

## ОЦЕНКА ФАКТОРОВ АНГИОГЕНЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С РАЗНЫМИ ФОРМАМИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Хаишева Л.А., Шлык С.В., Хоролец Е.В., Бекетов П.А., Девришбекова З.М., Глова С.Е.

*ГОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России», Ростов-на-Дону, Россия (343022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29), e-mail: [katelnitskay@mail.ru](mailto:katelnitskay@mail.ru)*

Проведена оценка факторов ангиогенеза (VEGF и эндостатина) у здоровых добровольцев и пациентов со стабильной стенокардией или острым коронарным синдромом на фоне имеющейся гипертонической болезни. Пациенты с ИБС имеют повышенный уровень как ингибирующих, так и стимулирующих ангиогенез факторов, причем увеличение наблюдается за счет факторов, подавляющих ангиогенез. Максимальные нарушения выявляются при наличии острого коронарного синдрома. На уровень факторов ангиогенеза у пациентов с ИБС влияют пульсовое АД, гематокрит, липидный спектр крови. Взаимосвязи между эндостатином и эндотелиальным фактором роста прослеживаются только при наличии острой коронарной патологии. Предложена возможность оценки состояния декомпенсации коронарного русла путем исследования уровня факторов ангиогенеза и определения соотношения их разнонаправленного действия.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, острый коронарный синдром, факторы ангиогенеза.

## ASSESSMENT OF ANGIOGENIC FACTORS AT PATIENTS WITH DIFFERENT FORMS OF CORONARY HEART DISEASE

Khaisheva L.A., Shlyk S.V., Khorolets E.V., Beketov P.A., Devrishbekova Z.M., Glova S.E.

*"Rostov State Medical University, Ministry of Russia", Rostov-on-Don, Russia (343022, Rostov-on-Don, Nakhichevansky lane, 29), e-mail: [katelnitskay@mail.ru](mailto:katelnitskay@mail.ru)*

The assessment of factors of an angiogenesis (VEGF and an endostatin) at healthy volunteers and patients with angina pectoris or acute coronary syndrome, and arterial hypertension. Patients with CHD, regardless of the degree of risk, is a violation of the relationship stimulating and inhibiting angiogenesis factors with a shift towards a greater increase of inhibitory factors, the maximum violations come to light in the presence of a sharp coronary syndrome. At patients with CHD influence the level of factors of an angiogenesis pulse blood pressure, gematokrit, a lipidic range of blood. Interrelations between endostatin and an endothelialny factor of growth are traced only in the presence of sharp coronary pathology. The possibility of using assessment of the level of angiogenesis factors and their correlation to detect decompensation coronary vessels.

Keywords: coronary heart disease, acute coronary syndrome, angiogenic factors.

В Российской Федерации как общий, так и стандартизованный показатели смертности от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) остаются высокими. В первую очередь это связано с высокой распространенностью ИБС (7 млн. 411 тыс. на 2011 год по данным Росстата). Согласно российскому Регистру острого коронарного синдрома (ОКС) почти у половины больных с ишемической болезнью сердца (ИБС) первым проявлением заболевания является ОКС [1]. Артериальная гипертония (АГ) вносит свой вклад в прогрессирование ССЗ, от ОКС до кардиальной смерти [4]. Поэтому изучение новых патогенетических аспектов развития и прогрессирования АГ и ИБС является, несомненно, важнейшей задачей.

Ангиогенез - перспективное направление исследований . Знание его механизмов даст возможность экзогенно стимулировать формирование новых сосудов, а следовательно и улучшить кровоснабжение миокарда [3]. Эндотелиальные клетки – основное место воздействия сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF vascular endothelial growth factor) [10]. VEGF - провоспалительным цитокин, повышающий активность эндотелия и играющий одну из главных ролей в патологическом ангиогенезе, с другой стороны, он способствует процессам стабильности эндотелия и физиологического неангиогенеза. Кратковременные эпизоды ишемии миокарда стимулируют увеличение числа эндотелиальных клеток, которые необходимы для формирования новой сосудистой сети, что является основой ангиогенеза . Эндогенный ингибитор ангиогенеза - эндостатин [8]. В настоящее время недостаточно изучены фактор роста (VEGF) и эндостатин у пациентов с разными формами ИБС на фоне гипертонической болезни.

**Цель исследования** - изучить уровень ангиогенных факторов (эндостатин и VEGF) у относительно здоровых добровольцев и больных с разными формами ИБС и АГ.

#### **Материалы и методы**

Группа исследуемых пациентов составила 82 человека, это пациенты с ИБС или ОКС на фоне гипертонической болезни. Диагноз ИБС устанавливали по данным стресс-эхокардиографии при наличии положительной пробы с физической нагрузкой, признакам инфаркта миокарда в анамнезе, результатам коронарографии [2]. Под ОКС понимали любую группу клинических признаков или симптомов, позволяющих подозревать острый инфаркт миокарда (ИМ) или нестабильную стенокардию. Согласно целям и задачам исследования пациенты были разделены на 3 группы: 1 группа – пациенты с гипертонической болезнью сердца при отсутствии ИБС (28 человек), 2 группа – пациенты с АГ и стабильной стенокардией (22 человека), 3 группа – больные с АГ и ОКС (32 пациента). Группу контроля составили 34 практически здоровых добровольца (средний возраст  $53,4 \pm 7,8$  года).

Для исследования не привлекали пациентов с клинически значимым облитерирующим атеросклерозом нижних конечностей, симптоматическими формами артериальной гипертензии, при наличии онкологической патологии, любых видов сахарного диабета; поражением печени с повышением уровня билирубина в 2 раза выше нормы, а АЛТ или АСТ в 3 раза выше нормы, с ХБП при наличии клиренса креатинина менее 45 мл\мин, любыми другими хроническими заболеваниями в стадии субкомпенсации или декомпенсации.

Забор крови на анализы проводился в утренние часы до приема пищи и лекарственных препаратов. Определение уровня VEGF-A (фактор роста сосудистого

эндотелия), а так же эндостатина выполнялось количественным иммуноферментным сэндвич-анализом, использовался набор реактивов Quantikine («R&D Systems», Великобритания). Определяемые концентрация и чувствительность для эндостатина 0-10 нг/мл и от 0,063 нг/мл, для VEGF 0-1500 пг/мл и от 5 пг/мл соответственно.

Для статистического анализа использовались программы Statistica 8.0 и MatLab. Все переменные тестировались на нормальность распределения, использовался критерий Шапиро-Уилка. При непараметрическом распределении достоверность различий между группами оценивали, используя критерий Вилкоксона-Манна-Уитни. С помощью критерия Крускалла-Уоллиса сравнивались группы. Данные представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее значение показателя по группе,  $m$  – ошибка среднего. Различия средних величин и корреляционные связи считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Нами получено, что средние значения уровня VEGF были достоверно выше среди всех пациентов с ИБС и АГ по сравнению с относительно здоровыми добровольцами. Здоровые добровольцы в среднем по группе имели уровень VEGF  $176,78 \pm 14,34$  пг/мл, а у пациентов с ИБС и АГ он составил  $196,04 \pm 17,17$  пг/мл (значения колебались от 83,45 пг/мл до 220,4). Процессы, которые контролируют формирование новых сосудов или ремоделирование имеющихся, в нормальных условиях имеют определенные самоограничения, требуется контролируемое и согласованное взаимодействие многих разнонаправленных клеточных типов, предотвращающих избыточный рост новых сосудов. [9].

Значения эндостатина так же были достоверно выше у больных с повышенным артериальным давлением (АД) и разными формами ИБС по сравнению с относительно здоровыми лицами:  $313,73 \pm 13,34$  и  $97,42 \pm 7,25$ , при  $p < 0,05$  соответственно. Разброс данных уровня эндостатина у здоровых добровольцев был меньше (с 36,78 до 148,05 нг/мл), чем у пациентов с АГ (80,50 - 396,50 нг/мл).

Среди группы пациентов с АГ была проведена оценка корреляций факторов ангиогенеза. Нами выявлено, что эндостатин и VEGF имеют приближенные к средней силе разнонаправленные достоверные связи со значением пульсового АД. При этом уровень VEGF имеет положительную связь ( $r = 0,2901$ ,  $p < 0,05$ ), а эндостатин – отрицательную связь ( $r = -0,2983$ ). (рис 1а).

Как известно, уровень гематокрита имеет прогностическое и диагностическое значение у пациентов с сердечно-сосудистой патологией. При корреляционном анализе была получена обратная достоверная связь средней силы между уровнем гематокрита и

значениями эндостатина, а также установлена связь средней силы между СОЭ и уровнем VEGF (рис 1 б).

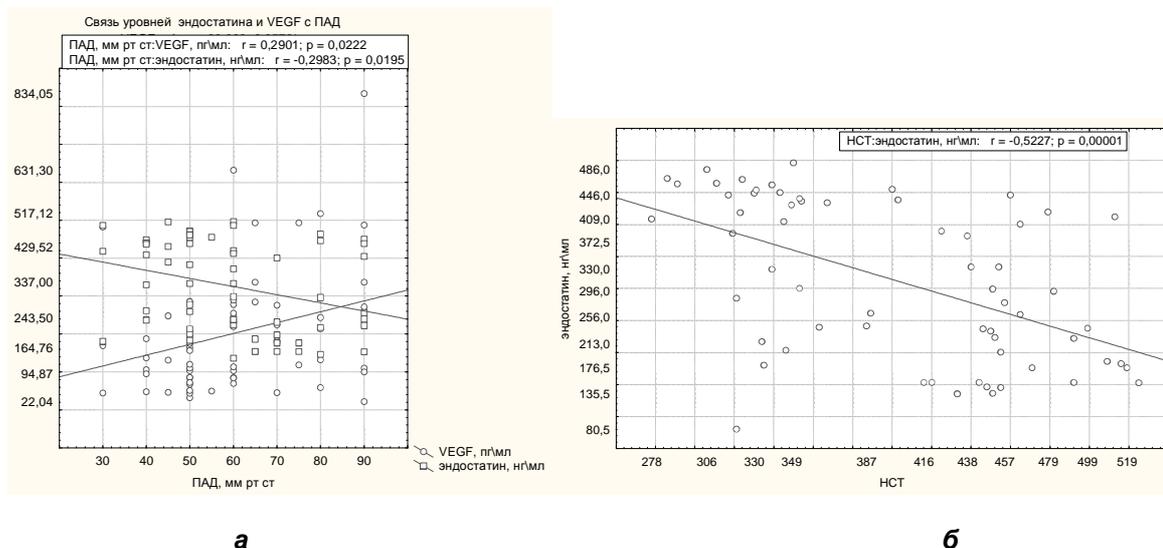


Рис. 1. а) диаграмма рассеяния связи между ПАД, VEGF и эндостатином  
 б) корреляционные взаимосвязи между уровнем эндостатина и значениями гематокрита среди обследованных пациентов

По данным литературы, у пациентов с коронарной патологией отмечается повышение уровня гематокрита [5]. При этом снижение объема циркулирующей плазмы можно объяснить альфа-вазоконстрикцией, что в дальнейшем приводит к протеканию части плазмы в интерстициальное пространство из сосудистого русла. Ряд авторов отмечают связь между повышением вязкости крови и АД [9]. Имеющееся нарушение функции эндотелия приводит к травматизации атеросклеротической бляшки, способствуя развитию регологических нарушений и создавая благоприятные условия к тромбообразованию и нарушению нормальных механизмов ангиогенеза [7].

Результаты исследований уровня факторов ангиогенеза у пациентов с разными формами ИБС представлен в таблице 1. Как показывает анализ таблицы, пациенты с АГ значительно моложе больных с разными формами ИБС. Возраст и АГ являются факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний, следовательно, чем старше пациент, чем больше у него факторов риска, тем большую вероятность он имеет для развития ОКС. [6].

Среди пациентов, имеющих ИБС с АГ, особенно которые в анамнезе имели ОИМ, уровень VEGF и эндостатина был более высоким, чем у пациентов с АГ (таблица 1).

Таблица 1

Уровень факторов ангиогенеза у пациентов с разными формами ИБС (стабильная стенокардия или острый инфаркт миокарда), а так же у пациентов с артериальной гипертонией.

Показатели Группы	Пациенты с АГ (n=28)	Пациенты со стабильной стенокардией и АГ (n=22)	Пациенты с ОИМ и АГ (n=32)	P
Возраст, годы	55,0±1,8	64,68±2,6	66,48±1,84	<b>0,01</b>
Эндостатин, нг/мл	<b>287,05±23,06</b>	<b>239,20±21,77<sup>^</sup></b>	<b>385,22±16,25<sup>&amp;^</sup></b>	<b>0,00001</b>
VEGF, пг/мл	<b>142,15±16,89</b>	192,98±30,78	<b>242,15±33,30<sup>&amp;</sup></b>	0,1184

Примечание. Наличие достоверного ( $p < 0,05$ ) различия (тест Манн-Уитни) \* – по сравнению с группой АГ без ИБС, ^ – по сравнению с группой без ОИМ в анамнезе  
P – наличие достоверности для тренда (тест Краскелла-Уоллиса)

Во время патологического ангиогенеза, провоцируемого ишемией миокарда или дестабилизацией атеросклеротической бляшки, наблюдается повышение экспрессии VEGF. Таким образом, повышение VEGF может служить маркером нарушений в коронарном русле [9]. Как показывают результаты нашего исследования, у всех обследованных пациентов наблюдается изменение соотношения между уровнем ингибирующих и стимулирующих ангиогенез факторов, оно сдвинуто в сторону увеличения ингибиции (от 0,494 при АГ до 0,82 при АГ и ИБС, и 0,628 при АГ и ОИМ в анамнезе).

Проведение корреляционного анализа (рисунок 2) позволило выявить статистически значимую обратную зависимость между уровнем эндостатина и VEGF ( $r = -0,336$ ,  $p < 0,03$ ), однако данная связь прослеживается только среди пациентов с острым инфарктом миокарда, среди других обследованных она не прослеживается. Вероятно, развитие сердечно-сосудистой патологии запускает процессы, сопровождающиеся нарушением соотношения между ингибирующими и стимулирующими ангиогенез факторами, а при острой сердечной катастрофе (инфаркт миокарда или острый коронарный синдром) данные процессы взаимосвязаны и достигают максимальных проявлений.

В таблице 2 представлены корреляционные взаимосвязи уровней ангиогенных факторов у обследованных пациентов. Необходимо отметить положительные корреляции уровня VEGF с пульсовым АД у пациентов с АГ и при наличии АГ и острого ИМ. И обратные достоверные связи эндостатина с уровнем ПАД – у пациентов с АГ и больных с ОИМ. Отсутствие корреляций у пациентов с ИБС между ангиогенными факторами и ПАД, вероятно, можно объяснить стабильностью процесса, развивающегося в коронарном русле, который проявляется при наличии у пациента острого ИМ.

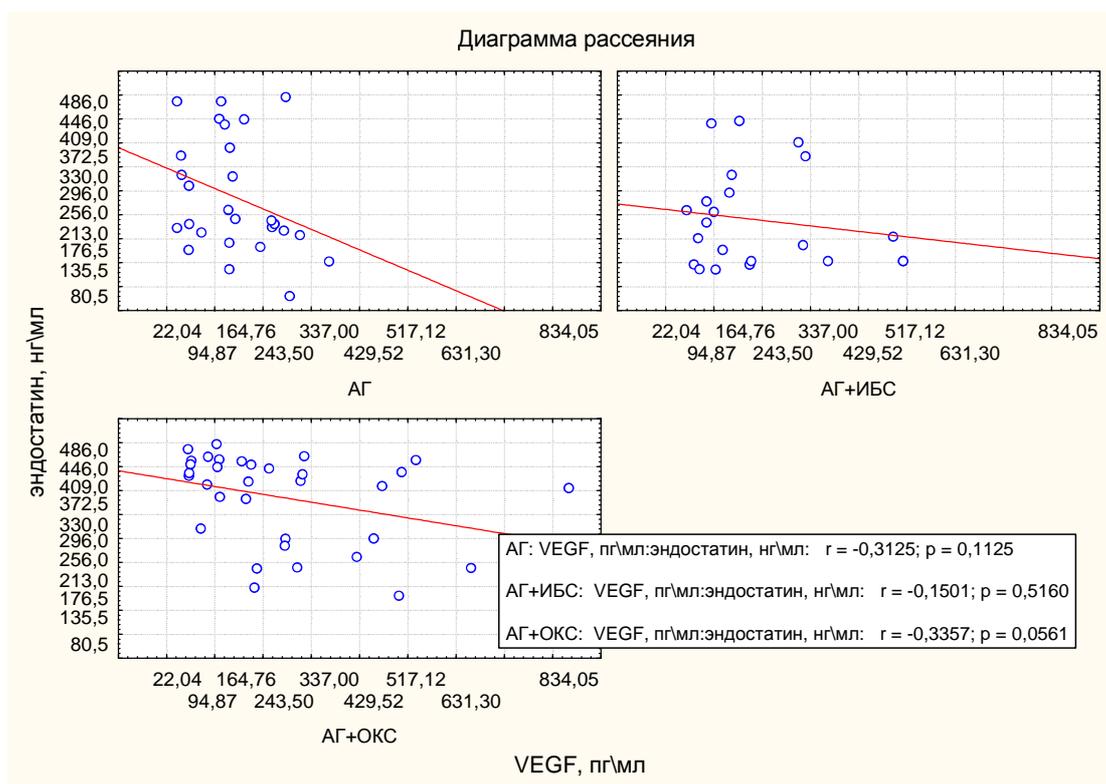


Рис. 2 Корреляционные взаимосвязи уровней ангиогенеза у обследованных пациентов с разными формами ИБС.

Таблица 2

Корреляционные взаимосвязи между уровнем ангиогенных факторов и клинико-лабораторными показателями у обследованных пациентов

Показатель		VEGF, пг\мл			Эндостатин, нг\мл		
		АГ	ИБС	ОИМ	АГ	ИБС	ОИМ
ПАД, мм рт ст	r	0,1156	0,3471	<b>0,3641*</b>	-0,2966	-0,2583	-0,1134
	p	<b>0,004</b>	0,1454	<b>0,0522</b>	<b>0,0447</b>	0,2857	<b>0,0281</b>
НСТ, %	r	-0,0311	-0,1515	-0,0306	-0,2491	<b>-0,4459*</b>	<b>-0,6084*</b>
	p	0,9237	0,5358	0,87803	0,4350	<b>0,0488</b>	<b>0,0068</b>
ХС ЛПВП, ммоль\л	r	0,0689	-0,1910	0,4986	0,1046	<b>-0,6813*</b>	<b>-0,4204</b>
	p	0,8602	0,4628	0,0990	0,7888	<b>0,0026</b>	0,0173
VEGF, пг\мл	r				-0,3125	-0,1396	<b>-0,3367*</b>
	p				0,1125	0,5571	<b>0,0479</b>

\* корреляция по Спирмену,  $p < 0,05$ .

Выявлены обратные взаимосвязи между значениями гемокрита и эндостатина, которые прослеживаются у всех пациентов с ИБС и нарастают при прогрессировании острой коронарной патологии.

Получение обратной взаимосвязи между эндостатином и ЛПВП у пациентов с ИБС не противоречит данным литературы, показывающим, что гиперхолестеремия подавляет стимулирующее действие VEGF и увеличивает экспрессию эндостатина, замедляя

артериогенез по данным ангиографии [3,10]. Таким образом, повышенный уровень эндостатина, вероятно, связан с неблагоприятным прогнозом для пациентов с ИБС, так как его высокие значения подавляют формирование коллатерального русла.

VEGF, действуя на сосудистый эндотелий, обеспечивает его стабильность, а так же способствует пролиферации, миграции и формированию тубул эндотелиальных клеток [7,8].

Полученные данные свидетельствуют, что не только у пациентов с ИБС, но и при АГ соотношение между процессами индукции и торможения ангиогенеза нарушены, ингибирующие влияния преобладают, особенно при сохраняющейся дислипидемии.

### **Выводы**

1. При наличии сердечно-сосудистой патологии выявляется повышенный уровень как индукторов, так и ингибиторов ангиогенеза. У пациентов с острым инфарктом миокарда регистрируются максимально высокие значения факторов ангиогенеза, причем ингибиторы ангиогенеза преобладают.
2. На уровень факторов ангиогенеза у пациентов с ИБС влияют пульсовое АД, гематокрит, показатели липидного спектра крови. Взаимосвязи между эндостатином и эндотелиальным фактором роста прослеживаются только при наличии острой коронарной патологии, что может служить маркером декомпенсации сосудистого русла и имеет не только диагностическое, но и прогностическое значение на практике.

### **Список литературы**

1. Министерство здравоохранения РФ. Диагностика и лечение хронической ишемической болезни сердца. Клинические рекомендации. – Москва, 2013. – 69с.
2. Рекомендации по ведению стабильной коронарной болезни сердца Европейского общества кардиологов, 2013 //Рос. кардиол. журн. – 2014. - №7. – С. 2–73
3. Парфёнова Е.В., Ткачук В.А. Терапевтический ангиогенез: достижения, проблемы, перспективы // Кардиологический вестник. – 2007. – № 2. – С. 5-15.
4. 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
5. 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.

6. Dole V.S., Bergmeier W., Patten I.S. et al. PSGL-1 regulates platelet P-selectin-mediated endothelial activation and shedding of P-selectin from activated platelets // *Thromb. Haemost.* – 2007. – Vol. 98. – P. 806-812.
7. Erbel R. Lebnann N., Moblenkamp S., et al. Subclinical coronary atherosclerosis predicts cardiovascular risk in different stages of hypertension: result of the beinz Nixdorf recall study.// *Hypertension* - 2012. – Vol. 59 (1). – P. 44-53.
8. Kucukardali Y, Aydogdu S, Ozmen N, et al. The relationship between severity of coronary artery disease and plasma level of vascular endothelial growth factor.// *Cardiovasc Revasc Med.* - 2008. - Apr-Jun; 9(2). – P. 66-70.
9. Rolande D.M., Fantini J.P., Cardinali N.A. et al. Prognostic determinants of patients with chronic systolic heart failure secondary to systemic arterial hypertension. // *Arq. Bras. Cardiol.* - 2011. - pii S066-782X2011005000123.
10. 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 SAPffIR study.// *Atherosclerosis.* - 2009. - Feb 3. - [Epub ahead of print].

**Рецензенты:**

Гридасова Р.А., д.м.н., главный внештатный кардиолог Управления здравоохранения г. Ростова на Дону, заведующая кардиологическим отделением № 1 МБУЗ «ГБСМП г. Ростова на Дону»;

Джериева И.С., д.м.н., профессор кафедры внутренних болезней № 3 с курсом общей физиотерапии Ростовского государственного медицинского университета, г. Ростов-на-Дону.