

Мобилизация эндотелиальных прогениторных клеток после проведения эндоваскулярных вмешательств у больных сахарным диабетом 2 типа

Мичурова М.С., Калашников В.Ю., Смирнова О.М., Иванова О.Н., Терехин С.А.

ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва
(директор – академик РАН И.И. Дедов)

Цель. Изучить мобилизацию эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК) у больных сахарным диабетом 2 типа (СД2) после эндоваскулярных вмешательств на коронарных и периферических артериях.

Материалы и методы. Количество ЭПК определяли методом проточной цитофлюориметрии у 42 пациентов до и на 2–4-й день после проведения эндоваскулярного вмешательства. ЭПК идентифицировались как CD34+VEGFR2+CD45- и CD34+CD133+CD45-клетки. Пациенты были разделены на 2 группы: 23 человека вошли в группу СД2 и 19 – в группу лиц без нарушения углеводного обмена.

Результаты. Количество ЭПК в периферической крови у больных СД2 до и после эндоваскулярного лечения достоверно не отличалось. В группе больных без СД2 уровень CD34+VEGFR2+CD45-клеток после операции увеличился на 55,5% ($p < 0,01$), CD34+CD133+CD45-клеток – на 27,7% ($p < 0,05$). В подгруппе пациентов с СД2 и уровнем $HbA_{1c} \leq 7,5\%$ после эндоваскулярного вмешательства наблюдалось повышение CD34+VEGFR2+CD45-клеток на 46,6% ($p=0,01$), а CD34+CD133+CD45-клеток – на 40,3% ($p=0,006$) по сравнению с подгруппой пациентов с СД2 и уровнем $HbA_{1c} \geq 7,5\%$.

Заключение. У больных СД2 наблюдалось нарушение мобилизации ЭПК после проведения эндоваскулярных вмешательств. Кроме того, динамика ЭПК зависела от степени компенсации углеводного обмена. Так, в подгруппе больных СД2 с уровнем $HbA_{1c} \leq 7,5\%$ отмечалось достоверное повышение ЭПК после эндоваскулярных вмешательств.

Ключевые слова: сахарный диабет; эндотелиальные прогениторные клетки; мобилизация; чрескожные коронарные вмешательства; реваскуляризация нижних конечностей

Mobilization of endothelial progenitor cells after endovascular interventions in patients with type 2 diabetes mellitus

Michurova M.S., Kalashnikov V.Y., Smirnova O.M., Ivanova O.N., Terekhin S.A.
Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

Aim. To investigate the mobilisation of endothelial progenitor cells (EPC) in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) after endovascular interventions for coronary and peripheral arteries.

Materials and Methods. The levels of EPC in peripheral blood were determined by flow cytometry in 42 patients prior to endovascular intervention and 2–4 days after surgery. EPC were defined as CD34+ VEGFR2+ CD45- and CD34+ CD133+CD45- cells. Twenty-three patients with T2DM were included in group 1, and 19 patients without metabolic disorders were included in group 2.

Results. The levels of EPC in the peripheral blood of patients with T2DM before and after endovascular interventions were not significantly different. In the subgroup of patients without T2DM, the levels of CD34+VEGFR2+CD45- cells increased after surgery to 55,5% ($p < 0,01$), and the levels of CD34+CD133+CD45- cells increased to 27,7% ($p < 0,05$). After endovascular intervention for the subgroup of patients with T2DM and with the levels of $HbA_{1c} \leq 7,5\%$, the levels of CD34+VEGFR2+CD45- cells increased to 46,6% ($p=0,01$), and the levels of CD34+CD133+CD45- cells increased to 40,3% ($p=0,006$) compared with the subgroup of patients with T2DM and with HbA_{1c} levels of $\geq 7,5\%$.

Conclusion. The patients with T2DM displayed alterations in EPC mobilisation after endovascular interventions. In addition, the EPC level changes were dependent on glycaemic control. Thus, in the subgroup of patients with T2DM and with good glycaemic control ($HbA_{1c} \leq 7,5\%$), the EPC levels were significantly higher after endovascular interventions.

Keywords: diabetes mellitus; endothelial progenitor cells; mobilisation; percutaneous coronary intervention; lower extremity revascularisation

DOI: 10.14341/DM2014435-42

В настоящее время баллонная ангиопластика со стентированием коронарных и периферических артерий является одним из наиболее эффективных методов лечения ишемической болезни сердца (ИБС) и хронической артериальной недостаточности нижних конечностей (ХАНК). Во время проведения рентгенэндоваскулярных вмешательств происходит повреждение эндотелиального монослоя. Повторная эндотелизация поврежденного участка имеет важное значение для восстановления гомеостаза сосудистой стенки, регуляции пролиферации гладкомышечных клеток. Согласно современным представлениям, восстановление целостности эндотелия после повреждения, прежде всего, связывают с циркулирующими эндотелиальными прогениторными клетками (ЭПК). ЭПК представляют собой гетерологичную популяцию клеток костного мозга (КМ), играющую важную роль в процессе восстановления и поддержания стабильности эндотелиального слоя [1]. В настоящее время не существует стандартных маркеров для идентификации ЭПК. Наиболее часто для определения этих клеток используются совместная экспрессия поверхностных маркеров CD34, CD133 (проминин 1), VEGFR2 (рецептор сосудистого эндотелиального фактора роста-2), также известный как KDR (рецептор домена киназной вставки) [2]. Наиболее распространенным фенотипом ЭПК является популяция клеток, описываемая формулой CD34+VEGFR2+. Считается, что данные клетки более специфичны для клеток эндотелиальной линии и имеют больший потенциал в качестве биомаркера сердечно-сосудистых заболеваний [3, 4]. В то же время, в качестве дополнительного маркера используют CD133, который встречается на более ранних ЭПК и не встречается на зрелых клетках. Имеется ряд данных, что CD34+CD133+ клетки обладают более мощным регенеративным и ангиогенным потенциалом [5]. Кроме того, ЭПК характеризуются низким уровнем или отсутствием экспрессии общего лейкоцитарного антигена CD45 [6]. В связи с этим, в контексте данного исследования, для анализа мы определяли 2 субпопуляции ЭПК: CD34+VEGFR2+CD45- и CD34+CD133+CD45-клетки.

Основными стимулирующими факторами мобилизации ЭПК из КМ являются повреждение эндотелия и ишемия. Поступление ЭПК в зону повреждения представляет собой сложный скоординированный многоступенчатый процесс, включающий в себя мобилизацию, целенаправленную миграцию, адгезию, трансэндотелиальную миграцию и дифференцировку клеток с участием факторов роста, хемокинов и молекул адгезии. Под мобилизацией ЭПК понимают выход клеток из КМ в ответ на стимулирующие факторы. Основными факторами мобилизации ЭПК из КМ являются: SDF-1 (хемокин стромальный фактор-1), VEGF (сосудистый эндотелиальный фактор роста), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ), HIF-1 α (фактор индуцированный гипоксией-1 α), эритропоэтин, эстрогены [7]. По данным литературы известно, что для больных сахарным диабетом (СД) характерно уменьшение количества и нарушение функции ЭПК, что, в свою очередь, может при-

вести к нарушению реэндотелизации поврежденного участка [8]. Количество циркулирующих ЭПК находится в обратной корреляции с микро- и макрососудистыми осложнениями СД [9, 10]. Кроме того, негативное влияние на количественные и функциональные характеристики клеток, помимо гипергликемии, оказывают и другие классические сердечно-сосудистые факторы риска, такие как гипертония, дислипидемия, курение, ожирение [11]. Изменение количества и функции ЭПК при сердечно-сосудистых заболеваниях используется в качестве биомаркера высокого риска сердечно-сосудистых осложнений [12]. Снижение ЭПК коррелирует с тяжестью поражения коронарных [13], сонных артерий [14] и артерий нижних конечностей [15].

Таким образом, развивающийся дисбаланс между повреждением и восстановлением эндотелия может влиять как на краткосрочные, так и долгосрочные результаты эндоваскулярных вмешательств. Хорошо известно, что у больных СД 2 типа (СД2) неблагоприятные клинические исходы после проведения эндоваскулярных вмешательств развиваются чаще, чем у больных без нарушения углеводного обмена [16]. Вероятно, это также может быть связано с нарушением восстановления эндотелиального монослоя после его повреждения при проведении баллонной ангиопластики со стентированием артерий. Вместе с тем, в настоящее время имеются противоречивые данные в отношении количества ЭПК и результатов эндоваскулярных вмешательств. Так, в работе Bonello с соавт. показано, что снижение мобилизованных ЭПК (CD34+KDR+) после проведения чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) является независимым фактором развития рестеноза в стенте и проведения повторной реваскуляризации целевого сосуда через 6 месяцев после ЧКВ [17]. В другом проспективном исследовании авторы получили иные результаты: неблагоприятные клинические исходы ассоциировались с высоким уровнем ЭПК у пациентов, перенесших ЧКВ [18].

Таким образом, в настоящее время изучение мобилизации клеток после проведения эндоваскулярных вмешательств и оценка их прогностического значения у больных СД2 требуют дополнительного исследования.

Цель

Изучение динамики CD34+VEGFR2+CD45-клеток и CD34+CD133+CD45-клеток после проведения стентирования коронарных артерий или артерий нижних конечностей у пациентов с СД2 и у пациентов без нарушения углеводного обмена.

Материалы и методы

В одномоментное когортное исследование было включено 42 пациента, поступивших в ФГБУ ЭНЦ для планового ЧКВ или рентгенэндоваскулярного вмешательства на артериях нижних конечностей. В первую группу включено 23 пациента с СД2 (14 женщин,

Таблица 1

Клиническая характеристика пациентов		
	СД2 (n=23)	Без СД2 (n=19)
Возраст, лет	64,5	65,2
Пол		
Мужчины, n (%)	9 (39,1)	15 (78,9)
Женщины, n (%)	14 (60,9)	4 (21,10)
Курение, n (%)*	4 (17,4)	9 (47,4)
Индекс массы тела, кг/м ²	31,0±6,0	28,4±5,2
Гликированный гемоглобин, %*	8,1±1,5	5,6±0,27
Общий холестерин, ммоль/л	5,0±2,07	4,1±0,68
ХС ЛПНП, ммоль/л	3,0±1,59	2,3±0,55
Креатинин, мкмоль/л	75,4±17,5	73,4±20,9
СКФ, мл/мин/1,73 м ² *	83,5±21,4	99,8±23,0
Глюкоза плазмы натощак, ммоль/л*	8,4±2,7	5,6±0,46
Фракция выброса левого желудочка, %	55,1±6,96	56,9±5,5
Перенесенное ОНМК, n (%)	2 (8,7)	4 (21,1)
Постинфарктный кардиосклероз, n (%)	7 (30,4)	(31,6)

*p<0,05

средний возраст 64,5±7,7), во вторую группу – 19 больных (15 мужчин, средний возраст 65,2±10) с нормальным углеводным обменом. Группы были сопоставимы по возрасту, ИМТ, показателям липидного обмена (табл. 1). Всем пациентам проводилось стандартное клинико-лабораторное и инструментальное обследование. При сборе анамнеза обращали внимание на такие параметры, как длительность заболевания, отягощенная наследственность по СД2 и сердечно-сосудистым заболеваниям, курение, физическая активность.

Протокол исследования одобрен на заседании локального этического комитета ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России от 23.10.2013 г. (протокол N 11). Все участники исследования добровольно подписали информированное согласие на включение в исследование.

Оценка циркулирующих ЭПК

Забор периферической венозной крови для определения ЭПК проводился за 1–2 дня до эндоваскулярного вмешательства и на 2–4-й день после вмешательства. Забор крови проводился в пробирки 4 мл Vacutainer (КЗЕДТА), окрашивание клеток проводилось не позже чем через 2 ч после забора крови в двух аликвотах. Использовались панели моноклональных антител, конъюгированных с флюоресцентными красителями. Первая аликвота: FITC-меченый анти-CD34, PC5-меченый анти-CD45 и PE-меченый анти-CD133. Вторая аликвота: FITC-меченый анти-CD34, PC5-меченый анти-CD45 и PE-меченый анти-hVEGFR2/KDR. Окрашивание антителами полученных образцов крови проводили согласно протоколу, рекомендованному производителем. Лизис эритроцитов проводили в растворе Lysing Solution IOTest 3 (Beckmancoulter, Франция) в течение 10 минут при комнатной температуре. Суспензию клеток отмывали в фосфатно-солевом буфере. Цитофлюориметрический анализ проводили на приборе FACSCalibur (Becton Dickinson, США) с использованием программного обе-

спечения CellQuest. Анализировали 300–500 тысяч событий (клеток) для каждого образца. Количество клеток определяли в процентах от количества лейкоцитов.

Критерии исключения

Острые и хронические воспалительные заболевания, онкологические, системные заболевания, тяжелая анемия и другие гематологические заболевания, алкоголизм, хроническая почечная и печеночная недостаточность, острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения, язвенно-некротическое поражение конечности Wagner 3–5 ст., эндоваскулярные вмешательства в предыдущие 3 месяца.

Статистический анализ

Для статистической обработки материала использовалась программа SPSS Statistics 17. Данные представлены в виде среднего ± стандартное отклонение (SD). Связь между различными показателями устанавливали, используя непарный и парный t-критерий Стьюдента при нормальном распределении, в случае ненормального распределения использовался непараметрический метод Манна-Уитни. Нормальность распределения проверялась критерием Колмогорова-Смирнова. Связь между различными показателями устанавливали с помощью корреляции Спирмена. Статистически значимыми считали различия при p < 0,05.

Результаты и их обсуждение

Группы были сопоставимы по возрасту, ИМТ, показателям липидного обмена. В 1-й группе преобладали женщины (60,9%), во 2-й – мужчины (78,9%). Достоверно чаще курение встречалось в группе пациентов без СД2 (47,4% и 17,4% соответственно). Скорость клубочковой фильтрации (СКФ) была несколько ниже в группе больных СД2 по сравнению с группой без СД2 (83,5±21,4 мл/мин/1,73 м² и 99,8±23,0 мл/мин/1,73 м² соответственно; p=0,03). СКФ рассчитывалась по формуле MDRD (Modification of Diet in Renal Disease Study). Состояние углеводного обмена в группе больных СД2 оценивалось по уровню гликированного гемоглобина

Таблица 2

Медикаментозная терапия		
	С СД2 (n=23)	Без СД2 (n=10)
Статины, n (%)	19 (82,6)	18 (94,7)
Аспирин, n (%)	21 (91,3)	17 (89,5)
Клопидогрел, n (%)	17 (73,9)	13 (68,4)
иАПФ/АРА, n (%)	20 (87,0)	13 (68,4)
β-адреноблокаторы, n (%)	21 (91,3)	14 (73,7)
Антагонисты кальция, n (%)	4 (17,4)	6 (31,6)
Глимепирид, n (%)	5 (27,1)	-
Гликлазид, n (%)	4 (17,4)	-
Глибенкламид, n (%)	1 (4,3)	-
Метформин, n (%)	9 (39,1)	-
Вилдаглиптин, n (%)	2 (8,7)	-
Инсулинотерапия, n (%)	9 (39,1)	-

(HbA_{1c}). У пациентов 2-й группы скрининг для выявления нарушения углеводного обмена проводился по уровню HbA_{1c} и глюкозы плазмы натощак. У больных СД2 уровень HbA_{1c} составил 8,1±1,5%, без СД2 – 5,6±0,27%. В 1-й группе пероральную гипогликемизирующую терапию получали 11 пациентов (43,5%), 1 пациент находился на диетотерапии. Интенсифицированную схему инсулинотерапии получали 8 пациентов (34,7%). Комбинированную терапию инсулином и пероральными сахароснижающими препаратами (ПССП) получали 3 пациента (13%). При поступлении 37 пациентов (88%) получали гиполипидемическую терапию, 38 пациентов (90,4%) – терапию аспирином, из них 30 (71,4%) получали двойную антиагрегантную терапию (табл. 2).

Стентирование коронарных артерий выполнено 12 пациентам (52,1%) в группе СД2 и 14 пациентам (68%) во 2-й группе (табл. 3), из них по поводу стабильной стенокардии 2–4 ФК 10 пациентам 1-й группы и 14 – 2-й группы; у 2 пациентов 1-й группы по поводу нестабильной стенокардии. Пациенты обеих групп были сопоставимы по тяжести ИБС: по данным коронарографии в 1-й группе трехсосудистое поражение выявлено у 8 пациентов (34,7%), во 2-й – у 6 (31,5%), поражение ствола левой коронарной артерии выявлено у 3 пациентов (13%) 1-й группы и 6 (31,5%) – 2-й группы. Среднее количество стентов на одного пациента в 1-й группе составило 2,08, во второй – 1,9. При стентировании всем пациентам имплантировались стенты, выделяющие лекарство.

Пациенты, страдающие ХАНК, имели терминальную стадию заболевания – критическую ишемию нижней конечности (КИНК): 11 пациентов (47,8%) в 1-й группе и 6 пациентов (36,1%) во 2-й группе. Диагноз КИНК был поставлен согласно критериям TASC II (Trans-Atlantic Inter-Society Consensus) [19]. Данным пациентам проводилось ультразвуковое дуплексное сканирование артерий нижних конечностей для определения локализации, степени и протяженности поражения артериального русла. Для уточнения поражения терминального отдела аорты, подвздошных артерий и артерий нижних конечностей 4 пациентам проводилась компьютерная томография с контрастированием. Рентгенэндоваскулярная реваскуляризация конечности проведена 11 пациентам (47,8%) 1-й группы и 5 пациентам (26,3%) 2-й группы (табл. 3). Стентирование подвздошных артерий выполнено 3 пациентам (13%) в группе СД2 и 1 пациенту (5,3%) в группе без СД2. Стентирование поверхностных бедренных артерий выполнено у 7 пациентов 1-й группы (30,4%) и 4 – 2-й (21%). Всем больным во время вмешательства выполнялась ангиопластика артерий голени.

При анализе исходного уровня CD34+VEGFR2+CD45-клеток мы обнаружили, что количество клеток у больных СД2 достоверно выше, чем в группе без нарушения углеводного обмена и составило 0,014±0,006% и 0,009±0,004% соответственно, p=0,03 (табл. 4). Такие результаты несколько противоречат предшествующим исследованиям. Так, по данным ряда клинических исследований установлено, что при СД наблюдается снижение количества

ЭПК [20]. В то же время нельзя не отметить влияние хронической гипергликемии на функциональные характеристики клеток. В одной из работ культивирование циркулирующих клеток-предшественниц в условиях высокой концентрации глюкозы приводило к снижению количества клеток, их выживаемости, нарушению функциональной и миграционной активности [21]. Таким образом, несмотря на более высокие показатели ЭПК у больных СД2, основные их функции могут быть нарушены. Достоверных различий в исходном уровне CD34+CD133+CD45-клеток не обнаружено.

При оценке уровня ЭПК после проведения эндоваскулярных вмешательств было обнаружено, что у больных СД2 не наблюдалось повышения количества ЭПК (CD34+VEGFR2+CD45- и CD34+CD133+CD45-) после вмешательств по сравнению с исходным уровнем. В группе пациентов, не страдающих СД2, количество клеток до и после проведения эндоваскулярного вмешательства достоверно отличается. При этом, количество CD34+VEGFR2+CD45-клеток после операции увеличилось на 55,5% (p < 0,01), CD34+CD133+CD45-клеток – на 27,7% (p < 0,05) соответственно (рис. 1). Вероятно, патофизиологические процессы, инициируемые хронической гипергликемией, играют важную роль в нарушении мобилизации ЭПК из КМ. При этом они оказывают негативное влияние практически на все этапы жизни клеток, а также их мобилизацию и миграцию из КМ в ответ на стимулирующие факторы. Оксидативный стресс, приводящий к накоплению реактивных форм кислорода и снижению биодоступности NO, воспаление, накопление конечных продуктов гликирования нарушают мобилизацию, целенаправленную миграцию ЭПК в зону повреждения и ишемии, а также подавляют пролиферацию, дифференцировку и адгезию клеток [22]. В то же время, нельзя исключить, что одним из механизмов нарушения мобилизации ЭПК является развитие микроангиопатии и автономной нейропатии КМ [23]. Впервые Fadini и соавт. показали, что при экспериментальном СД у крыс наблюдается нарушение мобилизации ЭПК и компенсаторного неоваскулогенеза на модели ишемия-реперфузия задней конечности [24]. Также, по некоторым литературным данным, пациенты с СД невосприимчивы к действию гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ), который не в состоянии мобилизовать CD34+клетки и ЭПК [25]. Г-КСФ является одним из основных факторов мобилизации прогениторных клеток. Кроме того, полученные результаты согласуются с данными исследования LinLing и соавт., которые оценивали динамику циркулирующих ЭПК (определяющих как CD34+CD133+VEGFR2+CD45-) у больных с острым инфарктом миокарда (ОИМ). Несомненно,

Таблица 3

Виды эндоваскулярных вмешательств		
Стентирование коронарных артерий, n (%)	12 (52,1)	14 (26,3)
Стентирование артерий нижних конечностей, n (%)	11 (47,8)	5 (26,3)

Таблица 4

Уровень ЭПК до и после эндоваскулярных вмешательств		
	СД2 (n=23)	Без СД2 (n=19)
CD34+VEGFR2+CD45- (% от лейкоцитов) до эндоваскулярного вмешательства	0,014±0,006	0,009±0,004**
CD34+VEGFR2+CD45- (% от лейкоцитов) после эндоваскулярного вмешательства	0,016±0,006	0,014±0,004**
CD34+CD133+CD45- (% от лейкоцитов) до эндоваскулярного вмешательства	0,019±0,007	0,018±0,01*
CD34+CD133+CD45- (% от лейкоцитов) после эндоваскулярного вмешательства	0,022±0,008	0,023±0,007*

*p < 0,01; **p < 0,05

мненно, что ОИМ является стимулирующим фактором для мобилизации ЭПК из КМ. Однако в группе пациентов с СД2 отмечалось снижение мобилизации и снижение пикового повышения ЭПК по сравнению с пациентами без СД2 [26].

При анализе динамики после эндоваскулярных вмешательств в группе СД2 значимого повышения клеток не наблюдалось. Мы разделили больных СД2 на 2 подгруппы: в 1-ю подгруппу включены 10 пациентов с уровнем $HbA_{1c} \leq 7,5\%$ и 13 пациентов с $HbA_{1c} \geq 7,5\%$. Оказалось, что в 1-й подгруппе после эндоваскулярного вмешательства наблюдается повышение CD34+VEGFR2+CD45-клеток на 46,6% ($p=0,01$), а CD34+CD133+CD45- на 40,3% ($p=0,006$). В то время как во 2-й подгруппе статистически значимого повышения клеток не наблюдалось (табл. 5). Данные результаты показывают влияние степени компенсации углеводного обмена на мобилизацию ЭПК. Так, в одном исследовании также было выявлено влияние компенсации углеводного обмена на количество прогениторных клеток: у больных с $HbA_{1c} 9,5 \pm 1,8\%$ наблюдалось наиболее вы-

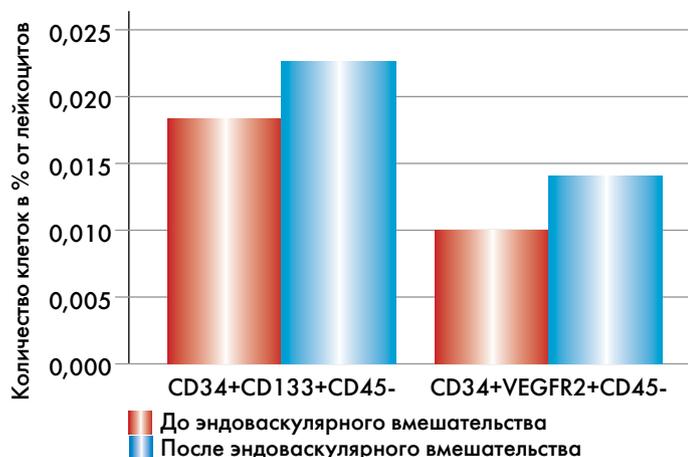


Рис. 1. Повышение количества ЭПК после эндоваскулярных вмешательств в группе пациентов без нарушения углеводного обмена.

Таблица 5

Количество ЭПК в зависимости от уровня HbA_{1c} у больных СД до и после эндоваскулярных вмешательств		
	$HbA_{1c} \leq 7,5\%$ (n=10)	$HbA_{1c} \geq 7,5\%$ (n=13)
CD34+VEGFR2+CD45- (% от лейкоцитов) до эндоваскулярного вмешательства	0,010±0,003	0,016±0,007
CD34+VEGFR2+CD45- (% от лейкоцитов) после эндоваскулярного вмешательства	0,015±0,005**	0,016±0,006
CD34+CD133+CD45- (% от лейкоцитов) до эндоваскулярного вмешательства	0,016±0,005	0,02±0,007
CD34+CD133+CD45- (% от лейкоцитов) после эндоваскулярного вмешательства	0,023±0,004*	0,024±0,01

*p < 0,01; **p < 0,05

раженное снижение количества CD34+клеток [27]. В нашем исследовании взаимосвязи HbA_{1c} и исходного количества клеток выявлено не было.

Хорошо известно, что, помимо гипергликемии, на количество и функциональные характеристики клеток оказывают влияние другие классические сердечно-сосудистые факторы риска, такие как гипертония, дислипидемия, курение, ожирение [11]. Установлено негативное влияние курения на количество и функцию ЭПК [28]. В нашей работе количество курящих лиц преобладало в группе больных без СД2. Однако, несмотря на это, в данной группе наблюдалась более активная мобилизация ЭПК, что, в свою очередь, подтверждает представления о негативном влиянии СД2 на ЭПК.

Кроме того, оказывают влияние и немодифицируемые факторы риска, такие как возраст и пол. Так, у мужчин среднего возраста наблюдался более низкий уровень ЭПК, чем у молодых. Hoetzer и соавт. показали, что у женщин среднего возраста функциональная активность ЭПК была выше, чем у мужчин. В то же время, другие авторы утверждают, что влияние пола на количество ЭПК отсутствует [29]. В работе Stauffer и соавт. показано, что количество CD34+CD45- и CD34+VEGFR-2+CD133+CD45- существенно не отличалось между мужчинами и женщинами среднего возраста [30]. В нашем исследовании в группе с СД2 преобладали женщины, в группе без СД2 – мужчины. Мы проанализировали исходное количество и мобилизацию ЭПК в зависимости от пола, однако достоверных различий получено не было.

В литературе имеются данные о влиянии гипогликемизирующей терапии на ЭПК. Так, в исследовании, проведенном *in vitro*, инсулин улучшал клоногенный потенциал [31] и увеличивал количество ЭПК у больных СД2. В исследовании Marfella и соавт. показано, что у пациентов в группе интенсивного гликемического контроля после инфузии инсулина наблюдалось повышение уровня ЭПК [32]. В другом исследовании также показано, что количество CD34+KDR+CD45dim кле-

ток было значительно снижено у больных с СД2, находящихся на ПССП по сравнению с больными без СД. В группе больных, получающих инсулинотерапию, количество клеток по сравнению с пациентами без СД2 было снижено незначительно [33]. Chen и соавт. изучали влияние метформина и гликлазида на количество и функцию ЭПК у больных с впервые выявленным СД2. Так, на фоне монотерапии метформином наблюдалось увеличение количества и улучшение функции ЭПК. Однако комбинированная терапия метформином и препаратами сульфонилмочевины (гликлазидом) была более эффективной в отношении увеличения количества ЭПК и улучшения их функции, даже несмотря на аналогичный гликемический контроль в обеих группах [34]. Агонисты глюкагоноподобного пептида-1 и ингибиторы дипептидилпептидазы-4 (ДПП-4) являются новым классом сахароснижающих препаратов. Экспериментальные исследования показали, что агонисты глюкагоноподобного пептида-1 [35] и ингибиторы ДПП-4 (ситаглиптин) [36] улучшают функцию ЭПК, повышают пролиферацию и дифференцировку ЭПК [35]. Интересно, что у пациентов с СД2 ингибиторы ДПП-4 повышают уровень SDF-1 α в плазме путем подавления его ферментативного расщепления ДПП-4, таким образом усиливая мобилизацию ЭПК из КМ. В настоящее время появляется больше данных о положительном влиянии ингибиторов ДПП-4 на характеристики ЭПК [37]. В нашем исследовании при анализе влияния инсулинотерапии и ПССП на количество и мобилизацию ЭПК обнаружено не было.

Ограничения исследования

На полученные результаты могли оказать влияние следующие факторы:

- исследование выполнено на небольшой когорте больных;
- в группе больных без СД2 преобладали курящие и лица мужского пола.

Заключение

Полученные результаты показали, что у больных СД2 наблюдается нарушение мобилизации ЭПК (как CD34+VEGFR2+CD45-клеток, так и CD34+CD133+CD45-клеток) после проведения эндоваскулярных вмешательств. Динамика ЭПК зависела от уровня HbA_{1c}. Так, в подгруппе с уровнем HbA_{1c} \leq 7,5% отмечалось достоверное повышение ЭПК после вмешательства.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Авторы декларируют отсутствие двойственности (конфликта) интересов, связанных с данной рукописью.

Финансирование исследования проводилось в рамках государственного задания Министерства здравоохранения РФ по теме НИР: «Молекулярно-генетические, биохимические и протеомные маркеры в прогнозировании развития сахарного диабета и его сосудистых осложнений, разработка перспективных методов лечения».

Список литературы

1. Avogaro A, de Kreutzenberg SV, Fadini G. Endothelial dysfunction: causes and consequences in patients with diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2008;82(Suppl 2):94–101. doi: 10.1016/j.diabres.2008.09.021
2. Fadini GP. A reappraisal of the role of circulating (progenitor) cells in the pathobiology of diabetic complications. *Diabetologia* 2013;57(1):4–15. doi: 10.1007/s00125-013-3087-6
3. Van Craenenbroeck EM, Van Craenenbroeck AH, van Ierssel S, Bruyndonckx L, Hoymans VY, Vrints CJ, et al. Quantification of circulating CD34+/KDR+/CD45dim endothelial progenitor cells: Analytical considerations. *International Journal of Cardiology* 2013;167(5):1688–1695. doi: 10.1016/j.ijcard.2012.10.047
4. Fadini GP. A reappraisal of the role of circulating (progenitor) cells in the pathobiology of diabetic complications. *Diabetologia* 2014;57(1):4–15. doi: 10.1007/s00125-013-3087-6
5. Schwartzberg S, Afek A, Charach G, Rubinstein A, Ben-Shoshan Y, Kissil S, et al. Comparative analysis of the predictive power of different endothelial progenitor cell phenotypes on cardiovascular outcome. *WJC* 2010;2(9):299–304. doi: 10.4330/wjc.v2.i9.299
6. Ingram DA. Unresolved questions, changing definitions, and novel paradigms for defining endothelial progenitor cells. *Blood* 2005;106(5):1525–1531. doi: 10.1182/blood-2005-04-1509
7. Caiado F, Dias S. Endothelial progenitor cells and integrins: adhesive needs. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2012;5:4. doi: 10.1186/1755-1536-5-4
8. Fadini GP, Boscaro E, de Kreutzenberg S, Agostini C, Seeger F, Dimmeler S, et al. Time Course and Mechanisms of Circulating Progenitor Cell Reduction in the Natural History of Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2010;33(5):1097–1102. doi: 10.2337/dc09-1999
9. Makino H, Okada S, Nagumo A, Sugisawa T, Miyamoto Y, Kishimoto I, et al. Decreased circulating CD34+ cells are associated with progression of diabetic nephropathy. *Diabet Med* 2009;26(2):171–173. doi: 10.1111/j.1464-5491.2008.02638.x
10. Fadini GP, Sartore S, Baesso I, Lenzi M, Agostini C, Tiengo A, et al. Endothelial Progenitor Cells and the Diabetic Paradox. *Diabetes Care* 2006;29(3):714–716. doi: 10.2337/diacare.29.03.06.dc05-1834
11. Hill JM, Zalos G, Halcox JPY, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, et al. Circulating Endothelial Progenitor Cells, Vascular Function, and Cardiovascular Risk. *N Engl J Med* 2003;348(7):593–600. doi: 10.1056/NEJMo022287

12. Fadini GP, Maruyama S, Ozaki T, Taguchi A, Meigs J, Dimmeler S, et al. Circulating progenitor cell count for cardiovascular risk stratification: A pooled analysis. *PLoS One* 2010;5:e11488.
13. Kunz GA, Liang G, Cuculi F, Gregg D, Vata KC, Shaw LK, et al. Circulating endothelial progenitor cells predict coronary artery disease severity. *American Heart Journal* 2006;152(1):190–195. doi: 10.1016/j.ahj.2006.02.001
14. Ghani U, Shuaib A, Salam A, Nasir A, Shuaib U, Jeerakathil T, et al. Endothelial Progenitor Cells During Cerebrovascular Disease. *Stroke* 2005;36(1):151–153 doi: 10.1161/01.STR.0000149944.15406.16
15. Fadini GP. Number and Function of Endothelial Progenitor Cells as a Marker of Severity for Diabetic Vasculopathy. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2006;26(9):2140–2146. doi: 10.1161/01.ATV.0000237750.44469.88
16. David RB, Almeida ED, Cruz LV, Sebben JC, Feijó IP, Schmidt KE, et al. Diabetes mellitus and glucose as predictors of mortality in primary coronary percutaneous intervention. *Arq Bras Cardiol* 2014;103(4):323–330.
17. Bonello L, Harhour K, Baumstarck K, Arnaud L, Lesavre N, Piot C, et al. Mobilization of CD34+KDR+ endothelial progenitor cells predicts target lesion revascularization. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2012;10(9):1906–1913. doi: 10.1111/j.1538-7836.2012.04854.x
18. Pelliccia F, Pasceri V, Rosano G, Pristipino C, Roncella A, Speciale G, et al. Endothelial Progenitor Cells Predict Long-Term Prognosis in Patients With Stable Angina Treated With Percutaneous Coronary Intervention. *Circ J* 2013;77(7):1728–1735. doi: 10.1253/circj.CJ-12-1608
19. Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FG. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *J Vasc Surg* 2007;45(Suppl S):5–67. doi: 10.1016/j.jvs.2006.12.037
20. Fadini GP, Albiero M, Vigili de Kreutzenberg S, Boscaro E, Cappellari R, Marescotti M, et al. Diabetes Impairs Stem Cell and Proangiogenic Cell Mobilization in Humans. *Diabetes Care* 2013;36(4):943–949. doi: 10.2337/dc12-1084
21. Kränkel N, Adams V, Linke A, Gielen S, Erbs S, Lenk K, et al. Hyperglycemia Reduces Survival and Impairs Function of Circulating Blood-Derived Progenitor Cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2005;25(4):698–703. doi: 10.1161/01.ATV.0000156401.04325.8f
22. Yiu KH, Tse HF. Specific Role of Impaired Glucose Metabolism and Diabetes Mellitus in Endothelial Progenitor Cell Characteristics and Function. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2014;34(6):1136–1143. doi: 10.1161/ATVBAHA.114.302192
23. Oikawa A, Siragusa M, Quaini F, Mangialardi G, Katare RG, Caporali A, et al. Diabetes Mellitus Induces Bone Marrow Microangiopathy. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2010;30(3):498–508. doi: 10.1161/ATVBAHA.109.200154
24. Fadini GP, Sartore S, Schiavon M, Albiero M, Baesso I, Cabrelle A, et al. Diabetes impairs progenitor cell mobilisation after hindlimb ischaemia–reperfusion injury in rats. *Diabetologia* 2006;49(12):3075–3084. doi: 10.1007/s00125-006-0401-6
25. Ferraro F, Lymperi S, Méndez-Ferrer S, Saez B, Spencer JA, Yeap BY, et al. Diabetes impairs hematopoietic stem cell mobilization by altering niche function. *Sci Transl Med* 2011;3(104):104ra101. doi: 10.1126/scitranslmed.3002191
26. Ling L, Shen Y, Wang K, Jiang C, Fang C, Ferro A, et al. Worse clinical outcomes in acute myocardial infarction patients with type 2 diabetes mellitus: relevance to impaired endothelial progenitor cells mobilization. *PLoS One* 2012;7(11):50739. doi: 10.1371/journal.pone.0050739
27. Кочегура ТН, Акоюн ЖА, Шаронов ГВ, Ефименко АЮ, Агеев ФТ, Овчинников АГ, и др. Влияние сопутствующего сахарного диабета 2 типа на количество циркулирующих прогениторных клеток у больных с ишемической кардиомиопатией. *Сахарный диабет*. 2011;(3):36–43. [Kochegura TN, Akopyan ZA, Sharonov GV, Efimenko AY, Ageev FT, Ovchinnikov AG, et al. The influence of concomitant type 2 diabetes mellitus on the number of circulating progenitor cells in patients with ischemic cardiomyopathy. *Diabetes mellitus*. 2011;(3):36–43.] doi: 10.14341/2072-0351-6222
28. Di Stefano R, Chiara Barsotti M, Felice F, Magera A, Lekakis J, Leone A, et al. Smoking and Endothelial Progenitor Cells: A Revision of Literature. *CPD* 2010;16(23):2559–2566. doi: 10.2174/138161210792062939
29. Hoetzer GL, MacEaney OJ, Irmiger HM, Keith R, Van Guilder GP, Stauffer BL, et al. Gender Differences in Circulating Endothelial Progenitor Cell Colony-Forming Capacity and Migratory Activity in Middle-Aged Adults. *The American Journal of Cardiology* 2007;99(1):46–48. doi: 10.1016/j.amjcard.2006.07.061
30. Stauffer BL, MacEaney OJ, Kushner EJ, Cech JN, Greiner JJ, Westby CM, et al. Gender and endothelial progenitor cell number in middle-aged adults. *Artery Research* 2008;2(4):156–160. doi: 10.1016/j.artres.2008.10.001
31. Humpert PM, Djuric Z, Zeuge U, Oikonomou D, Seregin Y, Laine K, et al. Insulin stimulates the clonogenic potential of angiogenic endothelial progenitor cells by IGF-1 receptor-dependent signaling. *Mol Med* 2008;14(5–6):301–308. doi: 10.2119/2007-00052.Humpert
32. Marfella R, Rizzo MR, Siniscalchi M, Paolisso P, Barbieri M, Sardu C, et al. Peri-procedural tight glycemic control during early percutaneous coronary intervention up-regulates endothelial progenitor cell level and differentiation during acute ST-elevation myocardial infarction: Effects on myocardial salvage. *International Journal of Cardiology* 2013;168(4):3954–3962. doi: 10.1016/j.ijcard.2013.06.053

33. António N, Fernandes R, Soares A, Soares F, Lopes A, Carvalheiro T, et al. Reduced levels of circulating endothelial progenitor cells in acute myocardial infarction patients with diabetes or pre-diabetes: accompanying the glycemic continuum. *Cardiovasc Diabetol* 2014;13:101. doi: 10.1186/1475-2840-13-101
34. Chen L, Liao Y, Zeng T, Yu F, Li H, Feng Y. Effects of metformin plus gliclazide compared with metformin alone on circulating endothelial progenitor cell in type 2 diabetic patients. *Endocr* 2010;38(2):266–275. doi: 10.1007/s12020-010-9383-8
35. Xiao-Yun X, Zhao-Hui M, Ke C, Hong-Hui H, Yan-Hong X. Glucagon-like Peptide-1 improves proliferation and differentiation of endothelial progenitor cells via up-regulating VEGF generation. *Medical Science Monitor*. 2011;17(2):BR35–BR41. doi: 10.12659/msm.881383
36. Gonçalves A, Leal E, Paiva A, Teixeira Lemos E, Teixeira F, Ribeiro CF, et al. Protective effects of the dipeptidyl peptidase IV inhibitor sitagliptin in the blood-retinal barrier in a type 2 diabetes animal model. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2012;14(5):454–463. doi: 10.1111/j.1463-1326.2011.01548.x
37. Fadini GP, Avogaro A. Dipeptidyl peptidase-4 inhibition and vascular repair by mobilization of endogenous stem cells in diabetes and beyond. *Atherosclerosis* 2013;229(1):23–29. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.04.007.

Мичурова Марина Сергеевна

аспирант, ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва, Российская Федерация
E-mail: michurovams@gmail.com

Калашников Виктор Юрьевич

д.м.н., зав. отделом неотложной и интервенционной кардиологии,
 ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва, Российская Федерация

Смирнова Ольга Михайловна

д.м.н., проф., гл.н.с. отделения программного обучения и лечения,
 ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва, Российская Федерация

Иванова Ольга Николаевна

к.б.н., зав. лабораторией генетики и клинической иммунологии, ФГБУ Эндокринологический
 научный центр, Москва, Российская Федерация

Терехин Сергей Анатольевич

к.м.н., зав. кабинетом рентгенэндоваскулярной диагностики и лечения,
 ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва, Российская Федерация