



Г. Д. Фадеєнко, В. Ю. Гальчінська, І. Е. Кушнір,
В. М. Чернова, Т. А. Соломенцева, А. С. Шапкін
ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України»,
Харків

Порушення функціонального стану ендотелію та його роль у патогенезі гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби в поєднанні з ішемічною хворобою серця

Мета — визначити експресію ендотеліну-1 (ЕТ-1) у слизовій оболонці (СО) стравоходу хворих на гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу (ГЕРХ) та при її поєднанні з ішемічною хворобою серця.

Матеріали та методи. Під наглядом перебували 18 хворих на ГЕРХ (1-ша група) та 21 хворий на ГЕРХ у поєднанні з ішемічною хворобою серця (2-га група). Для морфологічного та імуногістохімічного дослідження використовували біопсійний матеріал, який отримували під час фіброгастродуоденоскопії із СО дистального відділу стравоходу з ознаками рефлюкс-езофагіту та порівнювали їх з препаратами незміненої СО стравоходу ($n = 12$, контроль). Експресію ЕТ-1 визначали непрямым імуногістохімічним пероксидазним методом з використанням моноклональних антитіл до ендотеліну. Поширення експресії ЕТ-1 оцінювали за показником відносної площі імунопозитивних структур. Морфометричне визначення об'ємного відсотка імунопозитивних клітин у гістологічних препаратах біоптатів стравоходу проводили за допомогою комп'ютерної морфометричної програми BioVision.

Результати. В препаратах незміненої СО стравоходу ендотелін-позитивне зафарбування має дифузно-вогнищевий характер та розподіляється в стінках судин у досить незначній кількості. Імунореактивність ЕТ-1 суттєво вища при рефлюкс-езофагіті порівняно з контрольною групою, що свідчить про збільшення його вмісту внаслідок патологічних реакцій у СО стравоходу при ГЕРХ. Найбільша експресія ЕТ-1 мала місце в стінках судин. У хворих з поєднаною патологією та з ознаками ерозивного ураження стравоходу спостерігали гіперекспресію ЕТ-1.

Висновки. Експресія ЕТ-1 може бути предиктором активації процесів ендотеліального ушкодження і маркером прогнозування розвитку та перебігу васкулопатій у хворих на ГЕРХ. Порушення функціонального стану ендотелію може бути предиктором збільшення ускладнень у хворих з поєднаною патологією. Необхідно вивчити клінічне значення порушення функціонального стану ендотелію для ідентифікації та лікування пацієнтів з високим ризиком.

Ключові слова: гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба, ішемічна хвороба серця, слизова оболонка стравоходу, циркулюючі ендотеліальні клітини, ендотелін-1.

Численні фундаментальні дослідження останніх років підтвердили роль порушень функції ендотелію в патогенезі багатьох системних захворювань. Значною мірою це стосується коморбідних станів, зокрема поєднання гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби (ГЕРХ) з патологією серцево-судинної системи.

Як відомо, розвиток серцево-судинних ускладнень реалізується через процес генералізованої дисфункції ендотелію судин, яка супроводжується порушенням цілісності ендотеліального шару [2–4, 8]. На клітинному рівні пошкодження ендотелію пов'язують з порушенням експресії молекул міжклітинної адгезії та прискореним апоптозом ендотеліальних клітин. Ендотеліоцити, які втратили зв'язок з базальною мембраною внаслідок порушення міжклітинних взаємодій та ініці-

ації процесів апоптозу, потрапляють у кров, де створюють пул десквамованих циркулюючих ендотеліальних клітин (ЦЕК). Значне збільшення вмісту таких ендотеліоцитів виявлено в крові хворих із серцево-судинною патологією та наявністю виражених судинних ускладнень різного генезу [2–4, 8, 12]. Зростання кількості десквамованих ЦЕК відзначено при обстеженні хворих з рецидивами варикозного розширення вен, пацієнтів з метаболічним синдромом [14] та при експериментальному моделюванні гострої венозної недостатності [8].

У наших попередніх дослідженнях [5] виявлено, що у хворих як на ізольовану ГЕРХ, так і на ГЕРХ у поєднанні з ішемічною хворобою серця (ІХС), спостерігається суттєве підвищення кількості десквамованих клітин: у групі хворих на ГЕРХ вміст ЦЕК становив $(10,65 \pm 1,9)$ клітин/10 мкл, за наявності коморбідної патології цей показник підвищувався більше ніж удвічі. — $(15,3 \pm 2,9)$ клітин/10 мкл, у здорових осіб — $(5,6 \pm 2,9)$ клітин/10 мкл.

Ще одним з найважливіших регуляторів функціонального стану ендотелію є біологічно активний пептид широкого спектра дії — ендотелін-1 (ЕТ-1) [2, 3, 15]. Цей пептид чинить безпосередній констрикторний вплив на стінку як артерій, так і вен [13]. Установлено, що після внутрішньовенного введення ЕТ-1 спостерігається зниження коронарного кровотоку на 90 % [9]. Ендотелін-1 має антинатрійуретичний ефект унаслідок констрикції артерій клубочка нирки, бере участь в автопаракринному контролі секреції альдостерону, адреномедуліну і вазопресину [1].

Ендотеліни — група біологічно активних пептидів широкого спектра дії, які належать до найважливіших регуляторів функціонального стану ендотелію, пов'язаних з кров'ю та з м'язовою стінкою судин. Їх вазоконстрикторні ефекти супроводжуються змінами як системної, так і регіонарної гемодинаміки [8, 11].

У дослідженнях патогенезу різних захворювань органів травлення доведено, що ендотеліни мають широкий спектр біологічних ефектів: беруть участь у передачі нервових імпульсів, впливають на моторику шлунково-кишкового тракту, шлункову секрецію, регулюють мікроциркуляцію, цитопротекцію.

Ендотелін-1 — найвідоміший з ендотелінів. Його розглядають як маркер і предиктор розвитку ішемічної хвороби серця, зокрема гострого інфаркту міокарда, порушень ритму серця, легеневої і системної гіпертензії, атеросклеротичного ушкодження судин, специфічних судинних порушень (рестеноз після коронарної ангіоплас-

тики). Вважають, що він також причетний до розвитку інших захворювань, таких як післяпологові судинні ускладнення, ураження нирок (гломерулонефрит), ішемічні ушкодження мозку, цукровий діабет тощо [9, 12, 13].

Даних щодо рівня ЕТ-1 у крові та його експресії в слизовій оболонці (СО) стравоходу при ГЕРХ дуже мало.

Мета дослідження — визначити експресію ендотеліну-1 у слизовій оболонці стравоходу хворих на гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу та при її поєднанні з ішемічною хворобою серця.

Матеріали та методи

Під наглядом перебували 18 хворих на ГЕРХ (1-ша група) та 21 хворий на ГЕРХ у поєднанні з ІХС (2-га група).

Для морфологічного та імуногістохімічного дослідження використовували біопсійний матеріал, який отримували під час фіброгастроудоденоскопії із СО дистального відділу стравоходу на 3 см вище за умовну циркулярну лінію, яка сполучає проксимальні кінці складок шлунка.

Для гістологічного аналізу застосовували забарвлення гематоксиліном та еозином. Досліджували препарати СО з ознаками рефлюкс-езофагіту та порівнювали їх з препаратами незмінної (відсутність макроскопічних виявів запалення при ендоскопії та будь-яких ознак патологічних змін епітелію, видовження сосочків, склерозу, набряку та клітинного інфільтрату при гістологічному аналізі) СО стравоходу ($n = 12$, контрольна група).

Експресію ЕТ-1 вивчали на парафінових зрізах завтовшки 5 мкм непрямим імуногістохімічним пероксидазним методом з використанням моноклональних антитіл до ендотеліну (Phoenix Pharmaceuticals, Inc., США). Для диференціювання структур тканин зрізи додатково забарвлювали гематоксиліном за Майером. Візуалізацію проводили з використанням системи детекції UltraVision LP (ThermoScientific, Велика Британія). Поширеність експресії досліджуваних маркерів оцінювали за показником відносної площі імунопозитивних структур (%).

Препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа Micros (Австрія). Для отримання фотографії тканин використовували цифрову відеокамеру САМ 2800 при світловій мікроскопії (об'єктив $\times 40$, окуляр $\times 10$).

Результати та обговорення

За результатами імуногістохімічного дослідження біопсійного матеріалу виявлено, що в препаратах незмінної СО стравоходу ендотелін-по-

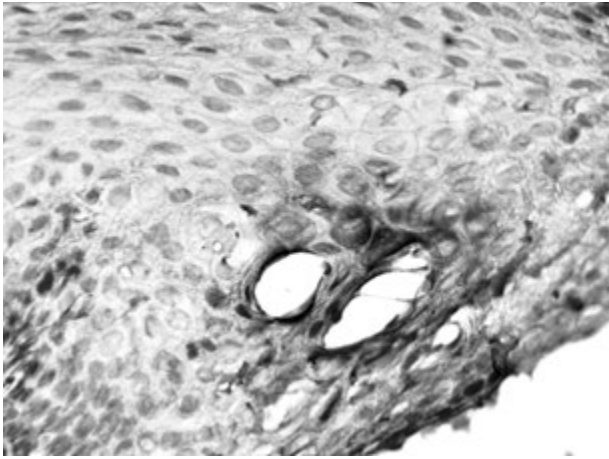


Рис. 1. Вогнищева слабка експресія ендотеліну-1 у слизовій оболонці стравоходу (контроль). Імуногістохімічна реакція з дофарбовуванням гематоксиліном за Майером. $\times 400$

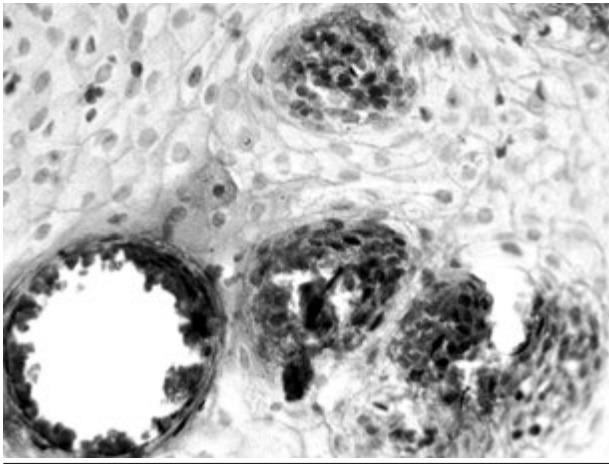


Рис. 2. Виражена експресія ендотеліну-1 у слизовій оболонці стравоходу хворого на гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу (39 років). Імуногістохімічна реакція з дофарбовуванням гематоксиліном за Майером. $\times 400$

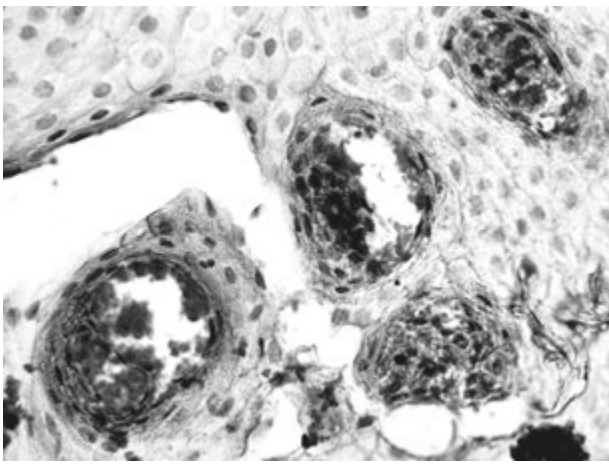


Рис. 3. Виражена експресія ендотеліну-1 у слизовій оболонці стравоходу хворого на гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу в поєднанні з ішемічною хворобою серця (41 рік). Імуногістохімічна реакція з дофарбовуванням гематоксиліном за Майером. $\times 400$

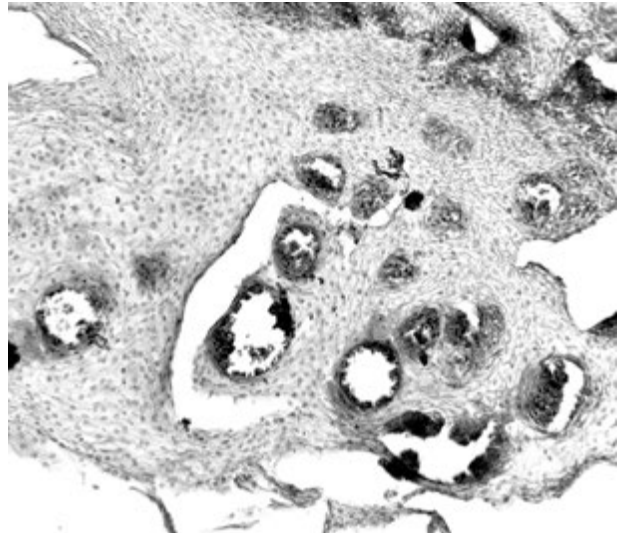


Рис. 4. Виражена дифузно-вогнищева експресія ендотеліну-1 у слизовій оболонці стравоходу хворого на гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу в поєднанні з ішемічною хворобою серця (44 роки). Імуногістохімічна реакція з дофарбовуванням гематоксиліном за Майером. $\times 100$

зитивне зафарбування має дифузно-вогнищевий характер та розподіляється в стінках судин у достатню кількість (рис. 1). Імунореактивність ЕТ-1 суттєво вища при рефлюкс-езофагіті порівняно з контрольною групою, що свідчить про збільшення його вмісту внаслідок патологічних реакцій у СО стравоходу при ГЕРХ. Найбільша експресія ЕТ-1 мала місце в стінках судин. Підвищення імунореактивності ЕТ безпосередньо в зонах, уражених патологічним процесом, свідчить про специфічність цієї реакції при запальних та деструктивних ураженнях стравоходу.

У хворих як на ізольовану ГЕРХ, так і на ГЕРХ у поєднанні з ІХС відзначено суттєве збільшення експресії ЕТ-1 клітинами СО стравоходу (рис. 2, 3). Рівень експресії ЕТ-1 був пов'язаним з морфофункціональними порушеннями стану СО стравоходу.

Гіперекспресію ЕТ-1 спостерігали у хворих з поєднаною патологією та з ознаками ерозивного ураження стравоходу (рис. 4).

У попередніх дослідженнях при вивченні клініко-морфологічних особливостей СО стравоходу у хворих на ГЕРХ у поєднанні з ІХС [6] установлено, що у коморбідних пацієнтів частіше виявляється ерозійне ураження стравоходу, виражені дистрофічні зміни і ознаки порушення мікроциркуляції.

Не виключено, що порушення стану судинного ендотелію та розвиток судинних уражень певною мірою знижують бар'єрні функції СО, спричи-

няють стимуляцію процесів запалення та виникнення ерозивних ушкоджень.

Відомо, що ET-1 у більшості випадків утворюється в ендотеліальних клітинах, але на відміну від інших ендотелінів може також синтезуватися в гладеньком'язових клітинах судин, нейронах, астроцитах, гепатоцитах, мезангіоцитах, клітинах Сертолі, тканинних базофілах [9]. Аналіз розподілу імунопозитивного зафарбування свідчить, що в досліджених препаратах СО стравоходу експресія ET-1 має ендovasкулярний характер. Цей пептид, імовірно, може синтезуватися як в ендотеліоцитах, так і в гладеньком'язових клітинах судин.

Ендотелін-1 діє паракринним способом на рецептори гладеньких м'язів судин, спричиняючи їх скорочення, та аутокринним/паракринним способом — на ендотеліальні клітини, спричиняючи продукцію вазорелаксантів і стимулювальних факторів росту — NO і простагліну [8, 12].

Важливе значення має здатність ET контролювати ендотеліальну вазоконстрикцію при порушенні механічних властивостей ендотелію. Ендотелін-1 безпосередньо потенціює процеси росту і диференціювання тканин. Існують докази, що ендотеліни відіграють важливу роль у процесах оксидантного стресу та апоптозу клітин [1]. Усе це певною мірою може пояснити найбільш виражену експресію ET-1 саме у хворих з наявністю ерозивних уражень стравоходу.

Причини підвищення тканинної концентрації ET-1 пов'язують з підвищенням експресії мРНК проендотеліну-1. Збільшення вмісту ET-1 у тканинах може бути наслідком інтенсифікації продукції ендотеліну з В-ендотеліну за допомогою ендотелінконвертази. До зміни продукції ET-1 може призводити зменшення його локального кліренсу [10].

Дослідження системного рівня ET не завжди відображає особливості його тканинного розподілу [7]. Зокрема у динаміці розвитку інфаркту міокарда продемонстрована відмінність експре-

сії генів ET у різних ділянках серця. Крім того, при зміні концентрації різних ростових факторів у вогнищі ураження і поблизу нього в постінфарктний період можлива зміна параметрів цитолізу, порушення фаз запалення і репаративних процесів [7, 14].

Не викликає сумніву, що підвищення рівня ET у крові є несприятливою прогностичною ознакою розвитку захворювання. Проте в тканинах роль ET не настільки однозначна. Відомо, що основну дію ET чинить на ETA-рецептори, активація яких призводить до різкого скорочення гладеньком'язових клітин. Ендотеліни також зв'язуються з ETB-рецепторами на ендотеліоцитах, що спричиняє активацію синтезу та еккреції NO і вазодилатацію. При цьому в ділянці репарації відбувається розвиток широкої мережі капілярів, що забезпечує велике рецепторне поле з ETB-рецепторами за відсутності гладеньком'язових клітин. Таким чином, підвищення синтезу ET може бути важливим патофізіологічним механізмом підтримки підвищеного об'ємного кровотоку в ділянках формування грануляційної тканини та активного фібропластичного процесу. Продукція ET зростає переважно в судинах, прилеглих до зони ушкодження, — там, де відбувається розвиток запального процесу і запуск механізмів репарації.

Висновки

Експресія ендотеліну може бути предиктором активації процесів ендотеліального ушкодження і маркером прогнозування розвитку та перебігу васкулопатій у хворих на гастроезофагеальну рефлюксну хворобу. Порушення функціонального стану ендотелію може бути предиктором збільшення ускладнень у хворих з поєднаною патологією. Необхідно вивчити клінічне значення порушення функціонального стану ендотелію для ідентифікації та лікування пацієнтів з високим ризиком ускладнень гастроезофагеальної рефлюксної хвороби.

Конфлікту інтересів немає.

Участь авторів: концепція та дизайн дослідження — Г. Ф., В. Г.; обстеження хворих, редагування тексту статті — І. К., В. Ч., Т. С.; морфологічні та імуногістохімічні дослідження — В. Г., А. Ш.; обробка матеріалу та написання тексту статті — В. Г., І. К., В. Ч., Т. С., А. Ш.

Список літератури

1. Визир В.А., Березин А.Е., Демиденко А.В. Взаимосвязь содержания эндотелина-1 в плазме крови с процессами ремоделирования сердца и артерий у больных с артериальной гипертензией // Укр. терапевт. журн. — 2003. — № 6. — С. 25—31.

2. Лупинская З.А., Зарифьян А.Г., Гурович Т.Ц., Шлейфер С.С. // Эндотелий. Функция и дисфункция. — Бишкеки: КРСУ, 2008. — 373 с.
3. Николаев К.Ю., Гичева И.М., Лифшиц Г.И., Николаева А.А. Микроциркуляторная эндотелийзависимая сосудистая реактивность и основные факторы риска // Бюл. СО РАМН. — 2006. — № 4 — С. 63—66.

4. Марков Х.М. и др. Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия // Кардиол. — 2005. — № 12. — С. 62—72.
5. Фадеев Г.Д., Гальчинская В.Ю., Єфімова Н.В. та ін. Патогенетичні аспекти розвитку гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби в поєднанні з ішемічною хворобою серця // Сучасна гастроентерол. — 2015. — № 6 (86). — С. 20—26.
6. Фадеев Г.Д., Кушнір І.Е., Чернова В.М. та ін. Особливості запально-деструктивних процесів у слизовій оболонці стравоходу у хворих на гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу в поєднанні з ішемічною хворобою серця // Сучасна гастроентерологія. — 2015. — № 2. — С. 42—49.
7. Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А., Кая О.В. и др. Морфологическая оценка системы окислительного фосфорилирования при инфаркте миокарда в условиях измененной концентрации вазоэндотелиального фактора роста // Биол. эксперим. биол. — 2015. — Т. 159, № 3. — С. 386—389.
8. Antonopoulos A., Kyriacou C., Kazianis G. Significance of endothelin-1 in myocardial infarction // Hellenic. J. Cardiol. — 2007. — Vol. 48, N 3. — P. 161—164.
9. Dashwood M. R., Tsui J. C. Further evidence for role of endothelin-1 (ET-1) in critical limb ischaemia // J. Cell. Commun. Signal. — 2011. — Vol. 5. — P. 45—49.
10. Horio T. Heart failure and circulatory peptides // Nippon Naika Gakkai Zasshi. — 2005. — Vol. 94. — P. 201—207.
11. Kolettis T. M., Barton M., Langleben D., Matsumura Y. Endothelin in coronary artery disease and myocardial infarction // Cardiol. Rev. — 2013. — Vol. 21, N 5. — P. 249—256.
12. Kowalczyk A., Kleniewska P., Kolodziejczyk M. et al. The role of endothelin-1 and endothelin receptor antagonists in inflammatory response and sepsis // Arch. Immunol. Ther. Exp. — 2015. — Vol. 63. — P. 41—52.
13. Tanowitz H. B., Huang H., Jelicks L. A. et al. Role of endothelin 1 in the pathogenesis of chronic chagasic heart disease // Infect. Immun. — 2005. — Vol. 73. — P. 2496—2503.
14. Wang X., Guo Z., Ding Z. et al. Endothelin-1 upregulation mediates aging-related cardiac fibrosis // J. Mol. Cell. Cardiol. — 2015. — Vol. 80. — P. 101—109.
15. Yanagisawa M., Masaki T. Molecular biology and biochemistry of the endothelins // Trend. Pharmacol. Sci. — 1989. — Vol. 10. — P. 374—378.

Г.Д. Фадеев, В.Ю. Гальчинская, И.Э. Кушнір,
В.М. Чернова, Т.А. Соломенцева, А.С. Шапкин

ГУ «Национальный институт терапии имени Л.Т. Малой НАМН Украины», Харьков

Нарушение функционального состояния эндотелия и его роль в патогенезе гастроэзофагеальной рефлюксной болезни в сочетании с ишемической болезнью сердца

Цель — определить экспрессию эндотелина-1 (ЭТ-1) в слизистой оболочке (СО) пищевода больных гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (ГЭРБ) и при ее сочетании с ишемической болезнью сердца.

Материалы и методы. Под наблюдением находились 18 больных ГЭРБ (1-я группа) и 21 больной ГЭРБ в сочетании с ишемической болезнью сердца (2-я группа). Для морфологического и иммуногистохимического исследования использовали биопсийный материал, полученный при фиброгастроэзофагоскопии из СО дистального отдела пищевода с признаками рефлюкс-эзофагита и сравнивали их с препаратами неизменной СО пищевода (n = 12, контроль). Экспрессию ЭТ-1 определяли непрямым иммуногистохимическим пероксидазным методом с использованием моноклональных антител к эндотелину. Распространенность экспрессии ЭТ-1 оценивали по показателю относительной площади иммуноположительных структур. Морфометрическое определение объемного процента иммуноположительных клеток в гистологических препаратах биоптатов пищевода проводили с помощью компьютерной морфометрической программы BioVision.

Результаты. В препаратах неизменной СО пищевода эндотелин-позитивное окрашивание имеет диффузно-очаговый характер и распределяется в стенках сосудов в незначительном количестве. Иммунореактивность ЭТ-1 существенно выше при рефлюкс-эзофагите по сравнению с контролем, что свидетельствует об увеличении его содержания вследствие патологических реакций в СО пищевода при ГЭРБ. Наибольшая экспрессия ЭТ-1 имела место в стенках сосудов. У больных с сочетанной патологией и с признаками эрозивного поражения пищевода наблюдалась гиперэкспрессия ЭТ-1.

Выводы. Экспрессия ЭТ-1 может быть предиктором активации процессов эндотелиального повреждения и маркером прогнозирования развития и течения васкулопатий у больных ГЭРБ. Нарушение функционального состояния эндотелия может быть предиктором развития осложнений у больных с сочетанной патологией. Необходимо изучить клиническое значение нарушения функционального состояния эндотелия для идентификации и лечения пациентов с высоким риском.

Ключевые слова: гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, ишемическая болезнь сердца, слизистая оболочка пищевода, циркулирующие эндотелиальные клетки, эндотелин-1.

G. D. Fadieienko, V. Yu. Galchinskaya, I. E. Kushnir,
V. M. Chernova, T. A. Solomentseva, A. S. Shapkin
SI «L.T. Mala National Therapy Institute of NAMS of Ukraine», Kharkiv

Endothelial dysfunction and its role in the pathogenesis of gastroesophageal reflux disease in combination with ischemic heart disease

Objective — to define the endothelin-1 (E-1) expression in the esophageal mucosa in patients with gastroesophageal reflux disease (GERD) and GERD combined with ischemic heart disease.

Materials and methods. Observation were conducted on 18 patients with GERD — 1 group and 21 patients with GERD in conjunction with ischemic heart disease — 2 group. For morphological and immuno-histochemical studies using biopsy material obtained by video-endoscopy of esophageal mucosa with signs of reflux esophagitis and compared them with the preparations intact esophagus mucosa (n=12). E-1 expression was detected with indirect immunohistochemical peroxidase method using monoclonal antibodies to endothelin. The exposure of E-1 expression was evaluated by the index of the relative area of immunopositive structures. Morphometric determining of the volume percentage of immunopositive cells in oesophageal biopsies histological preparations was performed with the morphometry BioVision software.

Results. In the samples of intact esophageal mucosa, the endothelin-positive staining is diffuse-focal and distributed in the walls of blood vessels in small quantities. E-1 immunoreactivity was significantly higher at reflux esofagitis compared to the control, indicating the increased E-1 levels due to the pathological reactions in esophageal mucosa at GERD. The highest E-1 expression was defined in the vascular walls. The E-1 hyperexpression was observed in patients with combined pathology of GERD and IHD with the signs of erosive esophageal lesions.

Conclusions. The E-1 expression can be a predictor of activation of the endothelial damage processes and a marker for prognosis of the development and course of vasculopathy in GERD patients. The endothelial dysfunction can serve as predictor of complications in patients with comorbidity. The investigation of the clinical significance of the endothelial dysfunction is important for the identification and treatment of patients with high risk.

Key words: gastroesophageal reflux disease, ischemic heart disease, esophageal mucosa, circulating endothelial cells, endothelin-1.

Контактна інформація

Фадєєнко Галина Дмитрівна, д. мед. н., проф., директор Національного інституту терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України
61039, м. Харків, просп. Любові Малої, 2а
Тел. (57) 373-90-34; 777-56-77. E-mail: info@therapy.gov.ua

Стаття надійшла до редакції 15 червня 2016 р.