

ДИСФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ И ПРОЦЕССЫ АПОПТОЗА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛЕГОЧНЫМ СЕРДЦЕМ

Задионченко В.С., Холодкова Н.Б., Нестеренко О.И., Погонченкова И.В., Щикота А.М.

Московский государственный медико-стоматологический университет, Москва

Хроническое легочное сердце (ХЛС) является одной из важных проблем современной медицины. Это обусловлено все возрастающей частотой хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) в промышленно развитых странах. Несмотря на то, что проблемой ХЛС занимаются достаточно давно, остается много вопросов в понимании механизмов формирования и прогрессирования этой патологии [14].

Под легочным сердцем следует понимать весь комплекс нарушений гемодинамики (в первую очередь, вторичную легочную гипертензию), развивающийся вследствие заболеваний бронхолегочного аппарата и проявляющийся, на конечном этапе, необратимыми морфологическими изменениями правого желудочка сердца, с развитием прогрессирующей недостаточности кровообращения [6].

Оказалось, что степень легочной гипертензии не всегда является ведущим фактором, определяющим дальнейшие изменения гемодинамики, нет корреляции между степенью дыхательной недостаточности (ДН) и легочной гипертензии (ЛГ). У большинства больных ХЛС при наличии тяжелой ДН легочная гипертензия не достигает высоких цифр, а причина декомпенсации ХЛС остается не вполне понятной [15].

Состояние микроциркуляторного русла при ХЛС.

В настоящее время известно, что в развитии ЛГ особое значение имеют изменения сосудистого, в том числе, микроциркуляторного русла. В микрососудистом русле реализуется транспортная функция сердечно-сосудистой системы и обеспечивается транкапиллярный обмен, создающий необходимый для жизни гомеостаз [1].

Сформировались представления о микроциркуляции как о сложной системе, включающей в себя сосуды микроциркуляторного русла, периферические отделы лимфатической системы и интерстиций, являющийся непосредственным носителем внутритканевой среды. При этом микроциркуляторное русло (МЦР) рассматривается как важнейший, но отнюдь не автономно функционирующий компонент сложного регионально адаптированного механизма обеспечения гомеостаза [15].

По мере прогрессирования патологического процесса систематически усугубляется и нарушение микроциркуляции. Возникают агрегаты форменных элементов крови во всех отделах МЦР. Частой причиной стойкого выключения микрососудов из кровотока является их сдавление вследствие отека интерстиция и периваскулярного склероза. Возникает парциаль-

ный и тотальный отек эндотелиоцитов, спазм артериол, зияние венул, что свидетельствует о дискоординации кровотока на уровне функциональных единиц МЦР и развитии эндотелиальной дисфункции.

На ранней стадии ХСН изменения со стороны микроциркуляции носят обратимый характер и обуславливаются, в основном, активацией тканевых нейроморфонов. По мере ее прогрессирования происходит усугубление расстройств центральной гемодинамики, дальнейшее снижение сердечного выброса, что приводит к задержке в организме жидкости, увеличению объема циркулирующей крови, ведущее, в свою очередь, к прогрессированию периферических сосудистых расстройств и большему разобщению центрального и периферического звеньев регуляции кровообращения. Снижается объемная скорость тканевого кровотока [7].

Таким образом, дисфункция эндотелия, гиперактивация вазоконстрикторных и ремоделирующих агентов, в ущерб вазодилатирующим и антиремоделирующим, приводят к гипертрофии гладкомышечных клеток сосудов. Увеличивается относительная толщина сосудистой стенки, уменьшается внутренний диаметр сосуда, увеличивается общее периферическое сосудистое сопротивление (ОПСС), уровень перфузии крови в МЦР отражает состояние эндотелиальной стенки микрососудов [2].

Состояние эндотелия на этапах формирования ХЛС.

Установлена важнейшая роль эндотелия легочных сосудов в изменениях легочного кровообращения при ХЛС [15].

Эндотелиальные клетки легких принимают участие в регуляции уровня некоторых вазоактивных веществ, в том числе компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС). На своей поверхности эндотелиоциты легких несут ангиотензинконвертирующий фермент (называемый также киназой II), который инактивирует брадикинин и превращает неактивный ангиотензин I в активный ангиотензин II, приводя к активации сосудосуживающих механизмов [12].

Результаты исследований последних лет свидетельствуют о том, что АТ-II локальных РААС за счет стимуляции роста фибробластов является фактором роста кардиомиоцитов и гладкомышечных клеток сосудов, что определяет его место в развитии гипертрофии и процессах ремоделирования сердца и мелких сосудов. АТ-II принимает участие в механизмах генетического ответа, результатом которого

является апоптоз — программированная смерть клеток [14].

Эндотелий — это высокоспециализированный метаболически активный монослой клеток, выстилающий все сосуды организма человека. Пограничное положение эндотелия между кровью и рабочими элементами органов обуславливает выполнение трех основных задач: обеспечение непрерывного обмена веществ, поддержание тромборезистентности люминальной поверхности эндотелиоцитов, участие в синтезе и метаболизме различных биологически активных веществ [9].

В последние годы стало ясно, что эндотелий не только играет важную роль в системе гемостаза за счет своих антитромботических свойств, но и является важным модулятором многих биологических и физиологических свойств сосудистой стенки [11].

Эндотелиальные клетки, специфически реагируя на различные молекулярные сигналы, генерирующиеся как локально, так и дистанционно, выполняют многообразные функции, в том числе транспортные, барьерные, участвуют в метаболизме внеклеточного матрикса, биосинтезе разнообразных цитокинов, ангиогенезе, регулируют процессы свертывания крови и агрегации тромбоцитов, сосудистый тонус и иммунновоспалительные реакции [22].

Известно, что эндотелий сосудов легких продуцирует три мощные вазодилатирующие субстанции: простациклин — продукт циклооксигеназы, эндотелий гиперполяризующий фактор и эндотелий расслабляющий фактор [8,32,38,59].

В 1980 г. R. Furchgott и J. Zawadski опубликовали в журнале «Nature» знаменитую работу о факторе релаксации эндотелия, который в дальнейшем был идентифицирован как оксид азота (NO) — второй важный релаксирующий фактор, вырабатываемый эндотелием [5].

NO синтезируется из гуанидинового атома L-аргинина синтазой оксида азота, которая присоединяет молекулярный кислород к конечному атому азота в гуанидиновой группе L-аргинина [19]. NO-синтаза существует в виде трех основных изоформ, которые получили свое название по типу клеток, в которых они были обнаружены. По физиологическим свойствам NO-синтазы подразделяются на конститутивные, то есть ферменты со стабильной активностью — нейрональная NO-синтаза (nNOS или NOS I), эндотелиальная NO-синтаза (eNOS или NOS III) и индуцибельная NO (iNOS или NOSII), активность которой регулируется цитокинами [5]. В легких человека изоформы NOS экспрессируются в легочных сосудах, дыхательных путях и паренхиме легких [18].

NO является мощным эндогенным вазодилататором, вызывая расслабление гладкой мускулатуры стенок сосудов, принимает участие в регуляции систем-

ного и легочного сосудистого сопротивления, процессах коагуляции крови, уменьшая агрегацию и адгезию тромбоцитов. Оксид азота подавляет пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов [9, 62, 80, 83], вплоть до полного ингибирования их пролиферации в легочных сосудах, и таким образом изменяет процессы их структурной перестройки, которые имеют место при гипоксии у больных ХОБЛ [6].

Оксид азота постоянно высвобождается из эндотелия легочных сосудов и регулирует сосудистый тонус [18]. Для изучения его роли в регуляции нормального базального тонуса легочных сосудов проводили эксперименты с блокадой синтеза NO, работы с трансгенными мышами, а также исследовали экспрессию NOS. При использовании ингибиторов NOS получены противоречивые данные. В одних исследованиях у здоровых добровольцев введение L-NMMA (аналог L-аргинина) оказывало системное действие в виде повышения артериального давления, уменьшения сердечного выброса, однако давление в МКК не изменялось [24], в то время как другие авторы сообщают о связи регуляции легочного сосудистого сопротивления в норме с базальной продукцией оксида азота, причем в исследовании С. Cooper et al. применяли внутрилегочную инфузию препаратов [3]. Противоречивые данные о влиянии блокады NOS в условиях нормоксии получены в исследованиях на изолированных легких [43, 55]. В ряде работ показано, что при введении препаратов L-аргинина в перфузаты изолированных легких не менялся сосудистый тонус, в то же время есть сообщения о резком повышении базального сопротивления сосудов МКК после острой блокады [30]. Несмотря на противоречивость приведенных данных, более вероятно, что оксид азота играет определенную роль в поддержании базального тонуса сосудов, однако этот вопрос нуждается в дальнейшем изучении.

Гиперпродукция NO оказывает повреждающее действие на клетку за счет прямых и опосредованных механизмов. Наиболее важным механизмом опосредованного повреждения действия избытка NO считается взаимодействие NO с супероксидным анионом с образованием пероксинитритов. Пероксинитриты легко проникают через липидный бислой мембраны и имеют значительно больше химических мишеней, чем NO. Они ингибируют белки митохондриальной дыхательной цепи, что приводит к снижению продукции АТФ и нарушению кальциевого гомеостаза; угнетают антиоксидантные ферменты и тем самым усиливают образование супероксидного аниона и дополнительно пероксинитритов [10].

Необходимо отметить, что эндотелий выполняет не только вазорегулирующую, но и антитромбогенную функцию, нарушение которой может играть роль в развитии ЛГ у больных ХЛС. Антитромбогенные

свойства сосудистой стенки связывают со следующими особенностями эндотелия [11]:

- способностью синтезировать и выделять в кровь мощные ингибиторы агрегации тромбоцитов – простациклин, оксид азота (антиагрегационная активность);
- продукцией тканевого активатора плазминогена (tPA) и ингибитора активатора плазминогена – Pai-1 (фибринолитическая активность);
- синтезом факторов, препятствующих свертыванию крови (антитромбин III, гепарин сульфат, α_2 -макроглобулин, протеин С, протеин S);
- способностью удалять из кровотока активированные факторы свертывания крови.

Таким образом, эндотелиальные клетки сосудов в норме обладают высокой антиагрегационной, антикоагулянтной и фибринолитической активностью, обусловленной синтезом в них простациклина, оксида азота, антитромбина III и активатора плазминогена. Снижение антитромбогенной активности стенки сосудов вносит существенный вклад в тромбогенез и, учитывая данные о гемореологических нарушениях у пациентов с ХЛС, может играть определенную роль в патогенезе повышения давления в МКК [8].

Концепция регулирующей роли эндотелия в патогенезе ЛГ основывается, главным образом, на наблюдениях, полученных в экспериментах на животных или на человеческих препаратах *in vitro*, в то время как исследования *in vivo* являются малочисленными. В литературе практически отсутствуют данные об изменениях эндотелиальной регуляции сосудистого тонуса и антитромбогенной активности стенки сосудов у больных ХЛС [8].

F. Sakamaki et al. [21], G. Cella et al. [23] сообщают о повышении уровня Р-селектина, sE-селектина и снижении уровня sL-селектина у пациентов с первичной и вторичной легочной гипертензией, что свидетельствует о развитии у них эндотелиальной дисфункции. Наличие повреждения эндотелия подтверждается и данными A. Lopes et al., установившими снижение биологической активности фактора Виллебранда (vWF) и повышение vWFAg, нарушение антиагрегационной активности сосудистой стенки у больных как первичной, так и вторичной ЛГ. В работе B. Christman et al. [13] выявлено повышение уровня тромбосана B2 (метаболита тромбосана A2) и снижение уровня простагландина F 2α (метаболита простациклина) у больных ХОБЛ с ЛГ, в то время как у пациентов без ЛГ уровень этих метаболитов был неизменным. О нарушении антикоагулянтной активности у пациентов с ЛГ свидетельствует и снижение уровня тромбомодулина. На уменьшение фибринолитической активности стенки сосудов у больных ХЛС указывают R. Altman et al. [29].

Показано снижение продукции оксида азота у па-

циентов с первичной и вторичной легочной гипертензией [18]. E. Clini et al. [26] установили связь между содержанием оксида азота в выдыхаемом воздухе и средним давлением в легочной артерии ($r = -0,63$, $p < 0,01$), толщиной правого желудочка – ПЖ ($r = -0,59$, $p < 0,05$). A. Giaid et al. [25] продемонстрировали снижение иммунореактивности eNOS у больных ХОБЛ, осложненной ХЛС. Иммунореактивность eNOS была минимальной или отсутствовала в сосудистом эндотелии легочных артерий у больных с первичной ЛГ. В то же время экспрессия eNOS в эпителии дыхательных путей у больных и здоровых лиц была сопоставимой. В работе Dinh-Xuan et al. отражена взаимосвязь нарушения эндотелийзависимой вазодилатации легочных артерий *in vitro* с нарушением синтеза и/или высвобождения оксида азота у больных терминальной ХОБЛ, осложненной ХЛС с явлениями гипоксии [16].

У больных ХЛС закономерно обнаруживают высокую активность ренина, ангиотензина II и АПФ. Подобные изменения способствуют нарастанию ЛГ, стимулируют процессы фиброза в миокарде, нарушение функции желудочков сердца.

У больных первичной и вторичной ЛГ, причиной развития которой были не заболевания легких, установлено повышение содержания сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и нормальный уровень тромбоцитпродуцируемого фактора роста (PDGF), в то время как у пациентов с ХЛС и выраженной гипоксемией установлено повышение уровней обоих факторов роста [44]. Нарушение баланса между VEGF и PDGF считается одним из факторов патогенеза ЛГ у больных ХЛС [20].

Роль апоптоза в формировании ХЛС.

Гибель клеток при гипоксии может происходить как за счет некроза, при котором происходит быстрая неуправляемая их гибель, так и за счет апоптоза, при котором в клетках в течение нескольких часов иницируется регулируемая многими факторами программа смерти. Считается, что гибель клеток при гипоксии преимущественно опосредована механизмами апоптоза [4].

Апоптоз или запрограммированная клеточная смерть, представляет собой естественный процесс регулируемого уничтожения ненужных клеток. Морфологически апоптоз характеризуется сморщиванием клетки, пузырчатостью мембраны, конденсацией хроматина и фрагментацией ДНК. На поздних стадиях апоптоза из погибающих клеток образуются апоптотические тельца, которые подвергаются фагоцитозу. В отличие от некроза апоптоз обычно происходит в отдельных клетках, причем содержимое клетки не выходит наружу и не вызывает воспалительной реакции [9].

Активация апоптотических механизмов в гипоксии-

ческих условиях связана с несколькими ключевыми событиями. К ним относятся: снижение внутриклеточного уровня калия, обусловленное снижением содержания АТФ; увеличение в нейронах вхождения кальция и натрия, связанное с высвобождением глутамата; снижение активности супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы и соответственно увеличение свободнорадикального окисления [9]; нарушение целостности митохондриальной мембраны, сопряженное с выходом цитохрома С — мощного проапоптотического фактора. Все эти события через разные механизмы приводят к активации «каскада» каспаз — цитоплазматических протеаз, избирательно расщепляющих белки за остатком аспарагиновой кислоты. Проапоптотический сигнал активирует инициаторные каспазы, которые в свою очередь вызывают активацию эффекторных каспаз. Каспазы расщепляют структурные и сигнальные белки, вовлеченные в транскрипцию и метаболизм ДНК и РНК [26].

Процессы апоптоза и клеточной пролиферации совместно поддерживают определенную численность клеток органов. Апоптоз устраняет в клетках поврежденные участки ДНК, не давая возможности транскрибироваться aberrантным мРНК и белкам. В этом проявляется важная защитная функция физиологического апоптоза.

Гипоксическое повреждение и апоптоз в кровеносных сосудах имеют один очень важный аспект. Дело в том, что тканевая гипоксия может развиваться не только на больших участках сосуда, но и в локальных зонах. В этих локальных микроучастках гипоксии обнаруживается большое количество макрофагов, которые активно синтезируют как ростовые факторы сосудов, так и проапоптотические факторы и, таким образом, регулируют баланс между сосудистым ростом и апоптозом. Тяжелая гипоксия приводит к увеличению популяции макрофагов, синтезирующих в основном проапоптотические факторы, и таким образом сдвигает процесс в сторону апоптоза [9].

Апоптоз приводит к гибели эндотелиальных клеток, утрате антикоагулянтных свойств эндотелия и разреживанию капиллярной сети. Усиление апоптоза в эндотелиальных клетках сопровождается нарастанием дисфункции эндотелия [28].

Главным фактором, обеспечивающим защиту эндотелиальных клеток от апоптоза, служит продуцируемый eNOS в низких концентрациях NO, в то время как гиперпродукция NO, приводящая к накоплению

в клетках токсичного пероксинитрита, является мощным проапоптотическим фактором. Таким образом, ламинарный поток повышает как синтез NO, так и его биодоступность. Молекулярные механизмы антиапоптотического действия NO включают инактивацию эффекторной каспазы-3 за счет ее S-нитрозилирования, т.е. ингибирование ключевого механизма апоптоза, а также дестабилизацию мРНК фосфатазы — МКР-3, которая является одним из посредников высвобождения цитохрома С из митохондрий. Антиапоптотические факторы обычно способствуют синтезу NO в эндотелии или повышению биодоступности NO. Напротив, действие проапоптотических агентов в значительной степени опосредовано гиперпродукцией NO [27].

Проапоптотическое действие избытка NO связано с тем, что он вызывает повреждение ДНК, нарушение энергетического метаболизма, кальциевого гомеостаза и функции митохондрий. Проникая в митохондрии или синтезируясь непосредственно в них самих, NO вместе с образующимся при взаимодействии NO и пероксинитритом может обратимо ингибировать транспорт электронов, необратимо инактивировать дыхательные ферменты и вызывать образование так называемых МРТ-пор. Из митохондрий высвобождаются цитохром С и апоптозиндуцирующий фактор AIF, которые активируют каспазы [9].

Таким образом, умеренное повышение уровня оксида азота, которое ведет к расслаблению спазмированной гладкой мускулатуры бронхов и сосудов малого круга кровообращения, имеет место при компенсированном ХЛС. По мере прогрессирования заболевания, с нарастанием декомпенсации ХЛС, гиперпродукция NO начинает оказывать уже цитотоксическое действие. Повреждающее действие гиперпродукции NO связано с образованием токсических пероксинитритов, нарушением функции митохондрий нитрозилированием клеточных белков, фрагментацией ДНК и активацией апоптоза эндотелиальных и сосудистых клеток [20]. Усиление апоптоза в эндотелиальных клетках сопровождается дисфункцией эндотелия. По мере прогрессирования ХЛС и нарастания степени сердечной недостаточности, гиперпродукция NO приводит к накоплению в клетках токсичного пероксинитрита, являющегося мощным проапоптотическим фактором, что еще более усугубляет эндотелиальную дисфункцию и формирует порочный круг.

Литература

1. Алябьева Ж. Ю., Егоров А. Е. Современные технологии исследования микроциркуляции в офтальмологии // Русский медицинский журнал. 2000 г. Т.8. № 3-4. С.19-20.
2. Беленков Ю. Н., Мареев В.Ю. Агеев Ф.Т. Принципы рационального лечения сердечной недостаточности // М. 2000 г. С.266.
3. Дейл М. М., Фан Т.-П. Д. Эндотелиальные клетки сосудов: руководство по иммунофармакологии. Пер. с англ. М. 1998 г.
4. Драпкина О.М., Клименков А.В., Ивашкин В.Т. Апоптоз кардиомиоцитов и роль ингибиторов АПФ // Российский кардиологический журнал. 2003 г. №1. С.81-86.
5. Заволовская Л. И., Орлов В. А. Современный взгляд на патогенез легочной гипертензии, формирование хронического легочного сердца и некоторые аспекты терапии // Пульмонология. 1996 г. №1. С.62-67.
6. Задионченко В. С., Погонченко И. В., Гринева З. О. и др. Хроническое легочное сердце // Российский кардиологический журнал. 2003 г. №4. С.6-11.
7. Зиц С.В. Диагностика и лечение застойной сердечной недостаточности. М. 2000 г. С.128.
8. Кароли Н.А., Ребров А. П. Роль эндотелия в развитии легочной гипертензии у больных с хроническими обструктивными болезнями легких // Клиническая медицина. 2004 г. Т.82. №8. С.8-14.
9. Малышев И.Ю., Монастырская Е.А. Апоптоз и его особенности в эндотелиальных и гладкомышечных клетках сосудов. Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования. Витебск. 2000 г. С.4-11.
10. Малышев И.Ю., Монастырская Е.А., Смирин Б.В., Манухина Е.Б. Гипоксия и оксид азота // Вестник Российской академии медицинских наук. 2000 г. №9. С.44-48.
11. Мартынюк Т. В., Масенко В. П., Чазова И. Е., Беленков Ю.Н. Эндотелиальная дисфункция у больных с легочной гипертензией // Кардиология. 1997 г. №10. С.25-29.
12. Ольбинская Л. И., Игнатенко С. Б. Патогенез и современная фармакотерапия хронической сердечной недостаточности. // Сердечная недостаточность. 2002 г. №2. С.87-92.
13. Палеев Н. Р., Черейская Н. К. Легочная гипертензия при хронических обструктивных болезнях легких // Рос. мед. журн. 1998 г. №5. С.44-47.
14. Ребров А.П., Кароли Н.А. Хроническое легочное сердце у больных бронхиальной астмой // Сердечная недостаточность. 2002 г. №3(30). С.120- 123.
15. Федорова Т. А. Хроническое легочное сердце. Хронические обструктивные болезни легких. СПб. 1998 г. С.192-216.
16. Arnal J.- F., Dinh-Xuan A. T., Pueyo M. et al. Endothelium-derived nitric oxide and vascular physiology // Cell Mol Life. 1999. Vol.55. P.1078-1087.
17. Baldus S., Castro L., Freeman B. Is NO news in acute // Am. J. Respir. Crit. care Med. 2001. Feb. Vol.163(2). P.308-318.
18. Brett S. J., Simon J., Gibbs R. et al. Impairment of endothelium-dependent pulmonary vasodilatation in patients with primary pulmonary hypertension // Thorax. 1996. Vol.51. P.89-91.
19. Cannon R.O. Role of nitric oxide in cardiovascular disease: focus on the endothelium // Clin Chem. 1998. Vol.44. P.1809-1819.
20. Ciafre S. A., D'Armiento F. P., Di Gregorio F. et al. Angiotensin II stimulates endothelin-1 release from human endothelial cells // Recent. Progr. Med. 1993. Vol.84. P.248-253.
21. Dohi Y., Kojima M., Sato K., Luscher T.F. Age-related changes in vascular smooth muscle and endothelium // Drugs Aging. 1995. Vol.7(4). P.278- 291.
22. Dupuis J., Stewart D., Cernacek P., Gosselin G. Human pulmonary circulation is an important site for both clearance and production of endothelin-1 // Circulation. 1996. Vol.94. P.1578-1584.
23. Giaid A., Yanagisawa M., Langleben D. et al. Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension // N. Engl. J. Med. 1993. Vol.328. P.1732-1739.
24. Global initiative for chronic obstructive lung disease. WHO. 2002
25. Oswald-Mammoser M., Weitzenblum E., Quoix E. et al. Prognostic factors in COPD patients receiving long-term oxygen therapy // Chest. 1995. Vol.107. P.1193-1198.
26. Raff M. Cell suicide for beginners // Nature. 1998. Vol.396. P.119-122.
27. Rossig L., Haendeler J., Hermann C. et al. Nitric oxide downregulates MKP-3 mRNA levels: involvement in endothelial cell protection from apoptosis // J. Biol. Chem. 2000. Vol.275. P. 25502-25507.
28. Sagripanti A., Carpi A. Antithrombotic and prothrombotic activities of the vascular endothelium // Biomed. Pharmacother. 2000. Vol.54. P. 107-111.
29. Taddei S., Virdis A., Ghiadoni L. et al. Lacidipine restores endothelium-dependent vasodilation in essential hypertensive patients // Hypertension. 1997. Vol.30. P.1606-1612.
30. Wang S. The effect of captopril on hemodynamics in patients of chronic obstructive pulmonary disease with pulmonary hypertension // Chung-Hua-Hei-Ko-Tsa-Chin. 1993. Vol. 32(8). P.545-548.

Поступила 21/10-2006