

УДК 616.12-008.331.1:616.12-005.4]-085.22:577.1  
DOI

©Є. І. Шоріков

ВДНЗ “Буковинський державний медичний університет”

**ПАТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ДИСФУНКЦІЇ ЕНДОТЕЛІУ У ХВОРИХ НА АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ: РОЛЬ МОНООКСИДУ НІТРОГЕНУ**

ПАТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ДИСФУНКЦІЇ ЕНДОТЕЛІУ У ХВОРИХ НА АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ: РОЛЬ МОНООКСИДУ НІТРОГЕНУ – Стаття присвячена дослідженню вмісту монооксиду нітрогену в пацієнтів із гіпертонічною хворобою з цукровим діабетом 2 типу залежно від наявності інсулінорезистентності, типу ендотеліозалежної вазодилатації, ремоделювання судин еластичного типу. Встановлено вірогідне зниження метаболітів оксиду азоту у хворих на гіпертонічну хворобу з цукровим діабетом 2 типу, асоційоване зі збільшенням вмісту глюкози, інсуліну та зростанням індексу інсулінорезистентності. Виявлено вірогідний зв'язок між вмістом метаболітів монооксиду нітрогену, показниками ліпідного обміну, індексом атерогенності та метаболічним індексом. У хворих із порушеною судинною функцією при ендотеліозалежній вазодилатації спостерігається вірогідно нижчий вміст метаболітів оксиду азоту. Встановлено вірогідний зв'язок між зменшенням  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  коефіцієнтом розтяжності аорти, показниками локальної жорсткості, швидкістю пульсової хвилі, модулем еластичності Петерсона та загальним артеріальним комплайенсом.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ: РОЛЬ МОНООКСИДА НИТРОГЕНА – В статье исследована роль монооксида азота у больных артериальной гипертензией с сахарным диабетом 2 типа в зависимости от наличия инсулинорезистентности, типа эндотелийзависимой вазодилатации, ремоделирования сосудов эластического типа. Установлено достоверное снижение метаболитов оксида азота у больных гипертонической болезнью с сахарным диабетом 2 типа на фоне прироста гликемии, уровня инсулина, а также индекса инсулинорезистентности. Выявлена достоверная связь между содержанием метаболитов монооксида азота, показателями липидного обмена, индексом атерогенности и метаболитическим индексом. При патологической эндотелийзависимой вазодилатации наблюдается сниженный уровень метаболитов оксида азота. Установлена достоверная связь между снижением  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  коэффициентом растяжимости аорты, показателями локальной жесткости, скоростью пульсовой волны, модулем эластичности Петерсона и общим артериальным комплайенсом.

PATHOGENIC ASPECTS OF ENDOTHELIUM DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION WITH DIABETES MELLITUS: NITROGEN THE ROLE OF MONOXIDE – The role of nitrogen oxide due to the insulin resistance, endothelium dependent vasodilation and vascular remodeling in patients with arterial hypertension and diabetes mellitus type II are devoted in the article. It was set the reliable decrease of nitrogen oxide metabolite in patients with arterial hypertension and diabetes mellitus type II due to the glycemia, insulin level, and also insulin resistance index. It was found the reliable correlation among nitrogen oxide metabolite, lipids level, atherogenic index and metabolic index. There was decreased nitrogen oxide metabolite level at pathological type endothelium dependent vasodilation. The reliable correlations between the decline of  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  vascular tensility, elasticity, pulse wave, Peterson module and arterial complaint index were noted.

**Ключові слова:** монооксид нітрогену, гіпертонічна хвороба, цукровий діабет, дисфункція ендотелію, судинна жорсткість.

**Ключевые слова:** монооксид азота, гипертоническая болезнь, сахарный диабет, дисфункция эндотелия, сосудистая жесткость.

**Key words:** nitrogen oxide, arterial hypertension, diabetes mellitus, endothelial dysfunction, vascular elasticity.

**ВСТУП** Найбільш важливою ланкою порушення ендотеліальної функції є система синтезу оксиду азоту (NO) та пов'язаних з ним ферментних та неферментних систем [9]. У наш час NO є одним з найбільш вивчених активаторів ендотеліозалежної вазодилатації [5, 7], який може виконувати як паракринні, так і дистантні сигнальні функції [7].

В умовах порушення кардіогемодинаміки, як це спостерігається за наявності артеріальної гіпертонії (АГ), фізіологічна дія інсуліну на стан судинної стінки змінюється [6]. На фоні порушеної чутливості периферичних тканин до інсуліну на фоні гіперглікемії, гіпертригліцеридемії, гіперінсулінемії та АГ порушення активації/експресії eNOS та продукція NO можуть слугувати основним чинником ураження інтимального та адвентиційного шарів судин великого та середнього калібрів, що відображається у прискоренні їх атеросклеротичної трансформації та розвитку макроангіопатій при ЦД 2 типу [3, 5].

Отже, визначення функціонального стану ендотелію за рівнем NO може відображати не лише вазодилатуючі властивості ендотелію, але і його гемостатичну стабільність, адгезивні, агрегаційні та коагуляційні можливості [7, 10].

Проте дискусійним залишається питання, чи є зниження синтезу монооксиду нітрогену патогенетичним чинником ураження судин або ж його зменшення є вторинним процесом внаслідок існуючої дисфункції ендотелію.

Метою дослідження було вивчити вміст метаболітів монооксиду нітрогену у хворих із поєднаним перебігом гіпертонічної хвороби та цукрового діабету залежно від стадії захворювання, стану ліпідного та вуглеводного обміну, показників ендотеліозалежної вазодилатації та судинної жорсткості.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Для реалізації поставленої мети було обстежено 146 хворих на гіпертонічну хворобу (ГХ), з них 101 пацієнт був із супутнім цукровим діабетом (ЦД) 2 типу. Середній вік обстежених становив  $(55,7 \pm 10,3)$  року. Верифікацію стадії ГХ проводили з використанням критеріїв, рекомендованих Українською асоціацією кардіологів, Європейським товариством гіпертензії та кардіології [4], а також Європейською асоціацією з вивчення цукрового діабету [6]. Окрім того, було обстежено 35 практично здорових осіб.

Дослідження протокозалежної вазодилатації (ендотеліозалежної, ЕЗВД) здійснювали шляхом використання апарату “EnVisor HD” (Philips, USA) за методикою, D. Celermajer, K. E. Sorensen [8, 10] у модифікації В. Г. Лелюк [1]. Показники локальної жорсткості та еластичності аорти, загальної сонної (ЗСА), плечової та стегнової артерій визначали за методикою В. Г. Лелюк [1]. Серед параметрів локальної жорсткості та еластичності розраховувались наступні: 1) DC – індекс розтягнення, що характеризує відносну зміну поперекового перерізу судини на одиницю тиску; 2) Ер-модуль еластичності Петерсона – здатність до відновлення стінки артерії до вихідного стану; 3)  $\beta$  – індекс жорсткості; 4) OPPWV – швидкість пульсової хвилі, що виміряна методом “однієї

точки"; 5) LS – деформація просвіту судини, відображає зміну об'єму в систолу.

Рівень сумарного вмісту метаболітів оксиду азоту (total NO-) визначали фотометричним методом за допомогою напівавтоматичного аналізатора СФ-2000 з використанням реактиву Грисса. Рівень інсуліну визначали методом твердофазного двостадійного імуноферментного аналізу. За вмістом інсуліну плазми та глюкози плазми натще враховували індекс інсулінорезистентності (НОМА IR).

Результати у таблицях представлені у вигляді: середнє  $\pm$  стандартне відхилення. Використовували методику однофакторної ANOVA та параметричний кореляційний аналіз за Пірсоном. Для статистичного аналізу застосовували пакет програм обробки даних загального призначення Statistica for Windows версії 6.0 (Stat Soft inc., США) [2].

#### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вміст метаболітів монооксиду нітрогену досліджували у плазмі хворих на артеріальну гіпертензію коморбідну за ЦД 2 типу в чотирьох підгрупах, стратифікованих за стадією АГ та наявністю/відсутністю ЦД 2 типу.

Було встановлено, що у дослідній групі спостерігали істотне ( $p < 0,05$ ) зниження вмісту метаболітів  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  до рівня ( $18,92 \pm 3,22$ ) ммоль/л (на противагу ( $29,12 \pm 3,92$ ) ммоль/л у групі практично здорових осіб). Отримані результати представлено у таблиці 1.

Дані таблиці свідчать, що у цілому в підгрупі хворих на АГ коморбідну за ЦД 2 типу спостерігають значне пригнічення синтезу монооксиду нітрогену, порівняно з хворими на ізольовану АГ. Тобто супутній ЦД 2 викликає суттєве пригнічення синтезу ендотеліального релаксуючого фактора у хворих на АГ III стадії порівняно з АГ II стадії ( $p_{2,4} < 0,05$ ).

Про вплив  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  та конкретних метаболічних чинників на ступінь розладів функції ендотелію за умов коморбідності ЦД II та АГ свідчать дані кореляційного

аналізу між вмістом метаболітів монооксиду нітрогену з основними параметрами вуглеводного обміну, моделлю НОМА-IR та показниками ліпідного обміну. За аналізу зв'язку вмісту продуктів розпаду монооксиду нітрогену та параметрами моделі НОМА-IR встановлено, що збільшення вмісту глюкози, рівня інсуліну та, відповідно, зростання індексу НОМА-IR супроводжується вірогідним ( $p < 0,05$ ) зниженням активності монооксиду нітрогену в плазмі крові (табл. 2).

Відповідно, чутливість периферійних тканин (у тому числі ендотелію судин) до глюкози та інсуліну істотно зменшується при зниженні вмісту продуктів метаболізму монооксиду нітрогену. Проте щільність виявлених кореляційних зв'язків є достатньо слабкою, що підтверджує багатовекторність залежності синтезу та виділення монооксиду нітрогену від багатьох інших факторів, одним з яких є зміна ліпідного обміну.

Було встановлено вірогідний ( $p < 0,05$ ) позитивний кореляційний зв'язок метаболітів  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  зі зниженням вмісту ХС-ЛПВЩ та негативний – зі зростанням вмісту тригліцеридів, ліпопротеїдів дуже низької щільності та індексом атерогенності. Отримані дані вказують на залежність швидкості синтезу монооксиду нітрогену при коморбідному перебігу АГ та ЦД 2 типу з наявністю інсулінорезистентності та гіперінсулінемії (табл. 3).

Підтвердженням цього положення є виявлення вірогідних кореляційних зв'язків між вмістом метаболітів монооксиду нітрогену та параметрами інших моделей інсулінорезистентності – коефіцієнтом ТГ/ХС-ЛПВЩ ( $r = -0,29$ ,  $p = 0,003$ ) та метаболічним індексом (MI,  $r = -0,27$ ,  $p = 0,004$ ) (табл. 3).

Тобто метаболічні порушення, які виявили ми при АГ із коморбідністю з ЦД 2 типу, мають певний вплив на ступінь виділення монооксиду нітрогену з ендотеліальних клітин. Також ми провели оцінку вмісту метаболітів монооксиду нітрогену залежно від виявлених типів судинної реакції.

Таблиця 1. Уміст метаболітів монооксиду нітрогену в крові хворих на АГ, стратифікованих за наявністю супутнього цукрового діабету 2 типу

Показник	Практично здорові особи	Хворі на АГ II (група 1) n=22	Хворі на АГ II та супутній ЦД 2 (група 2) n=40	Хворі на АГ III (група 3) n=23	Хворі на АГ III та супутній ЦД 2 (група 4) n=61
Уміст метаболітів монооксиду нітрогену $\text{NO}_2/\text{NO}_3$ (ммоль/л)	29,12 $\pm$ 3,52	23,42 $\pm$ 3,00	18,98 $\pm$ 2,93	22,53 $\pm$ 3,43	17,83 $\pm$ 2,53

Примітка. F = 17,39;  $p < 0,001$ ; міжгруповий post-hoc аналіз проведено з використанням LSD-тесту;  $p_{1,2} < 0,001$ ;  $p_{1,3} = 0,47$ ;  $p_{1,4} < 0,001$ ;  $p_{2,3} < 0,001$ ;  $p_{2,4} = 0,028$ ;  $p_{3,4} < 0,001$ .

Таблиця 2. Взаємозв'язок між вмістом метаболітів монооксиду нітрогену та станом вуглеводного обміну у хворих на АГ із коморбідністю за ЦД 2 типу

Показник умісту метаболітів монооксиду нітрогену та стану вуглеводного обміну	Глюкоза	Інсулін	НОМА-IR
Уміст $\text{NO}_2/\text{NO}_3$	$r = -0,26$ ( $p = 0,003$ )	$r = -0,28$ ( $p < 0,001$ )	$r = -0,29$ ( $p < 0,001$ )

Таблиця 3. Взаємозв'язок між вмістом метаболітів монооксиду нітрогену та станом ліпідного обміну у хворих на АГ із коморбідністю за ЦД 2 типу

Показник умісту метаболітів монооксиду нітрогену та стану ліпідного обміну	ХС	ХС-ЛПВЩ	ХС-ЛПНЩ	ХС-ЛПДНЩ	ХС-не-ЛПВЩ	ТГ	ХС-не-ЛПВЩ / ХС-ЛПВЩ
Уміст $\text{NO}_2/\text{NO}_3$	$r = -0,12$ ( $p = 0,18$ )	$r = 0,23$ ( $p = 0,012$ )	$r = -0,08$ ( $p = 0,34$ )	$r = -0,20$ ( $p = 0,030$ )	$r = -0,08$ ( $p = 0,39$ )	$r = -0,21$ ( $p = 0,026$ )	$r = -0,21$ ( $p = 0,023$ )

Отримані результати підтверджують властивість монооксиду нітрогену змінювати свою активність залежно від глибини ураження судинного ендотелію (табл. 5).

У хворих із нормальною судинною реакцією спостерігають найвищий уміст метаболітів монооксиду нітрогену, порівняно з підгрупами, в яких встановлено порушення ендотеліозалежної вазодилатації ( $p=0,035$ ). Окрім того, у пацієнтів із вазоконстрикторною реакцією уміст продуктів метаболізму монооксиду нітрогену був найнижчим ( $p=0,057$ ). Таким чином, уміст оксиду азоту є характерним індикатором змін функції судинного ендотелію у хворих із АГ та ЦД 2 типу.

При дослідженні еластичності аорти встановлено наявність позитивних вірогідних кореляційних зв'язків між зниженням вмісту метаболітів монооксиду нітрогену та зниженням коефіцієнта розтяжності аорти на рівні висхідного відділу та дуги (табл. 6).

Окрім того, у власному дослідженні при ГХ із супутнім ЦД 2 встановлено асоціацію між вмістом метаболітів монооксиду нітрогену та показниками локальної жорсткості, визначеної на рівні загальної сонної (ЗСА), плечової (ПА) та феморальної артерій (ФА) (табл. 7).

Найбільш значимим був кореляційний зв'язок між умістом метаболітів оксиду азоту та швидкістю розпо-

всюдження пульсової хвилі, що виміряна методом однієї точки, а також модулем еластичності Петерсона, який відображає здатність стінок артерій відновлюватись до вихідного стану залежно від рівня артеріального тиску. Вірогідний зв'язок спостерігали між зниженням вмісту метаболітів монооксиду нітрогену та індексом розтягнення в досліджуваних судинах. На рівні ЗСА визначали вірогідний ( $p=0,009$ ) середньої сили кореляційний зв'язок між рівнем NO та артеріальним комплайенсом.

Отже, враховуючи результати проведених досліджень, можна сказати, що зниження виділення основного релаксуючого агента – монооксиду нітрогену відображає перш за все порушення рухомості стінок артерій у відповідь на зміни артеріального тиску та збільшення експозиції глюкози, а також інсуліну в шарах судинної стінки, сприяючи їх подальшому ремоделюванню. Таким чином, зниження виділення монооксиду нітрогену, є не лише специфічним індикатором порушення функції ендотелію, але й ключем до початку процесів структурної перебудови стінок судин. Також ми можемо констатувати, що перебіг АГ, асоційованої із ЦД 2 типу, характеризується зниженням синтезу монооксиду нітрогену, порушенням вазодилатації, що підсилюється за умов змін артеріальної жорсткості та за умов ремоделювання судин.

**Таблиця 5. Уміст метаболітів монооксиду нітрогену залежно від типу судинної реакції у пробі з реактивною гіперемією у хворих на АГ та ЦД 2 типу**

Показник	Нормальна реакція вазодилатації	Порушення функції	Вазоконстрикція
Уміст $\text{NO}_2/\text{NO}_3^-$	19,02±1,32	17,35±2,81	15,11±2,65

Примітка.  $F = 3,60$ ;  $p=0,035$ ; міжгруповий post-hoc аналіз проведено з використанням LSD-тесту;  $p_{1-2}=0,051$ ;  $p_{1-3}=0,005$ ;  $p_{2-3}=0,057$ .

**Таблиця 6. Взаємозв'язок між ступенем розтяжності аорти та умістом метаболітів монооксиду нітрогену у хворих на АГ та ЦД 2 типу**

Показник розтягнення аорти та умісту метаболітів монооксиду нітрогену	Rv	Rd
Уміст $\text{NO}_2/\text{NO}_3^-$	0,35 ( $p=0,026$ )	0,31 ( $p=0,051$ )

**Таблиця 7. Взаємозв'язок між умістом метаболітів монооксиду нітрогену та локальною жорсткістю загальної сонної, плечової та стегнової артерій у хворих на АГ та ЦД 2 типу**

Показник	DC ЗСА	EP ЗСА	в ЗСА	LS ЗСА	OPPWW ЗСА
Уміст $\text{NO}_2/\text{NO}_3^-$	$r=0,35$ $p=0,027$	$r=-0,39$ $p=0,011$	$r=-0,30$ $p=0,056$	$r=0,18$ $p=0,24$	$r=-0,37$ $p=0,018$
Показники	DC ПА	EP ПА	в ПА	LS ПА	OPPWW ПА
Уміст $\text{NO}_2/\text{NO}_3^-$	$r=0,33$ $p=0,037$	$r=-0,36$ $p=0,022$	$r=-0,26$ $p=0,092$	$r=0,14$ $p=0,38$	$r=-0,33$ $p=0,035$
Показники	DC ФА	EP ФА	в ФА	LS ФА	OPPWW ФА
Уміст $\text{NO}_2/\text{NO}_3^-$	$r=0,34$ $p=0,032$	$r=-0,35$ $p=0,024$	$r=-0,25$ $p=0,10$	$r=0,11$ $p=0,47$	$r=-0,33$ $p=0,034$

**ВИСНОВКИ** 1. У хворих на гіпертонічну хворобу за поєднаного перебігу з цукровим діабетом 2 типу спостерігають вірогідне зниження умісту метаболітів монооксиду нітрогену.

2. Збільшення умісту глюкози, інсуліну та зростання індексу інсулінорезистентності HOMA-IR супроводжується вірогідним зниженням активності метаболітів оксиду азоту.

3. Встановлено вірогідний кореляційний зв'язок між умістом  $\text{NO}_2/\text{NO}_3^-$ , зниженням ХС-ЛПВЩ, зростанням тригліцеридів, ЛПДНЩ, індексом атерогенності, коефіцієнтом ТГ/ХС-ЛПВЩ та метаболічним індексом.

5. При проведенні ендотеліозалежної вазодилатації у хворих із порушеною судинною функцією спостерігався ві-

рогідно нижчий уміст метаболітів монооксиду нітрогену.

6. Встановлено наявність позитивних вірогідних кореляційних зв'язків між зменшенням  $\text{NO}_2/\text{NO}_3^-$ , коефіцієнтом розтяжності аорти на рівні висхідного відділу та дуги, показниками локальної жорсткості, визначеними на рівні сонної, плечової та феморальної артерій.

7. Виявлено вірогідний кореляційний зв'язок між умістом метаболітів оксиду азоту, швидкістю розповсюдження пульсової хвилі, модулем еластичності Петерсона та загальним артеріальним комплайенсом.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Лелюк В. Г. Ультразвуковая ангиология / В. Г. Лелюк, С. Э. Лелюк. – М. : Реальное время, 2003. – 324 с.

2. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – М. : Медиа-сфера, 2004. – 312 с.
3. Шоріков Є. І. Вплив змін системної гемодинаміки на ступінь ураження органів-мішеней у хворих на гіпертонічну хворобу / Є. І. Шоріков, Д. В. Шорікова // Акт. Пит. Мед. Науки та Прак. – 2010. – Вип. 76. – Т. 1. – С. 219–229.
4. Arterial Hypertension (Management of) ESC Clinical Practice Guidelines Reference / G. Mancia, R. Fagard, K. Narkiewicz [et al.] // Eur. Heart J. – 2013. – Vol. 34. – 2159–2219.
5. Endothelial nitric oxide synthase uncoupling: a novel pathway in OSA induced vascular endothelial dysfunction / S. Varadharaj, K. Porter, A. Pleister [et al.] // Respir. Physiol. Neurobiol. – 2015. – Vol. 207. – P. 40–47.
6. ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. ESC Clinical Practice Guidelines Reference // L. Ryden, P. J. Grant, S. D. Anker [et al.] // Eur. Heart J. – 2013. – Vol. 34. – P. 3035–3087.
7. Lundberg J. O. Strategies to increase nitric oxide signalling in cardiovascular disease / J. O. Lundberg, M. T. Gladwin, E. Weitzberg // Nat. Rev. Drug Discov. – 2015. – Vol. 14. – № 9. – P. 623–641.
8. Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility / K. E. Sorensen, D. S. Celermajer, D. J. Spiegelhalter [et al.] // Br. Heart Jour. – 1995. – Vol. 74. – № 3. – P. 247–253.
9. NOX2 as a potential target of mitochondrial superoxide and its role in endothelial oxidative stress / R. R. Nazarewicz, A. E. Dikalova, A. Bikineyeva [et al.] // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2013. – Vol. 305. – № 8. – P. 1131–1140.
10. Pocket-sized focused cardiac ultrasound: strengths and limitations / M. Mirabel, D. Celermajer, A. S. Beraud [et al.] // Arch. Cardiovasc. Dis. – 2015. – Vol. 108. – № 3. – P. 197–205.

Отримано 05.10.15