

Дисфункция и повреждение эндотелия при гепатобилиарной патологии

Щёктова А. П., к. м. н., доцент, зав. курсом клинической лабораторной диагностики при кафедре терапии и семейной медицины ФПК и ППС, ГОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А. Вагнера Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», г. Пермь

Endothelium dysfunction and lesion in hepatobiliary pathology

Shchekotova A.P.

Резюме

Цель работы - оценка состояния эндотелия у больных с гепатобилиарной патологией. Материал и методы исследования: обследовано 14 больных с желчнокаменной болезнью, 50 – с хроническим вирусным гепатитом, 30 – с циррозом печени. В плазме крови определяли оксид азота, эндотелин – 1, десквамированные эндотелиоциты, фактор Виллебранда. Результаты и обсуждение: у больных с гепатобилиарной патологией выявлено снижение содержания оксида азота ($15,8 \pm 3,7$ мкмоль/л, $p=0,001$, диагностическая чувствительность теста – 95%, специфичность – 90%) и повышение концентрации эндотелина-1 ($0,74 \pm 0,18$ фмоль/л, $p=0,0001$), что подтверждает наличие признаков дисфункции эндотелия при данной патологии и может способствовать нарушению кровообращения в печени. Показатели повреждения эндотелия, в частности, количество десквамированных эндотелиоцитов и активность фактора Виллебранда, были повышены ($p=0,001$ и $p=0,01$ соответственно). Максимальные изменения выявлены при циррозе печени, умеренные – при хроническом гепатите, минимальные – у пациентов с желчнокаменной болезнью, отличия между группами были достоверны. Выводы: исследованные показатели имеют хорошую диагностическую эффективность для выявления поражения эндотелия при гепатобилиарной патологии. **Ключевые слова:** эндотелиальная дисфункция желчнокаменная болезнь, гепатит, цирроз.

Resume

The aim of work was to estimate the state of endothelium in patients with hepatobiliary pathology. Material and methods: 14 patients with cholelithiasis, 50 – with chronic viral hepatitis, 30 – with liver cirrhosis were examined. Nitric oxide, endothelin-1, desquamated endotheliocytes, von Willebrand factor were determined in blood plasma. Results and discussion: Decrease in nitric oxide content ($15,8 \pm 3,7$ mcmol/l, $p=0,001$, diagnostic sensitivity of test – 95%, specificity – 90%) and heightening of endothelin-1 concentration ($0,74 \pm 0,18$ fmol/l, $p=0,001$) was revealed in patients with hepatobiliary pathology that confirms presence of epithelial dysfunction signs in the given pathology and contributes to disturbance of hepatic circulation. Indices of endothelium lesion including the number of desquamated endotheliocytes and activity of von Willebrand factor were raised ($p=0,001$ and $p=0,01$, respectively). Maximal changes were detected in liver cirrhosis, moderate – in chronic hepatitis, minimal ones – in patients with cholelithiasis; differences between the groups were reliable. Conclusion: The indices investigated have good diagnostic efficiency for revealing lesions of endothelium in hepatobiliary pathology.

Keywords: endothelial dysfunction, cholelithiasis, hepatitis, cirrhosis.

Введение

Хронические заболевания печени, в основном связанные с гепатотропными вирусами, являются важнейшей проблемой здравоохранения. Высокий процент хронизации вирусных гепатитов, большие экономические затраты, связанные с лечением и профилактикой инфекции, высокая летальность при циррозах печени (ЦП) наряду с недостаточной эффективностью лечения диктуют необходимость изучения данной патологии [7]. Частота желчнокаменной болезни (ЖКБ) в России достигает 20%. Известно этиологическое зна-

чение диффузных заболеваний печени, в том числе ЦП, в развитии ЖКБ [4]. В патогенезе хронических гепатитов (ХГ) и прогрессировании их в ЦП большое значение имеет нарушение внутриспеченочной гемодинамики, что может быть связано с повреждением эндотелия синусоидов при заболеваниях печени на фоне локальной дисфункцией эндотелия (ДЭ) [8, 9]. В то же время, универсальность метаболических нарушений гепатогенного происхождения предполагает возможность травматизации эндотелиальной выстилки в организме в целом [11]. Высокоспецифичными маркерами ДЭ служат оксид азота (NO) и эндотелин – 1 (Et – 1). Десквамированные эндотелиоциты (ДЭЦ) и фактор Виллебранда (vWF) относятся собственно к маркерам повреждения эндотелия [1, 2, 6, 10].

Цель исследования. Определить маркеры дисфункции и повреждения эндотелия у больных с гепатобилиарной патологией (ГБП): ЖКБ, ХГ и ЦП. Оценить операционные характеристики исследуемых лабораторных тестов при ГБП.

Ответственный за ведение переписки -
Щекотова Алеватина Павловна
614045, г. Пермь, ул. Большевикская, д.141, кв.67.
Телефон: 8(342)244-66-15(дом/факс);
8(342)219-22-37(раб);
8-912-88-95-243 (моб).
al_shchekotova@mail.ru.

Материалы и методы

В исследование включено 94 пациента ГБП, среди которых мужчин было 45 человек, женщин – 49. Первую группу составили 14 больных с ЖКБ, во 2 группу включены 50 больных хроническим вирусным гепатитом С в фазе реактивации. 3 группа состояла из 30 пациентов с ЦП преимущественно вирусной этиологии (у 62 % больных – ЦП в исходе ХГС, у 6 % – в исходе ХГВ, 10 % имели в качестве этиологического фактора сочетание ХГС и ХГВ, 10 % пациентов – сочетание вирусного и алкогольного поражения, у 6 % – выявлен алкогольный, у 6 % – криптогенный ЦП). Среди больных с ЦП и ХГ преобладали мужчины, в группу с ЖКБ вошли только женщины. Пациенты с ЖКБ имели средний возраст $53 \pm 12,5$ лет. Возраст больных при ХГ составил $35,6 \pm 10,7$ лет, при ЦП – $54,5 \pm 11,7$ года, по полу группы были сопоставимы. Контрольная группа состояла из 34 практически здоровых лиц, не имеющих в анамнезе заболеваний печени, средний возраст которых составил $35,9 \pm 10,9$ лет. Так как группы больных отличались по возрасту и полу, обследованные контрольной группы перераспределены в группы сравнения с больными ЖКБ, ХГ и ЦП. Для пациентов с ЖКБ была выделена группа контроля №1, состоявшая из женщин в количестве 10 человек, для больных с ХГ – сопоставимая группа №2 (n=24), для лиц с ЦП была выделена группа сравнения №3, сопоставимая по возрасту (n=13).

Изучались тесты оценки функционального состояния эндотелия в плазме крови иммуноферментным методом на анализаторе Stat Fax (США); уровень общего NO (набор «SYSTEMS», США); Et-1 (набор «BIOMEDICA CRUPPE», США). Подсчет количества ДЭЦ в плазме крови осуществлялся по методу Hladovec, 1978 [4]. Определение функциональной активности vWF проводилось на агрегометре 230 LA НПФ «Биола» (г. Москва) с использованием набора фирмы НПО «Ренам» (г. Москва).

Оценка операционных характеристик лабораторных тестов, таких как диагностическая чувствительность, диагностическая специфичность и диагностическая эффективность, проводилась на основе статистического анализа массивов результатов лабораторных исследований с определением точек разделения с целью характеристики интегрального значения патогномичности показателей для выявления дисфункции и повреждения эндотелия при ГБП [3].

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программ STATISTICA 6.0 Microsoft и Office Excel 2003. Для описания полученных количественных признаков, имеющих нормальное распределение, использовались среднее арифметическое (M) и среднее квадратичное отклонение (σ); Для проверки значимости различий применялся критерий Стьюдента, для анализа повторных измерений использовался парный критерий Стьюдента. Связь признаков оценивалась при помощи регрессионного анализа с определением коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r).

Результаты и обсуждение

Показатели функционального состояния эндотелия при ГБП значительно отличались от аналогичных параметров у практически здоровых лиц (табл. 1). Снижение уровня NO до $15,8 \pm 3,7$ мкмоль/л ($p=0,001$) в сочетании с повышением концентрации Et-1 до $0,74 \pm 0,18$ фмоль/л ($p=0,0001$) указывает на дисбаланс соединений, влияющих на тонус сосудов. Данные изменения могут способствовать нарушениям печеночной гемодинамики на фоне уменьшения вазодилатирующего потенциала эндотелия и стимулировать неопионогенез, способствуя прогрессированию поражения печени. У пациентов с ГБП также выявлено достоверное увеличение показателей повреждения эндотелия: количество ДЭЦ составило $7,01 \pm 1,92 * 10^4$ /л, активность vWF – $111,05 \pm 4,8\%$.

В группах больных ЖКБ, ХГ и ЦП была проанализирована зависимость показателей дисфункции и повреждения эндотелия от возраста – корреляций не выявлено. Не было найдено и достоверных отличий показателей в сопоставимых с больными контрольных подгруппах (табл. 2). Не обнаружено различий показателей поражения эндотелия среди обследованного контингента и по полу, поэтому для сравнения использовали контрольную группу, включающую показатели всех обследованных здоровых лиц.

При анализе показателей в группах пациентов с ГБП выявлены следующие данные. Снижение при ХГ и ЦП уровня NO ($p_2=0,001$, $p_3=0,001$) сочеталось с повышением концентрации Et-1 ($p_2=0,001$, $p_3=0,001$), причем этот дисбаланс был более значимым при ЦП (таблица 3). У больных с ЖКБ также выявлено снижение выработки NO ($p_1=0,000005$), но концентрация Et-1 не отличалась значимо от здоровых ($p_1=0,1$). Увеличение коли-

Таблица 1. Сравнительный анализ лабораторных показателей функционального состояния эндотелия у больных с ГБП и в группе практически здоровых лиц ($M \pm \sigma$)

Показатели	Контрольная группа (n=34)	ГБП (n=94)	p
NO, мкмоль/л	$29,43 \pm 3,34$	$15,8 \pm 3,7$	0,001
Et-1, фмоль/л	$0,3 \pm 0,13$	$0,74 \pm 0,18$	0,0001
ДЭЦ, 10^4 /л	$3,02 \pm 1,21$	$7,01 \pm 1,92$	0,001
vWF, %	$80,11 \pm 2,77$	$111,05 \pm 4,8$	0,01

Примечание: p – достоверность отличий в сравниваемых группах.

Таблица 2. Сравнительный анализ лабораторных показателей функционального состояния эндотелия в группах практически здоровых лиц, сопоставимых с группами больных ($M \pm \sigma$)

Показатели	Контрольная группа 1 (n=10)	Контрольная группа 2 (n=24)	Контрольная группа 3 (n=13)	p1-2	p1-3	p2-3
NO, мкмоль/л	26,25±2,92	29,43±3,34	28,0±4,35	0,7	0,8	0,4
Et-1, фмоль/л	0,32±0,1	0,3±0,13	0,31±0,1	0,6	0,5	0,8
ДЭЦ, 10 ⁴ /л	2,72±0,7	3,02±1,21	3,15±1,3	0,4	0,4	0,7
vWF, %	77,0±9,73	80,11±2,77	78,1±12,6	0,9	0,7	0,7

Примечание: p1 – достоверность отличий в группах здоровых 1 и 2;
p2 – достоверность отличий в группах здоровых 1 и 3;
p3 – достоверность отличий в группах здоровых 2 и 3.

Таблица 3. Показатели дисфункции и повреждения эндотелия при ЖКБ, ХГ, ЦП и в группе практически здоровых лиц

Показатели	Контрольная группа (n=34)	ЖКБ (n=14)		ХГ (n=50)		ЦП (n=30)	
	M ± σ	M ± σ	p1	M ± σ	p2	M ± σ	p3
NO, мкмоль/л	29,43±3,34	17,7±7,1	0,00005	18,7 ±3,02	0,001	13,07 ±4,52	0,001
Et-1, фмоль/мл	0,3±0,13	0,41±0,2	0,1	0,68±0,23	0,001	0,79±0,24	0,001
ДЭЦ, 10 ⁴ /л	3,02±1,21	5,5±2,3	0,0001	5,89 ±1,18	0,001	8,12 ± 2,67	0,001
vWF, %	80,11±2,77	92,1±11,4	0,02	102,1±4,8	0,003	120,0±4,86	0,0001

Примечание: p1 – достоверность отличий в группах здоровых и больных ЖКБ;
p2 – достоверность отличий в группах здоровых и больных ХГ;
p3 – достоверность отличий в группах здоровых и больных ЦП.

Таблица 4. Корреляционный анализ показателей поражения эндотелия у больных с ГПБ

Исследуемые показатели	ЖКБ (n=14)		ХГ (n=50)		ЦП (n=30)	
	r1	p1	r2	p2	r3	p3
NO и Et-1	- 0,9	0,0007	- 0,91	0,00001	- 0,74	0,0003
NO и ДЭЦ	- 0,51	0,0003	- 0,57	0,003	- 0,92	0,00001
NO и vWF	- 0,85	0,006	- 0,57	0,017	- 0,78	0,000006
Et-1 и ДЭЦ	0,91	0,0005	0,76	0,00004	0,85	0,000005
Et-1 и vWF	0,81	0,02	0,5	0,014	0,72	0,0003
ДЭЦ и vWF	0,73	0,04	0,55	0,014	0,8	0,000004

Примечание: r1 – взаимосвязь показателей в группе больных с ЖКБ; r2 – взаимосвязь показателей в группе больных с ХГ; r3 – взаимосвязь показателей в группе больных с ЦП; p1 – достоверность корреляций в группе пациентов с ЖКБ; p2 – достоверность корреляций в группе пациентов с ХГ; p3 – достоверность корреляций в группе пациентов с ЦП.

чества ДЭЦ, было во всех группах пациентов (p1=0,0001, p2=0,001, p3=0,001). Активность vWF, как маркера повреждения эндотелия, также была достоверно повышена: у больных с ЖКБ показатель составил 92,1±11,4% (p1=0,02), при ХГ - 102,1±4,75% (p2=0,003), при ЦП - 120±4,86 (p=0,0001). Данные изменения могут способствовать снижению тромборезистентности сосудистой стенки, в том числе в гемокапиллярах печени.

Проведен сравнительный анализ показателей функционального состояния эндотелия в группах больных с ХГ, ЦП и в группе контроля возрастной категории 40 - 60 лет, то есть сопоставимых по возрасту. При этом у больных с ЦП степень выраженности эндотелиальных нару-

шений была достоверно выше, чем у пациентов с ХГ того же возраста. В целом, между параметрами ДЭ и повреждения эндотелия в группах больных с ЖКБ, ХГ и ЦП выявлены достоверные отличия (табл. 3).

При проведении корреляционного анализа в группах больных с ГБП установлено наличие обратной достоверной взаимосвязи между уровнем NO, содержанием Et-1, vWF и количеством ДЭЦ (табл. 4). То есть, чем более выражена ДЭ, тем выше и показатели повреждения эндотелия как при ХГ, ЦП, так и при ЖКБ. Было установлено наличие прямой взаимосвязи между уровнем маркера ДЭ - Et-1 и показателем повреждения эндотелия - ДЭЦ во всех группах пациентов (p1=0,0005; p2=0,00004;

Таблица 5. Операционные характеристики лабораторных тестов поражения эндотелия у больных с ГБП

Тесты	Точка разделения	Диагностическая чувствительность, %	Диагностическая специфичность, %	Диагностическая эффективность, %
NO, мкмоль/л	22	95	90	86
Et-1, фмоль/л	0,5	90	90	76
ДЭЦ, 10 ³ /л	4,5	93	80	85
vWF, %	85	89	70	78

$p=0,000005$), выявлена и взаимосвязь Et-1 и vWF при ЖКБ, ХГ и ЦП ($p_1=0,02$, $p_2=0,014$, $p_3=0,0003$). Показатели повреждения - ДЭЦ и vWF также были взаимосвязаны друг с другом: достоверность корреляции при ЖКБ составила 0,04, при ХГ - 0,014, у больных с ЦП - 0,000004. Таким образом, наличие четких корреляций между NO, Et, ДЭЦ и vWF подтверждает достоверность этих показателей как маркеров поражения эндотелия при ГБП.

Была проведена оценка операционных характеристик лабораторных показателей дисфункции и повреждения эндотелия при ГБП (табл. 5). При этом выявлено, что концентрация NO ≤ 22 мкмоль/л, Et-1 $\geq 0,5$ фмоль/л, количество ДЭЦ $\geq 4,5 \cdot 10^4$ /л и активность vWF $\geq 85\%$ характерны для поражения эндотелия при ГБП. Исследуемые показатели продемонстрировали высокую чувствительность, специфичность и эффективность, при этом наиболее эффективными тестами оценки состояния эндотелия оказались NO (чувствительность теста - 95%, специфичность - 90%) и ДЭЦ (чувствительность - 93%, специфичность - 80%).

Выводы

1. При гепатобилиарной патологии имеются признаки дисфункции эндотелия (снижение выработки оксида азота, повышение эндотелина-1) и его повреждения (увеличение количества десквамированных эндотелиоцитов и активности фактора Виллебранда).

2. Выраженность эндотелиальных нарушений зависит от тяжести поражения печени: максимальная степень нарушений характерна для больных с циррозом печени, умеренная выявлена при хроническом гепатите С, минимальная степень имеет место у пациентов с желчно-каменной болезнью.

3. Выраженность эндотелиальных нарушений при гепатобилиарной патологии не зависит от возраста и пола пациентов.

4. Изученные лабораторные тесты, характеризующие состояние эндотелия при гепатобилиарной патологии, имеют высокую чувствительность и специфичность. ■

Литература:

1. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция. Под ред. Н.Н. Петрищева. СПб: Изд-во СПб ГМУ; 2003.
2. Звягинцева Т.Д. Гривнева С.В. Современные представления о сосудистом эндотелии в норме и при патологии желудочно-кишечного тракта. Эксперим. и клин. гастроэнтерол. 2005; №4: 6-12.
3. Клинический диагноз - лабораторные основы. Под ред. В.В. Меньшикова. М: Лабинформ; 1997.
4. Мараховский Ю.Х. Желчнокаменная болезнь: современное состояние проблемы. Российск. ж. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. 2003; №1: 81-92.
5. Петрищев Н.Н., Беркович О.А. Диагностическая ценность определения десквамированных эндотелиоцитов в крови. Клиническая лабораторная диагностика. 2001; №1: 50-2.
6. Титов В.Н. Анатомические и функциональные основы эндотелий-зависимой вазодилатации, оксид азота и эндотелин. Рос. кардиол. журн. 2008; №1 (69): 71-85.
7. Шахильдян И.В., Михайлов М.И., Онищенко Г.Г. Парентеральные вирусные гепатиты (эпидемиология, диагностика, профилактика). М: 2003; 171-236.
8. Helmy A., Newby D.E., Jalan R. Enhanced vasodilatation to endothelin antagonism in patients with compensated cirrhosis and the role of nitric oxide. Gut 2003; 52: 410 - 15.
9. Hon W.M., Lee V.H., H.E. Khoo et al. Nitric oxide in liver diseases. Ann New York Acad 2002; 962: 278-95.
10. Meigs J.B. Biomarkers of endothelial dysfunction; J.B. Meigs, N. Rifai. JAMA. - 2004. - № 297. - P. 1978 - 1986.
11. Wang J. H. Mechanisms of hepatoprotection by nitric oxide J. Wang, X. Vodovotz Ann. N. Y. Acad. Sci. - 2002. - V. 962 (1). - P. 415 - 422.