

Влияние терапии лизиноприлом на циркулирующие эндотелиальные клетки-предшественники у больных гипертонической болезнью

Е.В. Карелкина¹, О.Б. Иртюга¹, В.С. Морoshкин¹, А.В. Селютин², П.С. Козлов¹,
О.А. Быстрова³, О.М. Моисеева¹

¹ФГБУ «Федеральный Центр сердца крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздравсоцразвития РФ, Санкт-Петербург, Россия

²НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, Санкт-Петербург, Россия

³Институт Цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

Карелкина Е.В. — научный сотрудник НИЛ кардиомиопатий ФГБУ «Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи» (ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова»); Морoshкин В.С. — ведущий научный сотрудник лаборатории ультразвуковых методов исследования ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова», доктор медицинских наук; Иртюга О.Б. — старший научный сотрудник НИЛ кардиомиопатий ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова», кандидат медицинских наук; Селютин А.В. — старший научный сотрудник лаборатории иммунологии НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, кандидат биологических наук; Быстрова О.А. — старший научный сотрудник отдела морфологии Института цитологии Российской академии наук, кандидат биологических наук; Козлов П.С. — младший научный сотрудник лаборатории ультразвуковых методов исследования ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова», кандидат медицинских наук; Моисеева О.М. — заместитель директора Института сердца и сосудов, заведующая научно-исследовательским отделом некоронарогенных заболеваний сердца ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова», доктор медицинских наук.

Контактная информация: ФГБУ «Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздравсоцразвития РФ, ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Россия, 197341. E-mail: ekarelkina@mail.ru (Карелкина Елена Викторовна).

Резюме

Цель исследования — изучить динамику циркулирующих клеток-предшественников ангиогенеза и клинических маркеров сердечно-сосудистого риска у больных гипертонической болезнью на фоне терапии лизиноприлом. **Материалы и методы.** Обследованы 18 больных гипертонической болезнью, ранее не получавшие ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), и 19 здоровых добровольцев в качестве группы контроля. Всем пациентам выполнено клиничко-инструментальное обследование, оценены пролиферативная активность и функциональные свойства эндотелиальных клеток-предшественников. Больные гипертонической болезнью в течение 12 недель получали терапию лизиноприлом в дозе 10–20 мг/сутки, после чего были обследованы повторно. **Результаты.** Выявлено, что для больных артериальной гипертензией характерно относительное в условиях эндотелиальной дисфункции снижение числа циркулирующих эндотелиальных клеток-предшественников (ЭКП). Клетки с ангиогенным потенциалом у больных артериальной гипертензией имеют сниженную пролиферативную способность по сравнению с контрольной группой ($1,4 \pm 0,9$ против $2,2 \pm 1,2$ КОЕ/мм²; $p < 0,01$). Нарушение функциональных свойств ЭКП у больных артериальной гипертензией тесно связано с патологическим ремоделированием сосудов. **Заключение.** Ингибитор АПФ лизиноприл улучшает функциональные свойства эндотелия у больных артериальной гипертензией, оказывая не только мобилирующий эффект на ЭКП, но и стимулируя их пролиферативную активность.

Ключевые слова: циркулирующие эндотелиальные клетки-предшественники, артериальная гипертензия, лизиноприл.

Effect of lisinopril on circulating endothelial progenitor cells in patients with essential hypertension

E. V. Karelkina¹, O. B. Irtuga¹, V. S. Moroshkin¹, A. V. Selutin²,
P. S. Kozlov¹, O. A. Bystrova³, O. M. Moiseeva¹

¹Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre, St Petersburg, Russia

²Ott's Institute of Obstetrics and Gynecology, St Petersburg, Russia

³Institute of Cytology RAS, St Petersburg, Russia

Corresponding author: Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre, 2 Akkuratov st., St Petersburg, Russia, 197341. E-mail: ekarelkina@mail.ru (Elena V. Karelkina, MD, Researcher at the Cardiomyopathy Department at Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre).

Abstract

Objective. To assess the effect of lisinopril on the dynamics of circulating endothelial progenitor cells (EPC) as well as the clinical markers of cardiovascular risk in patients with essential hypertension. **Design and methods.** We have studied the number and functional activity of EPC and clinical markers of cardiovascular risk in carefully selected group of 18 patients with essential hypertension, who have never been treated by angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEi), and 19 normotensive control subjects. Hypertensive patients took lisinopril in dose 10–20 mg daily and then were re-examined after 12 weeks of lisinopril therapy. **Results.** The present study shows that hypertensive patients are characterized by a relative decline in the number of circulating EPC in conditions of endothelial dysfunction. Also the cells with angiogenic potential have a decreased proliferative capacity in hypertensive patients in comparison with healthy controls ($1,4 \pm 0,9$ vs $2,2 \pm 1,2$ units/mm²; $p < 0,01$). Changes of the functional activity of EPC are closely associated with pathological vascular remodeling. **Conclusions.** ACEi lisinopril improves functional properties of the endothelium in hypertensive patients through mobilizing effect on the EPC and stimulates their proliferation activity.

Key words: circulating endothelial progenitor cells, essential hypertension, lisinopril.

Статья поступила в редакцию: 08.12.11. и принята к печати: 10.12.11.

Введение

Артериальная гипертензия (АГ) — один из наиболее значимых факторов риска, влияющих на возникновение и прогрессирование сердечно-сосудистых заболеваний. Результаты многочисленных международных клинических исследований, а также данные российских популяционных исследований наглядно демонстрируют, что стойкое снижение артериального давления (АД) уменьшает сердечно-сосудистую летальность и риск развития ишемической болезни сердца, хронической сердечной недостаточности и инсульта [1–3]. Подтверждением данного факта служит снижение риска развития застойной сердечной недостаточности на 52 %, фатального инсульта на 38 % и сердечно-сосудистой летальности на 21 % на фоне оптимальной антигипертензивной терапии [4].

Непосредственной причиной возникновения сердечно-сосудистых осложнений при АГ является эндотелиальная дисфункция, которая приводит к структурным изменениям артерий и артериол, а также стимулирует процессы тромбо- и атерогенеза. Ремоделирование сердца и сосудов при АГ тесно связано с активацией локальных нейрогуморальных систем и прежде всего ренин-ангиотензиновой системы. Блокада негативных эффектов ангиотензина II, как подтверждают данные многоцентровых клинических исследований, обеспечивает снижение риска развития сердечно-сосудистых событий у больных АГ. Вместе с тем результаты клинико-экспериментальных работ, изучающих влияние ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) на систему мелких артерий и артериол, достаточно противоречивы. Увеличение просвета мелких артерий и артериол за счет вазодилатации и обратного ремоделирования сосудов микроциркуляторного русла на фоне терапии ингибиторами АПФ может способствовать восстановлению перфузии органов и тканей [5, 6]. Однако параллельно с блокадой ангиотензина II происходит снижение продукции трансформирующего ростового фактора- β , который, наряду с процессами фиброза, участвует в регуляции ангиогенеза, что, по мнению ряда авторов, может приводить к снижению плотности сосудов микроциркуляторного русла [7]. Нарушение ангиогенеза на фоне терапии ингибиторами АПФ также может быть связано с подавлением продукции сосудистого ростового фактора [8]. Если учесть мнение F.A.C. Le Noble, то не-

эффективный неоангиогенез можно рассматривать как одну из основных причин нарушения кровоснабжения органов и тканей при АГ [9].

Долгое время процесс образования сосудов в постнатальном периоде отождествлялся с пролиферацией, миграцией и дедифференцировкой эндотелиальных клеток из уже существующих сосудов [10]. В настоящее время доказано, что в постнатальном ангиогенезе большую роль играют циркулирующие стволовые или частично дифференцированные (прогениторные) клетки, которые мобилизуются из костного мозга и дифференцируются в зрелые эндотелиальные клетки в сосудистой стенке [11, 12]. Дело в том, что в условиях эндотелиальной дисфункции, число эндотелиальных клеток, находящихся в апоптозе, резко увеличивается, и это служит главным лимитирующим фактором при создании новых сосудов за счет пролиферации зрелых эндотелиальных клеток [13]. Поэтому роль циркулирующих стволовых или частично дифференцированных (прогениторных) клеток при сердечно-сосудистой патологии резко возрастает.

Исследования последних лет наглядно показали, что между числом эндотелиальных клеток-предшественников (ЭКП) в периферической крови и частотой развития сердечно-сосудистых событий у пациентов с факторами риска существует тесная связь [14, 15]. Так возникло представление о том, что количество циркулирующих прогениторных клеток может быть индивидуальным маркером регенераторной способности организма.

Однако роль лекарственной терапии и, в частности, влияние блокады ренин-ангиотензиновой системы на представительство и функциональную активность ЭКП, участвующих в процессе образования новых сосудов, изучены недостаточно, что и послужило **целью настоящего исследования.**

Материалы и методы

В открытое проспективное неконтролируемое исследование включено 18 пациентов гипертонической болезнью II стадии (ВНОК, 2008) с уровнем АД, не превышающим 180/110 мм рт. ст., ранее не получавших терапию ингибиторами АПФ. В качестве антигипертензивной терапии пациенты получали бета-адреноблокаторы. 61 % пациентов в течение двух недель до включения в исследование не получали антигипертензивной терапии.

19 практически здоровых лиц составили контрольную группу. Клинико-демографическая характеристика групп представлена в таблице 1.

Исследование выполнено в соответствии с требованиями GCP. Всем пациентам в качестве антигипертензивной терапии назначался лизиноприл («Листрил», Dr. Reddy's, Индия) в начальной дозе 10 мг/сутки однократно. Подбор адекватной дозы лекарственных препаратов осуществлялся с учетом гипотензивного эффекта и индивидуальной переносимости препарата. При недостаточном антигипертензивном эффекте доза препарата увеличивалась до 20 мг/сутки или использовалась комбинация с гипотиазидом 12,5 мг/сутки («Листрил-плюс», Dr. Reddy's, Индия). Титрация дозы проводилась каждые две недели. Длительность терапии составила 12 недель, после чего все пациенты обследованы повторно. Включенные в исследование пациенты не имели клинически значимой сопутствующей патологии.

Средняя доза лекарственного препарата лизиноприла в процессе лечения составила 18 ± 1 мг/сутки. Критерием эффективности терапии считалось снижение клинического диастолического АД (АДд) на 10 мм рт. ст. и/или снижение систолического АД (АДс) на 20 мм рт. ст. и более от исходного [9]. По данным суточного мониторинга АД эффективной была признана терапия, при которой снижение среднесуточного АД происходило на 5 мм рт. ст. и более от исходного, а целевым АД считался его уровень менее 140/90 мм рт. ст. для дневного и 125/75 мм рт. ст. для ночного времени [16].

Суточное мониторирование АД осуществляли автоматической системой «Топoport» (Германия) с интервалами между измерениями днем 15 мин, ночью — 30 мин. Всем обследованным выполнено стандартное эхокардиографическое обследование на аппарате Philips iE33 (США), по стандартному протоколу с расчетом индекса массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ) по формуле R. Devereux, N. Reincheck [17]. Критерием для выявления гипертрофии левого желудочка служил индекс массы миокарда более 125 г/м^2 у мужчин и более 96 г/м^2 у женщин согласно последним рекомендациям ASE 2005 [18]. Всем пациентам проводилось ультразвуковое исследование плечевой артерии в пробе с реактивной гиперемией с помощью ультразвука высокого разрешения для оценки функционального состояния эндотелия и толщины комплекса интима-медиа, а также дуплексное сканирование общих сонных артерий на аппарате VIVID 7 (GE, США) [19, 20].

Концентрацию общего холестерина, холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП), холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) и триглицеридов в сыворотке крови определяли энзиматическим методом на биохимическом анализаторе Hitachi 902 с помощью реактивов фирмы Roche. Уровень С-реактивного белка (СРБ) определяли ультрасенситивным латексным методом (TINA-QUANT, Roche). Количество CD34⁺, CD133⁺, VEGFR-2⁺-клеток в периферической крови оценивали методом проточной цитометрии («FACSCalibur», Becton Dickinson, США).

Таблица 1

КЛИНИКО-ДЕМОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ

	Больные АГ M ± m n = 18	Контрольная группа M ± m n = 19
Возраст, лет	54,8 ± 3,7	40,5 ± 1,7**
Пол (м:ж)	11:7	13:6
Индекс массы тела, кг/м ²	28,2 ± 1,3	24,9 ± 0,6*
Курение, %	22	26
Давность АГ, лет	7,0 ± 1,4	-
Ультразвуковое исследование сердца и сосудов		
Левое предсердие, см	5,58 ± 1,73	3,70 ± 0,14**
КДР ЛЖ, см	4,96 ± 0,09	4,84 ± 0,14**
КСР ЛЖ, см	3,53 ± 0,12	3,06 ± 0,12**
МЖПд, см	1,26 ± 0,02	0,88 ± 0,01**
ЗСд, мм	1,23 ± 0,02	0,87 ± 0,01**
ФВ по Тейхольцу, %	63,8 ± 0,7	70,0 ± 2
ММЛЖ, г/м ²	291,8 ± 13,2	173,1 ± 8,4**
ИММЛЖ, г/м ²	154,1 ± 8,6	90,5 ± 4,5**
ОТС ЛЖ, усл. ед.	0,504 ± 0,010	0,368 ± 0,014**
Величина ЭЗВД, %	10,3 ± 5,0	14,5 ± 0,4**
Толщина КИМ общих сонных артерий, мм	0,735 ± 0,018	0,579 ± 0,013**

Примечание: достоверность различий: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$. АГ — артериальная гипертензия; КДР ЛЖ — конечно-диастолический размер левого желудочка; КСР ЛЖ — конечно-систолический размер левого желудочка; МЖПд — толщина межжелудочковой перегородки в диастолу; ЗСд — толщина задней стенки в диастолу; ФВ — фракция выброса; ЭЗВД — эндотелийзависимая вазодилатация в пробе с реактивной гиперемией; КИМ — комплекс интима-медиа.

Таблица 2

РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ

	Больные АГ M ± m n = 18	Контрольная группа M ± m n = 19
Биохимические показатели		
Общий холестерин, ммоль/л	5,41 ± 0,25	5,13 ± 0,20
Триглицериды, ммоль/л	1,29 ± 0,14	1,56 ± 0,27
ХС ЛПНП, ммоль/л	3,44 ± 0,19	3,31 ± 0,21
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,47 ± 0,09	1,44 ± 0,09
СРБ, мг/л	2,30 ± 0,72	1,99 ± 0,99
Характеристика циркулирующих ЭКП		
CD34 ⁺ CD133 ⁺ *10 ⁶ MNC	1770 ± 206	1974 ± 156
CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ *10 ⁶ MNC	91 ± 12	121 ± 37
CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ *10 ⁶ MNC	868 ± 177	890 ± 141
КОЕ ЭКП, колоний/мм ²	1,4 ± 0,9**	2,6 ± 0,3**

Примечание: достоверность различий по сравнению с контрольной группой: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$. АГ — артериальная гипертензия; ХС ЛПНП — холестерин липопротеидов низкой плотности; ХС ЛПВП — холестерин липопротеидов высокой плотности; СРБ — С-реактивный белок; КОЕ ЭКП — количество колониеобразующих единиц эндотелиальных клеток-предшественников.

с использованием моноклональных антител фирм Immunotech™, Macs™ и R&D™. Пролиферативная активность эндотелиальных клеток-предшественников оценивалась с помощью подсчета колониеобразующих единиц по методу J.M. Hill [14]. Результат представлен в виде среднего количества колоний на 1 мм². Принадлежность культивируемых клеток к ЭКП подтверждалась методами проточной цитометрии или иммунофлюоресцентного анализа с использованием моноклональных антител CD34, CD31, VEGFR-2, CD117, CD105, CD90, CD45, CD14. Параллельно с клинической оценкой эффективности лизиноприла проводились исследования *in vitro*. В среду, где культивировались ЭКП, добавляли лекарственный препарат в дозе 0,1 мМ на лунку. Эффект препарата оценивался путем подсчета числа колониеобразующих единиц (КОЕ) и окраски препаратов на экспрессию маркера старения SA β-Gal.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы Statistica for Windows ver. 6.0. Результаты представлены в виде среднего арифметического значения (M), средней арифметической ошибки (m) и количества признаков в группе. Достоверность различий показателей в группах оценивалась с помощью непараметрических критериев Вилкоксона и Манна-Уитни для независимых групп. Различия считались достоверными при значениях $p < 0,05$. Для оценки корреляций между признаками применялся однофакторный корреляционный анализ Спирмена.

Результаты и обсуждение

Включенные в исследование пациенты с АГ были старше по возрасту, имели избыточную массу тела, а также признаки структурных изменений сердца и сосудов (табл. 1). Вместе с тем пациенты в исследуемых группах не различались по уровню холестерина и ЦРБ. Снижение величины эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД) плечевой артерии в пробе с реактивной гиперемией

свидетельствовало в пользу нарушения функционального состояния эндотелия у больных АГ.

Для выявления циркулирующих ЭКП в настоящее время предложено более 20 иммунофенотипических маркеров, затрудняющих интерпретацию и сопоставление получаемых в различных клинических исследованиях данных [21, 22]. Возможно, это связано с гетерогенностью популяции ЭКП, к которым относятся не только разнообразные по своему происхождению клетки (гемопозитические стволовые клетки, мезенхимные стволовые клетки и резидентные клетки сосудистой стенки), но также клетки, выполняющие различные функции [23]. В зависимости от функциональных свойств выделяют ЭКП, обладающие высокой пролиферативной способностью, благодаря которой они участвуют в процессах васкулогенеза, и клетки, в задачи которых входит восстановление целостности поврежденного эндотелия за счет продукции ангиогенных факторов, стимулирующих пролиферацию резидентных стволовых клеток сосудистой стенки.

Несмотря на продолжающиеся дискуссии, для идентификации циркулирующих ЭКП большинство исследователей использует следующую комбинацию маркеров: CD34 (гемопозитические стволовые клетки), CD133 (незрелые гемопозитические стволовые клетки) и специфические эндотелиальные маркеры, среди которых наибольшее значение имеет выявление рецепторов 2-го типа к сосудистому ростовому фактору (VEGFR-2) [24]. Вместе с тем существует мнение, что CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺-клетки относятся не к популяции ЭКП, а к ранним гемопозитическим стволовым клеткам [25].

Анализ количественного состава прогениторных клеток не выявил существенных различий в представительстве циркулирующих CD34⁺CD133⁺ и CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺-клеток у больных АГ по сравнению с контрольной группой (табл. 2). Однако в периферической крови пациентов с АГ отмечена тенденция к уменьшению

количества CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺-клеток. Предшествующая терапия бета-адреноблокаторами не влияла на количество циркулирующих ЭКП.

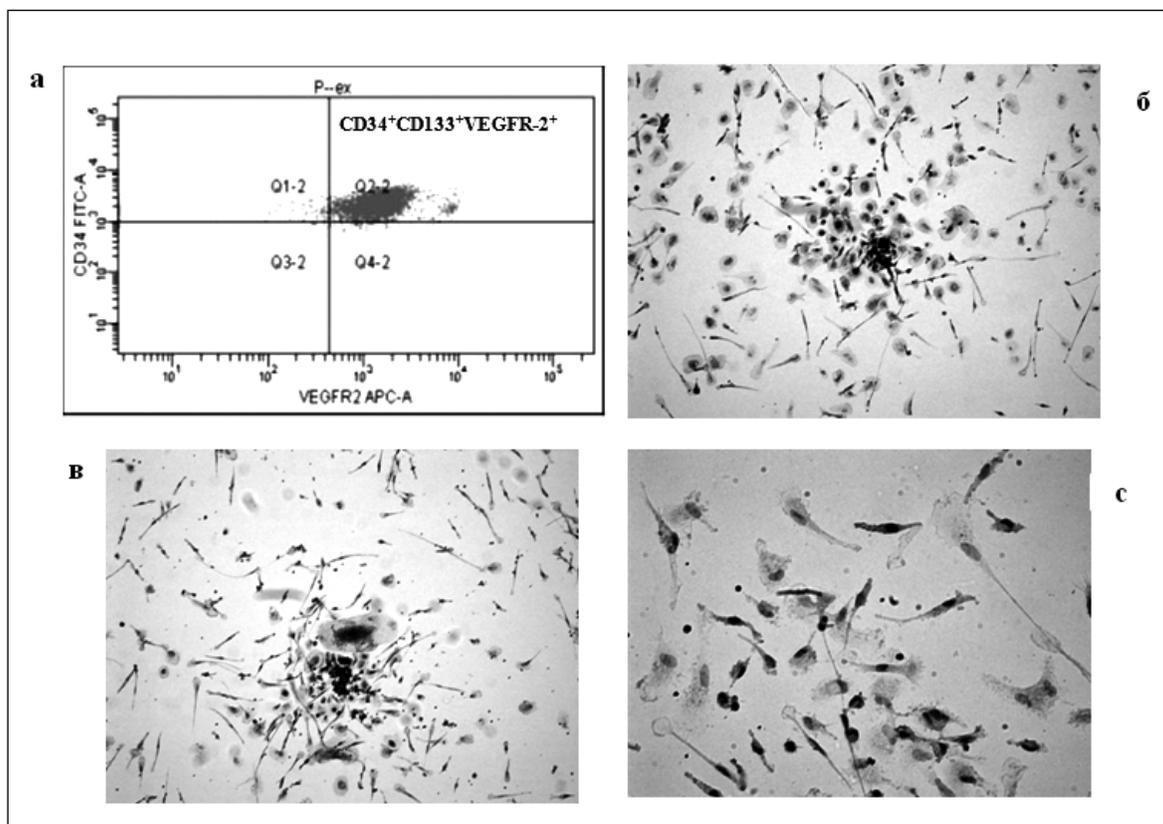
Наиболее значимым фактором, влияющим на снижение числа VEGFR-2⁺-клеток как в контрольной группе, так и у больных АГ, был возраст обследованных пациентов ($r = -0,327$; $p < 0,05$). Аналогичные данные получены G. Hoetzer (2007), выявившим уменьшение пролиферативной и миграционной способности циркулирующих ЭКП в старшей возрастной группе практически здоровых пациентов [26]. Интересен тот факт, что у пациентов с избыточной массой тела уровень VEGFR-2⁺-клеток был выше ($r = 0,469$; $p < 0,05$). Подобный «парадокс» описан и в работе С.Ф. Bellows с соавторами (2011), продемонстрировавших 5-кратное увеличение числа циркулирующих CD34⁺-клеток у обследованных доноров [27]. Дело в том, что жировая ткань является источником многочисленных ангиогенных факторов, так называемых адипокинов, которые потенцируют мобилизацию и миграцию стволовых и прогениторных клеток, что особенно актуально в условиях эндотелиальной дисфункции, развивающейся у больных с ожирением. Кроме того, жировая ткань содержит большое количество мезенхимных стволовых клеток, которые способны дифференцироваться в ЭКП.

Анализ циркулирующих CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺-клеток у больных АГ выявил уменьшение их числа на фоне нагрузки АДс в дневное время ($r = -0,498$; $p < 0,05$).

Кроме того, пациенты, относящиеся к категории «non-dipper» и «night-peaker», имели более низкий уровень CD34⁺CD133⁺-клеток в периферической крови (для АДс $r = -0,520$; $p < 0,05$ и для АДд $r = -0,644$; $p < 0,01$).

Учитывая отсутствие единого подхода к выявлению циркулирующих ЭКП методом проточной цитометрии, для оценки функционального состояния клеток активно используют культуральные методы, позволяющие с помощью экзогенных ростовых факторов индуцировать появление эндотелиальных фенотипов, свойственных ранним и/или поздним клеткам-предшественникам. В настоящей работе наличие ЭКП фенотипа подтверждалось присутствием CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺ и CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺-клеток в культуре, а также экспрессией типичных эндотелиальных маркеров: CD31⁺, VE-кадгерина и фактора фон Виллебранда (рис. 1). Популяция культивируемых клеток содержала незначительный процент клеток моноцитарного ряда, экспрессирующих CD14⁺, и ЭКП мезенхимального происхождения, о чем свидетельствовала экспрессия поверхностного белка из семейства иммуноглобулинов (CD90⁺) и белка эндоглина (CD105⁺), играющего важную роль в процессах ангиогенеза [28]. Применение в настоящем исследовании культуральных методов позволило выявить снижение колониеобразующей способности ЭКП у пациентов с АГ (табл. 2). Среди факторов, определяющих снижение пролиферативной активности ЭКП, наибольшее значе-

Рисунок 1. Характеристика клеток в культуре



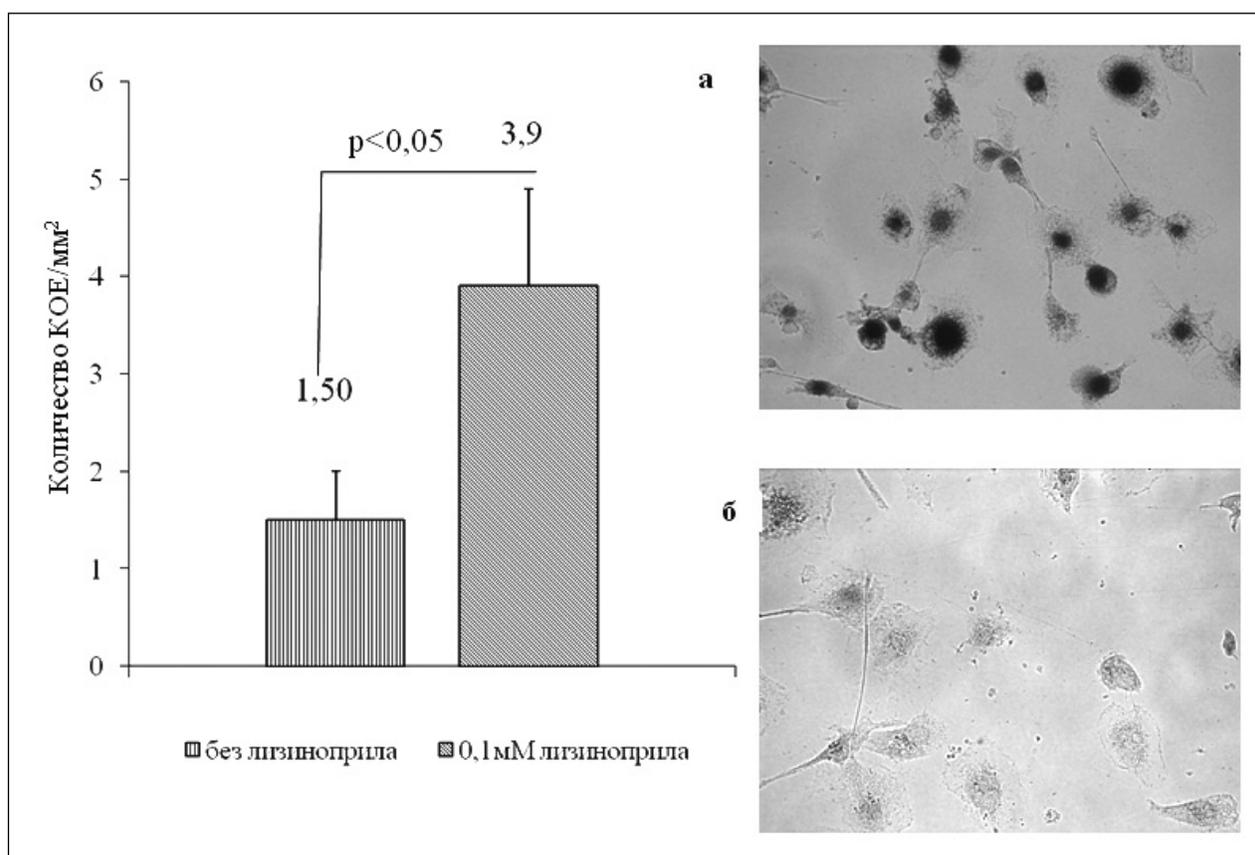
Примечание: а — данные проточной цитометрии: Q2-2 — пул CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺-клеток; иммуноцитохимическая окраска на маркеры эндотелиальных клеток (DAKO, LSAB, световая микроскопия x200): б — CD31/PECAM-1; в — фактор фон Виллебранда; с — CD144/VE-кадгерин.

ДИНАМИКА АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ЛИЗИНОПРИЛОМ

	Больные АГ М ± m	
	До лечения	После 12 недель терапии
Клиническое АДс, мм рт. ст.	162 ± 4**	136 ± 2***
Клиническое АДд, мм рт. ст.	98 ± 2**	85 ± 1***
Среднедневное АДс, мм рт. ст.	157 ± 3	132 ± 5***
Среднедневное АДд, мм рт. ст.	101 ± 2	88 ± 3***
Средненочное АДс, мм рт. ст.	141 ± 3	114 ± 5***
Средненочное АДд, мм рт. ст.	85 ± 2	72 ± 3**
Нагрузка днем АДс, %	89,1 ± 3,0	42,2 ± 8,4***
Нагрузка днем АДд, %	87,5 ± 2,9	52,0 ± 10,4**
Нагрузка ночью АДс, %	70,4 ± 5,1	39,9 ± 7,0**
Нагрузка ночью АДд, %	55,3 ± 6,3	28,6 ± 4,9**
Величина ЭЗВД, %	10,3 ± 5,0	15,0 ± 1,5*
Характеристика циркулирующих ЭКП		
CD34 ⁺ CD133 ⁺ *10 ⁶ MNC	1814 ± 955*	2318 ± 263*
CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ *10 ⁶ MNC	90 ± 55*	154 ± 28*
CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ *10 ⁶ MNC	852 ± 811	781 ± 174
КОЕ ЭКП, колоний/мм ²	1,4 ± 0,2**	2,2 ± 0,3**

Примечание: достоверность различий: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$. АДс — систолическое артериальное давление; АДд — диастолическое артериальное давление; КОЕ ЭКП — количество колониеобразующих единиц эндотелиальных клеток-предшественников; ЭЗВД — эндотелийзависимая вазодилатация плечевой артерии в пробе с реактивной гиперемией.

Рисунок 2. Колониеобразующая способность эндотелиальных клеток- предшественников при добавлении 0,1 мМ лизиноприла в культуру



Примечание: окраска на экспрессию маркера старения SA β-Gal (световая микроскопия 400x): а — без лизиноприла, б — с лизиноприлом.

ние имел возраст обследованных ($r = -0,584$; $p < 0,01$) и показатель суммарного риска сердечно-сосудистых заболеваний, рассчитанный по шкале SCORE ($r = -0,473$; $p < 0,01$). Установлена тесная корреляционная связь между пролиферативной активностью ЭКП и величиной эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД) в пробе с реактивной гиперемией ($r = 0,519$; $p < 0,01$), что подтверждает роль циркулирующих прогениторных клеток в репарации эндотелия. Нарушение процессов репарации способствует активации процессов атерогенеза, на что указывает увеличение толщины комплекса интима-медиа сонных артерий как маркера субклинического атеросклероза ($r = -0,630$; $p < 0,01$).

На фоне терапии лизиноприлом клиническое АДс и АДд снизилось на 16,0 и 13,3 % соответственно (табл. 3). Целевого уровня клинического АДс достигли 56 %, а АДд — 67 % пациентов. Нормализация АД по данным суточного мониторинга выявлена у 67 % больных. На фоне проводимой терапии число пациентов, имеющих недостаточное ночное снижение АД, уменьшилось с 67 до 50 %.

Гипотензивный эффект лизиноприла сопровождался улучшением функционального состояния эндотелия, о чем свидетельствовал рост величины ЭЗВД плечевой артерии в пробе с реактивной гиперемией. Кроме того, после 12 недель терапии выявлено увеличение числа циркулирующих CD34⁺CD133⁺ и CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺-клеток, обладающих повышенной клоногенной способностью.

Для объяснения полученных результатов изучено влияние лизиноприла на пролиферативную активность ЭКП *in vitro*. Выявлено, что добавление лизиноприла в культуру сопровождалось увеличением числа колониеобразующих единиц и уменьшением числа SA β -Gal как маркера старения клеток (рис. 2).

Основной теорией, объясняющей уменьшение числа циркулирующих стволовых и прогениторных клеток, а также снижение их пролиферативного потенциала у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями, является теория старения клеток, у истоков которой стояли L. Hayflick и P.S. Moorhead, описавшие данный феномен при культивировании клеток *in vitro* [29]. В соответствии с этой теорией преждевременное старение клетки является альтернативным апоптозу состоянием. Оно возникает под влиянием повреждающих факторов, нарушающих структуру теломер и вызывающих хромосомную нестабильность клетки [30]. По мнению авторов данной теории, более низкий уровень стресс-индуцирующих факторов, в том числе и ангиотензина II, вызывает не программируемую гибель клеток (апоптоз), а их преждевременное старение. Вероятно, блокируя ренин-ангиотензиновую систему, лизиноприл замедляет процесс старения ЭКП.

Кроме того, на фоне терапии лизиноприлом отмечено снижение уровня СРБ (с $2,30 \pm 0,72$ до $1,11 \pm 0,33$ мг/л), который также может оказывать негативное влияние на жизнеспособность, дифференцировку и пролиферативную активность ЭКП, что ранее показано в исследованиях *in vitro* [31].

Выводы

Принимая во внимание полученные в настоящем исследовании данные, можно сделать следующие выводы. Для больных АГ характерно относительное, если говорить о повышенном их потреблении в условиях эндотелиальной дисфункции, снижение числа циркулирующих ЭКП. Кроме того, прогениторные клетки у пациентов с АГ имеют сниженную пролиферативную способность. Нарушение функциональных свойств ЭКП у больных АГ тесно связано с патологическим ремоделированием сосудов. Ингибитор АПФ лизиноприл улучшает функциональные свойства эндотелия у больных АГ, оказывая не только мобилизирующий эффект на ЭКП, но и стимулируя их пролиферативную активность.

Литература

1. Шальнова С.А., Деев А.Д., Оганов Р.Г. и др. Роль систолического и диастолического давления для прогноза смертности от сердечно-сосудистых заболеваний // Кардиоваск. терапия и профилактика. — 2002. — № 1. — С. 10–15.
2. Moser M., Hebert P.R. Prevention of disease progression, left ventricular hypertrophy and congestive heart failure in hypertension treatment trials // J. Am. Coll. Cardiol. — 1996. — Vol. 27, № 5. — P. 1214–1218.
3. JNC-VII: The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure // J. Am. Med. Assoc. — 2003. — Vol. 289, № 19. — P. 2560–2571.
4. Meredith P.A., Östergren J. Are there better primary prevention strategies? Review: from hypertension to heart failure // J. Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst. — 2006. — Vol. 7, № 2. — P. 64–73.
5. Thybo N.K., Korsgaard N., Eriksen S. et al. Dose-dependent effects of perindopril on blood pressure and on small artery structure // Hypertension. — 1994. — Vol. 23, № 5. — P. 659–666.
6. Sharifi A.M., Li J.S., Endemann D., Schiffrin E.L. Effects of enalapril and amlodipine on small-artery structure and composition, and on endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats // J. Hypertens. — 1998. — Vol. 16, № 4. — P. 457–466.
7. Scheidegger K.J., Wood J.M., Van Essen H. et al. Effects of prolonged blockade of the renin-angiotensin system on striated muscle microcirculation of spontaneously hypertensive rats // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1996. — Vol. 278, № 3. — P. 1276–1281.
8. Yoshiji H., Kuriyama S., Kawata M. et al. The angiotensin-I-converting enzyme inhibitor Perindopril suppresses tumor growth and angiogenesis: possible role of the vascular endothelial growth factor // Clin. Cancer Res. — 2001. — Vol. 7, № 4. — P. 1073–1078.
9. Le Noble F.A.C., Stassen F.R.M., Hacking W.J.G. et al. Angiogenesis and hypertension // J. Hypertens. — 1998. — Vol. 16, № 11. — P. 1563–1572.
10. Isner J.M., Asahara T. Angiogenesis and vasculogenesis as therapeutic strategies for postnatal neovascularization // J. Clin. Invest. — 1999. — Vol. 103, № 9. — P. 1231–1236.
11. Hristov M., Erl W., Weber P.C. Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 2003. — Vol. 23, № 7. — P. 1185–1189.
12. Urbich C., Dimmeler S. Endothelial progenitor cells. Characterization and role in vascular biology // Circ. Res. — 2004. — Vol. 95, № 4. — P. 343–353.
13. Brunner H., Cockcroft J.R., Deanfield J. et al. Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension // J. Hypertens. — 2005. — Vol. 23, № 2. — P. 233–246.
14. Hill J.M., Zalos G., Halcox J.P.J. et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk // N. Engl. J. Med. — 2003. — Vol. 348, № 7. — P. 593–600.
15. Werner N., Kosiol S., Schiegl T. et al. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes // N. Engl. J. Med. — 2005. — Vol. 353, № 10. — P. 999–1007.
16. Кобалава Ж.Д., Котовская Ю.В. Мониторинг артериального давления: методические аспекты и клиническое значение /

Под ред. В.С. Моисеева. — М.: Издательская группа «Сервье», 1999. — 234 с.

17. Devereux R.B., Reinchek N. Echocardiographic determination of left ventricular mass in man. Anatomic validation of the method // *Circulation*. — 1977. — Vol. 55, № 4. — P. 613–618.

18. Lang R.M., Bierig M., Devereux R.B., Flachskampf F.A. et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology // *J. Am. Soc. Echocardiogr.* — 2005. — Vol. 18, № 12. — P. 1440–1463.

19. Celermajer D.S., Soresen K.E., Gooch V.M. et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis // *Lancet*. — 1992. — Vol. 340, № 8828. — P. 1111–1115.

20. Vogel R.A. Measurement of endothelial function by brachial artery flow-mediated vasodilatation // *Am. J. Cardiol.* — 2001. — Vol. 88, № 2A. — P. 31E–34E.

21. Timmermans F., Plum J., Yöder M.C. et al. Endothelial progenitor cells: identity defined? // *J. Cell. Mol. Med.* — 2009. — Vol. 13, № 1. — P. 87–102.

22. Watt S.M., Athanassopoulos A., Harris A.L., Tsaknakis G. Human endothelial stem/progenitor cells, angiogenic factors and vascular repair // *J. R. Soc. Interface*. — 2010. — Vol. 7, suppl. 6. — P. S731–S751.

23. Ballard V.L., Edelberg J.M. Stem cells for cardiovascular repair — the challenges of the aging heart // *J. Mol. Cell. Cardiol.* — 2008. — Vol. 45, № 4. — P. 582–592.

24. Peichev M., Naiyer A.J., Pereira D. et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34+ cells identifies a population of functional endothelial precursors // *Blood*. — 2000. — Vol. 95, № 3. — P. 952–958.

25. Case J., Mead L.E., Bessler W.K. et al. Human CD34+AC133+ VEGFR-2+ cells are not endothelial progenitor cells but distinct, primitive hematopoietic progenitors // *Exp. Hematol.* — 2007. — Vol. 35, № 7. — P. 1109–1118.

26. Hoetzer G.L., Van Guilder G.P., Irmiger H.M. et al. Aging, exercise, and endothelial progenitor cell clonogenic and migratory capacity in men // *Appl. Physiol.* — 2007. — Vol. 102, № 3. — P. 847–852.

27. Bellows C.F., Zhang Y., Simmons P.J., Khalsa A.S., Kolonin M.G. Influence of BMI on level of circulating progenitor cells // *Obesity (Silver Spring)*. — 2011. — Vol. 19, № 8. — P. 1722–1726.

28. Psaltis P.J., Zannettino A.C., Worthley S.G., Gronthos S. Concise review: mesenchymal stromal cells: potential for cardiovascular repair // *Stem Cells*. — 2008. — Vol. 26, № 9. — P. 2201–2210.

29. Hayflick L., Moorhead P.S. The serial cultivation of human diploid cell strains // *Exp. Cell. Res.* — 1961. — Vol. 25. — P. 585–621.

30. Chen J., Goligorsky M.S. Premature senescence of endothelial cells: Methusaleh's dilemma // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2006. — Vol. 290, № 5. — P. H1729–H1739.

31. Verma S., Kuliszewski M.A., Shu-Hong Li. et al. C-reactive protein attenuates endothelial progenitor cell survival, differentiation and function // *Circulation*. — 2004. — Vol. 109, № 17. — P. 2058–2067.