

ПАТОГЕНЕТИЧНИЙ ПРЕДИКТОР ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ХВОРИХ ІЗ КАРДІОЕМБОЛІЧНИМИ ТА АТЕРОТРОМБОТИЧНИМИ ТРАНЗИТОРНИМИ ІШЕМІЧНИМИ АТАКАМИ

Проф. І. А. ГРИГОРОВА¹, доц. О. Р. ЄСКИН¹, В. А. ВОДОП'ЯНОВ²

¹ Харківський національний медичний університет,
² Міська поліклініка № 3, Маріуполь, Україна

Подано результати дослідження ендотеліальної дисфункції у пацієнтів з транзиторним ішемічним нападом. Встановлено предиктор розвитку кардіоемболічної та атеротромботичної транзиторних ішемічних атак для диференційної діагностики. Визначено, що збільшення співвідношення оксиду азоту і ендотеліну-1 при кардіоемболічній транзиторній ішемічній атаці відбувається за рахунок зменшення оксиду азоту, а при атеротромботичній – за рахунок збільшення ендотеліну-1.

Ключові слова: кардіоемболічний транзиторний ішемічний напад, атеротромботичний транзиторний ішемічний напад, ендотеліальна дисфункція, ендотелін-1.

Актуальність диференційованого підходу до лікування транзиторних ішемічних атак (ТІА) зумовлена збільшенням частоти захворювань як на самі ТІА, так і на інсульты через низький показник їх виявлення, що спричиняє недостатню первинну профілактику судинних порушень [1, 2]. Недиференційований підхід до лікування ТІА спричиняє соціальне навантаження на державу й абузусну терапію на пацієнта [3, 4]. Виокремлення ТІА у підгрупи за патогенетичними порушеннями (кардіоемболічними, атеротромботичними, гемодинамічними та реологічними) стало підставою для розробки клініко-біохімічних критеріїв з метою підвищення якості їх діагностики лікарями амбулаторно-поліклінічної ланки [5, 6].

Ключову роль у патогенетичному розвитку ТІА відіграє ендотеліальна дисфункція (ЕД) – порушення бар'єрної функції ендотелію судин, який забезпечує гомеостаз за рахунок утримання балансу між протилежними процесами: 1) тонусом судин (вазоконстрикції/вазодилатації); 2) локальним запаленням (синтез прозапальних/протизапальних речовин); 3) гемостазом (синтез та інгібування факторів фібринолізу і агрегації тромбоцитів); 4) анатомічною цілісністю судин (синтез та інгібування факторів проліферації) [7–10].

Порушення цих механізмів призводить до ураження ендотелію, найпоширенішими факторами якого можуть бути холестерин, вільні радикали, запальні цитокіни, що й призводять до його дисфункції [11–13]. А внаслідок ЕД утворюється дисбаланс таких медіаторів, як вазодилатація, ангіопротекція, антипроліферативні медіатори, з одного боку, і медіаторів вазоконстрикції, протромботичних та проліферативних – з іншого. У нормі такий баланс утримується завдяки переважанню медіаторів вазодилатації, ангіопротекції, атромботичних і антипроліферативних над меді-

аторами вазоконстрикції, протромботичними та проліферативними, в чому головну роль віддають оксиду натрію (NO) [14–16].

В ендотеліоцитах NO синтезується ферментом NO-синтетазою з L-аргініну. Час напіввиведення молекули NO становить лише кілька секунд. Є два рівні його секреції – базальний і стимульований. Базальна секреція означає утримання нормального тону судин у спокої [15–17]. Фактори, які призводять до ЕД, спричиняють стимулюючу секрецію NO системою вторинних месенджерів. Але, незважаючи на компенсаторні механізми секреції NO, його біодоступність може порушуватися внаслідок:

- інактивації NO-синтетази, зменшення щільності рецепторів на поверхні ендотеліальних клітин (зокрема, мускаринових і брадикінінових), подразнення яких у нормі призводить до утворення NO;
- збільшення деградації NO, що настає раніше, ніж речовина досягає місця своєї дії (оксидативного стресу).

Разом із тим, як порушується функція головного вазодилатора, виникає гіперсекреція головного вазоконстриктора ендотеліну-1 (Е-1) – потужного вазоконстрикторного пептиду. Відтоді виділено ще дві ізоформи – Е-2 і Е-3. Усі ізоформи складаються з 21 амінокислотного залишку з двома дисульфідними містками у молекулі, що зв'язують парні залишки цистеїну. Е-2 виявляє найближчу структурну подібність до Е-1, відрізняючись лише двома амінокислотними залишками, у той час як Е-3 – шістьма. Усі ізоформи ендотеліну утворюються у процесі протеолізу з 203 – амінокислотного попередника, який має назву «препроендотелін». У ході протеолізу утворюється молекула великого ендотеліну, що складається з 38 амінокислотних залишків [14, 17–19]. Ендотелін (1–38) після синтезу у цитоплазмі

піддається протеолізу мембранної металопротеїнази на поверхні клітин, а також внутрішньоклітинно. Далі у ході його розщеплення утворюються активні ендотеліни (1–21) та С-кінцевий фрагмент (22–38). Найбільша 140-кратна вазоконстрикторна активність великого ендотеліну реалізується при розщепленні до Е-3. Е-1 є найпоширенішою з трьох його ізоформ, його велика частина утворюється в ендотеліоцитах і порівняно з іншими ізоформами може синтезуватися гладком'язовими клітинами судин, нейронами, астроцитами, ендотелієм, мезангіоцитами, клітинами Сертолі, ендотеліоцитами молочних залоз, тканинними базофілами [17–20].

Ендотелін і великий ендотелін мають прогностичне значення у розвитку гострої судинної патології. Їхня роль найбільш вивчена при серцевій недостатності і гострому інфаркті міокарда, ранній реоклюзії після РТСА (Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty – перкутанна транслюмінальна коронарна ангіопластика), коронарного атеросклерозу, коронарної ЕД. Але високий рівень ендотеліну в плазмі крові виявляється при різних формах ішемії – есенціальній гіпертензії, ішемічних інсультах та ін.

Порушення балансу медіаторів-антагоністів супроводжує запальний процес, де прозапальний цитокін – фактор некрозу пухлини (ФНП- α) є одним із головних чинників ураження ендотелію. Історія його дослідження почалася у 1868 р. завдяки Р. Brunes [20], а потім ФНП- α був виокремлений у 1985 р. [21, 22]. ФНП- α – це неспецифічний прозапальний цитокін. Оскільки запалення у нормі є захисно-приспосовальною реакцією, то при декомпенсації ресурсів організму вона стає патологічною. У зв'язку із цим ефекти ФНП- α можуть розглядатися як сприятливі й несприятливі.

Доведено, що судинний ендотелій високочутливий до ФНП- α , і цитотоксичний ефект зумовлений в основному індукцією внутрішньоклітинного утворення активних форм кисню (АФК), що ініціює вільнорадикальне окиснення (ВРО). А при частій зміні станів ішемія – реперфузія *in vivo* (внаслідок церебрального атеросклерозу, порушення ритму серця тощо) збільшується концентрація ФНП- α і продукція АФК ендотеліоцитами. Але зв'язок ФНП- α із функціональним станом ендотелію у хворих із ТІА ще до кінця не вивчений.

Мета цієї роботи – встановлення критеріїв тяжкості патогенетичних порушень для диференціальної діагностики найпоширеніших форм ТІА.

Під час нашого дослідження було виявлено найчастіші форми ТІА – кардіоемболічну (ТІАке) – 38%, атеротромботичну (ТІАат) – 57%, рідше траплялися реологічна (4%) та ін. (1%). Останні через низьку частоту виявлення не брали до уваги. Гемодинамічні порушення спостерігалися у 94% пацієнтів із ТІА. Для дослідження ЕД було набрано три групи хворих із ТІА: ТІАке, ТІАат та контрольну, які були рандомізовані за віком, статтю, ступенем тяжкості (табл. 1). Тривалість

збереження неврологічної симптоматики: 1-й ступінь – < 1 год, 2-й – 1–3 год, 3-й – > 3 год, захворювання серця з порушенням серцевого ритму та атеросклерозу. Для об'єктивізації Е-1 вивчався з його головним антагоністом вазодилататором NO та основним прозапальним цитокіном ФНП- α . Загальна кількість обстежених – 142 пацієнти, з них – 67 чоловіків та 75 жінок. Групу ТІАке сформовано із 45 осіб у віці від 45 до 62 років, з них – 26 жінок та 19 чоловіків; ТІАат – із 56 пацієнтів у віці від 58 до 70 років, з них – 32 жінки та 24 чоловіки. Контрольну групу становила 41 особа (24 жінок і 17 чоловіків) у віці від 47 до 71 року. Забір крові проводився одразу після госпіталізації хворих (у середньому після 12 ± 3 год із моменту появи неврологічної симптоматики), метою якого було встановлення пікових значень порушення біохімічних показників.

Таблиця 1

Характеристика пацієнтів у групах дослідження

Група	Вік, роки	Стать (ч./ж.)	Ступінь неврологічної симптоматики
ТІАке	53,5 \pm 8,5	26/19	2-й
ТІАат	64 \pm 6	32/24	3-й
Контрольна	59 \pm 12	24/17	0-й

Дослідження вмісту Е-1 проводилося методом імуноферментного аналізу із додаванням стабілізатора етілендіамінухлоридної кислоти, який попереджає згортання крові шляхом блокування іонів кальцію та не впливає на гематологічні параметри. Для підвищення чутливості використовували очищені поліклональні захоплюючі антитіла і моноклональні детектуючі антитіла, специфічні до ендотеліну (1–21).

На першому кроці аналізу зразок та детектуючі антитіла одночасно вносяться в осередок. Ендотелій, присутній у зразку, зв'язується з антитілами в осередках і утворює сендвічів комплекс із детектуючими антитілами. Після промивання осередків і видалення неспецифічно пов'язаного матеріалу в осередок додається комплекс пероксидази з антитілами, який виявляє пов'язані антитіла. Після видалення незв'язаних кон'югатів в осередку залишається ферментний субстрат. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна вмісту Е-1 у стандарті/зразку/контролі.

У ході дослідження було встановлено, що у хворих із ТІАке функціональний стан ендотелію визначається такою зміною співвідношення головних чинників вазодилатації та вазоконстрикції: зниження синтезу маркера NO – нітриту від $3,22 \pm 0,45$ мкмоль/л у контрольній групі до $1,46 \pm 0,24$ мкмоль/л у групі хворих та збільшення концентрації Е-1 від $1,60 \pm 0,04$ пмоль/л до $2,91 \pm 0,22$ пмоль/л. Це, у свою чергу, призводить до зниження співвідношення NO/Е-1 до 0,5 разу,



Рис. 1. Рівні гуморальних показників у плазмі крові хворих із ТІАке і ТІАат (відмінності достовірні порівняно з контрольною групою – $0,05 < p < 0,1$)

Таблиця 2

Гуморальні показники ендотеліальної дисфункції

Група	Е-1, пмоль/л	ФНП-α, пг/мл	NO, мкмоль/л
ТІАке	2,91±0,22	55,4±2,3	1,46±0,24
ТІАат	5,66±0,35	127,5±3,5	2,64±0,78
Контрольна	1,6±0,04	36,4±1,4	3,22±0,45

у групі з ТІАке – більш ніж у 4 рази порівняно з контрольною групою – у 2,03 рази.

У другій групі ТІАат вміст нітриту у плазмі крові $2,64 \pm 0,78$ мкмоль/л, що більше у 1,8 рази ($0,05 < p < 0,1$), ніж в ТІАке, і наближається до контрольних значень. А Е-1 більше у 1,94 рази ($0,05 < p < 0,1$) порівняно з групою ТІАке і в 3,5 рази ($0,05 < p < 0,1$) – з контролем. При цьому співвідношення концентрацій NO Е-1 сягає значення 0,47 (табл. 2).

Оскільки вирішальне значення запального процесу належить перекисному окисленню ліпідів (ПОЛ), з урахуванням даних про запальне походження ЕД ми досліджували також рівень головного прозапального цитокіну ФНП-α як дуже сильного індуктора окисного стресу. Було встановлено, що його концентрація у пацієнтів групи ТІАке збільшилася лише у 1,5 рази ($0,05 < p < 0,1$), а в групі з ТІАат – у 3,5 рази ($0,05 < p < 0,01$) порівняно з контролем.

Виявлений нами маркер синтезу NO – нітрит у плазмі крові при зменшенні концентрації у хворих із ТІАке може спричиняти порушення NO-залежної вазодилатації в головному мозку. Оскільки NO – це інгібітор синтезу Е-1 за допомогою утворення циклічного гуанозинмонофасфату, то швидше за все порушений синтез NO призводить до незначного збільшення синтезу Е-1 у цій групі хворих (рис. 1, а). Для групи пацієнтів із ТІАат збільшення в кровотоці прозапальних цитокінів ФНП-α є причиною активації синтезу NO і збільшення концентрації нітриту в крові.

Таблиця 3

Співвідношення гуморальних показників пацієнтів із кардіоеMBOLІчною транзиторною ішемічною атакою та атеротромботичною транзиторною ішемічною атакою і групи контролю (1)

Група	Е-1	ФНП-α	NO
ТІАке	1,8	1,5	0,45
ТІАат	3,5	3,5	0,82

Але внаслідок тривалого запалення втрачається контроль над метаболізмом NO та його рівень зменшується, стає навіть нижче, ніж у контрольній групі (рис. 1, б), і тягне подальше збільшення концентрації Е-1 у крові хворих з ТІАат (рис. 1, а).

Крім того, ТІАат, яка перебігає на тлі активації процесів ПОЛ, характеризується високим рівнем ФНП-α порівняно з ТІАке (рис. 1, в), що зменшує біодоступність ендogenous NO за рахунок його прискореної деградації активними формами кисню. Взаємодія NO із супероксидом (та іншими кисневими радикалами) призводить не тільки до втрати вазодилатуючого потенціалу NO, а й до утворення високотоксичного пероксинітриту. Виявлене нами зростання концентрації ФНП-α у крові хворих із ТІАат є потужним фактором розвитку окисного стресу, тому що більш виражені ішемічно-реперфузійні пошкодження церебрального русла. Через тривале збереження ішемічно-реперфузійного процесу втрачається контроль NO (рис. 1, в) за синтезом Е-1 (рис. 1, а), і порушена ЕД гірше, ніж у групі хворих із ТІАке. У міру прогресування захворювання зростає активність ФНП-α у плазмі крові. Це дещо відображає рівень ендотеліальних порушень, тому нами проведено порівняння ступеня вираженості за клінічними проявами, що визначають тяжкість стану і активність ФНП-α (табл. 3).

У ході дослідження ми дійшли таких висновків:

1) функціональний стан показників ЕД у хворих із ТІАке характеризується зміщенням рівно-

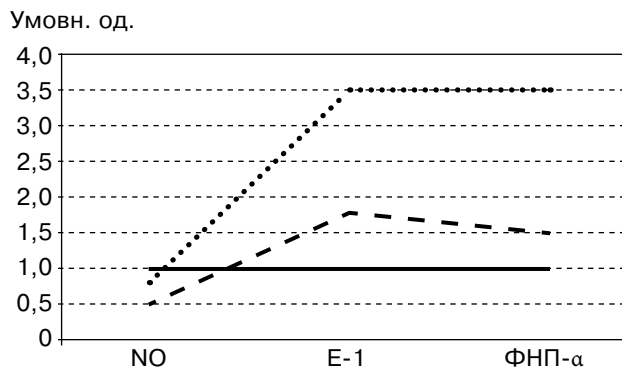


Рис. 2. Патогенетичний предиктор у групах пацієнтів з ТІАке та ТІАат: — контроль; - - - ТІАке; ТІАат

ваги між синтезом NO та E-1 більше у бік NO; а головний неспецифічний маркер запалення ФНП-α порівняно з контрольною групою підвищується незначно;

2) у групі пацієнтів із ТІАат ЕД більш виражена за рахунок співзалежної ескалації ФНП-α і E-1 на тлі практично незмінного порівняно з контрольною групою NO;

3) яскраво виражені особливості ЕД виявляються на тлі різної клінічної картини: у групі ТІАке осередкова неврологічна симптоматика

розвивається швидше і також швидко регресує, а у групі ТІАат — пізніше і довше регресує;

4) зниження вмісту NO, вірогідно, за рахунок зменшення базальної секреції при несуттєвому збільшенні головного маркера запалення ФНП-α у групі ТІАке може свідчити про екстравазальну оклюзію;

5) збільшення ФНП-α у групі ТІАат указує на ендovasкулярний запальний процес і, як наслідок, — ендovasкулярну оклюзію за рахунок збільшення деградації NO;

6) первинна профілактика при ТІАке повинна бути спрямована на причини, які мають екстравазальний характер, а при ТІАат — на лікування атеросклерозу, головним чином, зменшення атеросклеротичних бляшок.

Перспектива подальших досліджень: незважаючи на практично однакове співвідношення порушень головних вазоконстрикторів та вазодилататорів (0,5 і 0,46 раз у групах ТІАке і ТІАат відповідно) спостерігається легкий та помірний ступінь тяжкості клінічної картини при ТІАке і тяжкий при ТІАат, які зумовлені різними чинниками оклюзії. Для подальшого визначення механізмів оклюзії необхідно вивчити гемореологічні, гемокоагуляційні та гемодинамічні показники крові пацієнтів.

Список літератури

- Hart R. G. Embolic strokes of undetermined source: the case for a new clinical construct / R. G. Hart, H. C. Diener, S. B. Coutts // *Lancet Neurology*.— 2014.— № 13.— P. 429–438.— doi: [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(13\)70310-7](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(13)70310-7)
- Amarenco P. One-Year Risk of Stroke after Transient Ischemic Attack or Minor Stroke / P. Amarenco, P. C. Lavallée, J. Labreuche // *New England J. Med.*— 2016.— № 374.— P. 1533–1542.— doi: <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2016.08.067>
- Искаков Е. Б. Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний / Е. Б. Искаков // *Медицина и экология*.— 2017.— № 2.— С. 19–28.
- Khare S. Risk factors of transient ischemic attack: An overview / S. Khare // *J. of Mid-life Health*.— 2016.— Vol. 7, № 1.— P. 2–7.— doi: <https://doi.org/10.4103/0976-7800.179166>
- Bogiatzi C. SPARKLE (Subtypes of Ischemic Stroke Classification System), incorporating measurement of carotid plaque burden: a new validated tool for the classification of ischemic stroke subtypes / C. Bogiatzi, T. Wannarong, A. I. McLeod // *Neuroepidemiology*.— 2014.— № 42.— P. 243–251.— doi: <https://doi.org/10.1159/000362417>
- Bogiatzi C. Secular trends in ischemic stroke subtypes and stroke risk factors / C. Bogiatzi, D. G. Hackam, A. I. McLeod // *Stroke*.— 2014.— № 45.— P. 3208–3213.— doi: <https://doi.org/10.1161/strokeaha.114.006536>
- Yasaka M. Design and Rationale of the RELAXED (Recurrent Embolism Lessened by rivaroxaban, an Anti-Xa agent, of Early Dosing for acute ischemic stroke and transient ischemic attack with atrial fibrillation) Study / M. Yasaka, K. Minematsu // *J. of Stroke and Cerebrovascular Diseases*.— 2016.— Vol. 25, Iss. 6.— P. 1342–1348.— doi: <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.01.035>
- Транзиторные ишемические атаки: частные вопросы этиопатогенеза, диагностики, клиники, лечения / Н. И. Нечипуренко, Ю. И. Степанова, И. Д. Пашковская, Л. А. Василевская // *Медицинские новости*.— 2018.— № 1.— С. 3–8.
- Система гемостаза у пациентов с транзиторной ишемической атакой / Ю. И. Степанова, Н. И. Нечипуренко, Л. И. Матусевич, О. В. Замятина // *Медицинские новости*.— 2018.— № 6.— С. 61.
- Фартушна О. Є. Транзиторні ішемічні атаки / О. Є. Фартушна, С. М. Віничук.— К.: ВД «Авіцена», 2014.— 189 с.
- Dejana E. Vascular endothelial-cadherin and vascular stability / E. Dejana, C. Giampietro // *Current Opinion in Hematology*.— 2012.— Vol. 19, № 3.— P. 218–223.— doi: <https://doi.org/10.1097/moh.0b013e3283523e1c>
- Sowa G. Caveolae, caveolins, cavins and endothelial cell function: new insights / G. Sowa // *Frontiers in Physiology*.— 2012.— Vol. 2, article 120.— doi: <https://doi.org/10.3389/fphys.2011.00120>
- Palmitate-induced translocation of caveolin-3 and endothelial nitric oxide synthase in cardiomyocytes / C. J. Knowles, M. Dionne, M. Cebova, I. M. Pinz //

- Online J. of Biological Sciences.— 2011.— Vol. 11, № 2.— P. 27–36.— doi: <https://doi.org/10.3844/ojbsci.2011.27.36>
14. *Goto H.* Endothelial MnSOD overexpression prevents retinal VEGF expression in diabetic mice / H. Goto, T. Nishikawa, K. Sonoda // *Biochemical and Biophysical Research Communications.*— 2008.— Vol. 366, № 3.— P. 814–820.— doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.12.041>
 15. *Souillard-Scemama R.* An update on brain imaging in transient ischemic attack / R. Souillard-Scemama, M. Tisserand, D. Calvet // *J. of Neuroradiology.*— 2015.— Vol. 42, № 1.— P. 3–11.— doi: <https://doi.org/10.1016/j.neurad.2014.11.001>
 16. *Szigeti K.* A novel SPECT-based approach reveals early mechanisms of central and peripheral inflammation after cerebral ischemia / K. Szigeti, I. Horváth, D. S. Veres // *J. of the International Soc. of Cerebral Blood Flow & Metabolism.*— 2015.— Vol. 35, № 12.— P. 19–21.— doi: <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.174>
 17. *Van den Brand M.* Sequential immunohistochemistry: A promising new tool for the pathology laboratory / M. van den Brand, B. M. Hoevenaars, J. H. M. Sigmans // *Histopathology.*— 2014.— Vol. 65, № 5.— P. 651–657.
 18. *Wan J.* Molecular imaging of cerebral ischemic penumbra / J. Wan, M. Lou // *International J. of Cerebrovascular Diseases.*— 2014.— Vol. 22, № 2.— P. 116–121.
 19. *Old L. J.* Tumor necrosis factor (TNF) / L. J. Old // *J. Science.*— 1985.— № 230 (4726).— P. 630–632.— doi: <https://doi.org/10.1126/science.2413547>
 20. Human tumour necrosis factors: structure and receptor interactions / B. B. Aggarwal, R. A. Aiyer, D. Pennica [et al.] // *Ciba Found Symp.*— 1987.— Vol. 31.— P. 39–51.— doi: <https://doi.org/10.1002/9780470513521.ch4>
 21. *Aggarwal B. B.* Human tumor necrosis factors: production, purification and characterization / B. B. Aggarwal, W. J. Khor, R. N. Harkins // *J. Biol. Chem.*— 1985.— Vol. 260.— P. 2345–2354.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРЕДИКТОР ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У БОЛЬНЫХ С КАРДИОЭМБОЛИЧЕСКИМИ И АТЕРОТРОМБОТИЧЕСКИМИ ТРАНЗИТОРНЫМИ ИШЕМИЧЕСКИМИ АТАКАМИ

И. А. ГРИГОРОВА, А. Р. ЕСКИН, В. А. ВОДОПЬЯНОВ

Представлены результаты исследования эндотелиальной дисфункции у пациентов с транзиторной ишемической атакой. Установлен предиктор развития кардиоэмболической и атеротромботической транзиторных ишемических атак для дифференциальной диагностики. Определено, что увеличение соотношения оксида азота и эндотелина-1 при транзиторной ишемической атаке происходит за счет уменьшения оксида азота, а при атеротромботической — за счет увеличения эндотелина-1.

Ключевые слова: кардиоэмболическая транзиторная ишемическая атака, атеротромботическая транзиторная ишемическая атака, эндотелиальная дисфункция, эндотелин-1.

PATHOGENETIC PREDICTOR OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH CARDIOEMBOLIC AND ATHEROTHROMBOTIC TRANSIENT ISCHEMIC ATTACKS

I. A. HRYHOROVA, O. P. YESKYN, V. A. VODOPIANOV

The results of the study of endothelial dysfunction in the patients with transient ischemic attack have been presented. The predictor of development of cardioembolic and atherothrombotic transient ischemic attacks for differential diagnosis has been established. It was determined that the increase in the ratio of nitric oxide and endothelin-1 in cardioembolic transient ischemic attack occurred due to a decrease in nitric oxide, and in atherothrombotic it was due to an increased endothelin-1.

Key words: cardioembolic transient ischemic attack, atherothrombotic transient ischemic attack, endothelial dysfunction, endothelin-1.

Надійшла 16.07.2019