

Т. К. Чернявская // Качество жизни. Медицина. Болезни сердечно-сосудистой системы: Артериальная гипертензия. – 2005. – № 3. – С. 2–7.

2. Кобалава Ж. Д. Значение различных методов оценки функционального состояния почек для стратификации сердечно-сосудистого риска / Ж. Д. Кобалава, С. В. Виллевалде, В. С. Моисеев // Кардиология. – 2007. – № 12. – С. 74–79.

3. Козлов В. И. Система микроциркуляции крови: клинико-морфологические аспекты изучения // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2006. – Т. 5. № 1. – С. 84–101.

4. Константинова Е. Э., Цапаева Н. Л., Толстая Т. Н. и др. Влияние эйконола на состояние микроциркуляции и гемореологии у пациентов с ишемической болезнью сердца и артериальной гипертензией // Украинский медицинский часопис Online. – 2008. – № 6 (68).

5. Крупаткин А. И., Сидоров В. В., Кучерик А. О. и др. Современные возможности анализа проведения микроциркуляции крови как нелинейной динамической системы // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2010. – № 1 (33). – С. 61–67.

6. Мухин Н. А. Снижение скорости клубочковой фильтрации – общепопуляционный маркер неблагоприятного прогноза // Тер. архив. – 2007. – № 6. – С. 5–10.

7. Петрищев Н. Н. Нарушения микроциркуляции: причины, механизмы, методы оценки // Материалы научно-практ. конф. «Методы исследования микроциркуляции в клинике» (г. Санкт-Петербург, СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, 2–3 февраля 2001 г.). – СПб, 2001. – С. 6–8.

8. Российское медицинское общество по артериальной гипертензии (РМОАГ), Всероссийское научное общество кардиологов (ВНОК). Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Российские рекомендации (третий пересмотр) // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2008. – № 6. приложение 2.

9. Российское медицинское общество по артериальной гипертензии (РМОАГ), Всероссийское научное общество кардиологов (ВНОК). Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Российские рекомендации (четвертый пересмотр). – 2010.

10. Селезнев С. А., Петрищев Н. Н., Селезнев С. А. Основные исторические этапы научной разработки проблемы

микроциркуляции / С. А. Селезнев, Н. Н. Петрищев // Патология физиология микроциркуляции и гемостаза / Под ред. проф. Н. Н. Петрищева. – СПб, 1998. – С. 16–20.

11. Шальнова С. А., Баланова Ю. А., Константинов В. В. и др. Артериальная гипертензия: распространенность, осведомленность, прием антигипертензивных препаратов и эффективность лечения среди населения Российской Федерации // Рос. кардиол. журн. – 2006. – № 4. – С. 45–50.

12. Du Buf-Vereijken P. W. G., Netten P. M., Wollersheim H., Festen J., Thien T. Skin vasomotor reflexes during inspiratory gasp: standartization by spirometric control does not improve reproducibility // Int. j. microcirc. clin. exp. – 1997. – V. 17. – P. 86–92.

13. Fromy B., Merzeau S., Abraham P., Saumet J. L. Mechanisms of the coetaneous vasodilator response to local external pressure application in rats: involvement of CGRP, neurokinins, prostaglandins and NO // British journal of pharmacology. – 2000. – № 131. – P. 1161–1171

14. Fromy B., Abraham P., Bouvet C., Bouhanick B., Fressinaud P., Saumet J. L. Early decrease of skin blood flow in response to locally applied pressure in diabetic subjects // Diabetes. – 2002. – Vol. 51. – P. 1214–1217.

15. Nuzzaci G., Evangelisti A., Righi D. et al. Is there any relationship between cold-induced vasodilatation and vasomotion ? // Microvasc. res. – 1999. – V. 57. – P. 1–7.

16. Sendovski I., Savowery G., Besnard Y. et al. Cold induced vasodilatation and cardiovascular responses in humans during cold water immersion of various upper limb areas // Eur. j. appl. physiol. – 1997. – V. 75. – P. 471–477.

17. Shepherd J. T., Rusch N. J., Vanhoutte P. M. Effect of cold on blood vessel wall // Gen. pharmacol. – 1983. – V. 14. – P. 61–64.

18. Van den Brande P., de Coninck A., Lievens P. Skin microcirculation responses to severe local cooling // Int. j. microcirc. clin. exp. – 1997. – V. 17. – P. 55–60.

19. Weise F., Laude D., Girard A. et al. Effects of the cold pressor test on short-term fluctuations of finger arterial blood pressure and heart rate in normal subjects // Clin. auton. res. – 1993. – V. 3. – P. 303–310.

Поступила 07.05.2013

Л. А. ХАИШЕВА, С. В. ШЛЫК, И. В. РАЗУМОВСКИЙ, И. А. ГАРИНА,
П. А. БЕКЕТОВ, З. М. ДЕВРИЖБЕКОВА

ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ ФАКТОРОВ АНГИОГЕНЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И АССОЦИИРОВАННЫМИ КЛИНИЧЕСКИМИ СОСТОЯНИЯМИ

Кафедра внутренних болезней № 4 ФПК и ППС государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего профессионального образования
«Ростовский государственный медицинский университет»,
Россия, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29;
тел. +79282797116. E-mail: Katelnitskay@mail.ru

Изучение факторов ангиогенеза у пациентов, страдающих сердечно-сосудистой патологией, проведено путем определения концентрации в плазме эндостатина и эндотелиального фактора роста (VEGF). Обследовано 82 пациента с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) и 19 здоровых добровольцев. Выявлено, что уровень эндостатина достоверно выше среди пациентов с повышенным артериальным давлением (АД), чем у относительно здоровых. Установлено, что у больных с артериальной гипертензией (АГ) и острым коронарным синдромом (ОКС) в анамнезе имеются максимальные значения VEGF, достоверно меньшие у пациентов, страдающих только АГ. Максимальные значения эндостатина наблюдались среди пациентов, перенесших ОКС.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, эндостатин, эндотелиальный фактор роста.

**L. A. KHAISHEVA, S. V. SHLYK, I. V. RAZUMOVSKY, I. A. GARINA,
P. A. BEKETOV, Z. M. DEVRIGBEKOVA**

FEATURES OF STUDYING ANGIOGENESIS FACTORS IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION AND ASSOCIATED CLINICAL CONDITIONS

*Department of internal disease № 4 Rostov state medical university,
Russia, 344022, Rostov-on-Don, 29 Nahichevansky;
tel. +79282797116. E-mail: katelnitskay@mail.ru*

The study of angiogenesis factors in patients with cardiovascular disease by determining the plasma concentration of endostatin and vascular growth factor (VEGF). 82 patients with cardiovascular disease (CVD) and 19 healthy volunteers were examined. Revealed that the level of endostatin is reliably higher among patients with high blood pressure (BP) than in relatively healthy persons. Established that the maximum values of VEGF were in patients with arterial hypertension (AH) and acute coronary syndrome (ACS) in history. The VEGF level was reliably lower in patients with hypertension only persons. Maximum values of endostatin were observed in patients who had undergone ACS.

Key words: hypertension, endostatin, vascular endothelial growth factor.

Введение

В настоящее время сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной проблемой государственных, медицинских и общественных организаций в индустриально развитых странах в связи с высокой заболеваемостью, инвалидностью и смертностью среди населения.

В последние десятилетия перспективным направлением является изучение ангиогенеза [1, 2]. Понимание механизмов ангиогенеза откроет возможности экзогенного стимулирования или создания благоприятных условий для формирования новых сосудов и, таким образом, улучшения кровоснабжения миокарда [4, 8, 13].

Процесс формирования новых капилляров ветвлением от посткапиллярных венул с участием эндотелиальных клеток и есть ангиогенез [7]. Клеточная активация происходит при связывании индуцирующих факторов ангиогенеза со специфическими рецепторами на поверхности эндотелиальных клеток.

Среди факторов роста ангиогенеза глубже всего изучены сосудистые эндотелиальные факторы роста [10].

Эндотелиальный фактор роста (VEGF), также известный как фактор сосудистой проницаемости, – родоначальник семейства близких по структуре и функциям цитокинов, играющих су-

щественную роль в регуляции васкулогенеза и ангиогенеза в норме и при патологических состояниях [6, 11, 14].

Большой интерес представляет изучение сывороточных концентраций VEGF при АГ. Как известно, артериальная гипертензия вызывает ремоделирование сосудистой стенки и нарушение эндотелиальной функции. У пациентов с артериальной гипертензией отмечаются нарушения процессов роста сосудов [12]. В некоторых исследованиях показано, что эффективная антигипертензивная терапия способна снижать уровень VEGF и его растворимого рецептора Flt-1 у пациентов. Однако роль VEGF в процессах повреждения сосудистого эндотелия нуждается в уточнении.

Установлено, что концентрация VEGF достоверно выше в группе пациентов с АГ, у которых имелись поражения органов-мишеней, и не зависела от степени повышения артериального давления и возраста. В другой работе сравнивались сывороточные концентрации VEGF у пациентов с сахарным диабетом с сопутствующей ИБС и без нее [5]; были продемонстрированы более высокие уровни фактора роста в группе с ишемической болезнью сердца.

Эндогенным ингибитором ангиогенеза является эндостатин [12].

В исследовании *in vitro* эндостатин подавлял миграцию эндотелиальных клеток. Высвобождающийся эндостатин подавляет процессы ангиогенеза, но при этом снижается высвобождение матриксных металлопротеиназ и катепсинов. Вероятно, локальный контрольный механизм регуляции ангиогенеза определяется переходом коллагена XVIII в эндостатин [11, 14].

Целью нашей работы явилось изучение ангиогенеза (ингибирование процесса – эндостатина и стимулирование – эндотелиальный фактор роста) у пациентов с АГ по сравнению с относительно здоровыми добровольцами, а также среди пациентов, имеющих ассоциированные клинические состояния (АКС).

Материалы и методы исследования

В группу исследования вошли 82 пациента, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями, и 19 здоровых добровольцев. С учетом целей и задач исследования пациенты, которым проводилось изучение факторов ангиогенеза, были разделены на три группы. Первая группа – 28 человек, имеющих только АГ, средний возраст $55,00 \pm 1,80$ года. Вторая группа – 22 человека, страдающих АГ и ишемической болезнью сердца (стенокардия напряжения), их средний возраст был достоверно выше – $64,68 \pm 2,60$ года. Третью группу составили пациенты с АГ и ИБС, которые имели в анамнезе ОКС (инфаркт миокарда без подъема сегмента ST и инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST), за 3 месяца и ранее до включения в исследование – 32 больных, средний возраст которых также был выше, чем больных без ассоциированных клинических состояний и составил $66,48 \pm 1,84$ года. В соответствии с протоколом исследования, одобренным местным этическим комитетом, в исследование включали пациентов из числа больных с гипертонической болезнью, обратившихся за помощью в кардиологические, терапевтические и другие отделения больницы и/или направленных для консультации. Все больные, включенные в исследование, ранее не лечились и/или регулярно не принимали антигипертензивную терапию. Все обследования проводились утром до приема препаратов.

Диагноз АГ устанавливали в соответствии с классификациями ВОЗ/МОАГ (1999) и ЕОК (2007). В контрольную группу вошли 19 условно здоровых добровольцев (средний возраст $63,4 \pm 7,8$ года).

В исследование не включали больных с симптоматическими гипертониями, сахарным диабетом, нестабильной стенокардией, стабильной стенокардией III–IV функционального класса по Канадской классификации, инфарктом миокарда, хронической сердечной недостаточностью III–IV функционального класса с фракцией выброса $< 40\%$ по классификации Нью-Йоркской ассоциа-

ции сердца, желудочковыми нарушениями ритма, фибрилляцией предсердий. Оценивались исходная тяжесть АГ и соответствие критериям включения и исключения из исследования.

Уровень исследуемых факторов роста у пациентов определялся в сыворотке крови, взятой для анализа натошак. Для проведения иммуноферментного анализа использовали наборы реактивов «Bender Medsystems» (США) VEGF. Оптическая плотность образцов во всех лунках планшета оценивалась лабораторным ридером для иммуноферментного анализа с длиной волны 450–600 нм. Концентрацию исследуемого вещества получали расчетным методом из значений оптической плотности с помощью программы «MathCad» в соответствии с инструкцией производителя реактивов.

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программы статистического анализа «Statistica 6.0» (Statsoft, США). Результаты были представлены в виде средних величин и ошибки средних величин ($M \pm m$). За статистически значимые принимались различия при $p < 0,05$. Динамику изучаемых количественных показателей оценивали по *t*-критерию Стьюдента для парных измерений, а различия частотных параметров – по критерию Фишера. Связь между ранговыми показателями вычисляли на основе таблиц сопряженности, статистическую значимость указанной связи рассчитывали с помощью критерия Пирсона χ^2 .

Результаты исследования

Изучение уровня факторов ангиогенеза – VEGF и эндостатина в крови у здоровых лиц и больных АГ показало, что средние значения уровня VEGF не различались у пациентов с АГ и относительно здоровых добровольцев: $196,04 \pm 17,17$ пг/мл у пациентов с АГ (колебания значения от 22,04 до 834,05 пг/мл) и $176,78 \pm 14,34$ пг/мл у здоровых добровольцев, у них разброс данных значительно ниже – от 56,23 до 303, 12 пг/мл (табл. 1).

Уровень эндостатина был достоверно выше среди пациентов с повышенным АД, чем у относительно здоровых ($313,73 \pm 13,34$ и $97,42 \pm 7,25$ при $p < 0,05$ соответственно). При этом разброс данных уровня эндостатина у относительно здоровых добровольцев был меньше (с 36,78 до 148,05 нг/мл), чем у пациентов, имеющих АГ (с 80,50 до 396,50 нг/мл).

Изучение факторов ангиогенеза в зависимости от наличия ассоциированных клинических состояний у пациентов с АГ (табл. 2) показал, что пациенты, имеющие АГ и ИБС (2-я группа), имеют достоверно большие значения САД и ДАД по сравнению с пациентами, перенесшими ОКС.

При сравнении уровней факторов ангиогенеза в крови у обследованных выявлено, что у боль-

Уровень VEGF и эндостатина у больных АГ и здоровых добровольцев

Показатели	VEGF, пг/мл			Эндостатин, нг/мл		
	M±m	Min	Max	M±m	Min	Max
Пациенты с АГ (n=82)	196,04±17,17	22,04	834,05	313,73±13,34*	80,50	496,50
Относительно здоровые (n=19)	176,78±14,34	56,23	303,12	97,42±7,25*	36,78	148,05

Примечание: * тест Манна-Уитни – достоверность различий между группами пациентов с АГ и относительно здоровых добровольцев при уровне значимости $p < 0,05$.

Таблица 2

Уровень VEGF и эндостатина у пациентов в зависимости от наличия ассоциированных клинических состояний

Показатель	АГ (n=28), 1-я группа	АГ±ИБС (n=22), 2-я группа	АГ±ОКС (n=32), 3-я группа	p (тест Краскелла-Уоллиса)
Возраст, годы	55,00±1,80*&	64,68±2,60*	66,48±1,84&	0,0021
ИМТ, кг/м ²	31,95±1,97	29,25±1,09	28,85±0,86	0,2826
САД, мм рт. ст.	151,47±5,31	158,25±5,22^	142,25±4,41^	0,950
ДАД, мм рт. ст.	90,29±2,36	95,25±3,39	86,89±2,73	0,1651
ПАД, мм рт. ст.	61,17±4,25	63,25±2,86^	55,00±3,36^	0,1130
ТИМ, мм	0,94±0,07*	1,10±0,03*	1,04±0,07	0,1184
VEGF, пг/мл	142,15±16,89&	192,98±30,78	242,15±33,30&	0,1184
Эндостатин, нг/мл	287,05±23,055&	239,20±21,77^	385,22±16,25&^	0,00001

Примечание: тест Манна-Уитни, сравнение между двумя группами;
 * – различия между 1-й и 2-й группами, отмеченные критерии значимы на уровне $p < 0,05000$;
 & – между 1-й и 3-й группами отмеченные критерии значимы на уровне $p < 0,05000$;
 ^ – между 2-й и 3-й группами отмеченные критерии значимы на уровне $p < 0,05000$.

ных с АГ и ОКС имеются максимальные значения VEGF, достоверно меньшие у пациентов 1-й группы (только АГ), причем различий в уровне VEGF среди пациентов с АГ и ИБС при сравнении их с пациентами 1-й и 3-й групп не выявлено, т. е. они занимают промежуточное положение. Максимальные значения эндостатина были среди пациентов, перенесших ОКС, минимальные – при ИБС и промежуточные – у пациентов 1-й группы, все различия достоверны.

Нами проведен множественный корреляционный анализ с использованием матрицы диаграммы рассеяния, который позволил выявить следующие корреляционные взаимосвязи уровней факторов ангиогенеза в зависимости от наличия ассоциированных клинических состояний у пациентов с АГ.

Достоверная взаимосвязь средней силы между ПАД и уровнем VEGF проявляется только у пациентов 3-й группы, также только в этой группе видна слабая достоверная взаимосвязь VEGF с ТИМ ($r=0,2$, $p < 0,05$).

Обсуждение

При изучении уровня факторов ангиогенеза у обследованных нами получено, что средние значения VEGF у пациентов с АГ были сопоставимы с таковыми у здоровых добровольцев, а уровень эндостатина при АГ практически в 3 раза превышал средние значения здоровых. Эндотелиальный фактор роста необходим для формирования функционирующей сосудистой системы в период эмбриогенеза и в ранний постнатальный период, в последующем уровень экспрессии VEGF в

сыворотке крови у человека уменьшается и становится минимальным в зрелом возрасте, за исключением мест активного ангиогенеза, таких как овариум, матка и кожа (рост волос). Нами не получено взаимосвязей между уровнем эндотелиального фактора роста, эндостатином и возрастом среди обследованных пациентов с АГ. Мы связываем это с наличием патологического процесса в сосудистом русле, который нарушает нормальные закономерности.

При учете степени риска, а именно у пациентов, имеющих очень высокий риск, в связи с наличием ассоциированных клинических состояний нами выявлено, что больные, перенесшие ОКС в анамнезе, имеют максимальные значения VEGF, наименьший уровень эндотелиального фактора релаксации наблюдается только при наличии АГ, а больные с АГ и ИБС занимают промежуточное положение.

Таким образом, полученные результаты совпадают с мнением исследователей: у больных ИБС уровень VEGF выше по сравнению со здоровыми добровольцами [3, 16]. В исследовании С. В. Eatjн была продемонстрирована достоверная, не зависящая от других факторов риска связь между повышенным уровнем VEGF и риском смерти от ИБС [9].

В нашей работе пациенты при наличии ОКС в анамнезе имеют максимальные значения эндостатина, которые ниже при наличии стабильной ИБС и еще ниже только при наличии АГ.

Нами получено наличие достоверной прямой связи между уровнем эндостатина и уровнем VEGF, что подтверждает их совместное участие в механизмах неоваскуляризации, однако связь получена только для пациентов с АГ и ОКС, среди других обследованных с АГ она не прослеживается. Остается не до конца понятным, является ли высокий уровень эндостатина и VEGF (у пациентов с АГ после ОКС) положительным или отрицательным прогностическим фактором. С одной стороны, его повышение говорит об активации ангиогенеза и формировании коллатералей, с другой – о значимой ишемии миокарда, а учитывая одновременно высокие значения как индуктора, так и ингибитора ангиогенеза, можно предполагать наличие декомпенсации в сосудистом русле, которое наблюдается у пациентов после перенесения ОКС [15].

ЛИТЕРАТУРА

1. Парфёнова Е. В., Цоколаева З. И., Траптуев Д. О. и др. Поиск новых «инструментов» для терапевтического ангиогенеза // Мол. мед. – 2006. – № 2. – С. 10–23.
2. Парфёнова Е. В., Ткачук В. А. Терапевтический ангиогенез: достижения, проблемы, перспективы // Кардиологический вестник. – 2007. – № 2. – С. 5–15.

3. Сергиенко И. В., Семенова А. Е., Масенко В. П. и др. Влияние терапии статинами на динамику уровней сосудистого эндотелиального фактора роста и фактора роста фибробластов у больных ишемической болезнью сердца // Кардиология. – 2007. – № 8. – С. 4–7.

4. Berry C., Balachandran K. P., L'Allier P. L. et al. Importance of collateral circulation in coronary heart disease // Eur. heart. j. – 2007. – Feb. Vol. 28. № 3. – P. 278–291.

5. Blann A. D., McCollum C. N., Lip G. Y. H. Influence of smoking, hypercholesterolemia and hypertension, individually and collectively, on plasma markers of endothelial cell integrity: relationship with the Framingham cardiovascular disease risk factor scores // J. hypertens. – 2002. – V. 20. Suppl. 4. – P. 75.

6. Brown L. F., Detmar M., Claffey K. et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: A multifunctional angiogenic cytokine // EXS. – 1997. – № 79. – P. 233–269.

7. Carmeliet P., Jain R. K. Angiogenesis in cancer and other diseases // Nature. – 2000. – Sept 4. № 407 (6801). – P. 249–257.

8. Chen C. H., Walterscheid J. P. Plaque angiogenesis versus compensatory arteriogenesis in atherosclerosis // Circ. res. – 2006. – Vol. 99. – P. 787–789.

9. Eaton C. B., Gramling R., Parker D. R., Roberts M. B., Lu B., Ridker P. M. Prospective association of vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) with coronary heart disease mortality in southeastern New England // Atherosclerosis. – 2008. – Sep. № 200 (1). – P. 221–227.

10. Ferrara N. History of Discovery: vascular endothelial growth factor // Arterioscler thromb vasc. biol. – 2009. – Jan. № 22. [Epub ahead of print].

11. Folkman J. Incipient angiogenesis // J. natl. cancer inst. – 2000. – Jan. 19. Vol. 92. № 2. – P. 94–95.

12. Le Noble F. A. C., Staessen F. R. M., Hacking, W. J. G. and Boudier A. J. S. Angiogenesis and hypertension // J. hypertens. – 1998. – Vol. 16. – P. 1563–1572.

13. Morbidelli L., Donnini S., Chillemi F. et al. Angiosuppressive and angiostimulatory effects exerted by synthetic partial sequences of endostatin // Clin. cancer res. – 2003. – Nov 1. Vol. 9. № 14. – P. 5358–5369.

14. Olofsson B. et al. Vascular endothelial growth factor B, a novel growth factor for endothelial cells // Proc. natl. acad. sci. USA. – 1996. – № 93. – P. 2576–2581.

15. Sandhofer A., Tatarczyk T., Kirchmair R. et al. Are plasma VEGF and its soluble receptor sFlt-1 atherogenic risk factors? Cross-sectional data from the SAPFflR study // Atherosclerosis. – 2009. – Feb 3. [Epub ahead of print].

16. Trape J., Morales C., Molina R. et al. Vascular endothelial growth factor serum concentrations in hypercholesterolemic patients // Scand. j. clin. lab. invest. – 2006. – Vol. 66. № 3. – P. 261–267.

17. Wei-Chuan Tsai, Yi-Heng Li, Yao-Yi Huang, Chin-Chan Lin, Ting-Hsing Chao and Jyh-Hong Chen. Plasma vascular endothelial growth factor as a marker for early vascular damage in hypertension // Clinical science. – 2005. – Vol. 109. – P. 39–40.

Поступила 07.05.2014