

Stan zapalny, ciśnienie tętnicze i postępujące uszkodzenie ściany naczynia w przewlekłej, eksperymentalnej chorobie nerek

Inflammatory state, blood pressure and progression of vascular wall injury in experimental chronic kidney disease

Summary

Background The inflammation is a well-documented factor influencing the development of cardiovascular complications in chronic kidney disease (CKD) and hypertension. The aim of this study was to examine systemic inflammatory state defined by level of serum haptoglobin, local inflammation defined by monocyte chemotactic protein (MCP-1) level, blood pressure and arterial response to phenylephrine (PHE) and angiotensin II (ANG II) in a different stages of renal failure.

Material and methods Experiments were performed on male Wistar rats, weighing 290–380 g. The rats were divided into four groups: I (control) — sham-operated (n = 12), II — 1/2 nephrectomy (n = 12), III — 3/4 nephrectomy (n = 8), IV — 5/6 nephrectomy (n = 12). After 4 weeks blood pressure (BP) in carotid artery was measured and the blood was collected for BUN, creatinine, albumin, haptoglobin and MCP-1. Then we compared the smooth muscle contractility of rat tail artery after stimulation with PHE and ANG II in all groups. The constriction of artery was measured as an increase in perfusion pressure at a constant flow of the perfusion fluid. Cumulative response curves (CRCs) were obtained using van Rossum method.

Results We observed the increased arterial reaction to agonists in the first stages of renal failure (PHE: group II, III; ANG II: group II) and diminished vasoconstriction reaction in 5/6 nephrectomy. Systemic inflammation defined by haptoglobin level occurred in 1/2 nephrectomy group and did not increase in more advanced stages of renal disease. The local inflammation (MCP-1-level) increased in parallel to the renal failure progression.

Conclusions The inflammatory state plays a key role in determining of vascular contraction and resistant artery tone.
key words: inflammatory state, arterial reaction, chronic renal disease

Arterial Hypertension 2006, vol. 10, no 2, pages 111–120.

Wstęp

W przebiegu przewlekłej choroby nerek (CKD, *chronic kidney disease*) dochodzi do szybkiej progresji zmian miażdżycowych prowadzących do zwiększonej śmiertelności z powodu powikłań sercowo-naczyniowych. Wzmocniona aktywność układów renina-angiotensyna-aldosteron (RAA, *renin-angiotensin-aldosterone*) i współczulnego, jak również współistniejący stan zapalny prowadzą do zmienionej odpowiedzi naczynia na podawane środki wazokonstrykcyjne, co może świadczyć o zaburzonej funkcji komórek śródbłonna naczyniowego, komórek mięśniówki gładkiej naczyń (VSMC, *vascular smooth muscle cell*) i na bardzo długi czas wyprzedzać powstanie zmian miażdżycowych.

Adres do korespondencji: dr med. Andrzej Brymora
Katedra i Klinika Nefrologii, Nadciśnienia Tętniczego
i Chorób Wewnętrznych Collegium Medicum im. L. Rydygiera
w Bydgoszczy, Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika w Toruniu
ul. M. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz
tel.: (052) 585-40-30, faks: (052) 585-40-30
e-mail: nerka@nerka.cpro.pl

 Copyright © 2006 Via Medica, ISSN 1428-5851

Źródło finansowania: grant CM UMK w Bydgoszczy nr SD 32/2002

Śmiertelność z powodu powikłań sercowo-naczyniowych w populacji osób z CKD (stadium V) wynosi w przybliżeniu 9% rocznie i jest średnio 30 razy większa w porównaniu z grupą osób zdrowych tej samej płci i w tym samym wieku [1]. Jest ona znacznie większa niż w cukrzycy (3-krotnie), którą uważa się za niezwykle ważny czynnik pogarszający rokowanie w chorobach układu krążenia [2]. Nie do końca poznano mechanizm odpowiedzialny za to zjawisko, jednak coraz częściej zwraca się uwagę na zachodzące zmiany zarówno w sercu, jak i w naczyniach.

Regulacja napięcia naczyń następuje poprzez wydzielanie substancji naczyniorozszerzających z tlenkiem azotu (NO, *nitric oxide*) na czele oraz naczyniokurczących z dominującym działaniem endoteliny. Dlatego ostateczny efekt działania śródbłonna ustala się, sumując te przeciwne wpływy. W naczyniach osób zdrowych przeważa działanie rozkurczające oraz antyproliferacyjne w stosunku do mięśniówki gładkiej naczyń, natomiast w przypadku dysfunkcji śródbłonna, efektem działania endokrynego śródbłonna jest wzrost oporu naczyniowego, zwiększona krzepliwość krwi oraz przyspieszony rozwój zmian miażdżycowych w naczyniach. Przyjmuje się, że efekty te są następstwem zaburzonej równowagi pomiędzy mediatorami śródbłonkowymi.

W latach 70. XX wieku sugerowano, że niewydolności nerek towarzyszy przyspieszony rozwój miażdżycy [3], a odpowiedzialne za to miały być niezidentyfikowane jeszcze „miażdżycogenne czynniki mocznicowe”. Obecnie wiadomo, że miażdżycę należy rozpatrywać jako przewlekłą chorobę zapalną [4]. Niezwykle ważnym determinantem rozwoju dysfunkcji śródbłonna naczyniowego, który jest zasadniczym i pierwszym etapem prowadzącym do rozwoju zmian miażdżycowych może być współistniejący stan zapalny. Wzrastająca aktywność takich czynników, jak białko chemotaktyczne dla monocytów (MCP-1, *monocyte chemotactic protein*), czy też czynnik aktywacji kolonii makrofagów (MCSF, *macrophage colony-stimulating factor*) zapewnia ciągły napływ nowych monocytów do tworzących się zmian miażdżycowych. Ponadto generowane przez makrofagi czynniki wzrostowe (m.in. płytkowy czynnik wzrostu [PDGF, *platelet-derived growth factor*], insulinopodobny czynnik wzrostu [IGF-1, *insulin-like growth factor-1*] pobudzają komórki mięśni gładkich, które z błony środkowej migrują do błony wewnętrznej. Dochodzi wówczas do proliferacji komórek mięśni gładkich i syntezy zrębu pozakomórkowego. Wynikiem tych zmian jest postępujące wraz ze stopniem zaawansowania choroby nerek uszkodzenie ściany naczynia.

Przewlekły stan zapalny, wpływając na funkcję śródbłonna naczyniowego może spowodować zmia-

nę reaktywności naczynia na podawane czynniki wazokonstrykcyjne. Ponadto niewątpliwie decydujące znaczenie w wielkości wywołanej reakcji skurczowej naczynia ma obecność odpowiedniej liczby receptorów dla danego agonisty. Jej wielkość nie jest stała i zmienia się w różnych stanach patologicznych — w nadciśnieniu tętniczym, CKD czy też w stanie zapalnym [5–7].

W związku z tym celem pracy stała się analiza wybranych wykładników stanu zapalnego, niedożywienia, nadciśnienia tętniczego oraz próba znalezienia wzajemnych korelacji ze zmienioną reaktywnością naczyń w różnych stadiach CKD.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na szczurach, samcach szczepu Wistar. W momencie rozpoczęcia badania ich średnia masa ciała wynosiła 339 ± 42 gramy. Zwierzęta przebywały w indywidualnych klatkach, gdzie przez cały okres badania miały zapewniony wolny dostęp do wody i pożywienia.

Po okresie tygodniowej adaptacji do nowych warunków przeprowadzono zabieg chirurgicznego wytworzenia przewlekłej niewydolności nerek. Po dokonaniu znieczulenia ogólnego pentobarbitem sodu podanym dootrzewnowo w dawce 50 mg/kg mc. zwierzęta ważono. Następnie badaną grupę podzielono na 4 podgrupy:

- I — grupa kontrolna;
- II — zwierzęta, u których przeprowadzono zabieg 1/2 nefrektomii;
- III — zwierzęta, u których dokonano zabiegu 3/4 nefrektomii;
- IV — zwierzęta, u których dokonano zabiegu 5/6 nefrektomii.

Szczury będące w grupie kontrolnej poddano zabiegowi pozorowanej nefrektomii, polegającej na przecięciu skóry i mięśni, a następnie zaszyciu ich bez jakiegokolwiek naruszania tkanki nerkowej. W celu nawodnienia we wszystkich grupach po zaszyciu skóry powłok dootrzewnowo podawano 10 ml soli fizjologicznej.

Po 4 tygodniach od zabiegu operacyjnego zwierzęta ponownie ważono, a następnie mierzono ciśnienie tętnicze metodą krwawą za pomocą cewnika umieszczonego w tętnicy szyjnej.

Po zaklipsowaniu tętnicy szyjnej przeprowadzano izolację i perfuzję tętnicy ogonowej zgodnie z metodą Nicholasa [8]. Naczynie pobierano i oczyszczano z otaczających tkanek. Następnie w odcinek proksymalny tętnicy ogonowej wprowadzano kaniulę połączoną z przetwornikiem ciśnienia tętni-

czego, miernikiem ciśnienia i pompę perfuzyjną zapewniającą perystaltyczny przepływ płynu Krebsa przez naczynie. Tak przygotowaną tętnicę umieszczano w naczyniu do narządów izolowanych wypełnionym natlenionym płynem Krebsa o temperaturze 37°C i pH równym 7,4.

Reakcję tętnicy ogonowej badano w odpowiedzi na fenylefrynę (PHE, *phenylephrine*) oraz angiotensynę II (*angiotensin II*), którą podawano zewnątrz-naczyniowo zgodnie z teorią wzrastających stężeń van Rossuma [9], pozwalającą na uzyskiwanie w naczyniu z tętnicą stężeń wzrastających co pół logarytmu. Za wykładnik skurczu naczyń, w odpowiedzi na agonistę, przyjęto zmianę ciśnienia perfuzyjnego przy stałej szybkości przepływu perfuzatu.

System rejestracyjny składał się z przetwornika ciśnienia tętniczego, miernika ciśnienia, pompy perfuzyjnej oraz rejestratora.

Oznaczono stężenie kreatyniny, azotu mocznika (BUN, *blood urea nitrogen*), albuminy, haptoglobiny oraz białka chemotaktycznego dla monocytów (MCP-1).

Badania przeprowadzono po wcześniejszej akceptacji Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń w Bydgoszczy (wniosek nr 7/2002, nr opinii 5/2002 z 17.06.2002 roku).

Otrzymane wyniki badań poddano analizie statystycznej. W celu porównania średnich między grupami posłużono się jednoczynnikową analizą wariancji i testem *post-hoc* Duncana. Zależność między dwoma cechami oceniano za pomocą współczynnika korelacji liniowej Pearsona. Przyjęto poziom istotności $\alpha = 0,05$. Obliczeń dokonano, używając programu komputerowego Statistica.

Wyniki

Po 4 tygodniach od zabiegu chirurgicznego usunięcia tkanki nerkowej dochodziło do powstania przewlekłej niewydolności nerek. Stopień jej zaawansowania zależał od ilości usuniętego miąższu nerki i objawiał się wzrostem stężenia kreatyniny w surowicy krwi oraz BUN. Podwyższone wartości kreatyniny oraz BUN obserwowano w przypadku usunięcia 3/4 i 5/6 całkowitego miąższu nerkowego.

U zwierząt poddanych resekcji 3/4 i 5/6 tkanki nerkowej obserwowano znamienne statystycznie wzrost wartości ciśnienia tętniczego skurczowego (SBP, *systolic blood pressure*) i rozkurczowego (DBP, *diastolic blood pressure*). Wielkość ciśnienia tętniczego korelowała z wartościami BUN (dla SBP $r = 0,9$ i $p < 0,001$; dla DBP $r = 0,8$ i $p < 0,05$) oraz kreatyniny (dla SBP $r = 0,75$ i $p < 0,05$; dla DBP $r = 0,7$

i $p < 0,01$). Najwyższe wartości ciśnienia tętniczego zarejestrowano u szczurów po zabiegu 5/6 nefrektomii. Usunięcie jednej nerki powodowało obniżenie wartości ciśnienia tętniczego w stosunku do grupy kontrolnej.

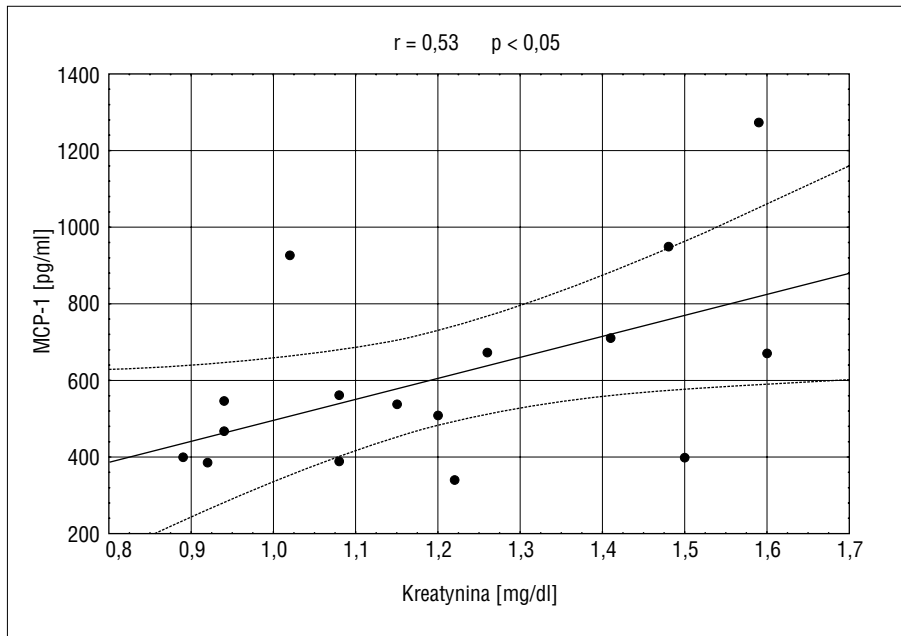
W celu oceny stopnia odżywienia zwierząt obliczono przyrost masy ciała w stosunku do jej wartości bezpośrednio przed zabiegiem operacyjnym. Najmniejszy przyrost masy ciała odnotowano w grupie zwierząt po nefrektomii 5/6 (8,7%). W przypadku jednostronnej nefrektomii wykazano ujemną korelację pomiędzy przyrostem masy ciała a wartością SBP i stężeniem haptoglobiny w osoczu (odpowiednio $r = -0,81$; $p = 0,05$ i $r = -0,66$; $p < 0,05$).

Pomiar stężenia albuminy w surowicy stanowił laboratoryjny wskaźnik stanu odżywienia i obok stężenia haptoglobiny parametr ten służył do oceny współistniejącego stanu zapalnego. Mimo zaobserwowanych w grupie I, II i III znacznych różnic w przyroście masy ciała stężenie albuminy w osoczu nie różniło się znamienne w tych grupach, natomiast znamienne obniżało się w grupie zwierząt poddanych nefrektomii 5/6 ($p = 0,01$). W grupie III i IV rozpatrywanej łącznie ($n = 20$, powyżej 50% usuniętego miąższu nerek) stwierdzono, że stężenie albuminy w osoczu jest odwrotnie proporcjonalne do wartości SBP ($r = -0,82$; $p < 0,01$), DBP ($r = -0,69$; $p < 0,05$), BUN ($r = -0,62$; $p < 0,01$) i kreatyniny ($r = -0,49$; $p < 0,05$).

Obserwowano istotny statystycznie wzrost stężenia haptoglobiny w stosunku do grupy kontrolnej w każdej grupie zwierząt poddanej nefrektomii. Jednak jej wielkość nie zależała od ilości usuniętego miąższu nerki i nie wpływała na wielkość innych parametrów stanu odżywienia w grupie III i IV. Oceniając wskaźniki ogólnoustrojowego stanu zapalnego mogącego wpływać na reaktywność naczyń przeprowadzono pomiar stężenia białka chemotaktycznego dla monocytów (MCP-1) w surowicy krwi. Zaobserwowano, iż wraz ze stopniem niewydolności nerek dochodzi do wzrostu stężenia MCP-1. Ponadto w grupie zwierząt poddanych nefrektomii 3/4 oraz 5/6 wykazano dodatnią korelację ze stężeniem kreatyniny oraz haptoglobiny (odpowiednio: $r = 0,53$; $p = 0,036$ oraz $r = 0,66$; $p = 0,006$) (ryc. 1, 2).

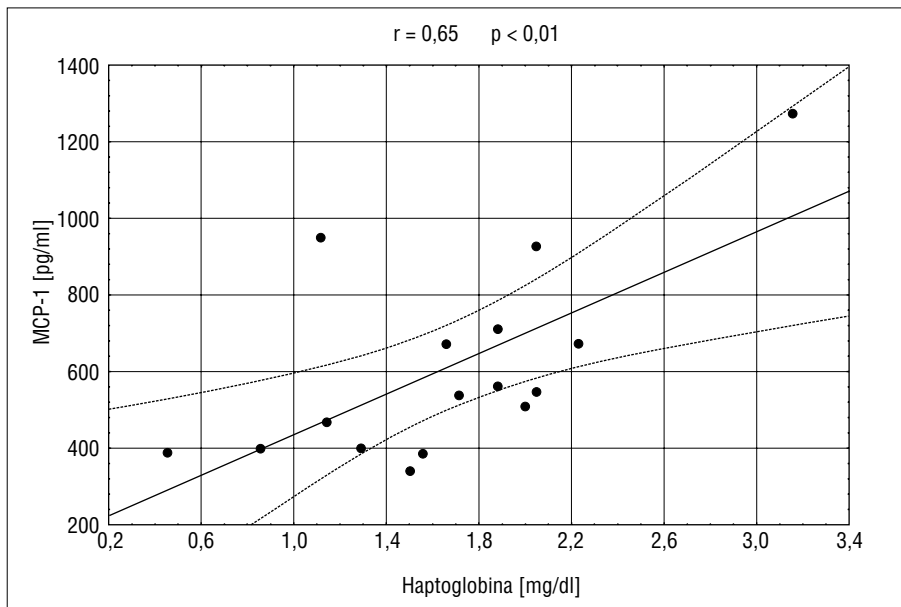
Omawiane wartości ciśnienia tętniczego oraz wyniki badań laboratoryjnych przedstawiono w tabeli I.

We wszystkich badanych grupach po podaniu PHE obserwowano zmianę ciśnienia perfuzyjnego wynikającego z jej działania wazokonstrykcyjnego (ryc. 3). Zarejestrowane krzywe zależności dawka PHE–efekt wazokonstrykcyjny różniły się w poszczególnych grupach. Izolowane tętnice ogonowe szczurów po usunięciu 75% miąższu nerki wykazywały najwyższą reaktywność na podawaną PHE w porównaniu z grupą kontrolną. Obserwację tę po-



Rycina 1. Krzywa korelacji wartości stężenia kreatyniny oraz MCP-1 w grupie zwierząt poddanych 3/4 i 5/6 nefrektomii

Figure 1. Correlation between creatinine and MCP-1 level in the 3/4 and 5/6 nephrectomy groups



Rycina 2. Krzywa korelacji wartości stężenia haptoglobiny oraz MCP-1 w grupie zwierząt poddanych 3/4 i 5/6 nefrektomii

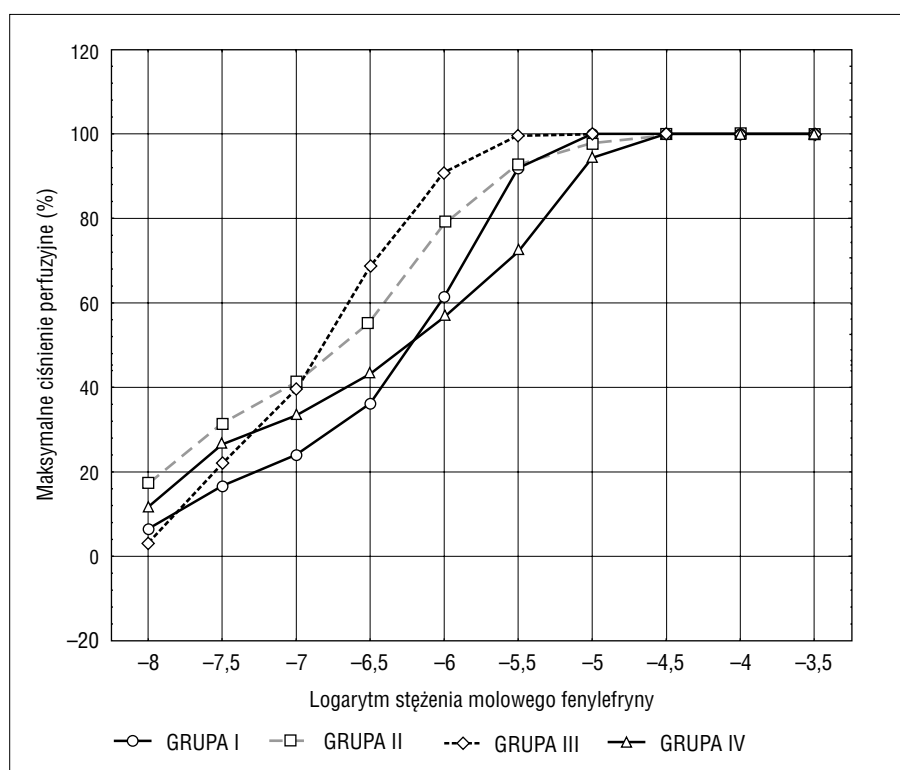
Figure 2. Correlation between haptoglobin and MCP-1 level in the 3/4 and 5/6 nephrectomy groups

twierdza obliczona wartość EC_{50} (*effective concentration*), która była najniższa w porównaniu ze wszystkimi badanymi grupami — co oznacza, że do wywołania reakcji wazokonstrykcyjnej wynoszącej 50% reakcji maksymalnej wymagane było najmniejsze stężenie PHE (ryc. 4).

Przebieg krzywych dawka ANG II—efekt naczyniokonstrykcyjny w grupie I oraz III były do siebie zbliżone. Natomiast u zwierząt poddanych nefrektomii 5/6 wielkość tej reakcji była pośrednią między nadreaktywnością tętnic w grupie II a obniżoną reaktywnością w grupie III (ryc. 5).

Tabela I. Wartości ciśnienia tętniczego i wybranych parametrów laboratoryjnych w poszczególnych grupach zwierząt (średnia \pm SD)**Table I.** Blood pressure, parameters of renal failure and inflammatory state in the investigated groups (mean \pm SD)

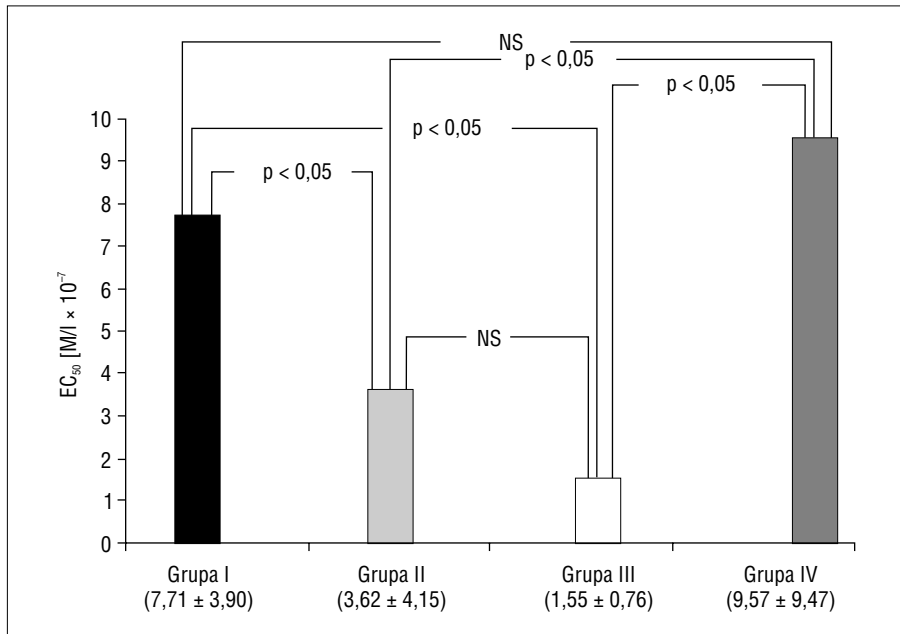
	Grupa I n = 12	Grupa II n = 12	Grupa III n = 8	Grupa IV n = 12	p < 0,05
Przyrost masy ciała (%)	37,2	17,2	11,2	8,7	I vs. II, III, IV, II vs. IV
SBP [mm Hg]	119,0 \pm 6,1	86,7 \pm 13,9	134,0 \pm 4,1	154 \pm 3,8	I vs. II, III, IV; II vs. III, IV; III vs. IV
DBP [mm Hg]	77,1 \pm 6,9	58,3 \pm 11,7	89,0 \pm 4,2	101,5 \pm 3,3	I vs. II, III, IV; II vs. III, IV; III vs. IV
BUN [mg/dl]	28,1 \pm 4,0	29,5 \pm 3,6	46,5 \pm 4,9	76,5 \pm 11,8	I vs. II, III, IV; II vs. III, IV; III vs. IV
Kreatynina [mg/dl]	0,83 \pm 0,27	0,74 \pm 0,07	1,02 \pm 0,09	1,36 \pm 0,21	I vs. II, III, IV; II vs. III, IV; III vs. IV
Albuminy [g/dl]	3,44 \pm 0,34	3,08 \pm 0,73	3,52 \pm 0,38	2,87 \pm 0,44	IV vs. I, III
Haptoglobina [mg/ml]	0,7 \pm 0,44	1,68 \pm 0,63	1,64 \pm 0,55	1,63 \pm 0,7	I vs. II, III, IV
MCP-1 [pg/ml]	293 \pm 114	489 \pm 265	536 \pm 190	666 \pm 294	I vs. III, IV

**Rycina 3.** Krzywa zależności dawka fenylefryny–efekt naczynioskurczowy**Figure 3.** Arterial reaction to phenylephrine in a different stages of chronic renal disease

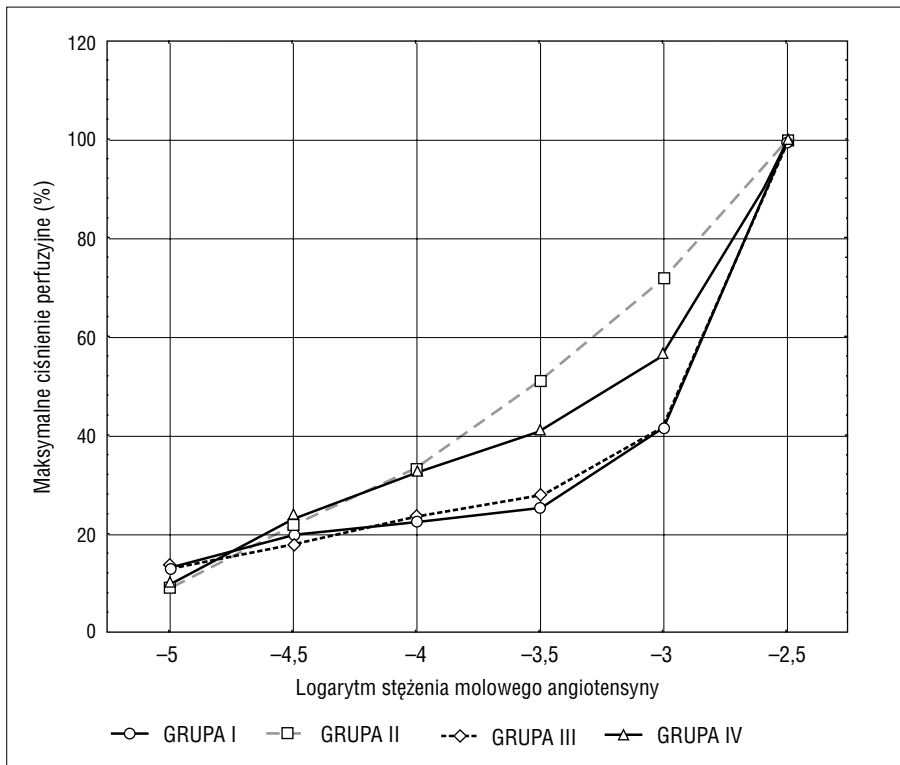
Dyskusja

Szybka progresja i zaawansowanie zmian miażdżycowych w CKD nakazuje poszukiwać odpowiedzi dla obserwowanej sytuacji. Coraz więcej uwagi poświęca się wzmożonej aktywności układu RAA, wzrostowi aktywności układu współczulnego, jak również podkreśla się znaczenie współistniejącego

stanu zapalnego, jako zasadniczej przyczyny dysfunkcji śródbłonna naczyniowego. Wraz z progresją niewydolności nerek dochodzi do wzrostu nasilenia stanu zapalnego [10]. Stan zapalny oraz pojawiające się niedożywienie prowadzące do niezwykle dużej akceleracji zmian miażdżycowych doprowadziło do powstania nowego zespołu chorobowego określanego jako niedożywienie–zapalenie–miażdżycy (MIA-



Rycina 4. Wartości EC₅₀ dla fenylefryny w poszczególnych badanych grupach
Figure 4. Phenylephrine EC₅₀ value in the investigated groups



Rycina 5. Krzywa zależności dawka angiotensyny II–efekt naczynioskurczowy
Figure 5. Arterial reaction to angiotensin II in a different stages of chronic renal disease

-syndrome, malnutrition, inflammation and atherosclerosis syndrome) [11, 12].

W związku z tym celem pracy stała się analiza wybranych wykładników stanu zapalnego, niedoży-

wienia i próba znalezienia wzajemnych korelacji ze zmienioną reaktywnością naczyń w różnych stadiach CKD. Należy bowiem podkreślić, że zmieniona odpowiedź naczyń na podawane środki wazokon-

strykcyjne może świadczyć o współistniejącej dysfunkcji śródbłonna naczyniowego, komórek mięśniówki gładkiej naczyń i na bardzo długi czas wyprzedzać powstanie zmian miażdżycowych.

W prezentowanej pracy wykorzystano tętnicę ogonową szczura, jako model tętnicy oporowej. Oceniono reaktywność mięśniówki gładkiej tej tętnicy w różnych stadiach zaawansowania CKD.

W przeprowadzonym badaniu każdego osobnika ważono przed zabiegiem operacyjnym w celu oceny wyjściowej masy ciała. Ponowna ocena masy ciała następowała po 4 tygodniach. Dodatkowo, aby określić stan odżywienia i ewentualny stan zapalny, oznaczano stężenie albumin, haptoglobiny oraz białka chemotaktycznego dla monocytów (MCP-1). W ostatnich latach pojawiło się wiele danych nakazujących rozpatrywanie stanu niedożywienia oraz procesu zapalnego łącznie [13]. W grupie pacjentów w V stadium CKD stanowią one niezwykle ważny czynnik determinujący wzrost śmiertelności z powodu powikłań sercowo-naczyniowych [14, 15]. Należy podkreślić, że w niewydolności nerek istnieje odwrotna korelacja pomiędzy wskaźnikiem masy ciała (BMI, *body mass index*) czy też stężeniem cholesterolu a ryzykiem wystąpienia powikłań sercowo-naczyniowych w stosunku do populacji osób bez niewydolności nerek [16, 17].

W celu oceny ogólnoustrojowego stanu zapalnego w przeprowadzonym eksperymencie wykorzystano haptoglobinę należącą do grupy białek ostrej fazy. Z badań Giffena i wsp. wynika bowiem, że u szczurów to haptoglobina, a nie białko C-reaktywne (CRP, *C-reactive protein*) jest najbardziej czułym i użytecznym wskaźnikiem stanu zapalnego [18]. Biorąc pod uwagę fakt, że etiologia narastania stężenia tego białka w okresie zapalenia jest podobna jak w przypadku CRP (wykazano u szczurów współistniejący wzrost cytokin prozapalnych — IL-1, IL-6, TNF- α) wydaje się, że wzrost stężenia haptoglobiny może korelować ze wzrostem stężenia CRP.

W prezentowanej pracy zaobserwowano, że statystycznie podwyższone stężenie haptoglobiny w stosunku do grupy kontrolnej pojawiało się już u szczurów z jednostronną nefrektomią, dlatego wyprzedziło ono pojawienie się wzrostu stężenia BUN i kreatyniny w surowicy krwi. Wynik ten może świadczyć o bardzo wczesnej indukcji stanu zapalnego związanego z rozwojem CKD. Stopień niewydolności nerek nie wpływał na wielkość stanu zapalnego określanego stężeniem haptoglobiny. Natomiast stężenie osoczowych albumin, pozostające wspólnym wskaźnikiem niedożywienia i stanu zapalnego zmniejszało się dopiero w przypadku 5/6 nefrektomii, a więc w najbardziej zaawansowanych stadiach CKD.

Dotychczasowe wyniki przeprowadzonych prac nie określają w sposób jednoznaczny wpływu zaawansowania CKD na wielkość parametrów stanu zapalnego. W prezentowanej pracy nie znaleziono korelacji między stężeniem haptoglobiny w osoczu a wielkością redukcji tkanki nerkowej. Podobnie w badaniu Oberga i wsp. nie wykazano korelacji między wielkością CRP, IL-6 i biomarkerów stresu oksydacyjnego a wielkością spadku przesączania kłębuszkowego (GFR, *glomerular filtration rate*). Stwierdzono natomiast, że u pacjentów z CKD parametry te korelują z rozpoznaną chorobą wieńcową [19]. Z pracy Kopple'a i wsp., którzy podjęli się analizy antropometrycznych i laboratoryjnych cech niedożywienia w różnych stadiach CKD (1785 pacjentów) wynika, iż zawartość tkanki tłuszczowej, BMI, stężenie albuminy w osoczu oraz stężenie cholesterolu zmniejszały się wraz ze spadkiem GFR [20]. Podobnie w pracy Panichiego i wsp. wykazano, że stężenia CRP i IL-6 są odwrotnie zależne od klirensu kreatyniny [21]. Ponadto w pracy tej wykazano ujemną korelację między CRP, a stężeniem albumin w surowicy.

Interesujące doniesienia przyniosła praca Coopera i wsp., którzy oddzielnie analizowali niedożywienie i hipoalbuminemię (będącą zarówno wykładnikiem niedożywienia, jak i zapalenia) oraz ich wpływ na zachorowalność i śmiertelność z powodu chorób naczyniowych wśród pacjentów rozpoczynających dializoterapię. Stwierdzili oni, iż niedożywienie oraz hipoalbuminemia są niezależnymi czynnikami wpływającymi na wzrost śmiertelności, natomiast sama hipoalbuminemia wpływa na zwiększoną zachorowalność z przyczyn *stricte* naczyniowych [15]. Natomiast w randomizowanym badaniu *The Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD) przeprowadzonym wśród pacjentów w III i IV stadium CKD wykazano wprawdzie podobnie, że CRP i niskie stężenie albumin są niezależnymi czynnikami wpływającymi na śmiertelność, jednak to stężenie CRP a nie hipoalbuminemia wpływało na śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych [22].

W przeprowadzonym badaniu znacząco zmniejszony przyrost masy ciała w stosunku do grupy kontrolnej pojawiał się już u zwierząt poddanych jednostronnej nefrektomii, a był najbardziej nasilony u szczurów poddanych 5/6 nefrektomii. Ponadto w tej grupie dochodziło do powstania nie tylko znacznej hipoalbuminemii, ale również największego ogólnoustrojowego stanu zapalnego wyrażanego poprzez najwyższe stężenie białka MCP-1 w surowicy. Mimo że nie znaleziono istotnych statystycznie korelacji między stężeniem albuminy w osoczu a stężeniem haptoglobiny w różnych stadiach CKD,

to zaobserwowano, że w grupie 3/4 i 5/6 nefrektomii istnieje dodatnia korelacja między stężeniem MCP-1 a stężeniem kreatyniny i haptoglobiny (odpowiednio $r = 0,53$; $p < 0,05$ oraz $r = 0,66$; $p < 0,01$). Wyniki te wskazują, że wraz ze wzrostem zaawansowania CKD dochodzi do narastania stanu zapalnego.

Przewlekły stan zapalny, wpływając na funkcję śródbłonna naczyniowego może spowodować zmianę reaktywności naczynia na podawane czynniki wazokonstrykcyjne. W badaniu Pleinera i wsp., w którym 20 zdrowym ochotnikom w celu indukcji stanu zapalnego podawano endoksynę *E. coli* (LPS-lipopolisacharyd), wykazano spadek reaktywności naczyniowej [7].

Wzrastające stężenie białka MCP-1 syntetyzowanego przez komórki śródbłonna naczyniowego w wyniku postępującego uszkodzenia ściany naczyniowej i nasilające napływ monocytów do nowotworzących się zmian miażdżycowych, może wpływać na charakterystyczne zmiany reaktywności tętnicy ogonowej szczura na podawanych agonistów.

Niewątpliwie decydujące znaczenie w wielkości wywołanej reakcji skurczowej naczynia ma obecność odpowiedniej liczby receptorów dla danego agonisty. Wang i wsp. analizowali ekspresję receptorów AT_1 zachodzącą w hodowlach ludzkich komórek VSMC pod wpływem stymulacji rekombinowanym, ludzkim białkiem CRP, stwierdzając, że CRP powoduje wzrost ekspresji receptorów dla AT_1 [5]. W badaniu tym nie wykazano jakiegokolwiek wpływu CRP na receptory AT_2 . Możliwe, że wzrost puli receptorów AT_1 występuje tylko w przypadku zwierząt z prawidłową funkcją nerek i utrzymuje się w pierwszych stadiach CKD, ponieważ z badań Bautisty i wsp. wynika, że szczury poddane zabiegowi subtotalnej nefrektomii charakteryzują się wzrostem ekspresji mRNA dla receptorów AT_2 przy niezminionej ekspresji mRNA dla receptorów AT_1 [6]. Dlatego też obserwowany w prezentowanej pracy spadek reaktywności naczynia w grupie 3/4 i 5/6 nefrektomii (po wcześniejszej nadreaktywności naczynia w grupie 1/2 nefrektomii) może wynikać ze zmiany stosunku receptorów AT_1 do AT_2 .

Blake i wsp. wykazali, że oprócz wielkości stanu zapalnego na ryzyko wystąpienia epizodów sercowo-naczyniowych wpływa ciśnienie tętnicze. Autorzy wykazali dodatnią korelację między współistnieniem podwyższonych wartości ciśnienia tętniczego i CRP oraz ich narastaniem a ryzykiem wystąpienia powikłań sercowo-naczyniowych [23]. Istnieje kilka mechanizmów, mogących wyjaśnić związek między stanem zapalnym a ciśnieniem tętniczym. Obserwowany w niniejszym eksperymencie wzrost ciśnienia tętniczego u zwierząt z grupy III i IV może wpływać

na obecność stanu zapalnego ściany naczynia poprzez wzrost napięcia jej ściany, wynikający z pulsacyjnego przepływu krwi. W badaniach eksperymentalnych wykazano bowiem, że cykliczny wzrost napięcia ściany naczynia powoduje wzrost ekspresji molekuł adhezyjnych oraz wydzielania MCP-1 przez komórki śródbłonna naczyniowego [24, 25]. Ponadto, podwyższone ciśnienie tętnicze może prowadzić do wzrostu syntezy produktów stresu oksydacyjnego. Yasunari i wsp. wykazali dodatnią korelację pomiędzy CRP a stężeniem produktów stresu oksydacyjnego [26].

W prezentowanym badaniu wykazano istotnie statystycznie podwyższone wartości MCP-1 w stosunku do grupy kontrolnej tylko u zwierząt poddanych nefrektomii 3/4 i 5/6, a więc tylko w tych grupach, gdzie zanotowano podwyższone wartości ciśnienia tętniczego. Można przypuszczać, że pojawiający się w wyniku redukcji tkanki nerkowej wzrost ciśnienia tętniczego wpływa na postępujące uszkodzenie struktury naczynia i aktywację komórek śródbłonna naczyniowego.

Z kolei nie można wykluczyć, że to bardzo wcześnie pojawiający się stan zapalny mógł mieć znaczenie w rozwoju nadciśnienia tętniczego. Venugopal i wsp. badając wpływ rekombinowanego białka CRP na hodowlę komórek śródbłonna naczyniowego aorty wykazali, że CRP wpływa bezpośrednio hamująco na produkcję NO [27], a także powoduje wzrost ekspresji receptorów AT_1 dla ANG II. W związku z tym w grupie zwierząt poddanych jednostronnej nefrektomii obecny ogólnoustrojowy stan zapalny, przy stosunkowo jeszcze niezaawansowanych zmianach zapalnych ściany naczynia, mógł doprowadzić do wzmożonej wazokonstrykcji na podawaną ANG II.

W CKD dochodzi do aktywacji układu RAA i związanego z tym wzrostu tkankowego NF- κ B. Zaobserwowano, że infuzja ANG II u zdrowych szczurów powodowała wzrost aktywności NF- κ B w komórkach mięśni gładkich naczyń (VSMC, *vascular smooth muscle cell*) oraz śródbłonna naczyniowego [28, 29]. Dlatego wydaje się, że ANG II ma istotne znaczenie w uszkodzeniu ściany naczynia. Wspólnym elementem rozwoju miażdżycy na każdym jej etapie jest istniejący stan zapalny. NF- κ B reguluje wiele genów kodujących cytokiny, chemokiny i molekuły adhezyjne odgrywające kluczową rolę w procesie zapalnym [30]. W hodowlach komórkowych ANG II poprzez drogę AT_1 -NF- κ B powoduje wzrost ekspresji genów, między innymi dla IL-6, VCAM-1, czy też dla badanego w eksperymencie autorów niniejszej pracy MCP-1 [31, 32].

Podsumowując, należy jeszcze raz podkreślić, że na podstawie przeprowadzonego badania wydaje się, że niezwykle ważną rolę w zmienionej reakcji na-

czynia na podawanych agonistów ma pojawiający się już we wczesnych stadiach CKD stan zapalny. Prowadzi on do uszkodzenia naczyń, akceleracji zmian miażdżycowych i wzrostu śmiertelności z powodu powikłań sercowo-naczyniowych.

Wnioski

1. Ogólnoustrojowy stan zapalny pojawia się we wczesnym okresie CKD, a wraz z postępem choroby dochodzi do narastania objawów niedożywienia i wzrostu stężenia białka MCP-1 w surowicy krwi.
2. Ogólnoustrojowy stan zapalny odgrywa istotną rolę w zmianie reaktywności tętnicy ogonowej szczura na podawaną PHE i ANG II.

Streszczenie

Wstęp Stan zapalny jest znanym czynnikiem wpływającym na rozwój powikłań sercowo-naczyniowych zarówno w przewlekłej chorobie nerek (CKD), jak i w nadciśnieniu tętniczym. Celem pracy była ocena wybranych laboratoryjnych wskaźników stanu zapalnego, ciśnienia tętniczego oraz reakcji izolowanej tętnicy ogonowej szczura na podawaną fenylefrynę (PHE) oraz angiotensynę II (ANG II) w różnych stadiach CKD.

Materiał i metody Dorosłe szczury szczepu Wistar, płci męskiej (290–380 g) poddano chirurgicznemu wytworzeniu przewlekłej niewydolności nerek — 1/2 nefrektomia (n = 12), 3/4 nefrektomia (n = 8), 5/6 nefrektomia (n = 12). Grupę kontrolną stanowiły osobniki, u których przeprowadzono zabieg pozorowanej nefrektomii (n = 12). Po 4 tygodniach przeprowadzono pomiar ciśnienia tętniczego za pomocą cewnika umieszczonego w tętnicy szyjnej oraz oznaczono stężenie kreatyniny, azotu mocznika (BUN), albuminy, haptoglobiny oraz białka chemotaktycznego dla monocytów MCP-1 w surowicy krwi. Izolację i perfuzję tętnicy ogonowej przeprowadzono zgodnie z metodą Nicholasa. Fenylefrynę i ANG II podawano zewnątrznaczyniowo zgodnie z teorią wzrastających stężeń van Rossuma.

Wyniki Zaobserwowano wzrost reakcji wazokonstrykcyjnej na podawanych agonistów w pierwszych stadiach niewydolności nerek (PHE: grupa 1/2 i 3/4 nefrektomii; ANG II: grupa 1/2 nefrektomii) i spadek reakcji w grupie 5/6 nefrektomii. Wykazano, iż wzrost stężenia haptoglobiny, będącej wskaźnikiem ogólnoustrojowego stanu zapalnego, pojawia się już u szczurów po jednostronnej nefrektomii. Natomiast stężenie

białka MCP-1 wzrastało wraz ze stopniem zaawansowania CKD.

Wnioski Stan zapalny ma istotne znaczenie w zmianie reaktywności tętnicy ogonowej szczura w przewlekłej eksperymentalnej chorobie nerek.

słowa kluczowe: stan zapalny, reaktywność naczyń, przewlekła choroba nerek

Nadciśnienie Tętnicze 2006, tom 10, nr 2, strony 111–120.

Piśmiennictwo

1. Foley N.R., Parfrey S.P., Sarnak M.J. Cardiovascular disease in chronic renal failure. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal failure. *Am. J. Kidney Dis.* 1998; 32: S112–S119.
2. Amann K., Ritz E. Cardiac structure and function in renal disease. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 1996; 5: 102–106.
3. Lindner A., Charra B., Sherrard D.J., Scribner B.H. Accelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis. *N. Engl. J. Med.* 1974; 290: 697–701.
4. Ross R. Atherosclerosis — an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340: 115–126.
5. Wang C.H., Li S.H., Weisel R.D. i wsp. C-reactive protein upregulates angiotensin type 1 receptors in vascular smooth muscle cells. *Circulation* 2003; 107: 1783–1790.
6. Bautista R., Sanchez A., Hernandez J., Oyekan A., Escalante B. Angiotensin II type AT₂ receptor mRNA expression and renal vasodilatation are increased in renal failure. *Hypertension* 2001; 38: 669–673.
7. Pleiner J., Schaller G., Mittermayer F. i wsp. Simvastatin prevents vascular hyporeactivity during inflammation. *Circulation* 2004; 110: 3349–3354.
8. Nicholas T.E. A perfused tail artery preparation from the rat. *J. Pharm. Pharmacol.* 1969; 21: 826–832.
9. Van Rossum J. Cumulative dose-response curves. Technique for the making of dose-responses curves in isolated organs and the evaluation of drugs parameters. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 1963; 143: 299–330.
10. Panichi V., Migliori M., De Pietro S. i wsp. C-reactive protein in patients with chronic renal disease. *Ren. Fail.* 2001; 23: 551–562.
11. Lindholm B., Bergstrom J., Chung S., Stenvinkel P., Pecoist-Filho R. Malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA syndrome) in ESRD patients. *Nefrol. Dial. Pol.* 2001; 5: 8–13.
12. Pecoist-Filho R., Lindholm B., Stenvinkel P. The malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA) syndrome — the heart of the matter. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2002; 17: 28–31.
13. Don B.R., Kaysen G. Serum albumin: relationship to inflammation and nutrition. *Sem. Dial.* 2004; 17: 432–437.
14. Kalantar-Zadeh K., Block G., McAllister C.J., Humphreys M.H., Kopple J.D. Appetite and inflammation, nutrition, anemia, and clinical outcome in hemodialysis patients. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004; 80: 299–307.
15. Cooper B.A., Penne E.L., Bartlett L.H., Pollock C.A. Protein malnutrition and hypoalbuminemia as predictors of vascular events and mortality in ESRD. *Am. J. Kidney Dis.* 2004; 43: 61–66.
16. Liu Y., Coresh J., Eustace J.A. i wsp. Association between cholesterol level and mortality in dialysis patients. *JAMA* 2004; 291: 451–459.

17. Kalantar-Zadeh K. Causes and consequences of the reverse epidemiology of body mass index in dialysis patients. *J. Ren. Nutr.* 2005; 15: 142–147.
18. Giffen P.S., Turton J., Andrews C.M. i wsp. Markers of experimental acute inflammation in the Wistar Han rat with particular reference to haptoglobin and C-reactive protein. *Arch. Toxicol.* 2003; 77: 392–402.
19. Oberg B.P., McMenamin E., Lucas F.L. i wsp. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2004; 65: 1009–1016.
20. Kopple J.D., Greene T., Chumlea W.C. i wsp. Relationship between nutritional status and the glomerular filtration rate: results from the MDRD study. *Kidney Int.* 2000; 57: 1688–1703.
21. Panichi V., Migliori M., De Pietro S. i wsp. C-reactive protein and interleukin — 6 levels are related to renal function in predialytic chronic renal failure. *Nephron* 2002; 91: 594–600.
22. Menon V., Greene T., Wang X. i wsp. C-reactive protein and albumin as predictors of all-cause and cardiovascular mortality in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2005; 68: 766–772.
23. Blake G.J., Rifai N., Buring J.E., Ridker P.M. Blood pressure, C-reactive protein, and risk of future cardiovascular events. *Circulation* 2003; 108: 2993–2999.
24. Wang D.L., Wung B.S., Shyy Y.J. i wsp. Mechanical strain induced monocyte chemotactic protein-1 gene expression in endothelial cells: effects of mechanical strain on monocyte adhesion to endothelial cells. *Circ. Res.* 1995; 77: 294–302.
25. Komatsu S., Panes J., Russell J.M. i wsp. Effects of chronic arterial hypertension on constitutive and induced intercellular adhesion molecule-1 expression in vivo. *Hypertension* 1997; 29: 683–689.
26. Yasunari K., Maeda K., Nakamura M. i wsp. Oxidative stress in leukocytes is a possible link between blood pressure, blood glucose, and C-reacting protein. *Hypertension* 2002; 39: 777–780.
27. Venugopal S.K., Devaraj S., Yuhanna I. i wsp. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation* 2002; 106: 1439–1441.
28. Ruiz-Ortega M., Lorenzo O., Ruperez M., Suzuki Y., Egido J. Angiotensin II activates nuclear transcription factor-kappa B in aorta of normal rats and in vascular smooth muscle cells of AT1 knockout mice. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2001; 16: 27–33.
29. Ruiz-Ortega M., Ruperez M., Lorenzo O. i wsp. Angiotensin II regulates the synthesis of proinflammatory cytokines and chemokines in the kidney. *Kidney Int.* 2002; 82: 12–22.
30. Chen F., Castranova V., Shi X. New insights into the role of nuclear factor-kappaB in cell growth regulation. *Am. J. Pathol.* 2000; 159: 387–397.
31. Chen X.L., Tummala P.E., Olbrych M.T., Alexander R.W., Medford R.M. Angiotensin II induces monocyte chemoattractant protein-1 gene expression in rat vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.* 1998; 83: 952–959.
32. Han Y., Runge M.S., Brasier A.R. Angiotensin II induces interleukin-6 transcription in vascular smooth muscle cells through pleiotropic activation of nuclear factor-kappa B transcription factors. *Circ. Res.* 1999; 84: 695–703.