

А.В. Бабак, С.В. Гайдук, Ю.В. Говердовский,
В.Н. Першин, Г.А. Цепкова

Роль циркулирующих незрелых клеток кроветворной системы в атерогенезе

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Резюме. Атеросклероз – полиэтиологичная патология. Важнейшую роль в его генезе занимает дислипидемия, однако существует множество нелипидных теорий атерогенеза. Данные современной науки подчеркивают ключевую роль в патогенезе атеросклероза не только атерогенных дислипидемий, как основного фактора агрессии по отношению к эндотелию (наряду с курением, диабетом, воспалением и т.д.), но и недостатка репаративных процессов, обеспечивающих постоянную целостность эндотелиальной выстилки. Данные о циркулирующих клетках-предшественниках эндотелиоцитов и их физиологической роли в обновлении сосудистой стенки позволяют начать поиск новых терапевтических стратегий в борьбе с этим заболеванием. Механизмы лечебных эффектов стволовых клеток в настоящее время окончательно не выяснены. Некоторые исследователи отмечают паракринные влияния в качестве основного лечебного фактора. Однако большинство все же придерживается гипотезы о дифференцировке клеток-предшественников в «целевых» тканях. Такая дифференцировка приводит к восстановлению поврежденной эндотелиальной выстилки сосудов. Неоднозначным также является и подход к идентификации клеток-предшественников эндотелиоцитов. Основным способом является изучение экспрессии маркеров клеточной поверхности. Наибольшее признание среди прочих приобрели маркеры ранних предшественников гемопоэза и рецептор сосудистого эндотелиального фактора роста. Состав маркеров на поверхности клеток-предшественников эндотелия и стволовых кроветворных клеток позволяет предположить взаимосвязь кроветворной системы с репаративными процессами, протекающими в организме. Широко изучается и признается перспективным морфогенетический подход в лечении атеросклероза, ключевым компонентом которого является активация восстановительных процессов в эндотелии.

Ключевые слова: атеросклероз, незрелые кроветворные клетки, эндотелиальный предшественник, репарация, клеточная дифференцировка, маркеры ранних предшественников гемопоэза, рецептор сосудистого эндотелиального фактора роста.

В последние годы накоплено большое количество фактов, свидетельствующих о важной роли эндотелия в патогенезе атеросклеротических поражений, особенно в начальной стадии их развития. Сосудистая стенка представляет динамичную пограничную структуру между циркулирующей кровью и окружающей тканью. Множество факторов риска, включая диабет, гипертензию, возраст, курение и дислипидемию, ведут к развитию эндотелиальной дисфункции, являющейся одним из важнейших независимых факторов риска развития атеросклероза [5].

Дисфункция эндотелия обычно развивается бессимптомно у клинически здорового индивида, приводя к дисбалансу между факторами вазоконстрикции и релаксации, про- и антитромботическими свойствами эндотелия, изменяя его барьерные и иммунные функции [2–6].

Длительное повреждение эндотелиального монослоя приводит в итоге к гибели эндотелиоцитов, инвазии воспалительных клеток и пролиферации гладкомышечных клеток, с переходом функциональных нарушений в структурные, которые при недостаточности восстановительных механизмов приводят к развитию атеросклеротического повреждения [7, 8].

Важным открытием конца XX в. стало доказательство существования и выделение костномозговых

стволовых клеток (СК), обладающих потенциальной способностью стимулировать регенерацию тканей или дифференцироваться не только в направлении гемопоэза, но и в другие типы клеток. В частности, показана возможность их превращения в эндотелиоциты (это так называемые клетки-предшественники эндотелиоцитов – КПЭ, которые являются «стволовыми» элементами сосудистой стенки) [9–11], кардиомиоциты [12–15], что определяет возможность участия этих клеток в ключевых звеньях патогенеза заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Вместе с тем, механизмы лечебных эффектов СК окончательно не выяснены. Например, ряд исследователей ставят под сомнение возможность дифференцировки СК в сосудистые клетки [16, 17], объясняют положительные эффекты применения стволовых клеток феноменом слияния или паракринными влияниями [18–20]. Изучение клеток-продуцентов сосудисто-эндотелиальных ростовых факторов показывает, что они принадлежат к Т-клеткам, TdT⁺-клеткам, CD34⁺-клеткам и тромбоцитам [21, 22].

В настоящее время основной способ идентификации КПЭ – фенотипирование в соответствии с клеточными маркерами. Однако, несмотря на активные исследования, ведущиеся в этой области, и успешное

применение КПЭ в клинической практике, до сегодняшнего дня не существует однозначного способа их идентификации и выделения [21]. Поэтому этот термин используется для обозначения разных клеточных популяций, в частности, имеющих клеточные маркеры CD31 [PECAM1], CD99, CD146, E-селектин, лектин, **НО-синтетаза**, **VE-кадгерин**, **фактор Виллебранда**. В то же время наиболее широко принятым подходом является идентификация КПЭ по маркерам клеточной поверхности CD34, CD133 (маркеры ранних предшественников гемопоэза), VEGFR2 (рецептор сосудистого фактора роста) [21, 22].

В физиологических условиях замена «стареющих» сосудистых клеток происходит как за счет зрелых эндотелиальных клеток, расположенных *in situ*, так и за счет циркулирующих КПЭ [5]. Этот процесс происходит неравномерно в разных участках сосудистой сети и в целом очень медленно – менее 1% в день. При этом количество циркулирующих клеток-предшественников эндотелиоцитов относительно невелико. Исследование коэкспрессии маркеров CD34 и VEGFR2 выявило следующие показатели их содержания: всего лишь от 0,1 до 0,5% во фракции CD34⁺-клеток костного мозга [20], 2±0,5% во фракции CD34⁺-клеток периферической крови после мобилизации ростовыми факторами [22] или в пределах 0,002–0,0001% от общего количества мононуклеаров периферической крови (приблизительно 70–210 клеток в 1 мл) [20, 21].

Многими исследователями обнаружено снижение количества и функциональной активности КПЭ в периферической крови при целом ряде заболеваний, мишенью патогенеза которых прямо либо косвенно является эндотелий: стабильном течении ИБС, диффузном рестенозе коронарных стентов, сахарном диабете, инсульте, ревматоидном артрите, хронической почечной недостаточности, системном склерозе, неполноценной регенерации легочной ткани после бактериальной пневмонии [17–22].

Выявлена связь между ведущими факторами риска сердечно-сосудистой патологии и низким уровнем циркулирующих КПЭ. В частности, их количество снижено при наличии таких факторов риска, как гиперхолестеринемия, курение, артериальная гипертензия, гипергомоцистеинемия, повышенный уровень С-реактивного белка. Отмечено возрастное снижение функциональной активности КПЭ [10, 11].

В то же время исключение факторов риска: отказ от курения, увеличение физической активности, равно как и медикаментозная терапия статинами, ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента, антагонистами рецепторов ангиотензина, эстрогенами и некоторыми другими препаратами, приводят к повышению концентрации КПЭ в периферической крови [21, 22].

По данным **Ж.М. Хиллсавт. [23]**, выявлена достоверная сильная корреляция между количеством циркулирующих КПЭ и суммарным риском, оцененным по Фрамингемской шкале, а также функцией эндотелия.

Из чего следует вывод о высокой прогностической ценности исследования количества циркулирующих КПЭ для оценки общего сердечно-сосудистого риска.

Исследование **С. Schmidt-Lucke et al. [16]**, проведенное на более репрезентативной выборке, чем вышеупомянутое, установило, что уровень циркулирующих КПЭ является независимым предиктором плохого прогноза сердечно-сосудистых заболеваний даже при учете традиционных факторов риска и активности заболевания. Указанное обстоятельство позволяет предположить участие КПЭ в патогенезе атеросклеротических поражений в качестве самостоятельного патогенетического механизма и побуждает предпринимать дальнейшие усилия по изучению механизмов его взаимодействия с традиционными факторами агрессии в развитии атеросклероза.

В свете накопленных данных **М. Rauscher et al. [9]** и **М. Zhang et al. [10]** выдвинута теория, согласно которой инициация и прогрессия атеросклероза связаны с нарушением процессов репарации поврежденного эндотелия циркулирующими клетками-предшественниками эндотелиоцитов вследствие их истощения. В соответствии с ней предлагается новый терапевтический подход, где приоритет в лечении этой патологии должен отдаваться не борьбе с множественными источниками сосудистого поражения, а поддержке репарации эндотелия, которая может замедлить развитие атеросклероза даже при продолжающемся эндотелиальном повреждении.

Путем математического моделирования **Ж. Kравченко et al. [18]** установили, что клеточная терапия атеросклероза, начатая в возрасте 30 лет, отсрочивает прогрессию атеросклероза на 10 лет, что по значимости для ожидаемой продолжительности жизни более эффективно, чем полное устранение онкологических заболеваний в популяции.

С точки зрения возможности избирательного активизирующего сигнала о трофических и репаративных потребностях тканей интересны данные о том, что тканевая ишемия при нестабильной стенокардии, а также травма сосуда являлись стимулом для мобилизации КПЭ в кровотоке из костного мозга. **Ф.Н. Balhmann et al. [13]** выявили изолированное повышение количества КПЭ [CD45⁺] в периферической крови при неизменном уровне гемопоэтических стволовых клеток [CD34⁺] в ответ на лечение пациентов антагонистом рецепторов ангиотензина II – олмесартаном.

Кроме того, на модели мышей установлено специфическое истощение промежуточных сосудистых клеток-предшественников [CD31⁺/CD45⁺] без параллельных изменений клеток более ранних стадий дифференцировки [sca-1⁺, c-kit⁺, CD34⁺] в процессе старения животных, что может играть важную роль в возрастном развитии атеросклероза [22].

Предполагается, что вещества, выделяемые поврежденными вследствие радиационного воздействия эндотелиоцитами, усиливают ангиогенную функцию лимфоцитов. Эта концепция в общебиологическом

масштабе поддерживается в трудах А.Г. Бабаевой с соавт. [1–4], А.Н. Шутко с соавт. [7, 8], где стимулом для осуществления морфогенетической функции лимфоцитами признаётся недостаток ткани какого-либо органа, а посредником для передачи морфогенетического сигнала от тканей являются изменения метаболического гомеостаза организма. Например, с использованием гисторадиографии показан непосредственный переход дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) от лимфоцитов в клетки регенерирующего эпидермиса. На основе этих и многих других данных сделан вывод о том, что утилизация ДНК лимфоцитов является универсальным трофическим процессом на тканевом и клеточном уровнях.

М. Rauscher et al. [9], используя СК костного мозга, меченные бета-галактозой, на модели апоЕ-дефицитных мышей, находящихся на высокожировой диете, получили следующие результаты: СК, введенные от молодых мышей, предотвращали прогрессию атеросклероза у реципиентов, несмотря на персистирующую гиперхолестеринемию; терапия СК от старых мышей была значительно менее эффективной. Гистологический анализ образцов аорты выявил сосудистую дифференцировку донорских костномозговых СК, доминирующий фенотип которых был эндотелиальным, что продемонстрировано колокализацией бета-галактозной метки и CD31.

Ключевую роль КПЭ в тканевом ангиогенезе подтверждают данные о том, что эти клетки были успешно использованы для восстановления функций эндотелия и улучшения ангиогенеза после тканевой ишемии. В то же время в литературе имеются данные об ангиогенной функции лимфоцитов, которая подавляется после тотального облучения лимфоидной системы [13, 18], что является подтверждением лимфоидной природы КПЭ.

В целом, вышеприведенная информация свидетельствует о значимой роли в патогенезе атеросклероза не только атерогенных дислипидемий, как основного фактора агрессии по отношению к эндотелию, но и недостатка репаративных процессов, обеспечивающих постоянную целостность эндотелиальной выстилки. Данные о циркулирующих клетках-предшественниках эндотелиоцитов и их физиологической роли в обновлении сосудистой стенки позволяют начать поиск новых терапевтических стратегий в борьбе с этим заболеванием. Наличие на поверхности КПЭ маркеров стволовых кроветворных клеток позволяет предположить взаимосвязь кроветворной системы с репаративными процессами, протекающими в организме, а также перспективность морфогенетического подхода в лечении атеросклероза.

Литература

- Бабаева, А.Г. Регенерация и система иммуногенеза / А.Г. Бабаева. – М.: Медицина; 1985. – 87 с.
- Бабаева, А.Г. Иммунология процессов адаптивного роста, пролиферации и их нарушений / А.Г. Бабаева, Е.А. Зотиков. – М.: Наука; 1987. – 54 с.
- Бабаева, А.Г. О роли гуморальных и клеточных факторов иммунитета в регуляции процессов восстановления внутренних органов у позвоночных. Восстановительные и пролиферативные процессы у животных / А.Г. Бабаева. – М.: Наука; 1969. – С. 66–82.
- Бабаева, А.Г., Влияние лимфоидных клеток односторонне нефрэктомированных мышей на пролиферативную активность почек и печеночнеоперированных реципиентов / А.Г. Бабаева, Н.А. Краскина, Л.Д. Лизонер // Бюл. эксперим. биол. мед. – 1973. – № 75 (2). – С. 78–80.
- Константинов, В.О. Доклинический атеросклероз (диагностика и лечение) / В.О. Константинов. – СПб.: ИНКАРТ; 2006. – 34 с.
- Петрищев, Н.Н. Физиология и патофизиология эндотелия / Н.Н. Петрищев, Т.Д. Власов. – СПб.: Изд-во СПбГМУ; 2003. – С. 4–38.
- Шутко, А.Н., Лимфоциты с терминальной дезоксирибонуклеотидил-трансферазой в пролиферативном ответе. Вопросы экспериментальной и клинической рентгенодиагностики / А.Н. Шутко, Н.Н. Шатина, И.Л. Теренхов. – Л.; 1991. – С. 56–61.
- Шутко, А.Н. Метаболические и функциональные аспекты взаимодействия внеклеточной ДНК с лимфоидными клетками облученного организма / А.Н. Шутко. – Л.; 1985. – С. 3–12.
- Rauscher, M. Bryce H. et al. Aging, progenitor cell exhaustion, and atherosclerosis / M. Rauscher, P. Goldschmidt-Clermont, H. Bryce // *Circulation*. – 2003. – № 108 (4). – P. 457–463.
- Zhang, M. A novel hypothesis of atherosclerosis: EPCs-mediated repair-to-injury / M. Zhang, S.H. Zhou, X.P. Li // *Med. Hypotheses*. – 2008. – № 70 (4). – P. 838–841.
- Ashahara, T. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization / T. Ashahara, H. Masuda, T. Takahashi // *Circ. res.* – 1999. – № 85 (3). – P. 221–228.
- Ashahara, T. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis / T. Ashahara, T. Murohara, A. Sullivan // *Science*. – 1997. – № 275 (5302). – P. 964–967.
- Balhmnn, F.H. Stimulation of endothelial progenitor cells: a new putative therapeutic effect of angiotensin II receptor antagonists / F.H. Balhmnn, K. De Groot, O. Mueller // *Hypertension*. – 2005. – № 45 (4). – P. 526–529.
- Chen, J.Z. Number and activity of endothelial progenitor cells from peripheral blood in patients with hypercholesterolaemia / J.Z. Chen, F.R. Zhang, Q.M. Tao // *Clin. Sci.* – 2004. – № 107 (3). – P. 273–280.
- De Groot, K. Vascular endothelial damage and repair in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis / K. De Groot, C. Goldberg, F.H. Balhmnn // *Arthritis rheumatism*. – 2007. – № 56 (11). – P. 3847–3853.
- Schmidt-Lucke, C. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair / C. Schmidt-Lucke, L. Rössig, S. Fichtlscherer // *Circulation*. – 2005. – № 111 (22). – P. 2981–2987.
- Gehling, U.M. In vitro differentiation of endothelial cells from AC 133-positive progenitor cells / U.M. Gehling, S. Ergu, U. Schumacher // *Blood*. – 2000. – № 95 (10). – P. 3106–3112.
- Kravchenko, J. Endothelial progenitor cell therapy for atherosclerosis: the philosopher's stone for an aging population? / J. Kravchenko, P.J. Goldschmidt-Clermont, T. Powell // *Sci. aging knowledge environ.* – 2005. – № 25. – P. 18–20.
- George, J. Number and adhesive properties of circulating endothelial progenitor cells in patients with in-stent restenosis / J. George, I. Herz, E. Goldstein // *Arterioscler. thromb. vasc. biol.* – 2003. – № 23 (12). P. 57–60.
- Ghani, U. Endothelial progenitor cells during cerebrovascular disease / U. Ghani, A. Shuaib, A. Salam // *Stroke*. – 2005. – № 36 (1). – P. 151–153.
- Gill, M. Vascular trauma induces rapid but transient mobilization of VEGFR2(+) AC133(+) endothelial precursor cells / M. Gill, S. Dias, K. Hattori // *Circ. res.* – 2001. – № 88 (2). – P. 167–174.

22. Grisar, J. Depletion of endothelial progenitor cells in the peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis / J. Grisar, D. Aletaha, C.W. Steiner // *Circulation*. – 2005. – № 111 (2). – P. 204–211.
23. Hill, J.M. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk / J.M. Hill, G. Zalos, J.P.J. Halcox // *N. Engl. j. med.* – 2003. – № 348 (7). – P. 593–600.

A.V. Babak, S.V. Gayduk, Yu.B. Goverdovsky, V.N. Pershin, G.A. Tsepkova

Role of early hematopoietic precursors in atherosclerosis progression

Abstract. *Atherosclerosis is a polyetiologic disease. Atherogenic dislipoproteinemia plays the greatest role in atherogenesis, but there are a lot of atherogenic factors independent of lipid profile. Contemporary scientific data underline the key importance of endothelial reparation in protection of endothelium from detrimental influences (smoking, dislipoproteinemia, diabetes etc.), but not only atherogenic dislipidemias in pathogenesis of atherosclerosis. Data about circulating endothelial progenitor cells and about their physiologic role in renovation of vessel wall let us to start searching of new therapeutic strategies in the treatment of this disease. Mechanisms of therapeutic effects of stem cells are currently not fully understood. Some researchers note paracrine influence as the main therapeutic factor. However, most still adhere to the hypothesis of the differentiation of progenitor cells in the «target» tissues. This differentiation leads to the restoration of the damaged endothelial lining of blood vessels. Ambiguous is also the approach to the identification of endothelial progenitor cells. The main way is to study the expression of cell surface markers. The greatest recognition of other acquired early hematopoietic progenitor markers and receptor for vascular endothelial growth factor. The composition of the markers on the surface of endothelial progenitor cells and hematopoietic stem cells suggests the relationship of the hematopoietic system with reparative processes in the body. Widely studied and recognized as promising the morphogenetic approach in the treatment of atherosclerosis, a key component of which is the activation of regenerative processes in the endothelium.*

Key words: *atherosclerosis, early hematopoietic precursors, endothelial progenitor cell, reparation, cell differentiation, markers of early hematopoietic progenitors, receptor of vascular endothelial growth factor.*

Контактный телефон: 8-921-356-64-14; e-mail: zoler@mail.ru