

УДК 615.276.4.03: 616-008.9-06: 616.12-018.74].036.8

ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ ПРИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

С. Г. Шулькина, Е. А. Лоран, Е. Н. Смирнова, О. Н. Турунцева*

Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е. А. Вагнера, г. Пермь, Россия

SIGNIFICANCE OF VASCULAR ENDOTHELIUM GROWTH FACTOR IN ENDOTHELIAL DYSFUNCTION AMONG PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME

S. G. Shulkina, E. A. Loran, E. N. Smirnova, O. N. Turuntseva*

Perm State Academy of Medicine named after Academician E. A. Wagner, Perm, Russian Federation

Цель. Изучить состояния эндотелия у пациентов с метаболическим синдромом. Метаболический синдром (МС) представляет собой совокупность гормональных и метаболических нарушений, объединенных общим патофизиологическим механизмом – инсулинорезистентностью. Связующим звеном между инсулинорезистентностью и сердечно-сосудистыми заболеваниями является эндотелиальная дисфункция.

Материалы и методы. Решение поставленных задач осуществили с помощью оценки изменения тонуса сосудов при проведении непрямой холодовой пробы с использованием вейвлет-анализа колебаний кожной температуры и определения VEGF.

Результаты. Сывороточная концентрация VEGF у пациентов с МС была достоверно выше, чем у практически здоровых лиц. У пациентов с МС реакция на холодовую пробу значительно отличалась от таковой в контрольной группе. В эндотелиальном и нейрогенном диапазоне частот при проведении холодовой пробы амплитуда достоверно снижалась без ее увеличения к окончанию исследования. Была установлена достоверная прямая корреляция между уровнем VEGF и ИМТ ($r=0,59$; $p<0,05$), VEGF и ОТ ($r=0,58$; $p<0,05$), VEGF и ДАД ($r=0,57$; $p<0,05$), VEGF и общего холестерина ($r=0,74$; $p<0,05$).

Выводы. Таким образом, эндотелиальная дисфункция у пациентов с МС проявляется нарушением вазодилатации при физиологической холодовой пробе, а повышение уровня VEGF у пациентов можно рассматривать как дополнительный маркер сердечно-сосудистого риска.

Ключевые слова. Метаболический синдром, эндотелиальная дисфункция, фактора роста эндотелия сосудов, инсулинорезистентность.

Aim. The objective of our study was to investigate the status of endothelium in patients with metabolic syndrome.

Metabolic syndrome (MS) is a block of hormonal and metabolic disorders united by a common pathophysiological mechanism – insulin resistance (IR). The connecting link between IR and cardiovascular diseases is endothelial dysfunction.

© Шулькина С. Г., Лоран Е. А., Смирнова Е. Н., Турунцева О. Н., 2014

e-mail: shulkina-s@mail.ru

тел. 8 950 45 10 526

[Шулькина С. Г. (*контактное лицо) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной терапии №2;

Лоран Е. А. – аспирант кафедры эндокринологии и клинической фармакологии; Смирнова Е. Н. – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой эндокринологии и клинической фармакологии; Турунцева О. Н. – аспирант кафедры эндокринологии и клинической фармакологии].

Materials and methods. The problem was solved by means of assessment of vascular tonus changes using skin temperature range wavelet-analysis and VEGF determination while performing indirect cold test.

Results. Serum VEGF concentration in MS patients was reliably higher than in practically healthy persons. In patients with MS, cold test response significantly differed from the control group. While carrying out cold test, the amplitude reliably decreased in endothelial and neurogenic bandwidth without its rise by the end of the study. There was revealed a reliable direct correlation between VEGF and BMI ($r=0,59$; $p<0,05$), VEGF and WC ($r=0,58$; $p<0,05$), VEGF and DAP ($r=0,57$; $p<0,05$), VEGF and total cholesterol levels ($r=0,74$; $p<0,05$).

Conclusion. Thus, endothelial dysfunction in MS patients is displayed by impaired vasodilation in physiological cold test, but increase in patients' VEGF level can be considered as an additional marker of cardiovascular risk.

Key words. Metabolic syndrome, endothelial dysfunction, vascular endothelium growth factor, insulin resistance.

ВВЕДЕНИЕ

Метаболический синдром (МС) представляет собой совокупность гормональных и метаболических нарушений, объединенных общим патофизиологическим механизмом – инсулинорезистентностью (ИР), т.е. нарушением способности инсулина выполнять физиологические функции. Связующим звеном между ИР и кардиоваскулярными заболеваниями, по данным исследований, является эндотелиальная дисфункция. Гиперинсулинемия (ГИ) способствует повышению чувствительности эндотелия к вазопрессорам, стимулирует клеточный рост, повышает проницаемость эндотелиоцитов для белков, способствует формированию свободных радикалов, вызывающих инактивацию оксида азота (NO). Кроме того, ГИ вызывает повышение выработки вазоконстрикторов (эндотелина-1), молекул адгезии эндотелия и факторов роста тромбоцитов. Известно, что в ответ на повреждение эндотелия происходит выброс фактора роста эндотелия сосудов (Vascular endothelial growth factor – VEGF), который стимулирует активацию, пролиферацию, миграцию, дифференцировку и выживаемость эндотелиальных клеток [1].

В настоящее время нет единого мнения о роли VEGF в патогенезе кардиоваскулярных заболеваний. С одной стороны, в лите-

ратуре имеются единичные данные об изменении уровня VEGF в крови больных гипертонической болезнью [2] и взаимосвязи между уровнем VEGF в крови с содержанием ангиотензина II и эндотелина-1, а также ассоциация данного фактора с жесткостью артерий эластического типа. С другой стороны, было показано, что VEGF, взаимодействуя с эндотелиальной NO-синтазой, способствует активации продукции NO клетками эндотелия [7].

У исследователей нет однозначных данных о взаимосвязи VEGF с гипергликемией и уровнем инсулина у больных МС. Также мало изучена взаимосвязь реактивной сосудистой вазодилатации с уровнем VEGF у больных МС.

На сегодняшний день стандарта диагностики эндотелиальной дисфункции не существует. Исследование низкоамплитудных колебаний кожной температуры с использованием вейвлет-анализа при проведении непрямой холодовой пробы позволяет оценить реакцию эндотелиального и нейрогенного механизмов регуляции сосудистого тонуса [3].

Цель нашего исследования – изучить состояние эндотелия у пациентов с метаболическим синдромом с помощью оценки изменения тонуса сосудов при проведении непрямой холодовой пробы с использованием вейвлет-анализа колебаний кожной температуры и определения VEGF.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование было включено 54 пациента с МС в возрасте от 25 до 55 лет (в среднем – $49,1 \pm 1,7$ г.). В качестве группы сравнения обследованы 20 практически здоровых лиц (средний возраст – $48,2 \pm 2,4$ г.; $p=0,1$).

Диагноз МС устанавливали в соответствии с критериями ВНОК (2009): абдоминальное ожирение – объем талии ≥ 94 см у мужчин, ≥ 80 см у женщин в сочетании с любыми двумя из следующих критериев – показатель триглицеридов (ТГ) $\geq 1,7$ ммоль/л; снижение липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) у женщин $< 1,3$ ммоль/л, у мужчин $< 1,03$ ммоль/л; АД $\geq 135/85$ мм рт. ст.; уровень глюкозы плазмы $\geq 5,6$ ммоль/л [1, 2].

Всем обследуемым измерялось офисное артериальное давление (АД) (Omron M4 I, Omron Япония). Измерение проводилось в положении сидя после 5-минутного отдыха, 3 раза с минутными интервалами.

В исследование не включали пациентов с вторичными формами артериальной гипертензии (АГ), сахарным диабетом, ишемической болезнью сердца, сердечной недостаточностью 3–4-го функционального класса по классификации Нью-Йоркской ассоциации сердца, воспалительными заболеваниями миокарда, системными заболеваниями соединительной ткани, онкологическими заболеваниями.

Индекс массы тела (ИМТ) рассчитывали по формуле Кетле: масса тела (кг)/рост (м^2). Во время исследования больные не придерживались низкокалорийной и низкоуглеводной диет.

Уровни липидов, глюкозы плазмы крови, креатинина, мочевой кислоты, трансаминаз, билирубина определяли стандартными биохимическими методами. Уровень инсулина выявляли методом иммуноферментного анализа (ИФА) (ELISA Monobind Inc., Германия), индекс ИР – по формуле HOMA-IR

(глюкоза·инсулин/22,5); концентрацию VEGF в сыворотке крови – методом ИФА с использованием соответствующих наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск), фотометра Stat-Fax (Awareness Technology Inc., США).

Для оценки реакции эндотелиального и нейрогенного механизмов регуляции сосудистого тонуса исследовались низкоамплитудные колебания кожной температуры с использованием вейвлет-анализа при проведении непрямой холодовой пробы [3]. Во время проведения контралатеральной холодовой пробы пациент находился в положении лежа на спине, температура в помещении при проведении измерений составляла $22,5 \pm 0,5$ °C. Регистрировалась температура тыльной поверхности дистальной фаланги указательного пальца правой кисти. В процессе проведения холодовой пробы кисть левой руки погружалась в ванночку с водно-ледовой смесью (температура 0 °C) на 3 минуты. Измерение температуры проводилось непрерывно: в течение 10 минут до пробы, во время холодовой пробы (3 минуты) и в течение 10 минут после. Для оценки вклада различных механизмов регуляции сосудистого тонуса была выбрана величина среднеквадратичных амплитуд колебаний кожной температуры $\langle \Delta T \rangle$ в соответствующем частотном диапазоне. Данные представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднеарифметическое значение по подгруппе; SD – погрешность измерения, рассчитанная по формуле Стьюдента. Достоверность отличий выборок определялась с использованием критерия Вилкоксона. Для выявления связи с биохимическими маркерами оценивались относительные изменения среднеквадратичных амплитуд колебаний: $k = (ST_1 - ST'_1) / ST_1$, где ST'_1 – среднеквадратичные амплитуды колебаний до холодовой пробы, ST_1 – среднеквадратичные амплитуды колебаний для соответствующих временных интервалов (во время пробы, в течение 3 и 10 минут после нее).

При статистической обработке данных использовали программу Statistica 6.0 Rus. Проверку распределения результатов проводили по критерию Колмогорова–Смирнова. Для описания полученных количественных признаков, имеющих неравномерное распределение, данные представляли в виде медианы (*Me*) и 25-го и 75-го перцентиля, минимума (*min*) и максимума (*max*), для оценки значимости различий независимых групп использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. При нормальном распределении признака оценивали *t*-критерий Стьюдента. Связь признаков оценивали при помощи регрессивного анализа с определением коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Различия между выборками считали достоверными при значении для $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наличие АГ зафиксировано у всех пациентов, ее средняя длительность – $4,57 \pm 2,58$ г. Уровень систолического АД (САД) в среднем составил $147,2 \pm 8,1$ мм рт. ст., диастолического АД (ДАД) – $96,5 \pm 7,1$ мм рт. ст., ИМТ в среднем соответствовал $35,8 \pm 1,3$ кг/м². Отягощенная наследственность по сердечно-сосудистым заболеваниям (ССЗ) была выявлена у всех пациентов.

В результате исследования биохимических показателей у пациентов с МС по сравнению с данными группы практически здоровых лиц были выявлены повышенный уровень холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), глюкозы, мочевой кислоты. Также в группе с МС были диагностированы более высокие уровень инсулина и значения индекса НОМА-IR (табл. 1).

Выявлена достоверная прямая корреляции между величиной ОТ и уровнем мочевой кислоты ($r=0,5$), мочевой кислоты и инсулина ($r=0,6$), индекса НОМА-IR и холестерина ($r=0,6$).

Таблица 1

Клинико-лабораторные характеристики больных МС и группы сравнения ($M \pm SD$)

Параметр	МС (<i>n</i> =14)	Здоровые (<i>n</i> =14)	<i>p</i>
Возраст, лет	$49,1 \pm 1,7$	$48,2 \pm 2,4$	0,7
ОТ, см	$110,4 \pm 11$	$80,7 \pm 11$	0,0001
ИМТ, кг/м ²	$35,8 \pm 1,3$	$27 \pm 1,3$	0,0001
САД, мм рт.ст.	$147,2 \pm 8,1$	$128,3 \pm 7,2$	0,0001
ДАД, мм рт.ст.	$96,5 \pm 7,1$	$78,5 \pm 5,3$	0,0001
Глюкоза, ммоль/л	$5,8 \pm 0,8$	$4,21 \pm 0,5$	0,0001
ХС, ммоль/л	$5,7 \pm 0,9$	$4 \pm 0,7$	0,004
ЛПНП, ммоль/л	$3,26 \pm 0,7$	$2,43 \pm 0,4$	0,03
ЛПВП, ммоль/л	$1,31 \pm 0,3$	$1,4 \pm 0,1$	0,3
ТГ, ммоль/л	$2,33 \pm 1,1$	$0,57 \pm 0,11$	0,001
Креатинин, мкмоль/л	$75,8 \pm 12,5$	$66,0 \pm 10,1$	0,2
Мочевая кислота, ммоль/л	$342,4 \pm 45,4$	$241,5 \pm 86,1$	0,009
НВА1с, %	$5,8 \pm 0,2$	$5,1 \pm 0,4$	0,4
Инсулин, мкЕД/мл	$19,8 \pm 8,6$	$6,7 \pm 1,2$	0,001
НОМА-IR	$5,2 \pm 2,3$	$1,25 \pm 0,7$	0,01

Примечание: *p* – достоверность отличий в сравниваемых группах.

Сывороточная концентрация VEGF у пациентов с МС была достоверно выше, чем у практически здоровых лиц (табл. 2).

Таблица 2

Концентрация VEGF в сыворотке крови у больных МС и практически здоровых

Показатель	Значение медианы (25–75% перцентиль) [<i>min</i> - и <i>max</i> -величины показателя]		
	МС (<i>n</i> = 54)	Контроль (<i>n</i> = 20)	<i>p</i>
VEGF, пг/мл	161,3 (96,2–265); [38–776,8]	75 (0–96); [0–129]	0,0001

Примечание: *p* – достоверность отличий в сравниваемых группах.

Была установлена достоверная прямая корреляция между уровнем VEGF и ИМТ ($r=0,59$; $p < 0,05$), VEGF и ОТ ($r=0,58$; $p < 0,05$), VEGF и ДАД ($r=0,57$; $p < 0,05$), VEGF и общего холестерина ($r=0,74$; $p < 0,05$).

Динамика средней температуры во время холодовой пробы практически не различалась в исследуемых группах, поэтому абсолютные значения малоинформативны. Частотный анализ колебаний кожной температуры позволяет получить дифференцированную информацию о сосудистых реакциях во время пробы [5].

В контрольной группе амплитуда колебаний кожной температуры во время функциональной холодовой нагрузки в эндотелиальном, нейрогенном диапазонах достоверно снижалась с восстановлением до исходных значений в течение 3 минут (табл. 3).

У пациентов с МС реакция на холодовую пробу значительно отличалась от таковой у здоровых лиц. В эндотелиальном и нейрогенном диапазоне частот при проведении холодовой пробы амплитуда достоверно снижалась без ее увеличения к окончанию исследования (табл. 3).

Выявлена прямая корреляция между уровнем САД и относительными изменениями среднеквадратичных амплитуд колебаний после проведения холодовой пробы в нейрогенном диапазоне частот ($r=0,68$), т.е. чем выше уровень САД, тем хуже восстанавливаются пациенты после проведения нагрузочного теста. Также получена обратная корреляция между уровнем ЛПВП и от-

носительными изменениями среднеквадратичных амплитуд колебаний после проведения холодовой пробы в эндотелиальном диапазоне частот ($r=-0,73$), т.е. чем ниже ЛПВП, тем меньше вазодилатация у пациентов с МС. Связи между сывороточной концентрацией *VEGF* и изменениями амплитуд колебаний сосудистого тонуса не было получено.

Холодовая проба приводит к мощной активации симпатической нервной системы, следствием чего является вазоконстрикция. У здоровых лиц вазоконстрикция на фоне холодовой пробы сопровождается уменьшением амплитуды колебаний кожной температуры. После окончания холодового воздействия происходит их восстановление, такую реакцию можно считать адекватной вазодилатацией на прессорную пробу. У пациентов с МС отсутствие восстановления амплитуд колебаний расцениваются как нарушение вазодилататорных механизмов при эндотелиальной дисфункции. Высокий уровень *VEGF* у наших больных, очевидно, отражает его компенсаторное повышение при снижении продукции NO – основного модератора вазодилатации.

В данном исследовании уровень *VEGF* находится в прямой связи с уровнем САД и ДАД, кроме того была выявлена корреляция между снижением вазодилатации и уровнем

Таблица 3

Средние амплитуды колебаний кожной температуры ($\cdot 10^3$, °C) при проведении холодового теста

Диапазон колебаний	Подгруппа	До пробы (1)	Во время пробы (2)	Через 3 мин после (3)	Через 10 мин после (4)
Эндотелиальный	Контроль (n=20)	21,4 $\pm$ 3,7	9,6 $\pm$ 1,0; $p_{1-2}=0,00098$	20,1 $\pm$ 3,7; $p_{2-3}=0,0052$	18,9 $\pm$ 3,4; $p_{2-4}=0,019$
	МС (n=14)	24,1 $\pm$ 3,3	13,2 $\pm$ 2,1; $p_{1-2}=0,00098$	17,2 $\pm$ 3,1; $p_{1-3}=0,033$	14,2 $\pm$ 2,2; $p_{1-4}=0,00098$
Нейрогенный	Контроль (n=20)	8,9 $\pm$ 1,4	3,2 $\pm$ 0,3; $p_{1-2}=0,001$	7,0 $\pm$ 1,3; $p_{2-3}=0,009$	12,9 $\pm$ 0,6; $p_{2-4}=0,006$
	МС (n=14)	8,3 $\pm$ 1,3	6,5 $\pm$ 2,1; $p_{1-2}=0,048$	9,1 $\pm$ 2,2; $p_{2-3}=0,0044$	6,4 $\pm$ 1,1

САД. При МС в ответ на ГИ и ИР активируется симпатическая нервная система (СНС). Это приводит к увеличению сердечного выброса, спазму сосудов, повышению периферического сосудистого сопротивления и развитию артериальной гипертензии, которая в свою очередь влечет за собой нарушение архитектоники эндотелиальных клеток, повышение их проницаемости для альбумина, усиление секреции сосудосуживающего эндотелина-1, ремоделирование стенок сосудов и усугубление эндотелиальной дисфункции. *VEGF* может влиять на сократимость сосудистой стенки, взаимодействуя с эндотелиальной NO-синтетазой, способствуя активации продукции NO, активации продукции простациклина, одного из самых мощных вазодилатационных агентов [8, 4], принимая, таким образом, участие в регуляции артериального давления.

В условиях ИР одним из нарушений являются атерогенные изменения липидного спектра крови: повышение уровня триглицеридов, ХС ЛПНП и снижение уровня ХС ЛПВП, что было выявлено у наших пациентов. У больных МС уровень *VEGF* находится в прямой связи с уровнем общего холестерина. В ряде работ показано, что гиперинсулинемия стимулирует синтез липидов в стенке артерий и пролиферацию ГМК сосудистой стенки, способствует снижению продукции оксида азота, оказывая непосредственное влияние на атерогенез [2]. В литературе описаны данные, указывающие на связь уровней *VEGF* с показателями липидного обмена. Так, J. Trare и соавт. [6] в своей работе обнаружили достоверно более высокие уровни *VEGF* у больных, у которых уровень холестерина изначально был более 6,1 ммоль/л, по сравнению с пациентами с выявленным содержанием холестерина менее 5,1 ммоль/л.

Таким образом, у пациентов с МС нарушенные вазодилататорные механизмы сочетаются с увеличением *VEGF*, который коррелирует с гиперхолестеринемией и величиной

АД. Наши данные подтверждают, что эндотелиальная дисфункция является обязательным проявлением МС. Можно предположить, что уменьшение уровня ХС и АД приведет к снижению *VEGF* и улучшению функции эндотелия. Возможно, что крайне высокий уровень *VEGF* у ряда больных может быть маркером уже пролиферации ГМК, а не только компенсаторной реакцией для повышения выработки NO. Однако эти положения требуют дополнительного изучения.

Отсутствие связи между сывороточной концентрацией *VEGF* и изменениями амплитуд колебаний сосудистого тонуса мы связываем с малым числом наблюдений.

Выводы

1. Повышение уровня *VEGF* у пациентов с метаболическим синдромом можно рассматривать как дополнительный маркер кардиоваскулярного риска.
2. Эндотелиальная дисфункция у пациентов с МС проявляется нарушением вазодилатации при физиологической холодовой пробе.
3. Уровень *VEGF* и дисфункция эндотелия могут быть связаны между собой посредством величины АД и гиперлипидемии.

Библиографический список

1. Коваль С.Н., Снегурская И.А., Мысниченко О.В. Семейство васкулоэндотелиального фактора роста и его возможная роль в патогенезе артериальных гипертензий. Артериальная гипертензия 2012; 4 (24): 36–41.
2. Рекалов Д.Г. Особенности метаболизма факторов роста у пациентов с гипертонической болезнью. Материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием. Харьков 2004; 83–84.
3. Смирнова Е.Н., Подтаев С.Ю., Мизева И.А., Жукова Е.А. Нарушение механизмов вазо-

- дилатации у больных сахарным диабетом 2-го типа при проведении контралатеральной холодовой пробы. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. Пермь 2012; 11 (1 (41)): 30–34.
4. *He H., Venema V.J., Gu X.* [et al.] Vascular endothelial growth factor signals endothelial cell production of nitric oxide and prostacyclin through flk-1/KDR activation of c-Src. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 25130–25135.
 5. *Smirnova E., Podtaev S., Mizeva I., Loran E.* Assessment of endothelial dysfunction in patients with impaired glucose tolerance during a cold pressor test. *Diabetes and Vascular Disease Research* 2013; August: 1–9.
 6. *Trape J.C., Morales R., Molina X.* Vascular endothelial growth factor serum concentrations in hypercholesterolemic patients. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2006; 663: 261–267.
 7. *Vyzantiadis T., Karagiannis A., Douma S., Harsoulis P., Vyzantiadis A., Zamboulis C.* Vascular endothelial growth factor and nitric oxide serum levels in arterial hypertension. *Clin. Exp. Hypertens* 2006; 28 (7): 603–609.
 8. *Wheeler-Jones C., Abu-Ghazaleh R., Cospe-dal R.* Vascular endothelial growth factor stimulates prostacyclin production and activation of cytosolic phospholipase A2 in endothelial cells via p42/p44 mitogen-activated protein kinase. *FEBS Lett* 1997; 420: 28–32.

Материал поступил в редакцию 10.01.2014