

Эффективность базисной терапии у детей с легочной артериальной гипертензией на фоне врожденных пороков сердца: роль маркеров эндотелиальной дисфункции и системного воспаления

Емельянчик Е. Ю.¹, Вольф Н. Г.², Кириллова Е. П.¹, Анциферова Л. Н.²,
Доможакова О. А.³, Салмина А. Б.¹

¹ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» МЗ РФ. Красноярск; ²КГБУЗ «Красноярский краевой клинический центр охраны материнства и детства». Красноярск; ³ГБУЗ РХ «Республиканская клиническая больница им. Г. Я. Ремиевской». Абакан, Республика Хакассия, Россия

Цель. Определить эффективность специфической терапии по результатам 4-летнего наблюдения больных легочной артериальной гипертензией, ассоциированной с врожденными пороками сердца (ЛАГ-ВПС).

Материал и методы. Дана оценка динамики состояния эндотелия в течение года (исходно, через 6 и 12 мес.) по уровню маркеров дисфункции эндотелия, восстановления клеток и провоспалительного фактора — интерлейкина-1. Динамика клинического статуса больных и параметров состояния правых отделов сердца по результатам эхокардиографии с доплеровским картированием мониторировалась в течение 4 лет.

Результаты. У пациентов с тяжелой ЛАГ на фоне комплексной терапии с применением бозентана достигнуто клиническое улучшение с увеличением толерантности к физической нагрузке, уменьшением частоты легочных кризов и функционального класса заболевания, появилась тенденция к увеличению продолжительности жизни. У пациентов, получавших терапию бозентаном, выявлено 10-кратное снижение концентрации сосудистого эндотелиального фактора роста, снижение вдвое уровня sPECAM-1 и на 70% провоспалительного цитокина интерлейкина-1. У больных с умеренной

и тяжелой ЛАГ вне терапии бозентаном отмечается статистически значимый прирост уровней sPECAM-1, увеличение концентрации сосудистого эндотелиального фактора роста в 5 и 2 раза, соответственно, прогрессирование заболевания.

Заключение. У детей с ЛАГ-ВПС комплексная терапия с применением бозентана обеспечивает отчетливое клиническое улучшение, связанное с антипролиферативным и антиагрегантным эффектами, которые опосредованы влиянием неселективного ингибитора рецепторов эндотелина-1. Отсутствие ЛАГ-специфической терапии определяет прогрессирование болезни независимо от функционального класса.

Ключевые слова: легочная артериальная гипертензия, врожденные пороки сердца, эндотелиальная дисфункция, сосудистый эндотелиальный фактор роста, блеббинг лимфоцитов, специфическая терапия.

Кардиоваскулярная терапия и профилактика, 2016; 15(5): 50–58
<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2016-5-50-58>

Поступила 11/10-2016

Принята к публикации 14/10-2016

Basic therapy efficacy in children with pulmonary hypertension related to congenital heart defects: place of endothelial dysfunction and systemic inflammation markers

Emelyanchik E. Yu.¹, Wolf N. G.², Kirillova E. P.¹, Antsiferova L. N.², Domozhakova O. A.³, Salmina A. B.¹

¹V.F.Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk; ²Krasnoyarsk Regional Clinical Center of Maternity and Childhood. Krasnoyarsk; ³G. Ya. Remishevskaya Republic Clinical Hospital. Abakan, Khakassija Republic, Russia

Aim. To evaluate efficacy of the specific therapy by results of 4-year observation of patients with pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart defects (PH-CHD)

Material and methods. The evaluation is provided, of endothelium condition dynamics during one year (baseline, in 6 and 12 months) by the level of endothelium dysfunction markers, cells reparation and proinflammatory factor — interleukin-1. Dynamics of clinical status of patients and of the condition of the right heart chambers by echocardiography with Doppler study, was monitored during 4 years.

Results. In severe PH patients under bosentan complex therapy the clinical improvement was marked as exercise tolerance improvement, decreased rate of pulmonary crises and decreased functional class of the disease, tendency to increase life duration. In bosentan group, there was 10-time reduction of vascular endothelial growth factor level, double decrease of sPECAM-1 and by 70% — of proinflammatory cytokine interleukin-1. In moderate and severe PH without bosentan therapy there was statistically significant increase of sPECAM-1, increase of vascular endothelial growth factor by 5 and 2 times, respectively, and progression of the disease.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

Тел.: +7 (391) 243-39-52

e-mail: lenacor@mail.ru

[Емельянчик Е. Ю.* — д.м.н., профессор кафедры педиатрии Института последипломного образования, Вольф Н. Г. — детский кардиолог консультативно-диагностической поликлиники, Кириллова Е. П. — к.м.н., доцент кафедры педиатрии Института последипломного образования, Анциферова Л. Н. — зав. отделением кардионефрологии, главный внештатный специалист — детский кардиолог Минздрава Красноярского края, Доможакова О. А. — детский кардиолог, врач-педиатр, главный внештатный специалист — детский кардиолог Минздрава РХ, Салмина А. Б. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, руководитель научно-исследовательского института молекулярной медицины и патобиохимии, проректор по инновационному развитию и международной деятельности].

Conclusion. For infants with PH-CHD, complex bosentan therapy makes it for clear clinical improvement related to antiproliferative and antiaggregant effects, which are mediated by non-selective inhibition of endothelin-1 receptors. Absence of PH-specific therapy determines the progression of disease, irrelevant to functional class.

Key words: pulmonary arterial hypertension, congenital heart defects, endothelial dysfunction, vascular endothelial growth factor, lymphocyte blebbing, specific therapy.

Cardiovascular Therapy and Prevention, 2016; 15(5): 50–58
<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2016-5-50-58>

БКК — блокаторы кальциевых каналов, ИАПФ — ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, ИЛ-1 — интерлейкин-1, ЛАГ-ВПС — легочная артериальная гипертензия, ассоциированная с врожденными пороками сердца, ПЖ — правый желудочек, СДЛА — среднее давление в легочной артерии, СЭФР — сосудистый эндотелиальный фактор роста, Т6МХ — тест 6-минутной ходьбы, ФИП ПЖ — фракционное изменение площади правого желудочка, ФК — функциональный класс, E/A — отношение скорости раннего транстрикуспидального потока и предсердного наполнения правого желудочка, sPECAM-1/sCD31 — soluble platelet endothelial cell adhesion molecule 1 (растворимые молекулы адгезии тромбоцитов к эндотелию 1).

Врожденные пороки сердца (ВПС) и крупных сосудов, вызывающие перегрузку сосудов малого круга кровообращения, являются наиболее частой причиной развития легочной артериальной гипертензии (ЛАГ) в детском возрасте [1]. Самое быстрое развитие ЛАГ, ассоциированной с ВПС (ЛАГ-ВПС), определяют аномалии сердца и сосудов, формирующие артериальную гипоксемию и гипоксию [2, 3]. Несмотря на успехи кардиохирургии, знания патоанатомии и патофизиологии поражения сосудистой стенки и увеличение доступности фармакотерапии, ЛАГ-ВПС остается заболеванием, которое быстро прогрессирует, значительно ухудшает качество жизни пациентов, и ограничивает продолжительность их жизни. При этом максимально негативное влияние гипоксемии на сосуды малого круга и, соответственно, менее благоприятное течение ЛАГ отмечается у пациентов детского возраста [1, 4].

Появление в практической кардиологии специфической терапии ЛАГ существенно изменило течение и исходы заболевания у детей и взрослых. Убедительные результаты были получены при длительном (>12 нед.) использовании антагонистов рецепторов эндотелина-1 у пациентов <18 лет. Это вызывает интерес не только к изучению динамики клинических проявлений болезни, но и к оценке изменений функционального состояния эндотелия сосудов, учитывая “точку приложения” фармакологического действия препаратов [5].

Важной проблемой остается мониторинг состояния малого круга кровообращения у детей. Современные подходы к диагностике ЛАГ-ВПС широко используют инвазивные методы подтверждения диагноза и динамической оценки резистентности сосудов малого круга на фоне терапии. Однако существует риск возможных осложнений ангиокардиографии, особенно у детей младшего возраста и пациентов с тяжелым клиническим статусом [6]. Обсуждаются некоторые ограничения чувствительности ультразвукового исследования для определения состояния правых отделов сердца и легочного кровообращения у больных ЛАГ-ВПС [7]. Это определяет необходимость поиска новых показателей для оценки состояния сосудов малого круга кровообращения.

Исследования функционального состояния эндотелия у этой категории пациентов показали достаточную информативность маркеров эндотелиальной дисфункции для оценки обратимости и необратимости ЛАГ-ВПС [3, 8, 9].

Целью представленного исследования стало изучение клинической динамики у пациентов с ЛАГ на фоне специфической терапии, а также определение роли показателей функционального состояния эндотелия в оценке течения ЛАГ-ВПС, исследовании молекулярных механизмов прогрессирования заболевания и эффективности специфической терапии.

Материал и методы

Под наблюдением находились 49 пациентов с ЛАГ-ВПС (<18 лет), период наблюдения составил в среднем 53 мес. (42–60 мес.). Дети наблюдались в двух клинических центрах — Красноярском краевом клиническом центре охраны материнства и детства (n=43) и Республиканской клинической детской больнице Хакасии им. Г.Я. Ремизовской (n=6).

Диагноз ЛАГ устанавливался в соответствии с критериями ВОЗ, все пациенты были стратифицированы по функциональным классам (ФК) [4]. Были выделены три группы наблюдаемых: 1 группу (n=22) составили дети со II ФК заболевания — медиана возраста 12 лет [9,75;13,25], 2 группу (n=13) — дети с III-IV ФК ЛАГ-ВПС; они получали комплексную терапию с использованием неселективного ингибитора рецепторов эндотелина-1 — бозентана (Траклир, Актелион Фармасьютикалз, Швейцария) — медиана возраста — 11,5 лет [9,5;12,75], 3 группа (n=14) — больные с III-IV ФК, которые получали комплексную терапию без применения бозентана — медиана возраста — 10,0 лет [6,25;13]. Контрольную группу составили 20 детей близкого возраста — средний возраст 10,5 лет [7,75;12,5]. Оценивали 4-летнюю динамику основных клинических параметров: толерантность к физической нагрузке по результатам теста 6-минутной ходьбы (Т6МХ), парциальное напряжение кислорода в венозной крови, выживаемость, время до развития легочных кризов, ФК заболевания ультразвуковые параметры гемодинамики малого круга и правых отделов сердца.

Исследование одобрено Этическим комитетом КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (протокол от 20.11.2013).

Для исследования маркеров эндотелиальной дисфункции проводили забор венозной крови. Лимфоциты

Таблица 1

Демографические характеристики и клинический статус наблюдаемых

	1 группа (n=22)	2 группа (n=13)	3 группа (n=14)
Мальчики/девочки, n (%)	12 (54,5)/10 (45,5)	8 (61,5)/5 (38,5)	6 (42,5)/8 (57,5)
Возраст, годы (Ме [25;75])			
Постановки диагноза ЛАГ-ВПС	7 [5,2;9]	2,2 [0,4;3]	2,4 [0,2;4]
Начала терапии бозентаном/наблюдения	12 [9,75;13,25]	10,0 [6,25;13]	
ВПС (n)			
	ДМЖП (10) АВК (2) ДМПП (10)	ОАС + ДМЖП (3) ТМА + ДМЖП (1) ОАС + АЛВЛА + БАЛКа + ДМЖП (1) АВК (1) ДМЖП + ОАП /ДМПП (5) ЕЖ (1)	ДОМС ПЖ (2) ЕЖ (2) АВК (4) ДМЖП+ОАП (5) ДМПП (1)
Статус ВПС, n			
Корригированный порок (паллиатив)	10	3	2
Некорригированный	12	10	12
ФК, n			
III/IV		5/6	7/7

Примечание: ДМЖП — дефект межжелудочковой перегородки, АВК — атриовентрикулярная коммуникация, ДМПП — дефект межпредсердной перегородки, ОАС — общий артериальный ствол, ТМА — транспозиция магистральных артерий, АЛВЛА — агенезия левой ветви легочной артерии, БАЛКа — большая аорто-легочная коллатеральная артерия, ДОМС ПЖ — двойное отхождение магистральных сосудов от правого желудочка, ЕЖ — единственный желудочек, ОАП — открытый артериальный проток.

Таблица 2

Сопроводительная терапия пациентов с ЛАГ-ВПС

	1 группа (n=22)	2 группа (n=13)	3 группа (n=14)
БКК	-	2	3
Ингибиторы фосфодиэстеразы-5	-	4	3
Диуретики	-	13	14
Дезагреганты	-	8	5
ИАПФ	8	13	14

Примечание: БКК — блокаторы кальциевых каналов.

периферической крови выделяли по стандартному методу на градиенте плотности фикоколл-верографин (“Pharmacia Chemical”, Упсалла, Швеция). Выделенные лимфоциты отмывали раствором Хенкса и исследовали методом фазово-контрастной микроскопии. Подсчитывали:

- нормальные клетки с визуально неизменной плазматической мембраной;
- клетки в состоянии начального блеббинга — мелкие везикулы на мембране до 1/3 радиуса клетки;
- клетки в состоянии терминального блеббинга (крупные пузыри мембраны) >1/3 радиуса клетки.

Определение сосудистого эндотелиального фактора роста (СЭФР), уровня провоспалительного интерлейкина-1 и растворимой формы CD31 (sPECAM-1/sCD31) проводилось методом иммуноферментного анализа.

Для статистического анализа результатов использовали программу Statistica 6,0, применяли непараметрические методы. Абсолютные значения показателей представлены в виде медианы, 25 и 75 перцентилей или доле от группы; достоверность различий между группами определялась методом Манна-Уитни. Значимость различий принималась при $p < 0,05$. Для оценки выживаемости больных и времени развития легочных кризов использовались таблицы дожития и метод Каплана Мейера.

Результаты и обсуждение

Гемодинамической основой формирования ЛАГ у всех наблюдаемых, независимо от ФК заболевания, была прекапиллярная легочная гипертензия, т.е. преимущественное вовлечение артериального русла малого круга кровообращения. Тем не менее, рассматриваемые группы отличались по анатомии и гемодинамике пороков: у пациентов 1 группы гемодинамические нарушения были представлены исключительно формирующимся синдромом Эйзенменгера на фоне резидуальных или поздно корригированных септальных дефектов. У половины пациентов с III-IV ФК (в обеих группах) анатомия пороков сердца детерминировала артериальную гипоксемию с рождения или комбинацию гипоксемии и прекапиллярной гипертензии с первых часов жизни (таблица 1). Фактор гипоксии вызвал ранний старт и быстрое прогрессирование ЛАГ-ВПС у больных 2 и 3 групп.

Пациенты с выраженной клиникой ЛАГ-ВПС получали стандартную терапию ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента (ИАПФ),

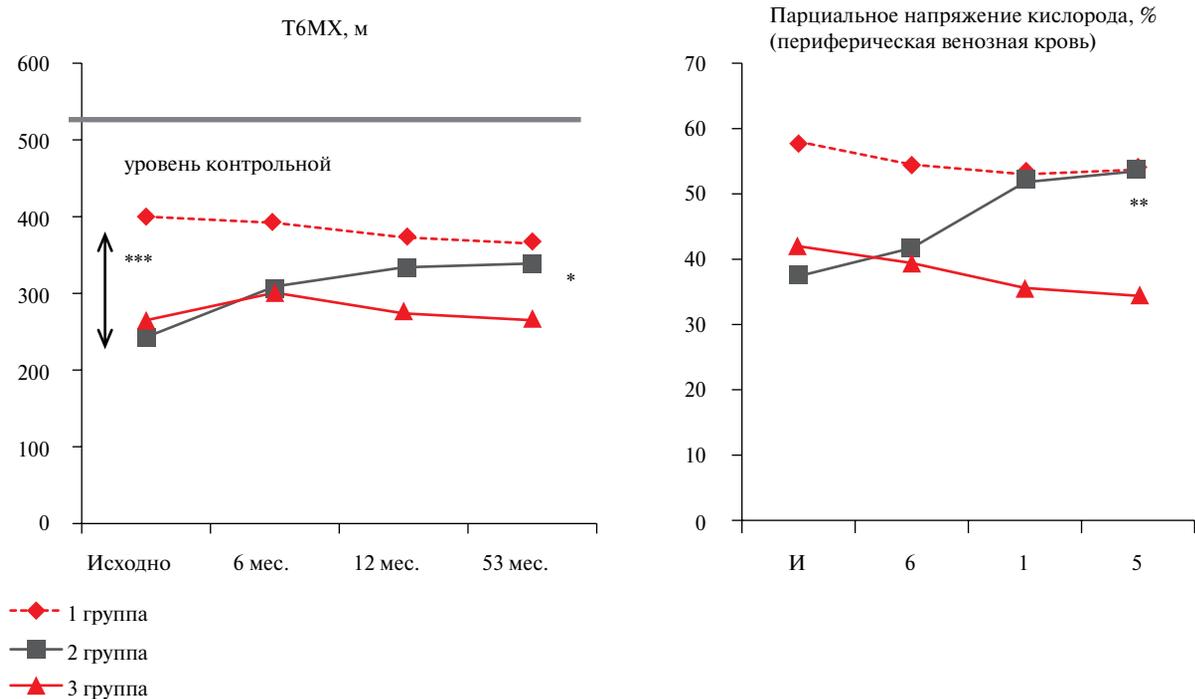


Рис. 1 Клиническая динамика у пациентов с ЛАГ-ВПС на фоне терапии бозентаном. Примечание: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$.

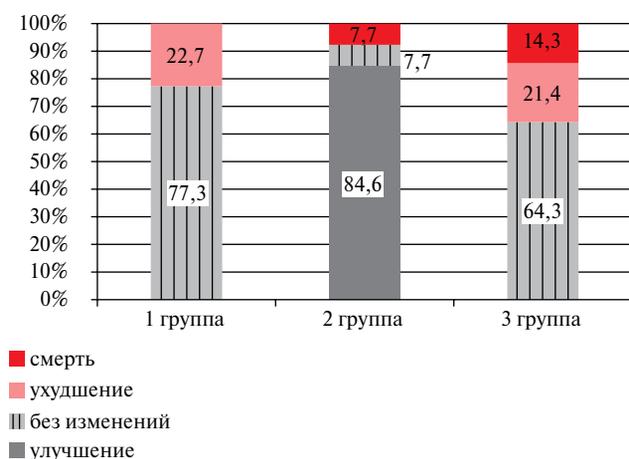


Рис. 2 Динамика клинического статуса больных ЛАГ-ВПС по ФК.

диуретиками, дезагрегантами [4, 7] (таблица 2). Пациенты 1 группы получали ИАПФ только в 36,3% случаев, больные 2 группы получали базисную терапию бозентаном, пациенты 3 группы не получали бозентан; причиной этого было отсутствие российского гражданства и невозможность оформления льготного лекарственного обеспечения, возраст <2 лет, религиозные предрассудки семей.

Лечение бозентаном было инициировано в дозах в соответствии с клиническими рекомендациями [10]. Целевая доза 31,25 мг 2 раза в сут. назначалась детям с массой тела 10-20 кг, 62,5 мг 2 раза в сут. для детей с массой 20-40 кг и 125 мг 2 раза в сут. при массе тела >40 кг. Ингибиторы фосфоди-

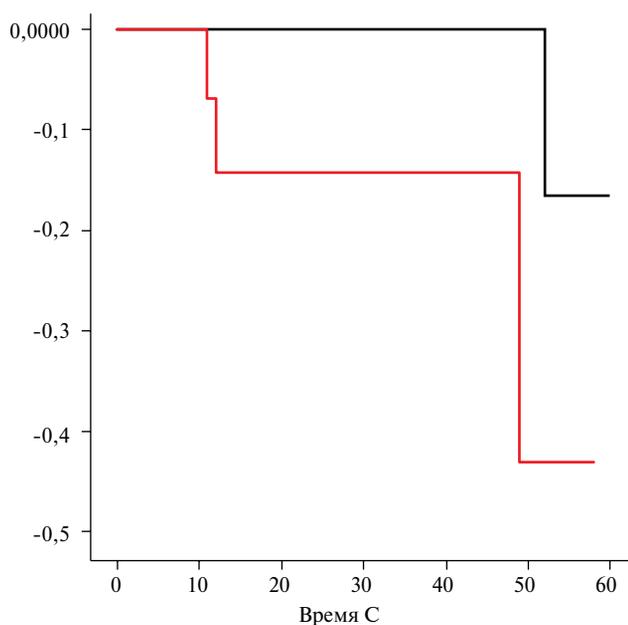
эстеразы-5 получали ограниченное число детей, учитывая неоднозначные данные о безопасности препаратов в детском возрасте и в соответствии с клиническими рекомендациями [11].

Исходно клиническое состояние пациентов обеих групп с III-IV ФК ЛАГ-ВПС характеризовалось выраженным снижением толерантности к физической нагрузке (рисунок 1). У больных 1 группы результаты Т6МХ были значительно меньше, чем в контрольной группе, но существенно превышали уровень показателей у пациентов с III-IV ФК ($p < 0,001$).

Спустя 4 года комплексной терапии отмечено увеличение толерантности к физической нагрузке у пациентов 2 группы, причем пройденная за 6 минут дистанция оказалась значительно больше показателя сравниваемой группы, не получавшей бозентан ($p < 0,05$). Одновременно у детей 2 группы было выявлено уменьшение степени выраженности артериальной гипоксемии ($p < 0,01$) в сравнении с результатами больных, не получавших бозентан; данные 1 и 3 групп показали тенденцию к прогрессированию артериальной гипоксемии и снижению переносимости физической нагрузки.

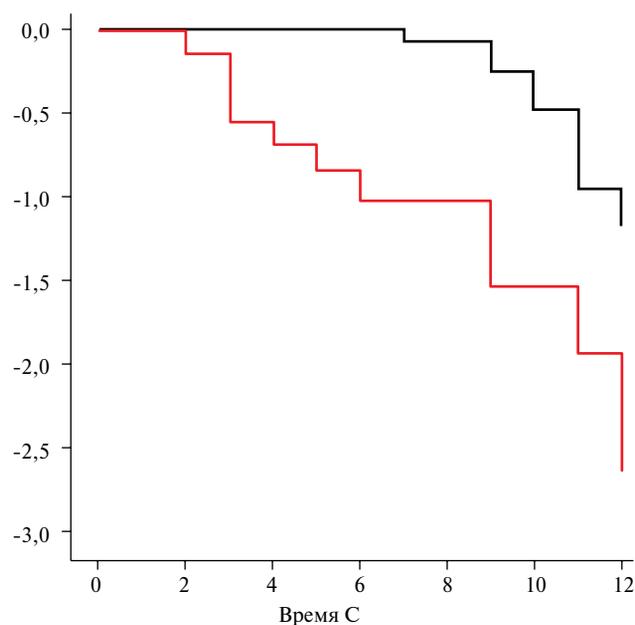
Анализ ФК ЛАГ у наблюдаемых больных выявил следующие изменения (рисунок 2).

В течение 4 лет у 5 (22,7%) пациентов 1 группы отмечено ухудшение ФК ЛАГ-ВПС, остальные дети этой группы сохранили свой клинический статус без изменений. Данный факт показал, что монотерапия ИАПФ у ограниченного числа больных со II ФК ЛАГ позволяет тормозить прогрессирование



— 2 группа (специфическая терапия с применением бозентана)
— 3 группа (лечение без бозентана)

Рис. 3 Выживаемость пациентов с ЛАГ-ВПС на фоне специфической терапии.



— 2 группа (специфическая терапия с применением бозентана)
— 3 группа (лечение без бозентана)

Рис. 4 Время до развития легочных кризов у больных ЛАГ-ВПС в течение первого года специфической терапии.

Таблица 3

Гемодинамические параметры у детей на фоне специфической терапии (4 года наблюдения) (Ме, [25;75])

	1 группа		2 группа		3 группа	
	Исходно	Динамика	Исходно	Динамика	Исходно	Динамика
СДЛА (мм рт.ст.)	33 [30;35]	35 [30;38]	87 [72;95]	80 [58;90]***	76 [59;88]	83 [70;98]*
Е/А ПЖ	1,3 [1,1;1,6]	1,58 [1,3;1,77]*	1,9 [1,7;2,2]	1,5 [1,4;1,76]**	1,8 [1,48;2,0]	1,8 [1,3;1,9]
ФИП ПЖ (%)	60,7 [56;62]	56 [51;59]**	49 [44;55]	55 [53;60]**	53 [52;60]	50 [42;56]**

Примечание: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$.

заболевания, но является недостаточной для достижения клинического улучшения у большинства пациентов. На фоне терапии бозентаном большинство больных улучшили клинический статус и ФК ЛАГ с IV до IIIб, с IIIб до IIIа/IIб и с IIIа до IIб, соответственно. Однако 1 больной с IV ФК умер на 50 мес. терапии и у 1 ребенка (также с IV ФК) не было выявлено значительных улучшений.

Сравнительный анализ дожития у больных на фоне терапии бозентаном (рисунок 3) не выявил статистически значимых отличий от показателя 3 группы: критерий Гехана-Уилкоксона составил 2,389 ($p = 0,122$).

Однако, учитывая то, что объектом исследования было орфанное заболевание, единицей наблюдения — пациенты с клинически значимыми проявлениями ЛАГ; наблюдаемая группа включила 90% от числа лиц с данной патологией в регионе, что фактически является генеральной совокупностью, методы выборочной статистики к данным параметрам не применялись, и полученные отличия были приняты как значимые.

Легочные кризы являются основой ухудшения клинического статуса больных и зачастую причиной неблагоприятного исхода заболевания. Оценка периода времени до развития легочных кризов установила статистически значимые отличия в группе пациентов, получавших специфическую терапию бозентаном: критерий Гехана-Уилкоксона составил 8,906, $p = 0,003$. На фоне терапии бозентаном первый криз документирован через 6 мес. от начала терапии, и количество эпизодов легочных кризов оказалось вдвое меньшим, чем у детей сравнимой группы (рисунок 4).

Убедительным подтверждением улучшения клинического статуса пациентов стали позитивные гемодинамические изменения. Выявили статистически значимое снижение уровня среднего давления в легочной артерии (СДЛА), жесткости правого желудочка (ПЖ) и улучшение его сократительной способности у пациентов 2 группы (таблица 3): в течение 4 лет среднегрупповое значение СДЛА уменьшилось от уровня 87 мм рт.ст. до 80 мм рт.ст. ($p < 0,001$), уменьшение отношения скоростных

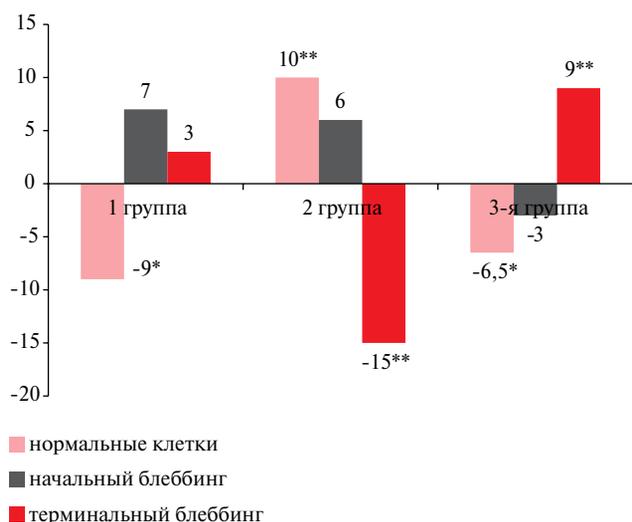


Рис. 5 Степень изменений показателей активности блеббинга мембран лимфоцитов периферической крови в течение первого года терапии (абс.).

Примечание: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$.

характеристик раннего транстрикуспидального потока и предсердного наполнения правого желудочка (Е/А), характеризующее диастолическую дисфункцию камеры, также уменьшилось ($p=0,012$), отмечен выраженный рост показателя фракционного изменения площади ПЖ (ФИП ПЖ) ($p=0,02$). Эти данные согласуются с результатами долгосрочного эффекта терапии бозентаном [12].

У больных 1 группы через 4 года появились признаки нарушения сократительной функции ПЖ и тенденция к увеличению жесткости стенок правой камеры — замедление диастолического расслабления. У детей с тяжелым течением ЛАГ, не получавших терапию бозентаном (3 группа), также отмечено увеличение СДЛА ($p=0,05$), прогрессирование диастолической дисфункции и значительное снижение сократительной способности миокарда ПЖ.

Хроническая гипоксия и ее следствие — ацидоз, являются индукторами окислительного стресса, т.е. повреждения компонентов клетки реактивными формами кислорода. Важными участниками данного процесса также являются клеточная пролиферация, разрушение цитоплазматической мембраны и апоптоз — распад клетки с образованием апоптотических микрочастиц, обладающих провоспалительным, аутоиммунным и прокоагулянтным потенциалом [13]. У больных ЛАГ-ВПС установлено увеличение количества циркулирующих эндотелиоцитов, характерное для активации апоптоза, наиболее выраженное у пациентов с тяжелыми формами заболевания [14].

Исследование функционального состояния сосудов при ЛАГ установило, что нарушения функционального состояния эндотелия происходят при активном участии СЭФР. В экспериментальной работе был получен тяжелый ангиопролифератив-

ный процесс путем комбинированного влияния хронической гипоксии и блокады рецепторов СЭФР [14, 15]. Значение клеточной пролиферации в развитии и прогрессировании ЛАГ показали морфологические исследования сосудистой стенки. Согласно полученным данным, перициты, фибробласты и мезенхимальные клетки сосудистой стенки способны не только пролиферировать, но и дифференцироваться в гладкомышечные клетки, эндотелиоциты — в мезенхимальные, постепенно формируя окклюзию сосуда. Данные изменения с образованием выпячиваний внутрь сосуда и “слепыми” ответвлениями были названы плексиформными структурами. Утолщение сосудистой стенки и развитие плексиформных структур составляют морфологическую основу ЛАГ. Комплекс выявленных изменений позволил авторам обсуждать некую резистентность эндотелиоцитов к апоптозу [15], и предположить, что лекарственные вещества с антипролиферативным действием смогут в будущем не только притормозить прогрессирование ЛАГ, но и подвергнуть обратному развитию случившиеся изменения [16].

Была изучена активность начальной фазы апоптоза — блеббинга (“пузырения”) мембран лимфоцитов периферической крови, а также уровней СЭФР, характеризующего репарацию и пролиферацию клеток эндотелия, провоспалительного интерлейкина-1 (ИЛ-1) и растворимых молекул адгезии у детей с различными ФК ЛАГ. Маркеры эндотелиальной дисфункции определялись исходно, через 6 мес. и через 12 мес. ЛАГ-специфической терапии. Блеббинг лимфоцитов периферической крови был избран в качестве одного из наиболее чувствительных маркеров нарушения функций эндотелия, поскольку эти клетки крови тесно контактируют с эндотелием, имеют короткий период жизни и доступны для изучения, а сам процесс является обратимым [14]. Кроме того, блеббинг лейкоцитов крови — показатель изменения мембран-цитоскелетных взаимодействий, индуцированной взаимодействием с клетками эндотелия [13] как при апоптозе, так и при активации лейкоцитов.

Исходное изучение блеббинга лимфоцитов у пациентов с тяжелой ЛАГ-ВПС обнаружило преобладание клеток с выраженной активностью (терминальным) блеббингом — 47,0% во 2 группе и 48,5% в 3 группе при значительном количестве клеток (по 34,0%) в фазе начального блеббинга. У детей 1 группы в начале исследования отмечалось примерно равное количество лимфоцитов с начальным блеббингом и нормальных клеток — 43,0% и 39,0%, соответственно.

В динамике анализ состояния мембран лимфоцитов периферической крови установил, что у больных, получавших бозентан (2 группа), в течение первого года лечения активность блеббинга значи-

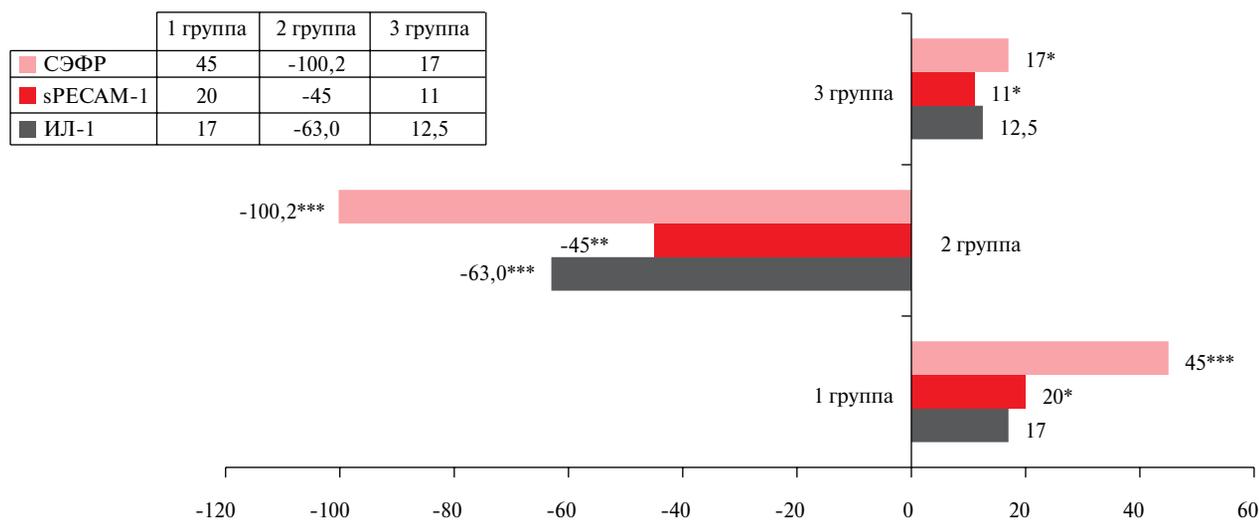


Рис. 6 Динамика маркеров эндотелиальной дисфункции и воспаления на фоне ЛАГ-специфической терапии (% от исходного уровня).
Примечание: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$.

тельно снизилась: значительно уменьшилось число клеток с терминальным блеббингом и выросло количество нормальных лимфоцитов и клеток с начальным блеббингом (рисунок 5).

Вероятно, снижение активности блеббинга у пациентов на фоне терапии бозентаном демонстрирует частичную регрессию дисфункции эндотелия под влиянием ингибитора рецепторов эндотелина-1. У больных 1 и, особенно, 3 групп установлена негативная динамика состояния мембран лимфоцитов в виде увеличения активности блеббинга — числа клеток как с признаками начального, так и с терминальным блеббингом при уменьшении количества неизмененных клеток.

Активация блеббинга лейкоцитов периферической крови у детей, не получавших специфическую терапию, сопровождалась нарастанием тяжести заболевания, выраженности гипоксии и увеличением уровня растворимых молекул адгезии тромбоцитов к эндотелию (sPECAM-1/CD31) — soluble platelet endothelial cell adhesion molecule 1 (рисунок 6). При этом известно, что нарушение атромбогенной функции эндотелия способствует развитию сладж-феномена, формированию микротромбов, и в целом прогрессированию заболевания.

У больных с умеренно выраженной ЛАГ (1 группа) и пациентов с тяжелой ЛАГ, не лечившихся бозентаном, отмечена тенденция к увеличению уровня провоспалительного цитокина ИЛ-1, статистически значимый прирост уровней sPECAM-1, а также увеличение концентрации СЭФР в 5 и в 2 раза, соответственно.

У пациентов, получавших терапию бозентаном, обнаружили 10-кратное снижение концентрации СЭФР, снижение в 1,8 раза уровня sPECAM-1 и на 70% от первоначальных данных — провоспалительного цитокина ИЛ-1.

Это позволяет предположить, что клиническое улучшение в данной группе детерминировано антипролиферативным и антиагрегантным эффектами, которые опосредованы комплексной терапией с применением неселективного ингибитора рецепторов эндотелина-1 бозентана. Важным результатом исследования было выявление негативной клинико-биохимической динамики у пациентов с умеренной ЛАГ-ВПС, что подчеркивает необходимость своевременного начала терапии, т.к. независимо от тяжести заболевания, отсутствие специфического лечения приводит к прогрессированию повреждения сосудов малого круга кровообращения.

Заключение

Долгосрочное наблюдение детей с умеренной и выраженной ЛАГ показало, что пациенты с III-IV ФК, получающие ЛАГ-специфическую терапию бозентаном, в 84,5% случаев улучшают клинический статус и ФК заболевания. Это сопровождается уменьшением выраженности артериальной гипоксемии ($p < 0,01$), увеличением толерантности к физической нагрузке ($p < 0,05$), увеличением продолжительности жизни у наиболее тяжелой категории пациентов. Основой позитивных изменений на фоне специфической терапии являются изменения гемодинамики малого круга и правых отделов сердца в виде снижения СДЛА, оптимизации диастолического расслабления и эффективности сокращения миокарда. Отсутствие специфической терапии бозентаном у пациентов с III-IV ФК ЛАГ способствует прогрессированию заболевания с усугублением артериальной гипоксемии, ухудшением переносимости физических нагрузок и ФК, прогрессированием гемодинамических нарушений, увеличением числа эпизодов легочных кризов

и снижением выживаемости. У детей со ПФК динамика клинических и гемодинамических симптомов ЛАГ имела ту же негативную направленность, что и у пациентов с тяжелой ЛАГ без специфической терапии, что подчеркивает необходимость более раннего начала специфического лечения для предотвращения прогрессирования заболевания.

Исследование функций эндотелия у пациентов с ЛАГ-ВПС установило исходную активацию блеббинга лимфоцитов периферической крови под влиянием гипоксии и гемодинамической перегрузки

малого круга, нарушение атромбогенной функции эндотелия и увеличение активности процесса его репарации. Применение бозентана у детей с ЛАГ-ВПС препятствует развитию блеббинга лейкоцитов периферической крови, что сопровождается снижением выраженности эндотелиальной дисфункции и системного воспаления. С учетом механизма действия бозентана, ведущая роль эндотелин-1-зависимого механизма в развитии указанных нарушений при ЛАГ-ВПС представляется весьма вероятной и определяет выбор терапевтической стратегии.

Литература

- Lopes AA, Flores PC, Diaz GF, Mesquita SMF. Congenital heart disease and pulmonary arterial hypertension in South America (2013 Grover Conference series). *Pulm. Circulation* 2014; 4:3: 370-7. doi: 10.1086/676747.
- Sakao S, Tatsumi K, Voelkel NF. Reversible or Irreversible Remodeling in Pulmonary Arterial Hypertension. *Am J Respir Cell and Molecular Biology* 2010; 43:6: 629-34.
- Hussein Y, Shehata M. Vascular endothelial growth factor in children with cyanotic and acyanotic congenital heart disease. *Arch Med Sci* 2010; 30:6:2: 221-5. doi: 10.5114/aoms.2010.13899.
- Lammers AE, Adatia I, Cerro MJ, et al. Functional classification of pulmonary hypertension in children: Report from the PVRI pediatric taskforce, Panama 2011. *Pulm. Circulation* 2011; 1:2: 280-5.
- Ivy DD, Rosenzweig EB, Lemarié J-C. Long-term Outcomes in Children with Pulmonary Arterial Hypertension Treated with Bosentan in Real World Clinical Settings. *Am J Cardiol* 2010; 106:9: 1332-8. doi: 10.1016/j.amjcard.2010.06.064.
- Mehta R, Lee KJ, Chaturvedi R, et al. Complications of pediatric cardiac catheterization: a review in the current era. *Catheter Cardiovasc Interv* 2008; 72: 278-85.
- Agapitov LI. Diagnostics and treatment of childish pulmonary arterial hypertension. *Lech Vrach* 2014; 6:24-8. Russian (Агапитов Л.И. Диагностика и лечение легочной артериальной гипертензии в детском возрасте. *Леч врач* 2014; 6:24-8).
- Levy M, Bonnet D, Mauge L, et al. Circulating endothelial cells in refractory pulmonary hypertension in children: markers of treatment efficacy and clinical worsening. *Plos One* 2013; 8:6: e65114. doi:10.1371/journal.pone.006511484.
- Smadja DM, Gaussem P, Mauge L, et al. Comparison of endothelial biomarkers according to reversibility of pulmonary hypertension secondary to congenital heart disease. *Pediatr Cardiol* 2010; 31:5: 657-62. Doi:10.1007/s00246-010-9674-0.
- Vorhies EE, Ivy DD. Drug Treatment of Pulmonary Hypertension in Children. *Paediatr Drugs* 2014; 16:1: 43-65. doi:10.1007/s40272-013-0052-2.
- Abman SH, Kinsella JP, Rosenzweig EB, et al. Implications of the U. S. Food and Drug Administration Warning against the Use of Sildenafil for the Treatment of Pediatric Pulmonary Hypertension. *Am J of Resp and Critical Care Med* 2013; 187:6: 572-5. doi: 10.1164/rccm.201210-1928PP
- Vis JC, Duffels MG, Mulder P, et al. Prolonged beneficial effect of bosentan treatment and 4-year survival rates in adult patients with pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease. *Int J Cardiol* 2013; 164:1: 64-9. Doi: 10.1016/j.ijcard.2011.06.064.
- Injutova AI, Larionov AA, Petrova MM, Salmina AB. The theory of inter cell communication in development of endothelial dysfunction. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny* 2012; 153:2:165-70. Russian (Инжутова А.И., Ларионов А.А., Петрова М.М., Салмина А.Б. Теория межклеточной коммуникации в развитии дисфункции эндотелия. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2012; 153:2:165-70).
- Sata M, Suhara T, Walsh K. Vascular Endothelial Cells and Smooth Muscle Cells Differ in Expression of Fas and FasL in Sensitivity to FasL Induced Cell Death. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 309-16.
- Sakao S, Taraseviciene-Stewart L, Lee JD, et al. Initial apoptosis is followed by increased proliferation of apoptosis-resistant endothelial cells. *FASEB J* 2005; 19: 1178-80.
- Ghofrani HA, Barst RJ, Benza RL, et al. Future perspectives for the treatment of pulmonary arterial hypertension. *JACC* 2009; 54: 108-17.