически единственной опубликованной к настоящему времени работой является работа А. Pavlovsky с соавторами (2014), в которой подавление некроптоза приводило к лучшей выживаемости клеток сердечного трансплантата, лучшему морфофункциональному состоянию миокарда и меньшей лейкоцитарной инфильтрации при экспериментальной трансплантации сердца [7].

Выводы

Таким образом, в нашей работе впервые показаны кардиопротективные эффекты NSA и Nec-1s на модели длительной холодовой консервации донорского сердца крысы.

Финансирование / Financial support

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-04-02061 «МикроРНК-223–5р и –3р — зависимые механизмы некроптоза в миокарде сердечного аллогraftа при трансплантации донорского сердца». / The study was supported by the grant of the Russian Foundation of Fundamental Studies, project № 17-04-02061 “MicroRNA 223–5p and –3p — dependent mechanisms of necroptosis in the myocardium of heart allograft after heart transplantation”.

Список литературы / References

1. Dmitriev Y, Minasyan S, Vasina L, Demchenko E, Galagudza M. Effects of inhibitors of necroptosis and autophagy on morphofunctional characteristics of the myocardium during static cold storage of donor rat heart. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015;159(6):792–795. <https://doi.org/10.1007/s10517-015-3078-3>
2. Takahashi N, Duprez L, Grootjans S, Cauwels A, Nerinckx W, Du Hadaway J et al. Necrostatin-1 analogues: critical issues on the specificity, activity and in vivo use in experimental disease models. *Cell Death Disease*. 2012;3: e437. doi:10.1038/cddis.2012.176
3. Smith C, Davidson S, Lim S, Simpkin J, Hothersall J, Yellon D. Necrostatin: A potentially novel cardioprotective agent? *Cardiovasc Drugs Ther*. 2007;21:227–233. doi:10.1007/s10557-007-6035-1

4. Dmitriev Y, Minasian S, Demchenko E, Galagudza M. Study of cardioprotective effects of necroptosis inhibitors on isolated rat heart subjected to global ischemia-reperfusion. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2013; 155(2):245–248. <https://doi.org/10.1007/s10517-013-2124-2>

5. Oerlemans M, Liu J, Arslan f, OudenBen K, Middelaar P, Doevedans PA et al. Inhibition of RIP1-dependent necrosis prevents adverse cardiac remodeling after myocardial ischemia-reperfusion in vivo. *Basic Res. Cardiol*. 2012;107(4):270. doi:10.1007/s00395-012-0270-8

6. Zhao H, Jaffer T, Eguchi S, Wang Z, Linkermann A, Ma D. Role of necroptosis in the pathogenesis of solid organ injury. *Cell Death and Disease*. 2015;6: e1975. doi:10.1038/cddis.2015.316

7. Pavlovsky A, Lian D, Huang X, Yin Z, Haig A, Jevnikar A et al. RIPK3-mediated necroptosis regulates cardiac allograft rejection. *Am J Transpl*. 2014;14(8): 1778–1790. doi:10.1111/ajt.12779

Информация об авторах

Дмитриев Юрий Валерьевич — научный сотрудник института экспериментальной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Минасян Саркис Минасович — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник института экспериментальной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Демченко Елена Алексеевна — доктор медицинских наук, руководитель НИЛ Реабилитации института сердца и сосудов ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Байрашева Валентина Кузьминична — научный сотрудник института эндокринологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Галагудза Михаил Михайлович — доктор медицинских наук, профессор, директор института экспериментальной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information

Yuri V. Dmitriev, MD, Research Fellow, Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Sarkis M. Minasian, MD, PhD, Senior Researcher, Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Elena A. Demchenko, MD, PhD, DSc, Head, Laboratory of Rehabilitation, Institute of Heart and Vessels, Almazov National Medical Research Centre;

Valentina K. Bayrasheva, MD, Research Fellow, Institute of Endocrinology, Almazov National Medical Research Centre;

Mikhail M. Galagudza, MD, PhD, DSc, Professor, Director, Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Centre.

ISSN 1607-419X
ISSN 2411-8524 (Online)
УДК 616.12-008.331.1-036

Возможности прогнозирования возникновения артериальной гипертензии на основе метода проективной классификации

Н. П. Алексеева^{1,2,3}, И. А. Горлова¹, Б. Б. Бондаренко¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр
имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский
государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

³ Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Первый Санкт-Петербургский
государственный медицинский университет имени академика
И. П. Павлова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Горлова Ирина Александровна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.

Тел.: +7(812)702–37–06.

E-mail: gorlova_ia@almazovcentre.ru

*Статья поступила в редакцию
19.04.17 и принята к печати 10.09.17.*

Резюме

Актуальность. Перспективы больных после кардиохирургического вмешательства нередко связываются с основным заболеванием без должного учета возможного негативного прогностического влияния формирующейся с годами полиморбидности, в частности, с развивающейся в различные сроки после операции артериальной гипертензией (АГ). **Цель исследования** — изучение возможности прогнозирования возникновения АГ в различные сроки после кардиохирургического вмешательства по набору показателей, отражающих состояние больного в до- и послеоперационном (госпитальном) периодах с использованием метода классификации, позволяющего уменьшить степень случайности в прогнозировании. **Материалы и методы.** Предпринят ретроспективный анализ результатов длительного (в сроки до 20 лет) послеоперационного наблюдения за 92 больными (66 мужчин и 26 женщин) инфекционным эндокардитом (ИЭ), разделенными на две группы: первую составили 50 пациентов, у которых в различные сроки после операции возникла АГ, остальные 42 больных сформировали группу сравнения. Отбор для исследования больных ИЭ определялся с учетом возможностей использованного статистического метода неоднородностью данной категории больных: по характеру заболевания (первичный и вторичный ИЭ), исходного клапанного поражения, риску кардиохирургического вмешательства с учетом коморбидности, его объема и осложнениям госпитального этапа. **Результаты.** Анализ обсуждаемой совокупности больных выявил гендерзависимое различие структуры прогностически значимых в отношении риска возникновения АГ факторов. Из включенных исходно в анализ 133 признаков выделено в качестве прогностически значимых восемь дооперационных и девять признаков госпитального периода. Общими признаками для прогнозирования АГ у мужчин и женщин оказались только два — возраст на момент операции и возникновение хронической сердечной недостаточности (ХСН) выше II функционального класса в разные сроки после операции. У женщин к значимым факторам риска возникновения АГ относятся отсутствие тромбоэмболических осложнений и ХСН в сочетании с уровнем образования и постоянной формой фибрилляции предсердий до и после операции; у мужчин — возраст, конечный диастолический размер левого желудочка и легочная гипертензия (оба признака с отрицательным знаком), а также толщина межжелудочковой пере-

городки после операции, послеоперационный размер правого желудочка (оба признака с положительным знаком), пароксизмальная фибрилляция предсердий после операции, наличие дооперационной атриовентрикулярной (AV) блокады и митральной недостаточности и ХСН. **Заключение.** Результаты выполненного классификационного исследования риска возникновения АГ на примере больных, оперированных по поводу ИЭ, свидетельствуют о том, что при адекватном биометрическом подходе даже в разнородной группе пациентов возможно выделение прогностических закономерностей.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, проективный метод классификации, критерии отдаленного прогноза, инфекционный эндокардит

Для цитирования: Алексеева Н. П., Горлова И. А., Бондаренко Б. Б. Возможности прогнозирования возникновения артериальной гипертензии на основе метода проективной классификации. Артериальная гипертензия. 2017;23(5):472–480. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-472-480

Forecasting hypertension risk based on the method of projective classification

N. P. Alekseeva^{1,2,3}, I. A. Gorlova¹, B. B. Bondarenko¹

¹ Almazov National Medical Research Centre, St Petersburg, Russia

² Saint-Petersburg State University, St Petersburg, Russia

³ First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, St Petersburg, Russia

Corresponding author:

Irina A. Gorlova,
Almazov National Medical
Research Centre,
2 Akkuratov str., St Petersburg,
197341 Russia.
Phone: +7(812)702–37–06.
E-mail: gorlova_ia@almazovcentre.ru

Received 19 April 2017;
accepted 10 September 2017.

Abstract

Background. Long-term prognosis of the patients after cardiac surgery is often explained by the relation to the main disease without consideration of possible negative prognostic impact of the post-surgery comorbidity, in particular, new-onset hypertension (HTN). **Objective.** To assess the risk of HTN development in patients after surgery for infective endocarditis (IE) in a prospective study. A special method of projective classification was used for decrease the contingency bias by application of several decisive rules instead of one. **Design and methods.** Altogether 92 IE patients (66 male and 26 female) with various valve diseases were retrospectively divided into two groups: fifty patients with HTN composed the first group and forty two formed the comparison group. The post-surgery follow-up period achieved up to 20 years. Initially, 133 pre- and post-surgery characteristics were included in analysis. **Results.** We found a gender-dependent difference in predictive factors. Out of all 133 factors, only eight presurgery variables and nine characteristics of early post-surgery period, were found to be common for men and women in HTN prediction: age at the time of surgery and symptoms of heart failure (HF) after surgery. For women, significant factors also included absence of thromboembolic events and HF after surgery, presence of permanent atrial fibrillation prior surgery and the education level. For men the variants included left ventricular end-diastolic dimension and pulmonary hypertension (both with the negative prediction value), and interventricular septal thickness and post-surgery size of the right ventricle (both with the positive prediction value), HF and arterial fibrillation paroxysms, presence of presurgery

atrioventricular block and mitral insufficiency. **Conclusions.** The projective classification assessment of HTN risk in patients after surgery for IE provided reliable definition of prognostic factors despite the heterogeneous group of patients.

Key words: arterial hypertension, projective classification method, infective endocarditis, long-term prognosis

For citation: Alekseeva NP, Gorlova IA, Bondarenko BB. Forecasting possibilities of arterial hypertension development on the basis of projective classification. Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension. 2017;23(5):472–480. doi: 10.18705/1607-419X-2017-23-5-472-480

Введение

Артериальная гипертензия (АГ) (гипертоническая болезнь) рассматривается в числе возрастзависимых заболеваний, определяющих и формирующих тяжесть коморбидности и прогноз больных с различной патологией по мере их старения. При этом при обсуждении прогноза не всегда уделяется должное внимание структуре формирующейся по мере старения полиморбидности, хотя она может оказаться определяющей в судьбе больных. В частности, это касается пациентов с пороками сердца, в том числе после их хирургической коррекции [1–4]. Полностью относится это и к прооперированным больным первичным и вторичным инфекционным эндокардитом (ИЭ), перспективы которых преимущественно связываются с основным заболеванием без должного учета возможного негативного влияния АГ [5, 6].

Решение задач прогнозирования, как краткосрочного, так и тем более среднесрочного и отдаленного, предполагает необходимость преодоления ограничений, обусловленных изменениями в ходе эволюции патологических процессов прогностической значимости различных факторов и их совокупностей, увеличения риска случайности в прогнозировании [7, 8]. Сложности аналитического процесса усугубляются и тем, что свойственное большинству исследований стремление к формированию групп сравнения, основанное на включении пациентов, сходных по «критериям включения», обычно оказывается иллюзорным ввиду того, что они, будучи сходны даже по средним значениям признаков, обычно различны в совокупности их соотношений [7]. Все это определяет актуальность использования для решения прогностических задач синдромологического подхода, выбора метода многовариантной классификации, обеспечивающей снижение риска случайности [9].

Цель исследования — изучение возможности прогнозирования возникновения АГ в различные сроки после кардиохирургического вмешательства по набору показателей, отражающих состояние больного в до- и послеоперационном (госпитальном) периодах с использованием метода классифи-

кации, уменьшающего степень случайности за счет построения конечного множества дискриминантных функций над разнообразными совокупностями признаков.

Материалы и методы

Основой настоящего ретроспективного исследования являются результаты длительного (в сроки до 20 лет) послеоперационного наблюдения за 92 больными (66 мужчин и 26 женщин) ИЭ.

С учетом возможностей использованного статистического метода выбор для исследования больных ИЭ определялся их неоднородностью по характеру заболевания (первичный и вторичный ИЭ), исходному клапанному поражению, риску кардиохирургического вмешательства с учетом коморбидности, его объема и осложнениям госпитального этапа. Исходно для анализа было выделено 133 признака дооперационного и госпитального этапов, включающие демографические, клинические, лабораторные и инструментальные.

Протезирование аортального клапана (АК) было выполнено 38 мужчинам (16–68 лет; средний возраст — $41,9 \pm 13,2$ года), у одного из них — в сочетании с аортокоронарным шунтированием и у одного — с пластикой трикуспидального клапана (ТК) и 11 женщинам (19–68 лет; $39,2 \pm 19,6$ года). Протезирование митрального клапана (МК) было выполнено 14 мужчинам (16–60 лет; $38,9 \pm 14,1$ года), в том числе у одного — в сочетании с пластикой ТК и 12 женщинам (18–65 лет; $35,2 \pm 15,0$ года), из них у одной — в сочетании с пластикой ТК и у одной — с протезированием ТК и пластикой дефекта межпредсердной перегородки. Двухклапанное протезирование (АК и МК) выполнено 14 мужчинам (17–60 лет; $39,5 \pm 14,1$ года) и 3 женщинам в возрасте 17, 27 и 42 лет.

Из общего числа больных были сформированы две группы. Первую составили 50 пациентов, у которых в различные сроки после операции возникла АГ. Остальные 42 больных вошли в группу сравнения. Среди мужчин АГ зарегистрирована у 36 (54,5%); среди женщин — у 14 (53,8%).

У мужчин повышение артериального давления (АД) отмечалось в более ранние сроки: на первом

году после операции повышение систолического АД (САД) выявлено в 24 случаях (66,7%), на втором году — в одном (2,8%), на третьем — в трех (8,3%) и по одному случаю на шестом, восьмом, девятом и тринадцатом годах наблюдения. Первое повышение диастолического АД (ДАД) у трех больных (8,3%) выявлено на первом году после операции, у двух (5,6%) — на втором, у четырех (11,1%) — на третьем, по два на четвертом, шестом и девятом, и, по одному на восьмом и десятом годах наблюдения. При этом изолированное повышение САД отмечалось у семи мужчин на первом году наблюдения и у одного — на восьмом. Изолированное повышение ДАД констатировано у четырех больных на первом, втором, третьем и четвертом годах наблюдения. У 16 мужчин повышение как САД, так и ДАД отмечалось одномоментно, а у шести — в разные сроки с интервалом от 2 до 9 лет.

У женщин на первом году повышение САД зарегистрировано в трех случаях (21,4%), в двух (14,3%) — на пятом и десятом, по одному (7,1%) — на четвертом, седьмом, девятом, одиннадцатом и восемнадцатом годах наблюдения. Повышение ДАД отмечалось в двух случаях (14,3%) на третьем году, по одному (7,1%) на первом, четвертом, седьмом, девятом, одиннадцатом и восемнадцатом годах наблюдения. У пяти женщин имело место изолированное повышение САД, у пяти — повышение как САД, так ДАД, и у четырех интервал между повышением САД и ДАД варьировал от 2 до 7 лет.

Для решения задачи классификации использован анализ дискриминантных функций (ДФ) как взвешенных комбинаций исходных признаков, ассоциированных с ведущими клинически значимыми прогностическими факторами риска развития АГ. Особенности эволюции и клиники заболеваний закономерно предполагают многообразие сочетаний разных прогностических характеристик и, как следствие, — необходимость решения проблемы редукции размерности, под которой понимается выделение части переменных, описывающих явление так же полно, как и общая совокупность. Это может рассматриваться как шаг к оптимизации анализа, целью которого является определение сочетания факторов, при наличии которых у больных развивается АГ в течение 20 лет послеоперационного наблюдения. В случае, когда редукция размерности оказывается существенно неоднозначной, вместо одной ДФ из большого количества признаков удастся выявить со сходной степенью эффективности по наборам переменных меньшего объема несколько ДФ. Для определенности способ классификации, основанный на анализе структуры множества синонимичных классификаторов, в соответствии

с дуализмом логических принципов оптимальности и проективности [8] был идентифицирован нами как проективный метод классификации [9].

Результаты и обсуждение

В ходе осуществленного исследования подтверждена оправданность проведения гендерзависимого анализа обсуждаемой категории больных, что соответствует литературным данным [10–14]. Отражением этого явилось различие структуры прогностически значимых факторов у мужчин и женщин. У мужчин из 133 признаков отобраны 7 порядковых (со значимостью сравнения распределения у больных с развившейся и неразвившейся АГ по критерию Фишера меньше 0,2) и 12 метрических (со значимостью по критерию Вилкоксона меньше 0,25). Из этих 19 в успешную классификацию по 3–5 переменным вошли 13. У женщин аналогично были отобраны 9 порядковых и 15 метрических, а в классификацию вошли только 7. Из выделенных восьми дооперационных и девяти признаков раннего послеоперационного периода общими для прогнозирования АГ у мужчин и женщин оказались лишь два — возраст на момент операции и наличие хронической сердечной недостаточности (ХСН) (табл. 1). У женщин, кроме того, значимыми факторами возникновения АГ являются отсутствие тромбоэмболических осложнений (ТЭО) и ХСН в сочетании с постоянной формой фибрилляции предсердий (ФП) до и после операции и уровнем образования. У мужчин прогностически значимыми оказались возраст, диастолический размер левого желудочка и легочная гипертензия (оба признака с отрицательным знаком), и с положительным знаком — толщина межжелудочковой перегородки после операции (ТМЖП), послеоперационный размер правого желудочка, пароксизмальная ФП после операции, наличие дооперационной атриовентрикулярной (AV) блокады и митральной недостаточности, а также ХСН.

Количество переменных, использованных в построении локальных ДФ, зависело от того, при каком минимальном объеме популяции (N) достигались приемлемые уровни классификации (P) и не наступало переобучение. В нашем случае количество переменных в ДФ (k) варьировало от трех до пяти. ДФ с одними и теми же параметрами k, P, N были объединены в семейство дискриминантных функций DF (k, P, N), а для каждого индивида было вычислено значение усредненной ДФ MDF (k, P, N) по имеющимся у него ДФ из этого семейства.

Так, в группе мужчин из совокупности ДФ по трем признакам DF (k = 3, P = 0,87, N = 15) обращает на себя внимание ДФ, которая представляет

ПЕРЕЧЕНЬ ПРИЗНАКОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПОЛОМ ОБСЛЕДОВАННЫХ БОЛЬНЫХ

№ п/п	Признаки	Мужчины	Женщины
1	Возраст	+	+
2	Образование	—	+
3	Поражение МК	+	—
4	AV блокада	+	—
5	ТЭ осложнения	—	+
6	КДР ЛЖ	+	—
7	ФП постоянная форма	—	+
8	Использование диуретиков	+	—
9	ВЭКС	+	—
10	ПФП после операции	+	—
11	ФП постоянная форма после операции	—	+
12	Размер ЛП после операции	+	—
13	Размер ПЖ после операции	+	—
14	Толщина ЗС после операции	+	—
15	Толщина МЖП после операции	+	—
16	ХСН после операции	+	+
17	Сердечные гликозиды после операции	—	+

Примечание: МК — митральный клапан; AV блокада — атриовентрикулярная блокада; ТЭ — тромбозмембранные; КДР ЛЖ — конечный диастолический размер левого желудочка; ФП — фибрилляция предсердий; ВЭКС — временный электрокардиостимулятор; ПФП — пароксизмальная фибрилляция предсердий; ЛП — левое предсердие; ПЖ — правый желудочек; ЗС — задняя стенка; МЖП — межжелудочковая перегородка; ХСН — хроническая сердечная недостаточность.

собой линейную комбинацию признаков: наличие ХСН после операции с весом 1,362, ТМЖП с весом 0,349 и возраст с весом 0,068. При этом точность прогнозирования возникновения АГ составила 0,881, ошибки в диагностике имели место в двух случаях (4,8%) при общей вероятности правильной классификации, равной 0,87. Это соответствует более вероятному развитию АГ после операции у мужчин старшей возрастной группы с ХСН и гипертрофией левого желудочка.

Номинативный представитель ДФ по четырем признакам DF ($k = 4$, $P = 0,87$, $N = 19$), обеспечивающий вероятность правильной классификации 0,927, представляет собой линейную комбинацию факторов: постоянная форма ФП после операции (коэффициент при ДФ равен 0,879), ТМЖП с коэффициентом 0,296, возраст (коэффициент 0,095) и послеоперационный размер левого предсердия (ЛП) с отрицательным весом -0,027. Обращает на себя внимание разнонаправленность векторов указанных признаков. Признак ЛП входит в ДФ с отрицательным знаком, остальные — с положительным. Это означает, что больные с большей ТМЖП при меньшем размере ЛП имеют больший риск развития АГ при доле ложных результатов 7,3%.

При прогнозировании риска развития АГ по 5 признакам из семейства DF ($k = 5$, $P = 0,88$, $N = 20$) выделяется ДФ, включающая, как и в случаях ДФ с меньшим числом переменных, наличие

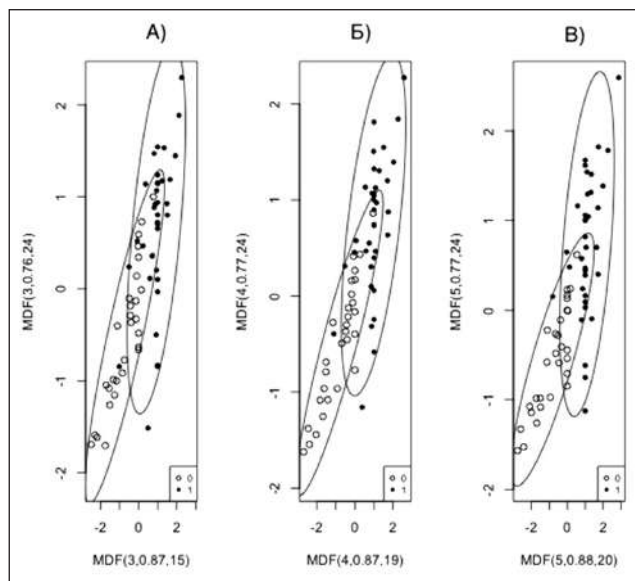
послеоперационной ХСН (1,324), ТМЖП после операции (0,379) и возраст (0,063), постоянную форму ФП после операции (0,935), к которым добавляется признак «дооперационная AV блокада» (0,601). Увеличение числа переменных закономерно увеличило вероятность правильной классификации до 0,905. При этом был констатирован только один ложный результат (2,4%). Таким образом, более вероятными кандидатами на развитие АГ являются мужчины старшей возрастной группы с ХСН, гипертрофией левого желудочка, дооперационной AV блокадой и постоянной формой ФП после операции.

Полученные результаты позволяют предполагать, что прогнозированию риска развития АГ у прооперированных больных мужского пола в большей степени отвечает (с учетом количества ложных результатов) их дискриминация по 4 или 5 признакам. Иллюстрацией этому служат графики рассеяния, отражающие локализацию отдельных больных в зависимости от развития или отсутствия АГ в ходе наблюдения (рис. 1 а, б, в).

Выполнение той же задачи в группе женщин выявило, что наиболее значимой составляющей ДФ является отсутствие перенесенных ТЭО, вошедших в разные ДФ с отрицательным знаком. Результаты прогнозирования развития АГ у женщин иллюстрируют приводимые графики (рис. 2 а, б, в).

У женщин в качестве номинативного представителя семейства DF ($k = 3$, $P = 0,8$, $N = 9$), по-

Рисунок 1. Результаты классификации мужчин в зависимости от развития артериальной гипертензии по усредненным дискриминантным функциям, построенным по трем (А), четырем (Б), пяти (В) признакам

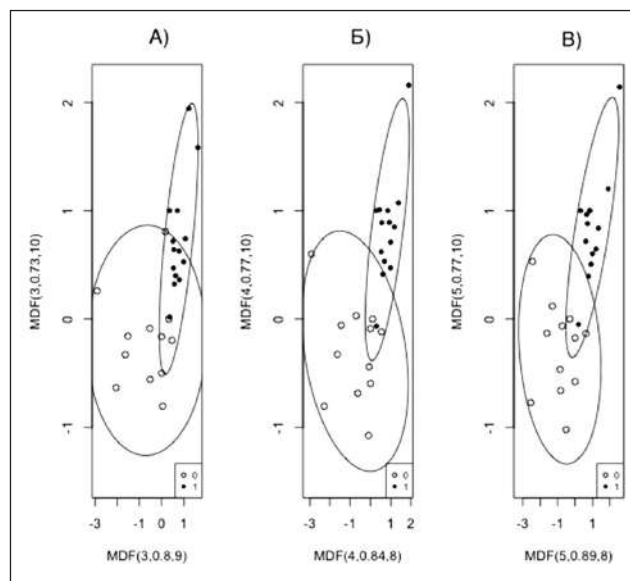


строенного по трем признакам, рассмотрим ДФ с вероятностью правильной классификации 0,909, включающую постоянную форму ФП до операции (коэффициент 0,856), ТЭО (коэффициент равен -0,797) и возраст (вес 0,030). Ложные результаты при этом отсутствовали. Такая структура ДФ позволяет заключить, что развитие АГ более вероятно у женщин по мере их старения, с постоянной формой ФП до операции и без ТЭО в анамнезе.

В группе женщин номинативная ДФ из семейства DF ($k = 4$, $P = 0,84$, $N = 8$), построенная по четырем признакам, с таким же результатом (отсутствие ложного прогноза) и вероятностью правильной классификации 0,957, включает возраст (0,055), отсутствие ТЭО (-0,906) до операции и послеоперационной ХСН (-3,430) при наличии постоянной формы ФП после операции (1,887). То есть АГ чаще развивается у женщин по мере их старения без ТЭО в дооперационном периоде, с постоянной формой ФП и без ХСН после операции, тогда как мужчинам свойственно возникновение АГ в более старшем возрасте при имевших место проявлениях ХСН в послеоперационном периоде.

В номинативной ДФ из семейства DF ($k = 5$, $P = 0,89$, $N = 8$), построенной у женщин по пяти признакам (вероятность правильной классификации 0,952), также отсутствуют ложные результаты прогнозирования возникновения АГ. Она содержит факторы: возраст (0,052), отсутствие ТЭО (-0,916) до операции, ХСН после операции (-3,608) при наличии постоянной формы ФП после опера-

Рисунок 2. Результаты классификации женщин в зависимости от развития артериальной гипертензии по усредненным дискриминантным функциям, построенным по трем (А), четырем (Б), пяти (В) признакам



ции (1,704), использование сердечных гликозидов (0,433). Таким образом, к 4 признакам предыдущей группы добавилось «использование сердечных гликозидов», применявшихся для контроля частоты ритма.

Вклады признаков, выделенных для прогнозирования развития АГ с учетом пола, числа и структуры использованных дискриминантных функций, суммированы в таблице 2.

С биометрической точки зрения в настоящей работе решалась задача классификации двух многомерных популяций больных. Классический метод решения этой задачи — линейный дискриминантный анализ (ЛДА) — заключается в том, что вместо совокупности признаков вычисляется их линейная комбинация — ДФ. Критерием оптимальности для вычисления коэффициентов является наибольшее отличие популяций по ДФ. Приоритетность применения ЛДА в большей степени определяется его транспарентностью, поскольку интерпретация ДФ позволяет выявить наиболее значимые сочетания прогностических факторов. В зависимости от структуры исходных данных ЛДА может не приводить к ожидаемому разделению популяций. Для таких случаев имеются другие методы. В частности, если внутрипопуляционные ковариационные матрицы значимо отличаются, то используется квадратичный дискриминантный анализ, а при вырожденности ковариационной матрицы (вырожденность ковариационной матрицы означает равенство нулю ее определителя, возникающее, например, при на-

**НОМИНАТИВНЫЕ ПРЕДСТАВИТЕЛИ СЕМЕЙСТВ ДИСКРИМИНАНТНЫХ ФУНКЦИЙ,
ПОСТРОЕННЫХ ПО ТРЕМ, ЧЕТЫРЕМ И ПЯТИ ПРИЗНАКАМ,
РАЗДЕЛЯЮЩИЕ ПОПУЛЯЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНДЕРНОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ
И РАЗВИТИЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

Признак	ДФ по 3	ДФ по 4	ДФ по 5
Мужчины			
Возраст	0,068	0,095	0,063
AV блокада	—	—	0,601
ПФП после операции	—	0,879	0,935
Размер ЛП после операции	—	-0,027	—
Толщина МЖП после операции	0,349	0,296	0,379
ХСН после операции	1,362	—	1,324
Женщины			
Возраст	0,030	0,055	0,052
ТЭ осложнения	-0,797	-0,906	-0,916
ФП постоянная форма	0,856	—	—
ФП постоянная форма после операции	—	1,887	1,704
ХСН после операции	—	-3,430	-3,608
Сердечные гликозиды после операции	—	—	0,433

Примечание: AV блокада — атриовентрикулярная блокада; ТЭ — тромбоэмболические; ФП — фибрилляция предсердий; ПФП — пароксизмальная фибрилляция предсердий; ЛП — левое предсердие; МЖП — межжелудочковая перегородка; ХСН — хроническая сердечная недостаточность.

личии в подгруппах признаков с нулевой дисперсией — регуляризованный дискриминантный анализ. Некоторыми дополнительными вычислительными возможностями по сравнению с ЛДА оснащен метод логистической регрессии, и для многих этот метод оказывается наиболее предпочтительным, хотя по результатам его эффективность сопоставима с результатами ЛДА.

В современной литературе в рамках научного направления, которое определяется как «машинное обучение» (machine learning) — математическая дисциплина, использующая наряду с методами теории вероятности и математической статистики численные методы оптимизации и дискретного анализа, обсуждаются разнообразные подходы для решения задачи классификации: многопараметрическая оптимизационная задача или «нейронные сети» (neural network), метод опорных векторов (support vector machine), предпочтительный в случае нелинейной локально распределенной классификации, «случайный лес» (random forest), перспективный для больших наборов данных. Изучение результатов применения этих методов на одних и тех же данных показало, что зачастую улучшение разделимости популяций достигается примерно на 5–10%, но за счет существенной потери транспарентности. Наиболее приемлемое сочетание транспарентности и разделимости сконцентрировано в использованном нами методе [9], суть которого заключается в расслоении популяции на однородные группы с выявлением собственных факторов риска. Основ-

ная проблема в случае использования такого подхода заключается в поиске (выборе) признака, при расслоении по которому процедуры классификации отличаются наибольшим образом. При этом принимается во внимание, что если внутригрупповые классификации схожи с классификацией в совокупности, то существенного улучшения классификации нет оснований ожидать и при расслоении. В настоящем исследовании путем апробации разнообразных переменных выявлено, что факторы риска возникновения АГ существенно различны в анализируемых популяциях больных, разделенных с учетом пола. Поэтому в качестве основного инструмента классификации был выбран ЛДА с учетом гендерных различий.

Второй биометрический момент связан с особенностями применения редукции размерности. В настоящем исследовании возникла свойственная решению большинства прогностических задач необходимость выбора (отбора) оптимальных по информативности характеристик из общего числа переменных, описывающих изучаемое явление. Для этого принято использовать разнообразные пошаговые процедуры с целью выделения единственного подмножества признаков с наилучшими результатами классификации. Для выявления оптимального сочетания переменных современная вычислительная техника уже в состоянии обойтись без пошаговых процедур и обеспечить полный перебор по всем подмножествам заданной размерности. При этом оказывается, что оптимальный набор

переменных, то есть тот, при котором достигается наибольший процент правильной классификации, крайне редко можно считать действительно экстремальным, поскольку, как правило, находится еще несколько разнообразных наборов переменных с процентом правильной классификации примерно того же уровня [9]. Проективный метод классификации предлагает рассматривать сразу всю совокупность подходящих классификаторов. В итоге возможен учет всевозможных факторов риска, поскольку они будут входить с разной значимостью в разнообразные классификаторы, в то время как при использовании единственного, даже самого лучшего классификатора многие из них за счет опосредованных корреляций могут оказаться незамеченными [8].

Третий существенный момент связан с неполнотой данных, при которой единственный классификатор не в состоянии охватить либо все признаки, либо всех индивидов. При использовании нескольких ДФ одновременно для классификации индивида достаточно иметь набор показателей хотя бы одной ДФ. В качестве результирующих характеристик можно использовать или усредненные ДФ, или сравнивать частоты отнесения к той или иной популяции, или то и другое одновременно. В отличие от метода машинного обучения, «случайный лес», в котором строится большое множество совсем простых и примитивных случайных классификаторов с идентификацией принадлежности к популяции по наибольшей частоте, в нашем случае используется меньшее количество, но более адекватных классификаторов. Поскольку все ДФ в конечном итоге описывают одно и то же разделение популяций, их можно считать синонимичными. Для клинической интерпретации прогностических факторов в качестве номинативных представителей следует использовать те ДФ, которые или наиболее точно прогнозируют явление, или содержат в себе больше доступных в клинической практике показателей, или логичнее интерпретируются с учетом современного уровня знаний по исследуемой медико-биологической проблеме.

Заключение

Результаты выполненного классификационного исследования риска возникновения АГ у больных, оперированных по поводу инфекционного эндокардита, отражают возможность использования проективного подхода для решения прогностических задач путем выделения ведущих факторов из числа разнообразных характеристик анализируемого патологического процесса. Притом, что настоящее исследование имеет естественные ограничения в силу

немногочисленности анализируемой совокупности больных и ее клинической неоднородности, полученные данные свидетельствуют о реальности выделения и в этих условиях прогностических закономерностей при адекватном биометрическом подходе.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Горлова И. А., Бондаренко Б. Б. Основные ошибки врачей общей практики при ведении больных, прооперированных по поводу инфекционного эндокардита. Кардиология СНГ. 2007;2:222. [Gorlova IA, Bondarenko BB. The main mistakes of general practitioners when maintaining the patients operated concerning an infectious endocarditis. Cardiology of the CIS. 2007;2:222. In Russian].
2. Горлова И. А., Омелченко М. Ю., Казанцева Т. И., Недошивин А. О., Бондаренко Б. Б. Актуальные вопросы тактики ведения пациентов после операций на клапанах сердца. Российский кардиологический журнал. 2016;7(135):93–99. doi:10.15829/1560-4071-2016-7-93-99. [Gorlova IA, Omelchenko MYu, Kazantseva TI, Nedoshivin AO, Bondarenko BB. Current state of the heart valves postoperation management. Russian cardiological magazine. 2016;7(135):93–99. doi:10.15829/1560-4071-2016-7-93-99. In Russian].
3. Сторожаков Г. И., Гендлин Г. Е., Латышева Е. В., Ганкова Е. В. Больные с клапанными пороками сердца — лечение у терапевта до и после хирургической коррекции. Сердце. 2002;3-6(16):300–305. [Storozhakov GI, Gendlin GE, Latysheva EV, Gankova EV. Patients with valve heart diseases — follow-up by general practitioner before and after surgical treatment. Serdtse = Heart. 2002;3-6(16):300–305. In Russian].
4. Borer JS, Sharma A. Drug Therapy for heart valve diseases. Circulation. 2015;132(11):1038–1045. doi:10.1161/CIRNAHA.115.016006
5. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis. Eur Heart J. 2015;36(44):3075–3128.
6. Baddour LM, Wilson WR, Bayer AS, Fowler VG, Tleyjeh IM, Rybak MJ et al. Infective endocarditis in adults: diagnosis, antimicrobial therapy, and management of complications. A scientific statement for healthcare professionals from the American Heart Association. Endorsed by the infectious diseases society of America. Circulation. 2015;132(15): 1435–86. doi:10.1161/CIR.0000000000000296
7. Бондаренко Б. Б., Барт В. А., Демченко Е. А., Барт А. Г., Заславский М. Л. Актуальные аспекты методологии клинко-статистического анализа. Клиническая и экспериментальная кардиология. Ред. Е. В. Шляхто. СПб.: ООО АМЦ; 2005:136–148. [Bondarenko BB, Bart VA, Demchenko EA, Bart AG, Zaslavsky ML. Urgent aspects of methodology of the kliniko-statistical analysis. Clinical and experimental cardiology. E. V. Shlyakhto edition. SPb.: LLC AMTs; 2005:136–148. In Russian].
8. Alexeyeva N, Alexeyev A, Gracheva P, Podkhalyuzina E, Usevich K. Symptom and syndrome analysis of categorical series, logical principles and forms of logic. Proceedings, 3rd International Conference on Bio Medical Engineering and Informatics BMEI Yantai, China. 2010;6:2603–2606.
9. Алексеева Н. П., Алексеев А. О., Ананьевская П. В., Белякова Л. А., Комлева Д. М., Кочерыжкина М. М. и др. Метод многослойной классификации в задаче прогнози-

рования послеоперационных осложнений. Трансляционная медицина. 2014;4:11–18. [Alekseeva NP, Andreev AO, Ananyevskaya PV, Belyakova LA, Komleva DM, Kocheryzhkina MM et al. The method of multilayer classification for predicting postoperative complications. Translational Medicine. 2014;4:11–18. In Russian].

10. Маслова Н. П., Баранова Е. И. Гипертоническая болезнь у женщин. СПб.: СПбГМУ; 2000. 214 с. [Maslova NP, Baranova EI. Arterial hypertension in women. SPb.: SPbSMU; 2000. 214 p. In Russian].

11. Подзолков В. И., Брагина А. Е. Эссенциальная артериальная гипертензия у женщин или женская артериальная гипертензия? Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2012;11(1):79–84. [Podzolkov VI, Bragina AE. Essential arterial hypertension in women or female arterial hypertension? Cardiovascular therapy and prophylaxis. 2012;11(1):79–84. In Russian].

12. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension European Heart Journal, doi:10.1093/euroheartj/eh151. J of Hypertens. 2013;31(7):1281–1357.

13. Артемьева Е. Г., Галявич А. С., Камалов Г. М., Кечеджиева С. Г., Козиолова Н. А., Маленкова В. Ю. и др. Гендерные различия в распространенности и эффективности лечения артериальной гипертензии в европейской части Российской Федерации: результаты исследования ЭПОХА-2007. Проблемы женского здоровья. 2011;4(6):5–11. [Artemyeva EG, Galyavich AS, Kamalov GM, Kechedzhiyeva SG, Koziolova NA, Malenkova VYu et al. Gender distinctions in prevalence and efficiency of treatment of arterial hypertension in the European part of the Russian Federation: results of the research EPOHA-2007. Problems of Female Health. 2011;4(6):5–11. In Russian].

14. Киричук В. Ф., Оленко Е. С., Колопкова Т. А., Кодочигова А. И., Субботина В. Г., Кучеров М. Г. Первичность и гендерные различия особенностей личности у больных артериальной гипертензией: новый взгляд на старую проблему. Артериальная гипертензия. 2011;3:53–58. [Kirichuk VF, Olenko ES, Kolopkova TA, Kodochigova AI, Subbotin VG, Drivers MG. Primacy and gender distinctions of features of the personality of patients with arterial hypertension: a new view on an old problem. Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension. 2011;17(3):53–58. In Russian].

Информация об авторах

Алексеева Нина Петровна — ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории математического моделирования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, доцент кафедры статистического моделирования математико-механического факультета ФГБОУ ВО СПбГУ, заведующая лабораторией биомедицинской статистики отдела фармакоэпидемиологии и биомедицинской статистики института фармакологии имени А. В. Вальдмана ГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова;

Горлова Ирина Александровна — научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории профилактической кардиологии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Бондаренко Борис Борисович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий научно-исследовательской лабораторией профилактической кардиологии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information

Nina P. Alekseeva, Leading Researcher, Department of Mathematic Modeling, Almazov National Medical Research Centre, Associate Professor, Statistical Modeling of the Mathematics and Mechanics Faculty, Saint-Petersburg State University, Head, Laboratory of Biomedicine Statistics, Department of a Pharmacoepidemiology and Biomedical Statistics, A. V. Valdman Institute of Pharmacology, First Pavlov State Medical University of St. Petersburg;

Irina A. Gorlova, MD, Associate Researcher, Department of Preventive Cardiology, Almazov National Medical Research Centre;

Boris B. Bondarenko, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Department of Preventive Cardiology, Almazov National Medical Research Centre.

АТТЕНТО

Амлодипин+Олмесартан

НОВАЯ фиксированная комбинация:

 Эффективное снижение АД^{1,2}

 Кардио- и ангиопротективный эффект³



1. Redon J, Fabia MJ. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst. 2009 Sep;10(3):147-56.
2. Chrysant SG et al. Clin Ther. 2008 Apr;30 (4):587-604.
3. De la Sierra A, Volpe M. J Hypertens. 2013 Mar;31 Suppl 1:S13-7

Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Аттенито® Регистрационный номер: ЛП-003818 от 01.09.2016. Торговое патентованное наименование: Аттенито®. **Международное непатентованное наименование:** амлодипин + олмесартан медоксимила. Таблетки 5 мг + 20 мг; 5 мг + 40 мг; 10 мг + 40 мг. **Показания к применению:** эссенциальная гипертензия (при неэффективности монотерапии олмесартаном медоксимилом или амлодипином). **Противопоказания:** повышенная чувствительность к олмесартану медоксимилу, амлодипину и другим производным дигидропиридина или к другим компонентам препарата; печеночная недостаточность тяжелой степени тяжести (более 9 баллов по шкале Чайлд-Пью); обструкция желчевыводящих путей и холестаза; тяжелая артериальная гипотензия (САД менее 90 мм рт. ст.); шок (включая кардиогенный); гемодинамически нестабильная сердечная недостаточность после инфаркта миокарда; почечная недостаточность тяжелой степени тяжести (клиренс креатинина (КК) менее 20 мл/мин, опыт клинического применения отсутствует); состояние после трансплантации почки (опыт клинического применения отсутствует); состояния, сопровождающиеся выраженным нарушением оттока крови из левого желудочка (например, стеноз устья аорты тяжелой степени); беременность; период грудного вскармливания; возраст до 18 лет (эффективность и безопасность не установлены); одновременное применение с алискиреном и алискиренсодержащими препаратами у пациентов с сахарным диабетом и/или нарушением функции почек (скорость клубочковой фильтрации менее 60 мл/мин/1,73 м² площади поверхности тела). **С осторожностью:** стеноз аортального и митрального клапана; гипертрофическая обструктивная кардиомиопатия; одновременное применение с препаратами лития; гиперкалиемия, гипонатриемия, гиповолемия (в том числе вследствие диареи, рвоты или одновременного применения диуретиков), а также у пациентов, соблюдающих диету с ограничением потребления поваренной соли; почечная недостаточность легкой и умеренной степени тяжести (КК 20-60 мл/мин); первичный альдостеронизм; вазоренальная гипертензия (двусторонний стеноз почечных артерий или стеноз артерии единственной почки); прочие состояния, сопровождающиеся активацией ренин-ангиотензин-альдостероновой системы; хроническая сердечная недостаточность (ХСН) (III-IV функциональный класс по классификации NYHA); хронические формы ишемической болезни сердца; острые формы ишемической болезни сердца (острый инфаркт миокарда, в т.ч. в течение одного месяца после него, нестабильная стенокардия); синдром слабости синусового узла; артериальная гипотензия; цереброваскулярные заболевания; печеночная недостаточность легкой и умеренной степени тяжести (менее 9 баллов по шкале Чайлд-Пью); возраст старше 65 лет; применение у пациентов негроидной расы. **Способ применения и дозы:** ежедневно по 1 таблетке препарата Аттенито®, при отсутствии адекватного снижения АД на фоне монотерапии олмесартаном медоксимилом или амлодипином. **Побочное действие:** ниже приведены наиболее часто встречающиеся побочные эффекты. Комбинация амлодипина и олмесартана медоксимила. **Со стороны нервной системы:** головокружение, головная боль. **Со стороны дыхательной системы, органов грудной клетки и средостения:** фарингит, ринит, бронхит, кашель. **Со стороны органов пищеварения:** диарея, диспепсия, гастроинтерит, боль в животе, тошнота. **Со стороны печени и желчевыводящих путей:** повышение активности «печеночных» ферментов. **Со стороны опорно-двигательного аппарата:** боль в спине, боль в костях, артрит. **Со стороны почек и мочевыводящих путей:** гематурия, инфекции мочевых путей. **Общие нарушения:** боль в грудной клетке, периферические отеки, гриппоподобные симптомы, повышенная утомляемость, боль неутраченной локализации. **Со стороны лабораторных показателей:** повышение концентрации мочевины в плазме крови, повышение активности креатинфосфокиназы. Амлодипин (монотерапия) **Со стороны нервной системы:** головокружение, головная боль, сонливость. **Со стороны сердечно-сосудистой системы:** «приливы» крови к лицу, ощущение сердцебиения. **Со стороны органов пищеварения:** боль в животе, тошнота. **Со стороны опорно-двигательного аппарата:** отек в области лодыжек. **Общие нарушения:** повышенная утомляемость, отеки. Подробная информация содержится в инструкции по применению препарата для медицинского применения Аттенито® ЛП-003818 от 01.09.2016

Адрес компании: ООО «Берлин-Хеми/А Менарини» 123112, г. Москва, Пресненская набережная, д. 10 БЦ «Башня на набережной», блок Б. Тел.: (495) 785-01-00, факс: (495) 785-01-01
<http://www.berlin-chemie.ru>

* АД - артериальное давление

RU_Attento_2_2017 Одобрено в печать июнь 2017.



БЕРЛИН-ХЕМИ