

## ПЛАЦЕНТАРНЫЙ ФАКТОР РОСТА В ДИАГНОСТИКЕ И ПРОГНОЗИРОВАНИИ ТЕЧЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Туликов М.В.<sup>1</sup>, Шевченко О.П.<sup>2</sup>, Шевченко А.О.<sup>2</sup>, Гагаев А.В.<sup>1</sup>, Павлов В.В.<sup>1</sup>, Гинзбург Л.М.<sup>3</sup>

УДК: 616.12-005.4-07-037

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Клиническая больница» Управления делами Президента Российской Федерации, Москва

<sup>2</sup> Кафедра кардиологии факультета усовершенствования врачей Российского национального исследовательского медицинского университета, Москва

<sup>3</sup> МУЗ «Люберецкая районная больница № 1», Московская область

### Резюме

Авторы исследовали диагностическое и прогностическое значения плацентарного фактора роста (PIGF) у больных ИБС.

Обследовано 66 больных стабильной стенокардией напряжения (ССН), 32 – нестабильной стенокардией (НС) и 32 – острым инфарктом миокарда (ОИМ); у 21 обследованного не было клинических признаков ИБС. Помимо уровней PIGF в плазме крови, у больных ИБС определяли концентрации ряда воспалительных маркеров – фибриногена, С-реактивного белка (СРБ), неоптерина и гаптоглобина. Влияние уровней PIGF на прогноз изучали на основании наблюдения в течение 3 лет за 66 больными ССН; в качестве конечных точек были приняты развитие острого коронарного синдрома (НС или ОИМ), острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) или смерть от сердечно-сосудистых заболеваний.

Уровни PIGF в плазме крови больных ИБС достоверно коррелируют с концентрациями отдельных воспалительных маркеров (неоптерина, гаптоглобина). Повышенный уровень PIGF может рассматриваться как маркер ОКС и предиктор неблагоприятного прогноза у больных ИБС.

**Ключевые слова:** плацентарный фактор роста, ишемическая болезнь сердца, острый коронарный синдром, прогноз, воспаление, неоангиогенез.

Плацентарный фактор роста (PIGF – placenta growth factor) представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 46–50 кДа, он вырабатывается эндотелиоцитами сосудов и участвует в регуляции процессов неоангиогенеза [1]. Неоангиогенез при ИБС является защитной реакцией, направленной на улучшение перфузии ишемизированного миокарда за счет увеличения количества и размера артериальных коллатералей [2]. Биологическими стимулами неоангиогенеза служат гипоксия, гемодинамическое напряжение на сосудистую стенку и локальный воспалительный процесс, являющийся важным компонентом формирования атеросклеротических бляшек [3, 4]. В то же время, отдельные ангиогенные факторы, такие как PIGF и сосудистый эндотелиальный фактор роста – 1 (Vascular Endothelial Growth Factor – VEGF-1) могут вносить существенный вклад в прогрессирование атеросклероза [5]. Так, в исследовании CAPTURE было показано независимое предикторное значение PIGF в отношении развития острых сердечно-сосудистых событий [6]. Вероятным механизмом является стимулируемая PIGF миграция клеток моноцитарно-макрофагальной системы в атеросклеротическую бляшку [7].

В исследование был включен 151 человек (75 мужчин и 76 женщин) в возрасте от 24 до 78 лет (58,9 ± 12,3 лет).

### PLACENTAL GROWTH FACTOR IN THE DIAGNOSIS AND PROGNOSIS OF CORONARY HEART DISEASE

Tulikov MV, Shevchenko OP, Shevchenko SA, Gagaev AV, Pavlov VV, Ginsburg LM

Исключались лица моложе 20 лет, беременные, а также лица с признаками острых инфекционных, воспалительных или аутоиммунных заболеваний в течение менее 4 недель после наступления полной клинической и лабораторной ремиссии, больные с декомпенсированным сахарным диабетом, выраженной сердечной (ФВЛЖ < 30%), почечной и печеночной недостаточностью.

Общая характеристика больных с различными формами ИБС и группы контроля представлена в таблице 1. Лица без ИБС были моложе, у них были в среднем достоверно более низкие показатели индекса массы тела и уровни общего холестерина в крови.

Диагноз ССН основывался на выявлении типичных приступов стенокардии, купируемых приемом короткодействующих нитропрепаратов, и регистрации преходящих ишемических изменений сегмента ST на ЭКГ во время нагрузочных тестов и суточного Холтер-ЭКГ мониторинга. Диагноз ОИМ основывался на выявлении характерных клинических признаков (ангинозные боли в грудной клетке продолжительностью 30 мин. и более или эквивалентная клиника), повышения в крови уровней тропонина I и T, кардиоспецифических ферментов (МВ-КФК, ЛДГ-1) и других маркеров миолиза (АСТ, миоглобина), а также характерных для ОИМ изменений на ЭКГ, вы-

Табл. 1. Общая характеристика больных ИБС и группы контроля

Показатель	Нет признаков ИБС	Стенокардия напряжения	Нестабильная стенокардия	Инфаркт миокарда
Количество обследованных	21	66	32	32
Мужчины / женщины	9/12	28/38	18/14	20/12
Возраст, годы	38,3 ± 11,2 (24–58)*	60,0 ± 7,6 (43–71)	62,7 ± 10,2 (41–78)	63,5 ± 9,2 (42–75)
Инфаркт миокарда / ОНМК в анамнезе, п	0/0*	14/4	11/3	7/4
Артериальная гипертония, п	0*	61	31	30
Сахарный диабет 2 типа, п	0*	12	5	5
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	24,3 ± 3,6*	28,0 ± 4,8	29,8 ± 2,8	28,2 ± 5,3
Общий холестерин крови, ммоль/л	4,5 ± 2,8*	7,3 ± 1,5	6,8 ± 1,7	6,7 ± 1,6

Примечание: \* – различия статистически достоверны.

явления зон гипокинеза миокарда левого желудочка при Эхо-КГ и зон гипоперфузии миокарда при перфузионной сцинтиграфии. У всех больных с НС наблюдались снижение толерантности к нагрузке, учащение или появление приступов стенокардии в покое, при этом отсутствовали стойкие изменения сегмента ST или зубца T на ЭКГ и лабораторные маркеры острого повреждения миокарда.

Наблюдение проводилось в течение 36 месяцев с момента включения в исследование последнего пациента. В качестве конечных точек были приняты: НС или ОИМ, ОНМК или смерть от сердечно-сосудистых причин.

Определение концентрации PIGF проводилось иммуноферментным методом (ELISA) с помощью реагентов фирмы «R&M Systems» (Англия), чувствительность метода 7 пг/мл. Уровни С-реактивного белка (СРБ) измеряли высокочувствительным методом – иммунотурбодиметрией с латексным усилением («Sclavo Diagnostics», Италия), чувствительность метода 0,6 мг/л. Реактивами этой же фирмы определяли концентрации гаптоглобина, чувствительность метода 0,026 г/л. С помощью иммуноферментного анализа определяли также уровни неоптерина («IBL», Германия, чувствительность метода – 0,7 нмоль/л). Уровни PIGF были определены у всех обследованных, уровни СРБ, фибриногена, гаптоглобина и неоптерина – у 45, 57, 59 и 40 больных ИБС, соответственно. При этом полученные подгруппы по возрасту, половому составу и наличию изучаемых факторов риска были сопоставимы с группой больных ИБС, включенных в исследование.

Исследование одобрено Этическим комитетом ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Статистический анализ результатов исследования проводился с использованием пакета прикладных программ SPSS 18.0 (SPSS Inc., США) и BioStat 2009 (AnalystSoft). Достоверность различий количественных показателей

в двух группах определялась с помощью Z-критерия Манна-Уитни; в трех и более группах использовали критерий Крускала-Уоллиса. Для оценки связи между количественными признаками использовались методы линейной регрессии и корреляции (коэффициент корреляции Пирсона), а для оценки связи количественных и порядковых признаков рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Для оценки диагностической ценности определения уровней PIGF рассчитывали площадь под кривой (ППК) с помощью ROC-анализа (Receiver Operating Characteristics). Анализ неосложненной выживаемости проводился по методу Каплана-Мейера. Расчет выживаемости произведен с момента госпитализации до наступления событий, принятых в качестве конечных точек, для сравнительного анализа выживаемости использовался логранговый критерий. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

Уровни PIGF у обследованных лиц находились в пределах от 7,0 до 56,6 пг/мл (13,7 ± 9,7 пг/мл). У 34 человек уровень PIGF был ниже порога чувствительности используемого метода (< 7 пг/мл).

Уровни PIGF в плазме крови не были связаны с возрастом, полом, индексом массы тела, уровнями липидов крови, степенью артериальной гипертонии, сахарным диабетом, функциональным классом стенокардии и острыми атеротромботическими событиями в анамнезе (ОИМ или ОНМК).

Средние уровни PIGF в плазме крови больных ССН и здоровых лиц не различались (11,2 ± 7,3 против 8,8 ± 6,7 пг/мл,  $p = 0,19$ ). У больных ОКС средние уровни PIGF были достоверно выше, чем у больных ССН (17,3 ± 11,4 против 11,2 ± 7,3,  $p < 0,001$ , рис. 1).

Выявленные достоверные различия уровней PIGF у больных ОКС по сравнению с больными ССН и здоровыми лицами, позволили предположить возможность использования их определения в диагностике ОКС. Так, при оценке диагностической ценности PIGF у больных ИБС с помощью ROC-анализа, площадь под кривой (ППК) составила 0,71. Оптимальное соотношение между чувствительностью и специфичностью отмечено для концентрации PIGF 12,0 пг/мл (чувствительность 65,6% и специфичность 65,5%).

Изучалась диагностическая ценность повышенных уровней PIGF у пациентов с нормальными уровнями тропонинов. Из анализа были исключены 28 больных с ОИМ с повышенными уровнями тропонинов (у 16 из них использовался качественный тест на тропонин I и у 12 – количественное определение тропонинов I и T).

При оценке диагностической ценности определения уровней PIGF в диагностике ОКС у тропонин-негативных обследованных ППК составила 0,76. Оптимальным соотношением чувствительности и специфичности оказалось для концентрации PIGF 12,7 пг/мл (чувствительность 69,4% и специфичность 69,0%, рис. 2).

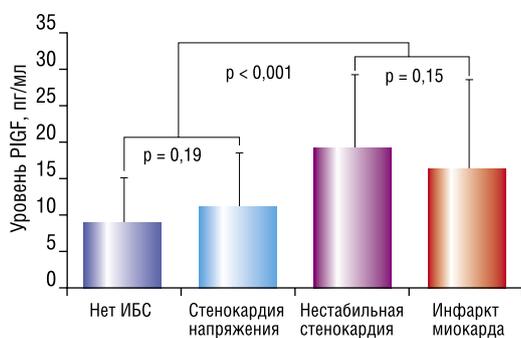


Рис. 1. Средние уровни PIGF у больных ИБС и здоровых лиц

Уровни PIGF у больных ИБС достоверно коррелировали с содержанием в плазме крови гаптоглобина ( $R = 0,31$ ,  $p = 0,017$ ,  $n = 59$ , рис. 3) и неоптерина ( $R = 0,37$ ,  $p = 0,018$ ,  $n = 40$ , рис. 4). Достоверной связи уровней PIGF с концентрациями в крови фибриногена и СРБ выявлено не было.

Критическое стенозирование и атеротромбоз коронарных артерий, лежащие в основе ОКС, сами по себе сопряжены с неблагоприятным сердечно-сосудистым прогнозом, поэтому влияние уровней PIGF в плазме крови на прогноз изучали у 66 больных ИБС со ССН (средний возраст составил  $61,9 \pm 9,1$  года). Период наблюдения составил, в среднем  $862 \pm 407$  дней с момента включения в исследование (от 18 до 1211 дней).

За период наблюдения была зафиксирована 21 конечная точка. Умерли четверо больных: трое – от инфаркта миокарда через 124, 513 и 602 дня, соответственно, и один – от абсцедирующей пневмонии на 43-й день наблюдения. У пятерых больных развился нефатальный инфаркт миокарда, у десяти – НС и у троих – ОНМК по ишемическому типу. Кроме этого, шестеро больных были повторно госпитализированы в связи с причинами, не связанными с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

В группе лиц с низкими уровнями PIGF нежелательные события отмечались у 3 из 26 больных (11,5%), со средними уровнями – у 7 из 20 (35%), с высокими уровнями – у 11 из 20 (55%). Средняя продолжительность периода до наступления нежелательных событий в перечисленных группах составила соответственно  $1145 \pm 41$  день (95% доверительный интервал (ДИ): 1064–1226 дней),  $904 \pm 97$  дней (95% ДИ: 715 – 1094 дня) и  $687 \pm 110$  дней (95% ДИ: 472–901 день). Средняя продолжительность периода до наступления нежелательных событий в группе больных с низкими уровнями PIGF была достоверно выше, чем у больных с высокими уровнями этого маркера ( $p < 0,05$ ).

Сравнение кривых выживаемости без нежелательных событий с помощью логрангового метода показало, что прогноз у больных с низкими уровнями PIGF достоверно лучше, чем у больных с высокими уровнями этого биомаркера ( $p = 0,003$ , рис. 5).

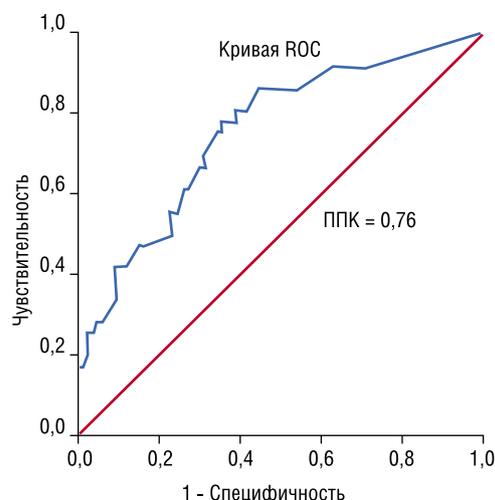


Рис. 2. Кривая ROC для PIGF в диагностике ОКС у тропонин-негативных обследованных

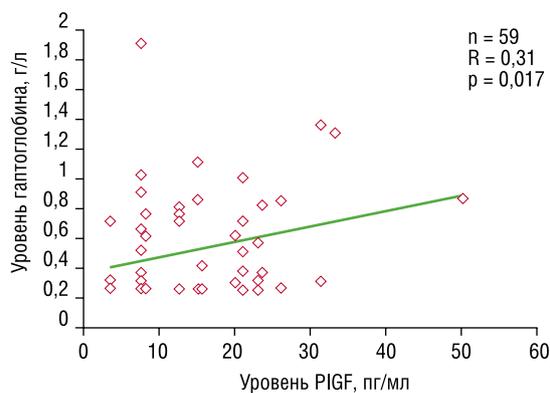


Рис. 3. Взаимосвязь между содержанием в плазме крови PIGF и гаптоглобина

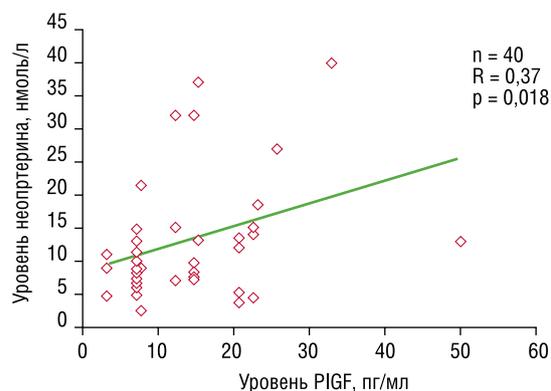


Рис. 4. Взаимосвязь между содержанием в плазме крови PIGF и неоптерина

## Обсуждение

Выявленные более высокие уровни PIGF у больных ОКС могут подтверждать его участие в патогенетических механизмах прогрессирования атеросклероза [8, 9]. Такая взаимосвязь объясняется, вероятно, способностью PIGF к активации моноцитов и привлечению их в сосудистую стенку при атеросклерозе. В настоящее время неоангиогенез признан наиболее частым спутником атеросклероза и рассматривается как маркер прогрессирования заболевания и нестабильности атеросклеротических бляшек [10, 11, 12].

Selvaraj и соавторы в 2003 году доказали, что PIGF оказывает прямое действие на моноциты/макрофаги, связываясь с расположенными на их мембранах Flt-1 (VEGFR-1) рецепторами. В результате происходит активация моноцитарной PI3 – киназы, приводящая к усилению продукции и выброса макрофагами провоспалительных цитокинов и хемокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-8, моноцитарного хемотаксического протеина MCP-1 и макрофагального воспалительного протеина MIP-1 $\beta$ ). Все перечисленные биологически активные молекулы являются участниками воспалительного процесса при атеросклерозе, приводящего к переходу атеросклеротической бляшки в легкоранимую форму. Показано, что MCP-1 и ФНО- $\alpha$  могут провоцировать апоптоз гладкомышечных клеток и эндотелиоцитов посредством активации ядерного фактора NF $\kappa$ B, которая приводит к синтезу внутриклеточных протеолитических ферментов каспаз [14, 15]. Апоптоз эндотелиальных клеток и разрушение межклеточного матрикса являются необходимыми условиями новообразования сосудов, но в условиях существования уязвимых атеросклеротических бляшек (с тонкой фиброзной крышкой, рыхлым липидным ядром) эти процессы могут вызвать их повреждение, приводя к атеротромбозу.

Выявленная корреляция уровней PIGF с концентрациями воспалительных маркеров (неоптерина, гаптоглобина) подтверждает его участие в воспалительной реакции при атеросклерозе. Так, повышение уровня неоптерина и гаптоглобина может происходить вследствие вызванной PIGF активации и миграции моноцитов/макрофагов в сосудистую стенку в зоне формирующейся и растущей атеросклеротической бляшки. Неоптерин является маркером активации клеток моноцитарно-макрофагального звена [16], в то время как синтез гаптоглобина в печени усиливается в ответ на стимуляцию вырабатываемыми ими интерлейкинами. В ряде клинических исследований была выявлена корреляция уровней гаптоглобина с выраженностью поражения сердца при ОКС и неблагоприятным сердечно-сосудистым прогнозом [17, 18]. Также было продемонстрировано повышение уровней неоптерина при ОКС, по сравнению с больными ССН [19].

Неблагоприятное влияние повышенных уровней PIGF на прогноз больных ИБС доказано в ряде исследований [6]. В исследовании CAPTURE (c7E3 Antiplatelet Therapy in Unstable Refractory Angina) уровни PIGF были

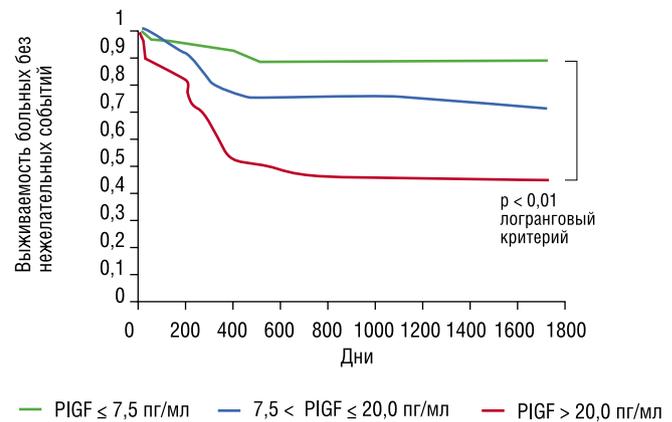


Рис. 5. Выживаемость без нежелательных событий больных с разными уровнями PIGF в крови

определены у 547 пациентов с ОКС. У обследованных с более высокими уровнями PIGF (выше 27 нг/л) риск смерти или нефатального инфаркта миокарда в течение ближайших 72 часов с момента включения в исследование был достоверно выше. Более того, при наблюдении в течение 6 месяцев высокие уровни PIGF сохраняли прогностическую ценность, независимо от уровней сердечного тропонина Т, высокочувствительного СРБ и растворимого CD40 – лиганда.

В другое крупное исследование, проведенное в Германии с 1996 по 1999 год, было включено 626 пациентов с острой болью в груди с малоинформативными изменениями ЭКГ. Уровень PIGF оказался достоверно выше у больных с ОКС по сравнению с больными ССН и пациентами с некоронарным генезом боли в грудной клетке. При этом достоверных различий уровней PIGF у больных с ОИМ без подъема ST и НС выявлено не было. У пациентов без повышения уровня сердечного тропонина Т и высоким уровнем PIGF риск смерти или нефатального ИМ в течение ближайших 30 дней с момента включения в исследование оказался значительно выше (14,8% – по сравнению с 4,9% у пациентов с более низким уровнем PIGF).

Также были опубликованы результаты крупного ретроспективного исследования, посвященного влиянию концентраций PIGF на отдаленный прогноз в отношении риска развития ИБС [20]. Уровни PIGF были определены у 32 826 женщин в 1990-м году в рамках исследования Nurses' Health Study, в ходе 14-летнего наблюдения у 453 из них была выявлена ИБС. При этом ИБС достоверно чаще была выявлена в подгруппе с более высокими уровнями PIGF. Авторы пришли к выводу, что выявление повышенных уровней PIGF у здоровых людей может указывать на неблагоприятный отдаленный прогноз (в течение 10 и более лет), риск ИБС у них выше, даже при поправке в расчетах на сопутствующие заболевания и другие факторы риска ИБС. По их мнению, это подтверждает участие PIGF в ранних стадиях атеросклероза.

**Заключение**

Таким образом, определение уровня PlGF в крови больных ИБС имеет важное клиническое значение. PlGF участвует в патогенезе воспалительных процессов, приводящих к дестабилизации атеросклеротических бляшек, о чем свидетельствует выявление его более высоких уровней у больных ОКС, а также корреляция уровней PlGF с концентрациями воспалительных маркеров гаптоглобина и неоптерина. Повышенные уровни PlGF ( $\geq 12,7$  пг/мл) в плазме крови могут использоваться для диагностики ОКС, в том числе при отсутствии повышения уровней сердечных тропонинов. Более высокие уровни PlGF ( $> 20$  пг/мл) указывают на неблагоприятный прогноз у больных ИБС.

**Литература**

1. Ribatti D. The discovery of the placental growth factor and its role in angiogenesis: a historical review. *Angiogenesis* 2008;11(3):215-21.
2. Fam N.P., Verma S., Kutryk M. et al. Clinician Guide to Angiogenesis. *Circulation* 2003;108:2613-2618.
3. Henry T.D., Annex B.H., Azrin M.A., et al. Final results of the VIVA trial of rhVEGF for human therapeutic angiogenesis. *Circulation* 1999;100 (suppl I):I-476.
4. Lutun A., Tjwa M., Moons L., et al. Revascularization of ischemic tissues by PlGF treatment, and inhibition of tumor angiogenesis, arthritis and atherosclerosis by anti-Flt1. *Nat Med* 2002;8:831-840.
5. Tjwa M., Lutun A., Autiero M., et al. VEGF and PlGF: two pleiotropic growth factors with distinct roles in development and homeostasis. *Cell Tissue Res* 2003;314:5-14.
6. Heesch C., Dimmeler S., Fichtlscherer S., et al. Prognostic value of placental growth factor in patients with acute chest pain. *JAMA* 2004;291:435-441.
7. Pipp F., Heil M., et al. VEGFR-1—Selective VEGF Homologue PlGF Is Arteriogenic. Evidence for a Monocyte-Mediated Mechanism. *Circ Res* 2003;92:378-385.
8. Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-126.
9. Оганов Р.Г., Закирова Н.Э. и др. Иммуновоспалительные реакции при остром коронарном синдроме. Рациональная фармакотерапия в кардиологии 2007;(5):15-19.
10. Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, et al. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. *N Engl J Med* 2003;349:2316-25.
11. Barger AC, Beeuwkes R 3rd, Lainey LL, Silverman KJ. Hypothesis: vasa vasorum and neovascularization of human coronary arteries. A possible role in the pathophysiology of atherosclerosis. *N Engl J Med* 1984;310:175-7.
12. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, et al. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture. Angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:2054-61.
13. Selvaraj S., Giri R., Perelman N., Johnson C., et al. Mechanism of monocyte activation and expression of proinflammatory cytochemokines by placenta growth factor. *Blood*. 2003; 102: 1515-1524.
14. Felmeden D.C., Blann A.D., Lip G.Y.H. Angiogenesis: basic pathophysiology and implications for disease. *European Heart Journal* (2003) 24, 586-603.
15. Geng Y.J., Libby P. Progression of Atheroma: A Struggle between Death and Proliferation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1370-1380.
16. Fuchs D., Hausen A., Reibnegger G., et al. Neopterin as a marker for activated cell-mediated immunity. *Immunol Today*. 1988; 9: 150-155.
17. Johansson B.G., Kindmark C.O., Irele E.Y., Wollheim F.A. Sequential changes of plasma proteins after myocardial infarction. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*1972; 124: 117-126, 134-141.
18. Engström G., Hedblad B., Stavenow L. Fatality of Future Coronary Events Is Related to Inflammation-Sensitive Plasma Proteins. *Circulation*. 2004; 110: 27-31.
19. Gupta S., Fredericks S., Schwartzman R.A., et al. Serum neopterin in acute coronary syndromes. *Lancet*. 1997; 349: 1252-1253.
20. Cassidy A., Chiuve S.E. et al. Disease Risk in Women Potential Role for Plasma Placental Growth Factor in Predicting Coronary Heart. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 134-139.

**Контактная информация**

Михаил Викторович Туликов,  
107150, Москва, ул. Лосиноостровская, д. 45  
e-mail: tulikov-mikhail@yandex.ru