

УДК 615.032.038:616.12-008.1

**М.Г. Шурыгин, Н.Н. Дремина, И.А. Шурыгина, И.Н. Мачхин**

## **ОСНОВНЫЕ АКТИВАТОРЫ АНГИОГЕНЕЗА И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В КАРДИОЛОГИИ**

*НЦ РВХ ВСНЦ СО РАМН (Иркутск)*

*Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)*

*С открытием сигнальных пептидов стало возможным изучение неоангиогенеза и ремоделирования сосудов с целью поиска альтернативных методов лечения ИБС. В данном обзоре описывается природа фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и фактора роста фибробластов (FGF), которые имеют наибольшее значение в ангиогенезе. Подробно описаны структурные варианты и типы мембранных рецепторов для этих цитокинов, рассмотрены физиологические эффекты данных факторов и механизмы их действия. Также в обзоре приведены результаты первых клинических испытаний VEGF и FGF в лечении ИБС и выявленные при их применении побочные эффекты.*

**Ключевые слова:** фактор роста эндотелия, фактор роста фибробластов, ангиогенез, ишемия, миокард

## **THE MAIN ACTIVATORS OF ANGIOGENESIS AND THEIR USE IN CARDIOLOGY**

**M.G. Shurigin, N.N. Dremina, I.A. Shurigina, I.N. Machhin**

*SC RRS ESSC SB RAMS, Irkutsk*

*Irkutsk State Medical University, Irkutsk*

*In review authors described features of angiogenesis induced factors – VEGF and FGF, which have most important role in neovascularisation. These factors have various isoforms with unique biophysics features and different paths of physiologic effects. Authors set out of modern conception about VEGF and FGF receptors, also as affinity and effects of their activation with different types of these factors. The results of VEGF and FGF (or their coding plasmids) first clinical use give expectancies in respect to one more possibility of noninvasive CAD treatment.*

**Key words:** endothelium growth factor, fibroblasts growth factor, angiogenesis, ischemia, myocardium

Несмотря на успехи неинвазивной кардиологии и кардиохирургии, ишемическая болезнь сердца (ИБС) остается одной из ведущих причин смертности в развитых странах. Конечно, использование аортокоронарного шунтирования и коро-

нарной ангиопластики позволило значительно снизить смертность и улучшить качество жизни пациентов с ИБС, однако применимость хирургических методов лечения имеет серьезные ограничения. Прежде всего, это невозможность их ис-

пользования при диффузных дистальных поражениях коронарных артерий, а также развивающийся рано или поздно рестеноз.

Как одно из основных возможных направлений исследований для поиска альтернативных методов лечения ИБС в настоящее время рассматривается регуляция ангиогенеза в миокарде [2]. Значительный прогресс, достигнутый за последние годы в области изучения неангиогенеза и ремоделирования сосудов, связан, прежде всего, с открытием сигнальных пептидов.

В патогенезе и клинике атеросклероза и ИБС одним из важнейших аспектов считается нарушение структуры и функции эндотелия [6]. Патогенетическая роль эндотелиальной дисфункции при заболеваниях сердечно-сосудистой системы считается доказанной. Эндотелий выступает в роли первоочередного органа-мишени, так как эндотелиальная выстилка участвует в регуляции сосудистого тонуса, гемостаза, ангиогенезе, иммунном ответе, миграции клеток крови в сосудистую стенку, синтезе факторов воспаления и их ингибиторов, осуществляет барьерные функции [19]. Под дисфункцией эндотелия понимают дисбаланс между факторами, обеспечивающими эти процессы.

Наибольшее значение в индукции пролиферации эндотелиоцитов как первичного звена ангиогенеза отводится 2 группам ростовых факторов — фактору роста эндотелия сосудов (Vasendothelial Growth Factor, VEGF) и фактору роста фибробластов (Fibroblast Growth Factor, FGF). Именно они запускают процессы ремоделирования существующих сосудов и истинного ангиогенеза — формирования новых сосудов [27].

VEGF — один из важнейших факторов существования и роста эндотелия. Он индуцирует ангиогенез и пролиферацию эндотелиоцитов. Это гликопротеин, который секретируется различными клетками в виде димера с молекулярной массой 34 — 45 кДа.

К числу клеток-продуцентов VEGF относятся макрофаги, эпителиальные клетки легких и почек, мышечные клетки и др., однако, как правило, этот фактор не секретируется клетками эндотелия [34].

Биологической активностью обладают димерные молекулы. Как и у большинства цитокинов-димеров, субъединицы VEGF соединены дисульфидными связями, которые сформированы между цистеинами мономеров. В большинстве случаев это гомо- или гетеродимеры, мономеров которых принадлежат к разным формам VEGF. В ряде тканей обнаруживаются димеры, которые состоят из субъединиц VEGF и другого представителя данного семейства — плацентарного фактора роста (PlGF). Причины индукции синтеза гетеродимеров и их биологическая роль *in vivo* являются предметом интенсивных исследований.

В настоящее время известно, что семейство VEGF включает 6 ростовых факторов: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-EG и PlGF. Причем, если 5 из них имеют гомологичные участки, то VEGF-EG (VEGF эндокринных желез, выделенный из надпочечников и яичников) отнесен к этой

группе только на основании физиологического эффекта стимуляции роста сосудов [36].

Первым среди представителей этого семейства был открыт VEGF-A, усиливающий проницаемость сосудов, в результате чего его первоначально назвали «фактором проницаемости». Считается, что именно этот фактор является специфическим медиатором, обеспечивающим повышенную проницаемость сосудов в опухолях [8].

Известны четыре основные изоформы VEGF-A — VEGF-A<sub>121</sub>, VEGF-A<sub>165</sub>, VEGF-A<sub>189</sub> и VEGF-A<sub>206</sub> [5]. Они различаются по величине полипептидной цепи и состоят соответственно из 121, 165, 189 и 206 аминокислот. Синтез той или иной изоформы VEGF регулируется на генетическом уровне альтернативным сплайсингом, определяющим, какой именно вариант белка в данном случае необходим. В секретирующих VEGF нормальных и трансформированных клетках преимущественно обнаруживается изоформа VEGF-A<sub>165</sub>, которая в зрелом виде представляет собой гомодимер с молекулярной массой 45 кДа. Это так называемая преобладающая форма. В большинстве экспрессирующих VEGF клеток обнаруживаются также транскрипты, кодирующие VEGF-A<sub>121</sub> и VEGF-A<sub>189</sub>, тогда как изоформа VEGF-A<sub>206</sub> встречается крайне редко.

Белковые продукты, кодируемые одним единственным геном, но образующиеся в результате альтернативного сплайсинга, могут обеспечивать достаточно гибкую систему контроля ангиогенеза. Это связано с тем, что структурные различия изоформ VEGF обуславливают различия их физико-химических свойств. Так, VEGF-A<sub>121</sub> — полипептид, обладающий слабокислотными свойствами и не связывающийся с гепарином. VEGF-A<sub>165</sub>, напротив, представлен гепаринсвязывающим белком, в то время как изоформа VEGF-A<sub>189</sub> и VEGF-A<sub>206</sub> характеризуются еще более выраженными основными свойствами и проявляют более высокое сродство к гепарину. Это приводит к тому, что изоформы VEGF-A обладают разной биологической активностью и доступностью. Так, VEGF-A<sub>121</sub> представляет собой секретируемый белок и выделяется клетками в полностью растворимой форме. VEGF-A<sub>165</sub> также секретируется из клеток, но при этом значительная его часть остается в связанном состоянии на клеточной поверхности или во внеклеточном матриксе, а изоформы VEGF-A<sub>189</sub> и VEGF-A<sub>206</sub> практически полностью находятся в связанном состоянии.

Более крупные молекулярные формы VEGF-A (VEGF-A<sub>189</sub> и VEGF-A<sub>206</sub>) могут освобождаться в результате воздействия плазмينا. Плазмин отщепляет аминокислотные остатки в области C-конца с образованием фрагмента с молекулярной массой около 34 кДа, проявляющего свойственную фактору роста эндотелия активность [12].

Связанные формы VEGF могут освобождаться также в результате воздействия таких агентов, как сурамин, гепарин или гепариназа. В неизмененных клетках иммуногистохимическими методами VEGF выявляют в цитоплазме, где он находится в связанной форме. Это обеспечивает быс-

твое освобождение фактора в случае повреждение клетки [1].

Таким образом, VEGF может высвобождаться для активации клеток эндотелия с помощью двух различных механизмов: в виде секреции свободного полностью растворимого белка или в результате расщепления протеазами более крупных изоформ, связанных с протеогликанами клеточных мембран или внеклеточного матрикса. При этом небольшие молекулярные формы VEGF в случае необходимости могут быть быстро и эффективно секретированы из экспрессирующих их клеток, в то время как крупные формы, находящиеся в связанном состоянии, представляют собой некий резервуар молекул VEGF, из которого при протеолитическом расщеплении могут высвобождаться более короткие растворимые формы, которые и проявляют активирующее действие на эндотелиоциты. Образование биологически активного VEGF после ограниченного протеолиза предшественника может играть, очевидно, важную роль в процессах опухолевого роста, поскольку известно, что в этих тканях наблюдается повышенная экспрессия протеаз, в том числе активаторов плазминогена [44].

VEGF-B обнаруживается в различных тканях, но преимущественно локализуется в миоцитах скелетной мускулатуры и кардиомиоцитах. Существует две изоформы VEGF-B, образующиеся в результате альтернативного сплайсинга, — VEGF-B<sub>167</sub> и VEGF-B<sub>186</sub>.

VEGF-B<sub>167</sub> — это основной белок, который связан с гепарином и, подобно VEGF-A<sub>189</sub> и VEGF-A<sub>206</sub>, прочно соединяется с клеткой или внеклеточным матриксом. VEGF-B<sub>189</sub>, как правило, является гомодимером, но также способен к гетеродимеризации. От варианта гетеродимера зависит биологическая активность молекул [9].

VEGF-C по своим биологическим свойствам отличается от других изоформ, так как не соединяется с гепарином. VEGF-C также увеличивает проницаемость сосудов и стимулирует миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток, хотя для развития эффекта требуется более высокая его концентрация, чем у предыдущих VEGF [9].

VEGF-D по последовательности аминокислот на 48 % идентичен VEGF-C. Этот ростовой фактор активно продуцируется в легком плода, однако во взрослом организме VEGF-D обнаруживается в скелетных мышцах, сердце, легком и кишечнике в минимальных количествах и в большей степени совместно с VEGF-C индуцирует не ангио-, а лимфангиогенез [9, 30].

Интерес исследователей к фактору роста эндотелия в настоящее время огромен. Это связано с его вовлечением в развитие как нормального, так и патологического ангиогенеза. В связи с этим изучение особенностей его функционирования необходимо для понимания и коррекции нарушений при многочисленных заболеваниях.

Основным физиологическим эффектом этого белка является митогенный эффект на клетки эндотелия сосудов. При этом он практически не влияет на пролиферацию других клеток.

Кроме влияния на пролиферацию эндотелиальных клеток VEGF может играть роль в поддержании их жизнедеятельности [45]. В физиологических концентрациях VEGF действует как фактор выживания эндотелия, ингибируя апоптоз эндотелиоцитов.

При высоких концентрациях VEGF вызывает NO-зависимую вазодилатацию. Механизм, благодаря которому VEGF может регулировать продукцию NO, до конца не ясен. Возможно, данный фактор стимулирует мобилизацию кальция из внутриклеточных депо, который, в свою очередь, усиливает активность Ca-зависимой NO-синтазы. Однако подобным свойством обладают и другие факторы роста, такие как кислый (aFGF) и основной (bFGF) факторы роста фибробластов [23].

Основное действие представителей семейства VEGF реализуется посредством активации высокоаффинных рецепторов, образующих отдельную группу в семействе рецепторных тирозинкиназ. Эта группа рецепторов представляет собой трансмембранные белки со сходной структурой: их внеклеточная рецепторная часть состоит из 7 иммуноглобулин-подобных доменов, а во внутриклеточной области находится тирозинкиназный домен, разделенный на 2 участка короткой последовательностью, так называемой интеркиназной вставкой, специфичной для каждого из 3 типов рецепторов. Эти рецепторы получили название VEGFR1-VEGFR3 [17]. Аффинность рецепторов и активирующих их факторов приведена в табл. 1, а схема строения — на рис. 1.

При взаимодействии с лигандом происходит димеризация рецепторов с последующей активацией их каталитической активности.

Рецепторы VEGFR1 экспрессируются почти исключительно в клетках эндотелия кровеносных сосудов, а вот VEGFR3 во взрослом организме преимущественно обнаруживается в эндотелии лимфатических сосудов. Это дало основания предполагать, что лимфангиогенез регулируется через взаимодействие именно этого рецептора со своими лигандами [30].

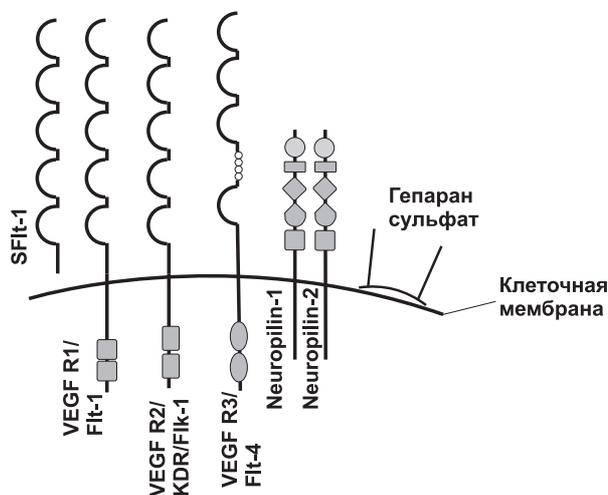


Рис. 1. Схема строения VEGFR рецепторов.

Таблица 1

Известные варианты связывания различных форм VEGF с рецепторами

Лиганды	Рецепторы				
	VEGFR1	VEGFR2	VEGFR3	Нейропилин-1	Нейропилин-2
PlGF	•			•	
VEGF-A	•	•		•	•
VEGF-B	•			•	
VEGF-C		•	•		
VEGF-D		•	•		

Примечание: • – аффинность.

Таблица 2

Уровень экспрессии рецепторов к VEGF эндотелием в различных участках стенки сердца

Структура	Рецептор			
	VEGFR-1	VEGFR-2	VEGFR-3	Нейропилин-1
Эпикард				
Коронары	+/++	–	–	++
Артериолы	++	++	–	++
Капилляры	++	++	–	++
Вены	++	++	–	++
Лимф. сосуды	–	+/++	++	–
Миокард				
Артерии	++	++	–	++
Капилляры	++	++	–/+	++
Вены	++	++	–	++
Эндокард				
Эндотелий	+	++	–	+
Кровеносные сосуды	+	++	–	++

В исследованиях Bing Li (2002), проведенных на рецептор-селективных мутантных мышах, получены результаты, свидетельствующие о преимущественной роли активации VEGFR2 в развитии гипотензивного эффекта при применении VEGF [28].

Также выяснилось, что, кроме непосредственно VEGFR, фактор роста взаимодействует с нейропипинами 1 и 2 – рецепторами, участвующими в процессах проводимости аксонов и выполняющими в отношении VEGF функции изоформ-специфичного корцептора. Помимо экспрессии в нейронах, нейропипины также обнаруживаются в развивающихся эндотелиальных клетках эмбриональной кровеносной системы и в мезенхимальных клетках, окружающих кровеносные сосуды [27].

В тканях сердца экспрессия различных типов рецепторов к VEGF имеет свои локальные особенности (табл. 2) [13].

Экспрессию VEGF регулируют многие факторы. Например, тканевая гипоксия, которая наблюдается при ишемии, стимулирует аутокринную и паракринную экспрессию VEGF. Зафиксировано увеличение экспрессии VEGF в миокарде при ишемии,

причем, так как в эксперименте не наблюдалось значимого некроза кардиомиоцитов, исследователи склонны считать данное увеличение следствием стимуляции именно секреции фактора роста [40].

Также экспрессия VEGF повышается при увеличении напряжения в стенке сердца, что наблюдается при заболеваниях, характеризующихся систолической перегрузкой [39].

VEGF имеет важное значение в патофизиологии опухолей, так как является стимулятором ангиогенеза в опухолевой ткани [22].

Процессы нарушения ангиогенеза лежат в основе многих других заболеваний, в том числе и неопухолевого происхождения, например секреция VEGF может играть важную роль в патологической неоваскуляризации при последствиях диабета [18].

Подводя итоги всего вышесказанного, можно с уверенностью сказать, что данные исследований роли VEGF в организме характеризуют этот цитокин как основной медиатор ангиогенеза. Поэтому регуляция специфической активности VEGF является точкой приложения сил в разработке новых подходов в лечении заболеваний, сопровождаю-

щихся патологическим ангиогенезом, или в сано-генезе которых значительную роль играет стимуляция ангиогенеза.

Другим ведущим регулятором неоангиогенеза является фактор роста фибробластов.

Впервые информация о выделении фактора роста фибробластов была опубликована в 1975 г. D. Gospodarowicz, который вел поиск соединения, ответственного за митогенную активность экстрактов гипофиза в отношении фибробластов [15]. Выделенный белок имел изоэлектрическую точку, смещенную в щелочную pH. Так фактор получил свое название — основной фактор роста фибробластов (bFGF). Позднее К.А. Томас обнаружил присутствие в мозге быка фактора изоэлектрической точкой, смещенной в кислую pH, обладающего митогенной активностью в отношении фибробластов и эндотелиальных клеток, и назвал его кислым фактором роста фибробластов (aFGF) [41]. Но, вопреки хронологической последовательности их открытия, aFGF в настоящее время имеет обозначение FGF1, а bFGF — FGF2.

Определение первичной структуры этих факторов показало, что это родственные полипептиды. Однако aFGF, в отличие от мономера bFGF, образуется в виде димера, фрагменты которого соединены дисульфидными связями.

Открытие гомологии кислого и основного FGF положило начало исследования большого семейства факторов роста фибробластов. Были выделены, секвенированы и клонированы гены основного и кислого факторов роста фибробластов, получены их ДНК, и появилась возможность проводить скрининг библиотек генов из различных нормальных и опухолевых клеток, обнаружить и идентифицировать родственные последовательности.

Как выявили дальнейшие исследования, существует ряд белков, имеющих структурное и функциональное сходство с кислым и основным факторами роста фибробластов. В основе большинства белков семейства лежит константная последовательность из 120 аминокислотных остатков, 6 из которых попарно связаны между собой.

В настоящее время факторы роста фибробластов представляют собой семейство структурно родственных полипептидов, которое у человека представлено 22 членами (FGF1 — FGF14 и FGF16 — FGF23) из 23, обнаруженных у животных. Все они сравнительно низкомолекулярные (7 — 38 кДа) гепаринсвязывающие белки, среди которых наиболее изученными являются основной и кислый факторы.

Основной фактор роста фибробластов — один из наиболее консервативных белков. У разных видов животных отмечается высокая гомология этого фактора. Например, у быка и человека в пределах 146 аминокислотных остатков он отличается только на два остатка, а первый и последний экзоны этого фактора у шпорцевой лягушки и быка имеют 70 % и 90 % идентичности соответственно [20]. Принято считать, что такая высокая консервативность свидетельствует о фундамен-

тальных функциях белка. Кислый фактор роста фибробластов менее консервативен.

В геноме человека ген основного фактора роста фибробластов локализован в 4-й хромосоме и содержит 3 экзона и 2 больших интрона. Ген в открытой рамке считывания с AUG кодона кодирует один полипептид с молекулярной массой 18 кДа [7].

Чтобы понять, каким образом продукт одного гена осуществляет многочисленные и разнообразные функции и взаимодействия, необходимо остановиться на характере экспрессии гена основного фактора роста фибробластов на уровне белкового продукта.

Изучение экспрессии гена этого фактора человека показало, что одна копия гена дает не один белок, а набор совместно экспрессируемых изоформ фактора с молекулярными массами 34, 24, 22,5, 22 и 18 кДа [16]. Анализ экспрессии ДНК гена человека *in vitro* в бесклеточных системах транскрипции-трансляции, а также *in vivo* с помощью экспрессирующих плазмид на клеточных линиях человека говорят о том, что эти множественные формы котранслируются с одной и той же молекулы информационной РНК. Оказалось, что форма с молекулярной массой 18 кДа транслируется, начиная с классического AUG (метионин) иницирующего кодона, тогда как более крупные белки образуются при трансляции с обычно неиспользуемых для инициации лейциновых кодонов CUG, расположенных до иницирующего AUG. Молекулярные массы белковых продуктов соответствуют размерам транслируемых участков. Такая альтернативная трансляция множественных форм белка могла бы служить механизмом регуляции генной экспрессии основного фактора роста фибробластов.

Присутствие в клетке множественных форм может говорить о существовании неизвестных функций фактора, либо о том, что приписываемые основному фактору роста с молекулярной массой 18 кДа эффекты на самом деле принадлежат другим изоформам.

Пытаясь понять функциональный смысл множественной экспрессии гена основного фактора роста фибробластов, ученые предположили, что разные изоформы белка могут иметь разную внутриклеточную локализацию. С помощью иммуноблотинга было показано, что ни одна из изоформ фактора не обнаруживается в культуральной среде; это согласуется с отсутствием у FGF1 и FGF2 сигнального пептида, необходимого для секреции классическим путем. Поэтому выделение белка из клетки происходит либо с вовлечением синаптоагмина-1 в АТФ-зависимом процессе, либо при разрушении клетки.

При исследовании внутриклеточной локализации фактора выявлено, что FGF способен воздействовать непосредственно на ядро той клетки, где был синтезирован, как внутриклеточный передатчик информации.

Подтипы факторов с ядерной локализацией (а это все высокомолекулярные изоформы) отличаются от цитоплазматической формы наличием «лишнего» N-концевого участка. Был проведен

анализ его роли в ядерной транслокации. Внутриклеточную локализацию белка определяли по флуоресцентному окрашиванию. Оказалось, что достаточно присоединения к другому белку одного лишь N-концевого домена основного фактора роста фибробластов, чтобы осуществлялся транспорт этого белка в ядро. Белок, лишенный этой аминокислотной последовательности, оставался в цитоплазме. Таким образом был идентифицирован домен, ответственный за «нуклеаризацию» фактора. Следует отметить, что этот домен не имеет сходства с другими «ядерными сигналами», идентифицированными к настоящему времени.

Другой интересной особенностью bFGF явилось то, что в качестве митогена может выступать только форма с молекулярной массой 18 кДа, т.е. не содержащая сигнала ядерной транслокации. Оказалось, что экзогенный фактор после распознавания рецептором нередко транслоцируется в ядро. Этот процесс зависит от стадии клеточного цикла и происходит при переходе из фазы G1 в фазу S, причем количество поглощенного фактора не зависит от наличия и количества эндогенного фактора в цитоплазме [32]. Одно из предположений — совместный ядерный транспорт экзогенного фактора и гепаринсульфата, для которого также показана независимая от лизосом транслокация в ядро [26]. Поскольку основной фактор роста имеет высокую аффинность к гепарину, и поскольку гепаран-сульфат подавляет его связывание с рецептором, выдвигается гипотеза о совместном транспорте фактора с молекулярной массой 18 кДа и гепаран-сульфата в ядро, что позволяет этой форме фактора без N-концевой аминокислотной последовательности быть доступной для «нуклеаризации» (рис. 2).

Взаимодействие факторов с компонентами внеклеточного матрикса после секреции позволяет сохранить биологически активные молекулы в стабильном защищенном от протеолитической

деградации состоянии. Не менее важно, что эти молекулы, благодаря фиксации на матриксе, могут функционировать более локально и более длительно, чем в жидкой фазе, а также оказывать дозированное воздействие в зависимости от концентрации ферментов, освобождающих фактор [31].

Из особенностей других представителей семейства нужно упомянуть FGF3 (int-2), у которого имеются сигнальные последовательности как ядерной транслокации, так и секреции [5]; FGF4, у которого присутствует сигнальная последовательность секреции и 2 гепаринсвязывающих фрагмента, позволяющие данному фактору проявлять различные свойства в зависимости от концентрации гепарина в среде; фактор роста кератиноцитов (KGF) или FGF7, гликолизированная форма которого связывается с KGF-R рецепторами клеток эпителия [11].

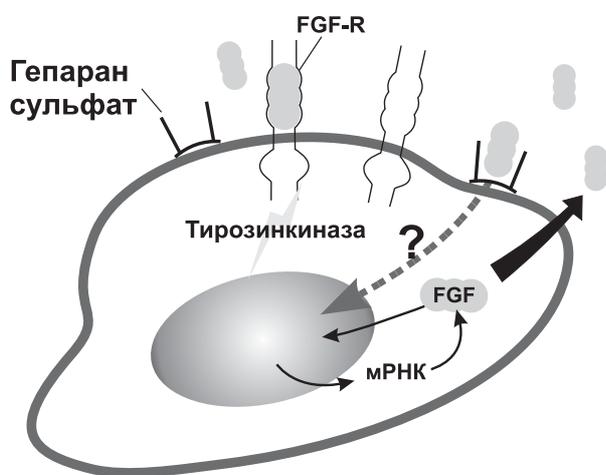
В целом ростовые факторы семейства FGF обладают широким спектром мишеней и биологических активностей. Они являются мощными модуляторами клеточной дифференцировки, пролиферации, подвижности и выживаемости. FGF играют важную роль *in vivo* в нормальных физиологических процессах, таких как эмбриональное развитие, ангиогенез, дифференцировка клеток нервной системы, заживление ран. Возможная роль факторов роста фибробластов в таких патологических процессах, как канцерогенез, становится очевидной после обнаружения в этом семействе протоонкогенов.

Ни один из известных к настоящему времени факторов не обладает таким широким спектром эффектов на такое большое количество клеточных типов, как основной и кислотный факторы роста фибробластов. Кроме активации фибробластов в плане пролиферативного эффекта клетками-мишенями FGF являются эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки сосудов, хондроциты, меланоциты и др. [38]. Кроме этого, фактор принимает участие в дифференцировке адипоцитов, подавляет апоптоз нейронов и стимулирует выработку IL-6.

Действие представителей семейства FGF связано с активацией тирозинкиназных рецепторов FGF четырех основных типов (FGFR1-FGFR4). В табл. 3 приведены известные варианты аффинности рецепторов к различным формам FGF [14].

Интересны исследования, которые посвящены взаимодействию bFGF с другими факторами роста и протеолитическими ферментами. При индукции неоангиогенеза такое взаимодействие носит синергичный характер. Например, bFGF индуцирует экспрессию VEGF и его клеточных рецепторов [46]. Известно, что VEGF усиливает активность плазминзависимого протеолиза матрикса и повышает синтез клетками коллагеназ. А протеолитические ферменты способны активировать фракцию bFGF, депонированную в матриксе [31], с чем связано максимальное увеличение индекса экспрессии bFGF.

Безусловно, открытие ростовых факторов и исследование их эффектов *in vitro* и *in vivo* не могло не вызвать желания использовать их как перспективное средство для лечения ИБС. Действительно, казалось вполне достаточным иницииро-



**Рис. 2.** Схема взаимодействия FGF с клетками. Экстраклеточный FGF связывается с высокоаффинными FGFR, либо с низкоаффинными молекулами гепарин сульфата. Связанный с лигандом димер FGFR активирует тирозинкиназу [37].

Известные варианты связывания различных форм фактора роста фибробластов с рецепторами

Лиганды	Рецепторы						
	FGFR1		FGFR2		FGFR3		FGFR4
	IIIb	IIIc	IIIb	IIIc	IIIb	IIIc	
FGF1	•	•	•	•	•	•	•
FGF2	•	•		•		•	•
FGF3	•		•				
FGF4		•		•		•	•
FGF5		•					
FGF6		•		•			•
FGF7			•				
FGF8b				•		•	•
FGF8e						•	•
FGF8f				•		•	•
FGF9				•	•	•	•
FGF10	•		•				
FGF16							•
FGF17				•		•	•
FGF19							•

Примечание: • – аффинность.

вать рост сети коллатеральных сосудов – и клинический эффект не заставит себя долго ждать.

На такую возможность указывали и авторы, практикующие трансмиокардиальную реперфузию, после подробного изучения механизма развития эффекта операции на состоянии сосудистого компонента в миокарде. Первоначальная гипотеза о формировании новых сосудов путем «прожигания» каналов была частично пересмотрена, так как эффект усиления перфузии был непостоянным. Гистологический анализ показал, что в области формируемого в миокарде механическим путем или лазерным излучением канала наблюдается рост микроциркуляторных сосудов, однако формирование эндотелиальной выстилки самого повреждения наступало далеко не всегда, и часто наблюдалась облитерация искусственного канала. Тогда в качестве рабочей была принята теория об активации роста микроциркуляторного звена миокарда из-за выделения ростовых факторов в ответ на повреждение [3, 33, 42, 43].

Первые работы, посвященные результатам лечения посредством стимуляции ангиогенеза состояний, сопровождающихся ишемией ткани, были полны оптимизма. В качестве лекарственных агентов использовались как сами ростовые факторы, так и кодирующие их плазмиды, которые вводились нативно или путем встраивания в геном аденовируса [10]. Сводя воедино первые опубликованные результаты клинического применения ростовых факторов (табл. 4), мы можем видеть обнадеживающую картину эффективности таких воздействий [29].

Другой хорошо задокументированный побочный эффект – тяжелая гипотензия, развивающаяся при применении как VEGF, так и FGF, связанная с активацией синтеза оксида азота и последующей дилатацией артериол [21, 23].

Кроме этого зарегистрированы случаи развития пролиферативной ретинопатии, которые были вызваны повышением содержания ростовых факторов в жидких средах глаза [4, 24].

Отмечены и побочные эффекты, нивелирующие развитие коллатерального кровотока в миокарде – это ускорение роста атеросклеротических бляшек за счет прорастания их *vasa vasorum* [25].

После такого «холодного душа» подход к терапии ИБС с использованием достижений молекулярной биологии становится более осторожным и осмысленным.

Рассуждая о перспективах данного направления воздействия на состояния, связанные со снижением кровоснабжения тканей, прежде всего необходима разработка патогенетически обоснованных подходов с учетом комплексного воздействия различных ростовых факторов на ангиогенез. Наличие многочисленных изоформ у представителей семейств FGF и VEGF, сложные механизмы регуляции выделения ростовых факторов и их взаимодействия ставят перед исследователями непростые задачи раскрытия физиологических и патофизиологических механизмов регуляции ангиогенеза в миокарде. Решение этих вопросов позволит значительно приблизить заветные цели неинвазивного лечения ИБС.

Результаты клинического применения стимуляторов ангиогенеза при ИБС

Исследователь	Способ введения	Фактор	Результаты	
			Клинические	Ангиографические
Isner J.M. et al.	в/в	плазмида VEGF165	+	–
Baumgartner	в/в	плазмида VEGF165	+	+
Lazarous	в/в	bFGF	+	Нет данных
Schumacher et al.	в/коронарно	aFGF	+	+
Henry et al.	в/коронарно	VEGF165	+	+
Laham et al.	в/коронарно	bFGF	+	–
Laube et al.	в/коронарно	bFGF	+	Нет данных
Losardo et al.	в/коронарно	плазмида VEGF165	+	Нет данных
Lal et al.	в/коронарно	VEGF165	+	–
Henry et al.	в/коронарно	VEGF	+	–
Laham et al.	в/коронарно	bFGF	+	Нет данных
Gibson et al.	в/коронарно	VEGF	+	+

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Заридзе Д.Г. Канцерогенез / Д.Г. Заридзе. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.

2. Новые подходы к лечению ишемической болезни сердца: терапевтический ангиогенез в сочетании с хирургической реваскуляризацией миокарда / Л.А. Бокерия, Е.З. Голухова, М.В. Еремеева и др. // Тер. архив. – 2004. – № 6. – С. 25–30.

3. A histologic study of laser-induced transmural channels / R.I. Hardy, K.I. Bove, F.W. James et al. // Lasers Surg. Med. – 1987. – Vol. 6. – P. 563–573.

4. Association of genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor and risk for proliferative retinopathy of prematurity / A. Vannay, G. Dunai, I. Banyasz et al. // Pediatr. Res. – 2005. – Vol. 57, N 3. – P. 396–398.

5. Baird A. Fibroblast Growth Factors / A. Baird, P. Bohlen, M.C. Sporn, A.B. Roberts // Fibroblast Growth Factors in Peptide Growth Factors and their Receptors. – New York: Springer-Verlag, 1990. – P. 369-418.

6. Cannon R.O. Does coronary endothelial dysfunction cause myocardial ischemia in the absence of obstructive coronary artery disease? / R.O. Cannon // Circulation. – 1997. – Vol. 96. – P. 3251–3254.

7. Characterization of the hst-1 gene and its product / T. Yoshida, H. Sakamoto, K. Miyagawa et al. // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 1991. – Vol. 638. – P. 27–37.

8. Connolly D.T. Vascular permeability factor: a unique regulator of blood vessel function / D.T. Connolly // J. Cell Biochem. – 1991. – Vol. 47, N 3. – P. 219–223.

9. Current biology of VEGF-B and VEGF-C / B. Olofsson, M. Jeltsch, U. Eriksson, K. Alitalo // Curr. Opin. Biotechnol. – 1999. – Vol. 10, N 6. – P. 528–535.

10. Direct intramuscular gene transfer of naked DNA encoding vascular endothelial growth factor augments collateral development and tissue perfusion

/ Y. Tsurumi, S. Takeshita, D. Chen et al. // Circulation. – 1994. – Vol. 12. – P. 3281–3290.

11. Drucker H.O. Expression of murine fibroblast growth-5 in the adult nervous system / H.O. Drucker, M. Goldfarb // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1990. – Vol. 87. – P. 8022–8026.

12. Dual regulation of vascular endothelial growth factor bioavailability by genetic and proteolytic mechanisms / K.A. Houck, D.W. Leung, A.M. Rowland et al. // J. Biol. Chem. – 1992. – Vol. 267. – P. 26031–26037.

13. Endothelial Growth Factor Receptors in Human Fetal Heart / T.A. Partanen, T. Makinen, J. Arola et al. // Circulation. – 1999. – Vol. 100. – P. 583–586.

14. Fernig D.G. Fibroblast growth factors and their receptors: an information network controlling tissue growth, morphogenesis and repair / D.G. Fernig, J.T. Gallagher // Prog. Growth Factor Res. – 1994. – Vol. 5, N 4. – P. 353–377.

15. Fibroblast growth factor: its localization, purification, mode of action, and physiological significance / D. Gospodarowicz, P. Rudland, J. Lindstrom, K. Benirschke // Adv. Metab. Disord. – 1975. – Vol. 8. – P. 301–335.

16. Florkiewich R.Z. Human basic fibroblast growth factor gene encodes four polypeptides: three initiate translation from non-AUG codons / R.Z. Florkiewich, A. Sommer // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1989. – Vol. 86. – P. 3978–3981.

17. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease / J. Folkman // Nat. Med. – 1995. – Vol. 1. – P. 27–31.

18. Garner A. Vascular diseases / A. Garner // Pathobiology of Ocular Diseases. – New York, 1994. – P. 1625–1710.

19. GISSI-3: effects of lisinopril and transdermal glyceryl trinitrate singly and together on 6 week mortality and ventricular function after acute myocardial infarction // Lancet. – 1994. – Vol. 343. – P. 1115–1122.

20. Gospodarowicz D. Fibroblast growth factor / D. Gospodarowicz // The UCLA symposia on molecular and cellular biology. — New York, 1989. — Vol. 1, Issue 1. — P. 1–25.
21. Hemodynamic effects of intracoronary VEGF delivery: evidence of tachyphylaxis and NO dependence of response / J. Lopez, R.J. Laham, J.C. Carrozza et al. // *Am. J. Physiol.* — 1997. — Vol. 273. — P. H1317–H1323.
22. High affinity VEGF binding and developmental expression suggest Flk-1 as a major regulator of vasculogenesis and angiogenesis / B. Millauer, S. Witzmann-Voos, H. Schnarch et al. // *Cell.* — 1993. — Vol. 72. — P. 835–846.
23. Hypotensive activity of fibroblast growth factor / P. Cuevas, F. Carceller, S. Ortega et al. // *Science.* — 1991. — Vol. 254. — P. 1208–1210.
24. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy / A.P. Adamis, J.W. Miller, M.T. Bernal et al. // *Am. J. Ophthalmol.* — 1994. — Vol. 118. — P. 445–450.
25. Inhibition of plaque neovascularization reduces macrophage accumulation and progression of advanced atherosclerosis / K.S. Moulton, K. Vakili, D. Zurakowski et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2003. — Vol. 100, N 8. — P. 4736–4741.
26. Ishihara M. Transport of heparan sulfate into the nuclei of hepatocytes / M. Ishihara, N. Fedarko, E. Conrad // *J. Biol. Chem.* — 1986. — Vol. 261. — P. 13375–13580.
27. Isner J.M. Angiogenesis and vasculogenesis as therapeutic strategies for postnatal neovascularization / J.M. Isner, T. Asahara // *J. Clin. Invest.* — 1999. — Vol. 103, N 9. — P. 1231–1236.
28. KDR (VEGF Receptor 2) Is the Major Mediator of the Hypotensive Effect of VEGF / L. Bing, A.K. Ogasawara, R. Yang et al. // *Hypertension.* — 2002. — Vol. 39. — P. 1095–1100.
29. Leiden J.M. Human gene therapy: the good, the bad, and the ugly / J.M. Leiden // *Circ. Res.* — 2000. — Vol. 86, N 9. — P. 923–925.
30. Lymphangiogenesis and tumor metastasis / M.S. Pepper, J.C. Tille, R. Nisato, M. Skobe // *Cell Tissue Res.* — 2003. — Vol. 314, N 1. — P. 167–177.
31. Moscatelli D. Interaction of basic fibroblast growth factor with extracellular matrix and receptors / D. Moscatelli, R. Flaumenhaft, O. Saskela // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* — 1991. — Vol. 638. — P. 400–402.
32. Nuclear translocation of basic fibroblast growth factor / F. Amalric, V. Baldin, I. Bosc-Bierne et al. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* — 1991. — Vol. 638. — P. 127–138.
33. Percutaneous method of laser transmyocardial revascularization / C.B. Kim, R. Kesten, M. Javier et al. // *Cathet. Cardiovasc. Diagn.* — 1997. — Vol. 40, N 2. — P. 233–238.
34. Placenta growth factor: identification and characterization of a novel isoform generated by RNA alternative splicing / Y. Cao, W.-R. Ji, P. Qi et al. (1997) // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1997. — Vol. 27, N 3. — P. 493–498.
35. Preclinical and clinical studies with recombinant human basic fibroblast growth factor / G. Mazue, F. Bertolero, C. Jacob et al. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* — 1991. — Vol. 638. — P. 329–340.
36. Presence and Regulation of Endocrine Gland Vascular Endothelial Growth Factor / Prokineticin-1 and Its Receptors in Ovarian Cells / T. Kisliouk, N. Levy, A. Hurwitz, R. Meidan // *J. Clin. Endocrin. Metabol.* — 2003. — Vol. 88, N 8. — P. 3700–3707.
37. Richard C. Fibroblast growth factor (FGF)-2 mediates cell attachment through interactions with two FGF receptor-1 isoforms and extracellular matrix or cell-associated heparan sulfate proteoglycans / C. Richard, M. Roghani, D. Moscatelli // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2000. — Vol. 276, N 2. — P. 399–405.
38. Senger D.R. VEGF expression by epithelial and stromal cell compartments: resolving a controversy / D.R. Senger, L. Van De Water // *Am. J. Pathol.* — 2000. — Vol. 157, N 1. — P. 1–3.
39. Stretch-induced VEGF Expression in the Heart / J. Li, T. Hampton, J.P. Morgan et al. // *J. Clin. Invest.* — 1997. — Vol. 100, N 1. — P. 18–24.
40. Therapeutic angiogenesis in chronically ischemic porcine myocardium: comparative effects of bFGF and VEGF / H.G. Chad, S.S. Biswas, B. Yin et al. // *Ann. Thor. Surg.* — 2004. — Vol. 77, N 3. — P. 812–818.
41. Thomas K.A. Purification and characterization of acidic fibroblast growth factor from bovine brain / K.A. Thomas, M. Rios-Candelore, S. Fitzpatrick // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1984. — Vol. 81, N 2. — P. 357–361.
42. Transmyocardial laser revascularization: Histological features in human nonresponder myocardium / N. Gassler, H.O. Wintzer, H.M. Stubbe et al. // *Circulation.* — 1997. — Vol. 95. — P. 371–375.
43. Transmyocardial revascularization: Anatomic evidence of long-term channel potency / D.A. Cooley, O.H. Frazier, K.A. Kadipasaoglu et al. // *Texas Heart Inst. J.* — 1994. — Vol. 21. — P. 220–224.
44. Tumor-induced angiogenesis studied in confrontation cultures of multicellular tumor spheroids and embryoid bodies grown from pluripotent embryonic stem cells / M. Wartenberg, F. Donmez, F.C. Ling et al. // *FASEB J.* — 2001. — Vol. 15, N 6. — P. 995–1005.
45. Vascular endothelial growth factor induces EDRF-dependent relaxation in coronary arteries / D.D. Ku, J.K. Zaleski, S. Litu, T.A. Brock // *Am. J. Physiol.* — 1993. — Vol. 265. — P. 586–592.
46. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-C synergizes with basic fibroblast growth factor and VEGF in the induction of angiogenesis in vitro and alters endothelial cell extracellular proteolytic activity / M.S. Pepper, S.J. Mandriota, M. Jeltsch et al. // *J. Cell. Physiol.* — 1998. — Vol. 177, N 3. — P. 439–452.