

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

# Циркулирующие эндотелиальные прогениторные клетки как маркер миокардиальной дисфункции ишемического генеза



А. Е. Березин, А. А. Кремзер

Запорожский государственный медицинский университет

**Цель работы** — оценить содержание циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток различных субпопуляций с фенотипами CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>, CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> у пациентов с хронической сердечной недостаточностью ишемического генеза в сопоставлении с их клиническими характеристиками, выраженностью систолической и диастолической дисфункции левого желудочка.

**Материалы и методы.** В исследование включено 153 пациента (86 мужчин) в возрасте 48–62 года с ишемической болезнью сердца при наличии стеноза хотя бы одной коронарной артерии > 50%/перенесенного инфаркта миокарда с зубцом Q и 25 здоровых добровольцев. У 109 (71,2%) больных с ишемической болезнью сердца диагностирована хроническая сердечная недостаточность. Фенотипирование популяций мононуклеарных клеток осуществляли методом проточной цитофлуориметрии с помощью моноклональных антител, меченных флуорохромами. Циркулирующие эндотелиальные прогениторные клетки определяли как CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>. Для идентификации субпопуляций эндотелиальных прогениторных клеток, коэкспрессирующих антиген CD14, дополнительно определяли антигены CD309(VEGFR2) и Tie2.

**Результаты и обсуждение.** У пациентов с ишемической болезнью сердца независимо от наличия хронической сердечной недостаточности традиционные факторы сердечно-сосудистого риска, такие как сахарный диабет 2 типа, гиперлипидемия, артериальная гипертензия, приверженность к курению, способны сохранять негативное влияние на циркулирующие эндотелиальные прогениторные клетки как гемопоэтического, так и негемопоэтического происхождения, обуславливая снижение их уровня. При этом снижение концентрации циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток с фенотипами CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> ассоциируется с тяжестью контрактильной и релаксационной дисфункции миокарда левого желудочка, тогда как уровень мононуклеаров с фенотипами CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup> и CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup> в большей мере отражает распространенность и выраженность атеросклеротического поражения коронарных артерий.

**Выводы.** В когорте пациентов с ишемической болезнью сердца и хронической сердечной недостаточностью наиболее мощным предсказующим потенциалом для снижения циркулирующего уровня эндотелиальных прогениторных клеток обладают функциональный класс хронической сердечной недостаточности, снижение фракции выброса левого желудочка менее 42%, повышение концентрации NT-proBNP более 554 пг/мл, увеличение E/E<sub>m</sub> более 15.

Результаты исследования впервые представлены на Европейском конгрессе по сердечной недостаточности Европейского общества кардиологов (25–28 мая 2013 г., Лиссабон, Португалия).

**Ключевые слова:** циркулирующие эндотелиальные прогениторные клетки, ишемическая болезнь сердца, хроническая сердечная недостаточность.

Вряде ранее проведенных исследований продемонстрирована роль циркулирующих эндоте-

лиальных прогениторных клеток (ЭПК) гемопоэтического происхождения в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний [9, 23]. Так, установлено, что концентрация ЭПК с фенотипом CD34<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> может повышаться у пациентов с инфарктом миокарда, нестабильной стенокардией, острым коронарным синдромом [13, 18] и снижаться при субклиническом атеросклерозе, хронической сердечной недостаточности (ХСН) с систолической дис-

Стаття надійшла до редакції 18 жовтня 2013 р.

Березін Олександр Євгенович, д. мед. н., проф. кафедри 69000, м. Запоріжжя, просп. Маяковського, 26

© О. Е. Березин, О. О. Кремзер, 2013

функцией миокарда [3, 25]. ЭПК обеспечивают эндотелизацию участков васкулярного повреждения, а также ремоделирование внеклеточного матрикса и неоангиогенез [12, 14]. Мобилизация ЭПК, обладающих ангиопоэтическим и органопротекторным потенциалом, регулируется широким спектром провоспалительных цитокинов, сигнальных молекул, включая микро-РНК, факторов, индуцированных ишемией, нейрогормонов, гликопептидов и продуктами оксидантного стресса [13]. Вместе с тем зрелые эндотелиальные клетки могут дифференцироваться также из активированных мононуклеаров, мобилизованных из периферических тканей [1, 5]. При этом ЭПК, экспрессирующие CD34<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> негемопоэтического происхождения, фенотипически не отличимы от примитивных прогениторных клеток иного происхождения и функционально различаются только способностью к колониеобразованию при культивировании [27, 29]. Это создает трудности при идентификации источника продукции ЭПК в случае верификации экспрессии антигена CD34 у CD45-негативных мононуклеаров. Не получено подтверждения факта ассоциации между количеством циркулирующих CD34<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> клеток, с одной стороны, и выраженностью коронарного атеросклероза и выживаемостью пациентов, с другой [7]. Это привело к попыткам определения у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями иных субпопуляций ЭПК, коэкспрессирующих наряду с антигеном CD34<sup>+</sup> также лиганды васкулярного роста VEGFR-2<sup>+</sup> (рецептор 2 для эндотелиального фактора роста — vascular endothelial growth factor receptor-2), CD133<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup> и Tie2<sup>+</sup> (лиганд тирозинкиназы). Полагают, что в состав CD34<sup>+</sup> гранулоцитов, экспрессирующих Tie2<sup>+</sup> и VEGFR-2<sup>+</sup>, входят активированные мононуклеары негемопоэтического происхождения, фенотипически отличающиеся дополнительной экспрессией антигена CD14, проявляющие плюрипотентность и являющиеся потенциальным источником эндотелиоцитов [16]. Для ЭПК фенотипов CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> установлена ассоциация с распространенностью атеросклероза и выживаемостью пациентов с острым коронарным синдромом и инфарктом миокарда [19]. Вместе с тем роль гемопоэтических и негемопоэтических ЭПК в формировании ХСН ишемического генеза не вполне установлена.

**Цель работы** — оценить содержание циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток различных субпопуляций с фенотипами CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>, CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> при хронической сердечной недостаточности ишемического генеза в сопоставлении с их клиническими характеристиками, выраженностью систолической и диастолической дисфункции левого желудочка.

## Материалы и методы

В исследование включено 153 больных (из них 86 мужчин) в возрасте 48—62 года с ангиографически подтвержденной ишемической болезнью сердца (ИБС) при стенозе хотя бы одной коронарной артерии > 50 % или перенесенным инфарктом миокарда с зубцом Q и 25 здоровых добровольцев. У 109 (71,2 %) больных с верифицированной ИБС была диагностирована ХСН с помощью традиционных критериев в соответствии с клиническими рекомендациями [17]. Характеристика пациентов, принявших участие в исследовании, представлена в табл. 1. Все пациенты дали письменное информированное согласие на участие в исследовании. В качестве критериев исключения использовали: инфаркт миокарда с зубцом Q или нестабильную стенокардию на протяжении 30 сут до включения в исследование, стенокардию напряжения IV функционального класса (ФК), неконтролируемую артериальную гипертензию (АГ), острую или хроническую сердечную недостаточность IV ФК, декомпенсированный сахарный диабет, необходимость в проведении инсулинотерапии, тяжелые заболевания печени и почек, онкологические заболевания, симптоматическую АГ, ИМТ более 30 кг/м<sup>2</sup> и менее 15 кг/м<sup>2</sup>, инфекционные заболевания в течение 3 нед до скринирования, перенесенный мозговой инсульт, черепно-мозговую травму в течение 3 мес; критические стенозы/окклюзии уязвимых участков коронарных артерий, включая ствол левой и правой коронарной артерии, требующие немедленного проведения аортокоронарного шунтирования или чрескожного коронарного вмешательства; уровень креатинина плазмы крови более 440 мкмоль/л, скорость клубочковой фильтрации (СКФ) менее 35 мл/(мин · 1,73 м<sup>2</sup>), а также любые другие нарушения, которые, по мнению исследователей, могли препятствовать участию пациентов в исследовании, а также отказ от участия в исследовании по любым причинам.

В целях верификации коронарного атеросклероза пациентам проводили мультиспиральную компьютерную томографию-ангиографию (n = 43) и/или ангиографическое исследование (n = 54).

Структуру стенки коронарной артерии, а также геометрические и композиционные параметры атером измеряли с помощью контрастной спиральной компьютерной томографии-ангиографии [6] на сканерах Somatom Volum Zoom (Siemens, Эрланген, Германия) и GE с 2 рядами детекторов во время задержки дыхания в конце выдоха. После предварительного нативного сканирования вводили неионный контраст «Омнипак» (Amersham Health, Ирландия). Для реконструкции изображения использовали аксиальные томографические срезы шириной 0,6 мм. Кальцификацию коронарных артерий количественно оценивали путем расчета индекса Агатстона (Agatston score index) и измере-

Т а б л и ц а 1

## Общая характеристика участников исследования

Показатель	Здоровые (n = 25)	Пациенты с ангиографически подтвержденной ИБС	
		Без ХСН (n = 44)	ХСН I–IV ФК (n = 109)
Возраст, годы	51,70 ± 6,10	57,20 ± 6,70	59,50 ± 7,30
Мужчины	14 (56,0 %)	29 (65,9 %)	57 (52,3 %)
АГ	–	32 (72,7 %)	67 (61,5 %) ##
Гиперлипидемия	–	19 (43,2 %)	52 (47,7 %)
СД 2 типа	–	17 (38,6 %)	38 (34,5 %)
Семейный анамнез, отягощенный ИБС	2 (8,0 %)	5 (11,4 %)	12 (11,0 %)
Курение	6 (24,0 %)	8 (18,2 %)	24 (22,0 %)
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> (95 % ДИ)	23,3 (20,1–25,1)	23,7 (22,5–27,3)	24,2 (22,0–27,9)
СКФ, мл/(мин · 1,73 м <sup>2</sup> ) (95 % ДИ)	93,5 (88,3–100,3)	82,1 (69,9–93,1)	85,2 (70,3–112,5)
НЬА <sub>1с</sub> , % (95 % ДИ)	3,8 (3,1–4,6)	6,3 (4,4–9,0)	7,0 (4,3–9,2)
Глюкоза натощак, ммоль/л (95 % ДИ)	4,11 (3,2–5,5)	4,80 (3,6–8,5)	5,40 (3,4–9,1)
Общий ХС, ммоль/л (95 % ДИ)	4,1 (3,1–5,0)	5,3 (4,6–6,0)	5,0 (4,2–5,8)
ХС ЛПНП, ммоль/л (95 % ДИ)	2,75 (2,44–3,60)	3,60 (3,20–4,18)	3,02 (2,80–3,90)
ХС ЛПВП, ммоль/л (95 % ДИ)	1,01 (0,92–1,20)	0,94 (0,92–1,06)	0,88 (0,82–0,97)
NT-проBNP, фмоль/мл (95 % ДИ)	21,4 (13,8–46,2)	231,2 (104,8–360,7)*	1533,6 (644,5–2560,6)**
Систолическое артериальное давление, мм рт. ст.	127 ± 6	135 ± 5	129 ± 4
ЧСС, в 1 мин	69 ± 3	68 ± 3	76 ± 6
ФВ ЛЖ, %	65,40 ± 0,87	55,40 ± 0,80	42,80 ± 0,76***
Е/Am	6,10 ± 0,22	12,50 ± 1,20*	16,60 ± 0,94***
Е/Em	7,20 ± 0,19	10,60 ± 0,84	16,60 ± 1,00***
Сопутствующее медикаментозное лечение			
ИАПФ/блокаторы рецепторов ангиотензина	–	44 (100 %)	109 (100 %)
Ацетилсалициловая кислота	–	38 (86,4 %)	101 (92,7 %)
Другие антиагреганты	–	6 (13,6 %)	8 (7,3 %)###
Статины	–	34 (77,3 %)	80 (73,4 %)
Метформин	–	12 (27,3 %)	38 (34,9 %)
Диуретики	–	38 (86,4 %)	91 (83,5 %)
Антагонисты альдостерона	–	11 (25,0 %)	30 (27,5 %)
Индекс Агатстона, НУ (95 % ДИ)	–	610 (422–832)	552 (466–810)
Количество пораженных коронарных артерий			
Одна	–	16 (36,4 %)	20 (18,3 %)###
Две	–	18 (41,0 %)	44 (40,4 %)
Три и больше	–	10 (22,7 %)	43 (39,4 %)###

Различия относительно здоровых лиц статистически значимы: \* p < 0,001.

Различия относительно пациентов с ИБС без ХСН статистически значимы: # p < 0,001; ## p < 0,01; ### p < 0,05.

ИМТ – индекс массы тела; ХС – холестерин; ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности; ХС ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности; NT-проBNP – N-терминальный фрагмент предшественника мозгового натрийуретического пептида; ЧСС – частота сердечных сокращений; ФВ – фракция выброса; ЛЖ – левый желудочек; ИАПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента.

ния массы кальцификации [2]. Мы определяли наличие кальцифицированных атером (САР), некальцифицированных атером, некальцифицированных атеросклеротических бляшек высокой плотности (HD-NCP) и некальцифицированных атеросклеротических бляшек низкой плотности (LD-NCP). Наличие кальцифицированных атером

оценивали при уровнях, равных или более +150 НУ (единиц Хаусфилда [Hounsfield unit]), для HD-NCP – в пределах от +30 до +149 НУ и для LD-NCP – от –100 до +30 НУ [2, 8].

Показатели систолической и диастолической функций оценивали с помощью трансторакальной эхокардиографии по общепринятому методу [24]

на аппарате Acuson (Siemens, Германия) в В-режиме эхолокации и режиме тканевой доплерографии. Конечнодиастолический и конечносистолический объемы ЛЖ измеряли методом Симпсона, а в случае верификации тяжелых нарушений локальной контрактильности миокарда — методом цилиндров. Тканевую доплерографию проводили в 4-, 3- и 2-камерной проекциях в каждом из 16 сегментов ЛЖ и в 4 точках митрального кольца: у основания заднеперегородочной, боковой, нижней и передней стенок ЛЖ [21]. Измеряли пиковые систолическую ( $S_m$ ), раннюю ( $E_m$ ) и позднюю ( $A_m$ ) диастолические миокардиальные скорости митрального кольца с последующим расчетом отношения скорости раннего диастолического наполнения ЛЖ ( $E$ ) к  $A_m$  ( $E/A_m$ ) и  $E_m$  ( $E/E_m$ ).

СКФ вычисляли по формуле MDRD-6 [15].

Содержание NT-proBNP измеряли иммуноэлектрехололюминесцентным методом с использованием наборов R&D Systems (США) на анализаторе Elecsys 1010 (Roche, Mannheim, Германия). Концентрацию общего ХС и ХС ЛПВП определяли ферментативным методом. Содержание ХС ЛПНП рассчитывали по формуле W. T. Friedewald (1972).

Фенотипирование популяций мононуклеарных клеток осуществляли методом проточной цитофлуориметрии с помощью моноклональных антител, меченных флуорохромами FITC (флуоресцеин изотиоцианат) или двойной меткой FITC/PE (фикоэритрин) (BD Biosciences, США), к антигенам CD45, CD34, CD14, Tie2 и CD309(VEGFR2) по методологии HD-FACS (High-Definition Fluorescence Activated Cell Sorter) с обязательным удалением эритроцитов лизирующим буфером в соответствии с протоколом гейтирования ISHAGE [28]. Для каждой из проб анализировали 500 тыс. событий. Циркулирующие ЭПК определяли как CD45-CD34<sup>+</sup>. Для идентификации субпопуляций ЭПК, коэкспрессирующих антиген CD14, дополнительно определяли антигены CD309(VEGFR2) и Tie2. Результаты скатерограмм, полученные при продольном и поперечном рассеивании лазерного луча в проточном цитофлуометре, анализировали по принципу Булина (Boolean principles) для двойных или тройных позитивных событий. Общее количество идентифицированных клеток стандартизировали по отношению к концентрации циркулирующих CD45<sup>+</sup> мононуклеаров.

Дизайн исследования: открытое когортное испытание. Исследователи строго придерживались всех требований, предъявляемых к клиническим испытаниям в соответствии с Хельсинской декларацией прав человека (1964), Конференцией по гармонизации надлежащей клинической практики (GCP-ICH), Конвенцией Совета Европы о защите прав и достоинства человека в связи с использованием достижений биологии и медицины, Конвенцией о правах человека и биомедицине,

включая Дополнительный протокол к Конвенции о биомедицинских исследованиях, и законодательством Украины.

Статистическую обработку результатов проводили в системе SPSS для Windows (версия 20). Все данные представлены как среднее ( $M$ ) и ошибка средней ( $m$ ) или 95% доверительный интервал (ДИ); медиана ( $Me$ ) и межквартильный интервал. Гипотезу о нормальности распределения исследуемых показателей проверяли с использованием критерия Шапиро — Уилка и Колмогорова — Смирнова. При сравнении групп больных по основным показателям (в зависимости от типа распределения анализируемых показателей) использовали непарный  $t$ -критерий Стьюдента или  $U$ -критерий Манна — Уитни. При парных сравнениях показателей внутри групп применяли парный критерий Вилкоксона. Сравнения категориальных переменных между группами проводили с использованием теста  $\chi^2$  и точного критерия Фишера  $F$ . Концентрации циркулирующих ЭПК, NT-proBNP не имели нормального распределения, тогда как распределение содержания общего холестерина и его фракций отличалось нормальным характером (оценено с помощью теста Колмогорова — Смирнова). Потенциальные факторы, которые могли бы быть связаны с концентрацией циркулирующих ЭПК, первоначально определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), а затем все идентифицированные факторы с уровнем статистической значимости  $p < 0,1$  дополнительно изучали в многофакторном дисперсионном анализе. ROC (Receive Operation Curve) анализ проведен для идентификации оптимальных точек разделения величины ФВ ЛЖ, отношения  $E/E_m$  и концентрации NT-proBNP, оказывающих наиболее серьезное влияние в отношении снижения циркулирующих ЭПК. Величину отношения шансов (ОШ) и 95% ДИ рассчитывали для всех независимых предикторов снижения концентрации циркулирующих ЭПК. Результаты считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## Результаты

Среди больных ИБС как с ХСН, так и без нее не обнаружено существенных различий по возрастным и гендерным признакам, частоте СД, увеличению ИМТ, СКФ,  $HbA_{1c}$ , уровню глюкозы натощак, концентрации креатинина в крови, ХС, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП (см. табл. 1). В то же время у больных ИБС с ХСН достоверно чаще, чем у больных без ХСН, наблюдали АГ и гиперлипидемию. Вполне ожидаемыми были достоверное снижение у больных ХСН величины ФВ ЛЖ, повышение отношений  $E/A_m$ ,  $E/E_m$  и NT-proBNP (см. табл. 1). При анализе медикаментозного лечения не выявлено существенных различий между группами больных,

за исключением применения антиагрегантов, отличных от ацетилсалициловой кислоты. Обращает на себя внимание статистически значимое увеличение частоты кальцифицированных атером у больных с документированной ХСН при отсутствии существенных различий показателя частоты некальцифицированных атером. Необходимо отметить, что многососудистое поражение чаще встречалось у больных ХСН, тогда как однососудистое — у пациентов без ХСН ( $p < 0,05$ )).

Частота различных фенотипов циркулирующих CD34<sup>+</sup> мононуклеаров представлена в табл. 2. У пациентов с ИБС содержание циркулирующих субпопуляций мононуклеаров с фенотипами CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup> и CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup> достоверно не отличалось от таковых у здоровых лиц. Концентрация циркулирующих субпопуляций клеток с фенотипом CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> у больных ИБС была статистически значимо ( $p < 0,01$  для всех случаев) ниже, чем у здоровых (на 44,0 и 53,2 % соответственно). При этом в двух группах больных ИБС среднее содержание CD34<sup>+</sup> мононуклеаров не отличалось. В то же время, уровень циркулирующих ЭПК с фенотипами CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> у пациентов с документиро-

ванной ХСН был ниже по сравнению с таковым у больных без ХСН на 53,5 % ( $p < 0,05$ ) и на 80 % ( $p < 0,001$ ) соответственно.

У больных ХСН прослеживается отчетливая тенденция к снижению уровня циркулирующих ЭПК различных популяций по мере повышения ФК NYHA (табл. 3). При этом статистически значимые различия между содержанием клеток CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup> обнаруживали у пациентов с ХСН III–IV ФК по сравнению с ХСН I–II ФК. Достоверное снижение уровня ЭПК с фенотипом CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> отмечено уже у пациентов с ХСН II–IV ФК по сравнению с ХСН I ФК.

При унивариантном регрессионном анализе выявлены устойчивая позитивная взаимосвязь между уровнем циркулирующих ЭПК с фенотипом CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup> с ФВ ЛЖ ( $r = 0,686$ ;  $p = 0,001$ ) и негативная ассоциация с ФК по NYHA ( $r = -0,761$ ;  $p = 0,001$ ), E/Am ( $r = -0,566$ ;  $p = 0,001$ ), E/Em ( $r = -0,568$ ;  $p = 0,001$ ), СКФ ( $r = -0,561$ ;  $p = 0,025$ ) и концентрацией NT-proBNP ( $r = -0,553$ ;  $p = 0,001$ ). Содержание циркулирующих ЭПК с фенотипом CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup> устойчиво ассоциировалось в виде негативной линейной регрессии с ФК по NYHA

Т а б л и ц а 2

Частота регистрации различных фенотипов циркулирующих CD34<sup>+</sup> мононуклеаров по отношению к общему количеству CD45<sup>+</sup> лейкоцитов

Фенотип клеток	Здоровые (n = 25)	Пациенты с ИБС (n = 153)		
		В целом (n = 153)	Без ХСН (n = 44)	ХСН I–IV ФК (n = 109)
CD45 <sup>+</sup> CD34 <sup>+</sup> , %	1,90 (1,49–2,10)	1,76 (1,60–1,95)	1,79 (1,66–2,02)	1,282 (1,21–1,528)
CD45 <sup>-</sup> CD34 <sup>+</sup> · 10 <sup>-4</sup> , %	1,00 (0,69–1,35)	0,93 (0,85–1,06)	0,95 (0,89–1,10)	0,727 (0,54–0,913)
CD14 <sup>+</sup> CD309 <sup>+</sup> · 10 <sup>-4</sup> , %	71,00 (61,50–96,00)	39,12 (24,50–58,60)*	57,00 (43,20–81,50)	19,18 (15,00–24,50)#
CD14 <sup>+</sup> CD309 <sup>+</sup> Tie2 <sup>+</sup> · 10 <sup>-4</sup> , %	7,70 (4,20–12,20)	3,60 (0,70–1,60)*	5,50 (3,05–8,15)	0,77 (0,41–1,10)#

Значения представлены как медиана и 25–75 % межквартильный интервал, значения достоверности различий получены с помощью двустороннего теста Манна – Уитни.

Различия относительно здоровых лиц статистически значимы: \*  $p < 0,001$ .

Различия относительно пациентов с ИБС без ХСН статистически значимы: #  $p < 0,001$ .

Т а б л и ц а 3

Содержание различных популяций ЭПК у пациентов с ХСН ишемического генеза I–IV ФК по NYHA (n = 109)

Фенотип ЭПК	I ФК (n = 28)	II ФК (n = 34)	III ФК (n = 36)	IV ФК (n = 11)
CD45 <sup>+</sup> CD34 <sup>+</sup> , %	1,65 (1,44–1,84)	1,39 (1,11–1,59)	1,10 (1,00–1,20)*	0,94 (0,73–1,16)**
CD45 <sup>-</sup> CD34 <sup>+</sup> · 10 <sup>-4</sup> , %	0,96 (0,88–1,04)	0,87 (0,79–0,98)**	0,62 (0,51–0,75)**	0,24 (0,12–0,43)** <sup>‡</sup>
CD14 <sup>+</sup> CD309 <sup>+</sup> · 10 <sup>-4</sup> , %	25,73 (23,75–27,85)	22,42 (20,48–25,36)*	16,26 (15,47–17,15)**	8,13 (5,83–9,25)**
CD14 <sup>+</sup> CD309 <sup>+</sup> Tie2 <sup>+</sup> · 10 <sup>-4</sup> , %	1,13 (0,87–1,44)	1,00 (0,67–1,24)*	0,54 (0,39–0,75)** <sup>‡</sup>	0,24 (0,15–0,54)**

Значения представлены как медиана и 25–75 % межквартильный интервал, значения достоверности различий получены с помощью двустороннего теста Манна – Уитни.

Различия относительно пациентов с ХСН I ФК статистически значимы: \*  $p < 0,001$ ; \*\*  $p < 0,05$ .

Различия относительно пациентов с ХСН II ФК статистически значимы: #  $p < 0,001$ ; ##  $p < 0,01$ .

Различия относительно пациентов с ХСН III ФК статистически значимы: ‡  $p < 0,001$ .

( $r = -0,819$ ;  $p = 0,001$ ), с СД 2 типа ( $r = -0,614$ ;  $p = 0,001$ ), концентрацией NT-проBNP в крови ( $r = -0,605$ ;  $p = 0,002$ ), СКФ ( $r = -0,423$ ;  $p = 0,012$ ), АГ ( $r = -0,240$ ;  $p = 0,026$ ), LD-CAP ( $r = -0,508$ ;  $p = 0,001$ ), приверженностью к курению ( $r = -0,222$ ;  $p = 0,040$ ) и количеством пораженных коронарных артерий ( $r = -0,364$ ;  $p = 0,002$ ). Кроме того, установлена позитивная ассоциация между концентрациями ЭПК с фенотипом CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup> и ФВ ЛЖ ( $r = 0,723$ ;  $p = 0,001$ ), отношениями E/Am ( $r = 0,52$ ;  $p = 0,0024$ ) и E/Em ( $r = 0,60$ ;  $p = 0,001$ ), а также с величиной индекса Агатстона ( $r = 0,467$ ;  $p = 0,001$ ).

Содержание субпопуляции ЭПК с фенотипом CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> позитивно ассоциировалось с ФВ ЛЖ ( $r = 0,785$ ;  $p = 0,001$ ), отношением E/Em ( $r = 0,52$ ;  $p = 0,001$ ), величиной индекса Агатстона ( $r = 0,520$ ;  $p = 0,001$ ), отношением E/Am ( $r = 0,48$ ;  $p = 0,001$ ) и негативно — с ФК по NYHA ( $r = -0,889$ ;  $p = 0,001$ ), СД 2 типа ( $r = -0,50$ ;  $p = 0,001$ ), LD-CAP ( $r = -0,49$ ;  $p = 0,001$ ), содержанием NT-проBNP в крови ( $r = -0,662$ ;  $p = 0,001$ ), ХС ЛПНП ( $r = -0,322$ ;  $p = 0,001$ ), АГ ( $r = -0,320$ ;  $p = 0,005$ ).

Для CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> обнаруживали позитивную ассоциацию с ФВ ЛЖ ( $r = 0,639$ ;  $p = 0,001$ ), отношением E/Em ( $r = 0,52$ ;  $p = 0,001$ ), величиной индекса Агатстона ( $r = 0,538$ ;  $p = 0,001$ ), СКФ ( $r = 0,486$ ;  $p = 0,002$ ) и негативную — с ФК по NYHA ( $r = -0,657$ ;  $p = 0,001$ ), СД 2 типа ( $r = -0,610$ ;  $p = 0,001$ ), CAP ( $r = -0,598$ ;  $p = 0,001$ ), LD-CAP ( $r = -0,594$ ;  $p = 0,001$ ), содержанием NT-проBNP в крови ( $r = -0,473$ ;  $p = 0,001$ ), ХС ЛПНП ( $r = -0,354$ ;  $p = 0,001$ ), общего ХС ( $r = -0,258$ ;  $p = 0,043$ ), приверженностью к курению ( $r = -0,285$ ;  $p = 0,042$ ), ИМТ ( $r = -0,272$ ;  $p = 0,046$ ).

Для идентификации потенциальных факторов, непосредственно влияющих на содержание циркулирующих ЭПК, с фенотипами CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>, CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> использован мультивариантный пошаговый логистический регрессионный анализ. Результаты последнего позволили установить статистически достоверное влияние ФК ХСН, ряда сердечно-сосудистых факторов риска (СД 2 типа, уровень NT-проBNP в крови, общего ХС, ХС ЛПНП, СКФ), ФВ ЛЖ, выраженности диастолической дисфункции ЛЖ, оцененной по величине E/Em и E/Am, а также тяжести коронарной кальцификации, оцененной по индексу Агатстона, на комбинированную зависимую переменную, представляющую собой содержание CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>, CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> субпопуляций ЭПК ( $F = 46,16$ ;  $p < 0,001$ ; величина  $\lambda$  Уилкса = 0,05; частичная  $\eta^2 = 0,72$ ).

Дополнительный анализ каждой из зависимых переменных показал влияние ФК по NYHA ( $F = 0,40$ ;  $p = 0,012$ ; частичная  $\eta^2 = 0,48$ ), величины индекса Агатстона ( $F = 0,34$ ;  $p = 0,028$ ; частичная  $\eta^2 = 0,36$ ), ФВ ЛЖ ( $F = 0,33$ ;  $p = 0,006$ ; частичная  $\eta^2 = 0,36$ ),

NT-проBNP ( $F = 0,32$ ;  $p = 0,004$ ; частичная  $\eta^2 = 0,30$ ), E/Em ( $F = 0,32$ ;  $p = 0,001$ ; частичная  $\eta^2 = 0,31$ ) на содержание циркулирующих ЭПК с фенотипом CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>. При этом мы не обнаружили независимого влияния традиционных факторов сердечно-сосудистого риска (курение, СД 2 типа, гиперлипидемия) на ЭПК с фенотипом CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>.

На уровень циркулирующих ЭПК с фенотипом CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup> в большей мере влияли ФК ХСН ( $F = 0,44$ ;  $p = 0,02$ ; частичная  $\eta^2 = 0,42$ ), ФВ ЛЖ ( $F = 0,39$ ;  $p = 0,004$ ; частичная  $\eta^2 = 0,36$ ), уровень NT-проBNP ( $F = 0,39$ ;  $p = 0,001$ ; частичная  $\eta^2 = 0,34$ ), отношение E/Em ( $F = 0,38$ ;  $p = 0,002$ ; частичная  $\eta^2 = 0,34$ ), индекс Агатстона ( $F = 0,36$ ;  $p = 0,002$ ; частичная  $\eta^2 = 0,32$ ), СД 2 типа ( $F = 0,32$ ;  $p = 0,005$ ; частичная  $\eta^2 = 0,30$ ).

Кроме того, установлено влияние ФК по NYHA ( $F = 0,46$ ;  $p = 0,001$ ; частичная  $\eta^2 = 0,53$ ), ФВ ЛЖ ( $F = 0,42$ ;  $p = 0,002$ ; частичная  $\eta^2 = 0,52$ ), уровня NT-проBNP ( $F = 0,39$ ;  $p = 0,002$ ; частичная  $\eta^2 = 0,52$ ), СД 2 типа ( $F = 0,38$ ;  $p = 0,016$ ; частичная  $\eta^2 = 0,33$ ), отношения E/Em ( $F = 0,38$ ;  $p = 0,002$ ; частичная  $\eta^2 = 0,31$ ), ХС ЛПНП ( $F = 0,38$ ;  $p = 0,018$ ; частичная  $\eta^2 = 0,30$ ) на концентрацию ЭПК с фенотипом CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>.

В отношении циркулирующего уровня ЭПК, экспрессирующих антигены CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup>, обнаружено существенное влияние ФК по NYHA ( $F = 0,49$ ;  $p = 0,001$ ; частичная  $\eta^2 = 0,55$ ) и некоторых факторов сердечно-сосудистого риска, таких как СД 2 типа ( $F = 0,41$ ;  $p = 0,001$ ; частичная  $\eta^2 = 0,60$ ), СКФ ( $F = 0,40$ ;  $p = 0,002$ ; частичная  $\eta^2 = 0,50$ ), а также уровня NT-проBNP в крови ( $F = 0,32$ ;  $p = 0,024$ ; частичная  $\eta^2 = 0,32$ ), ИМТ ( $F = 0,36$ ;  $p = 0,004$ ; частичная  $\eta^2 = 0,32$ ), E/Em ( $F = 0,36$ ;  $p = 0,008$ ; частичная  $\eta^2 = 0,32$ ), многососудистого поражения коронарных артерий ( $F = 0,36$ ;  $p = 0,002$ ; частичная  $\eta^2 = 0,30$ ) и величины индекса Агатстона ( $F = 0,34$ ;  $p = 0,004$ ; частичная  $\eta^2 = 0,31$ ).

С помощью ROC (Receive Operation Curve) анализа дополнительно оценили наиболее оптимальные значения ФВ ЛЖ, отношения E/Em и концентрации NT-проBNP, оказывающих наиболее выраженное влияние на комбинированную зависимую переменную, представляющую собой содержание субпопуляций ЭПК CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>, CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup>. Оказалось, что точка разделения (cutoff point) для ФВ ЛЖ, отношения E/Em и концентрации NT-проBNP составляет 42% (AUC [area under curve — площадь под кривой] = 76,4%; 95% ДИ 69—81%; чувствительность 68,6%; специфичность 74,2%;  $p = 0,001$ ); 15 ед. (AUC = 66,2%; 95% ДИ 56—75%; чувствительность 62,2%; специфичность 72,6%;  $p = 0,002$ ) и 554 пг/мл (AUC = 78,6%; чувствительность 72,1%; специфичность 80,6%;  $p = 0,001$ ) соответственно. Учитывая эти результаты после предварительной коррекции данных унивариантной

регрессионной модели в зависимости от возраста, гендерной принадлежности, ИМТ, СКФ, мы выполнили мультивариантную статистику с расчетом ОШ снижения уровня циркулирующих ЭПК с фенотипами CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>, CD45-CD34<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> для пациентов с ИБС (табл. 4). Кроме того, обнаружили, что наиболее важными независимыми предикторами снижения уровня циркулирующих ЭПК с фенотипом CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> являются ФК ХСН (ОШ 1,65; 95 % ДИ 1,44–1,94; p = 0,001), ФВ ЛЖ менее 42 % (ОШ 1,50; 95 % ДИ 1,40–1,80; p = 0,001), NT-proBNP > 554 пг/мл (ОШ 2,13; 95 % ДИ 1,94–2,48; p = 0,001), гиперлипидемия (ОШ 1,12; 95 % ДИ 1,05–1,23; p = 0,005), E/Em > 15 (ОШ 2,00; 95 % ДИ 1,75–2,26; p = 0,001), а также многососудистое поражение коронарных артерий (ОШ 1,30; 95 % ДИ 1,28–1,44; p = 0,001). Таким образом, наибольшее предсказующее значение для снижения уровня циркулирующих потенциальных ангиопотетических ЭПК имеют ФК по NYHA, снижение ФВ ЛЖ менее 42 %, повышение концентрации NT-proBNP более 554 пг/мл, увеличение отношения E/Em более 15. При этом влияние таких традиционных факторов риска, как АГ, гиперлипидемия, СД 2 типа, на снижение концентрации циркулирующих ЭПК сохраняется преимущественно для мононуклеаров с фенотипами CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup> и CD45-CD34<sup>+</sup>.

Пул ЭПК, коэкспрессирующих универсальные рецепторы для тирозинкиназы (Tie2) и васкуляр-

ного эндотелиального фактора роста (CD309), в большей мере ассоциируется с содержанием NT-proBNP в крови, тяжестью контрактильной и релаксационной дисфункции, а также выраженностью клинических проявлений ХСН.

### Обсуждение

Исследованиями [18, 26] установлено, что ЭПК в крови представляют собой унипотентные линии стволовых клеток и играют важную роль в репарации тканей, неоваскуляризации и ангиогенезе. В результате исследования установлено, что у больных ИБС независимо от наличия ХСН и ее отсутствия традиционные факторы сердечно-сосудистого риска, такие как СД 2 типа, гиперлипидемия, АГ, способны негативно влиять на уровень циркулирующих ЭПК посредством снижения интенсивности дифференцировки гемопоэтических и негемопоэтических проангиогенных моноцитов в эндотелиоциты. Негативную ассоциацию различных факторов сердечно-сосудистого риска с количеством циркулирующих ЭПК обнаруживали и другие исследователи [4, 30]. При этом подчеркивали, что оценка индивидуальной величины риска, основанная на учете традиционных факторов риска, не оптимальна [4, 16]. Мы согласны с мнением G.J. Padfield, O. Tura-Ceide, E. Freyer и соавторов [19], что уровень клеток CD45-CD34<sup>+</sup> может косвенно отражать распространенность

Таблица 4

**Независимые предикторы снижения циркулирующего уровня ЭПК с фенотипами CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>, CD45-CD34<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> (результаты мультивариантного пошагового регрессионного анализа)**

Фактор	CD45 <sup>+</sup> CD34 <sup>+</sup>		CD45-CD34 <sup>+</sup>		CD14 <sup>+</sup> CD309 <sup>+</sup>		CD14 <sup>+</sup> CD309 <sup>+</sup> Tie2 <sup>+</sup>	
	ОШ (95 % ДИ)	p	ОШ (95 % ДИ)	p	ОШ (95 % ДИ)	p	ОШ (95 % ДИ)	p
ФК ХСН	1,32 (1,18–1,55)	0,008	1,45 (1,12–1,88)	0,008	1,86 (1,28–2,15)	0,001	1,65 (1,44–1,94)	0,001
ФВ ЛЖ < 42 %	1,30 (1,09–1,60)	0,002	1,39 (1,15–1,50)	0,009	1,99 (1,75–2,30)	0,001	1,50 (1,40–1,80)	0,001
СД 2 типа	1,28 (1,11–1,36)	0,005	1,21 (1,10–1,40)	0,005	1,20 (1,11–1,36)	0,005	1,16 (1,06–1,26)	0,001
Индекс Агатстона	1,16 (1,06–1,22)	0,008	1,20 (1,15–1,27)	0,001	1,20 (1,09–1,31)	0,001	1,21 (1,11–1,38)	0,001
Гиперлипидемия	1,10 (1,02–1,28)	0,030	1,12 (1,05–1,23)	0,030	1,13 (1,06–1,22)	0,002	1,12 (1,05–1,23)	0,024
АГ	0,96 (0,88–1,04)	0,002	1,10 (1,01–1,15)	0,002	1,06 (1,08–1,14)	0,001	1,18 (1,03–1,37)	0,001
NT-proBNP > 554 пг/мл	1,29 (1,06–1,55)	0,032	1,36 (1,14–1,68)	0,001	2,06 (1,80–2,54)	0,002	2,13 (1,94–2,48)	0,001
E/Em > 15	1,06 (0,98–1,11)	0,044	1,18 (1,15–1,22)	0,001	1,80 (1,34–2,02)	0,001	2,00 (1,75–2,26)	0,001
Многососудистое поражение	1,05 (0,92–1,12)	0,001	1,07 (0,98–1,18)	0,001	1,10 (1,04–1,17)	0,001	1,30 (1,28–1,44)	0,001

атеросклероза и коррелировать с количеством потенциально угрожаемых атером. Действительно, антиген CD34, являясь одновременно маркером гемопоэтических ЭПК, лигандом для E-селектина и индикатором клеточной адгезии, может отражать напряженность процессов реэндотелизации при атеротромбозе различной локализации [20]. В связи с этим у пациентов со стабильной ИБС циркулирующий уровень ЭПК, идентифицируемых как CD34<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup>, может существенно не отличаться от такового у здоровых лиц и проявлять тенденцию к снижению у пациентов с ХСН. При этом нельзя исключить и влияние медикаментозного лечения участников исследования. Так, более 70 % пациентов получали статины, а 25 % больным назначали антагонисты минералкортикоидных рецепторов. Роль обоих классов лекарственных средств в мобилизации ЭПК активно изучается [10, 22]. Это дает возможность предположить существование связи между использованием этих препаратов и относительно мало-выраженными изменениями общего пула ЭПК с фенотипом CD34<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> у пациентов с ИБС без ХСН. С другой стороны, при отсутствии клинически значимой провоспалительной активации, опосредованной, в частности, глубоким нарушением микроциркуляции, свойственной пациентам с манифестной ХСН преимущественно со сниженной глобальной систолической функцией, уровень циркулирующих ЭПК с фенотипом CD34<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> может не в полной мере отражать риск прогрессирования дисфункции миокарда [11]. Можно предположить, что вовлекаемые в неангиогенез, репарацию тканей и кардиоваскулярное ремоделирование ЭПК, коэкспрессирующие рецепторы для VEGF и тирозинкиназы в значительной мере обеспечивают напряженность адаптивного сдвига, препятствующего манифестации ХСН как качественно нового патологического состояния. При этом дефицит ангиопоэтических ЭПК с фенотипами CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> можно рассматривать как индикатор тяжести ХСН ишемического генеза даже в том случае, когда содержание NT-proBNP находится в пределах «серой» зоны [17]. Результаты нашего исследования подтверждают гипотезу о том, что у пациентов с ангиографически подтвержденной ИБС уровень циркулирующих ЭПК с фенотипами CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> достоверно ниже, чем у здоровых добровольцев, и в большей мере зависит от наличия ХСН и количества факторов сердечно-сосудистого риска, чем от выраженности коронарного атеросклероза. При этом не исключается, что снижение общего количества циркулирующих ЭПК с ангиопоэтическим потенциалом (CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup>) и формирующаяся их дисфункция могут отражаться на прогрессировании кардиоваскулярного ремо-

делирования [3], тогда как уровень ЭПК с фенотипом CD34<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> в большей мере ассоциируется распространенностью атеросклеротического поражения коронарных артерий [1, 31]. Несмотря на то что уровень циркулирующих ЭПК с фенотипами CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>, CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> демонстрирует отчетливое снижение по мере увеличения ФК ХСН, мультивариантный анализ позволил установить, что уровни ЭПК с фенотипами CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup> и CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup> ассоциируются и с традиционными факторами сердечно-сосудистого риска. Напротив, концентрация в крови CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> мононуклеаров в большей мере коррелирует с выраженностью нарушений систолической и диастолической функций миокарда ЛЖ, а также ФК по NYHA и концентрацией NT-proBNP в крови. При этом можно предположить, что негативное влияние факторов сердечно-сосудистого риска, включая распространенность и тяжесть атеросклероза коронарных артерий, в отношении манифестации ХСН ишемического генеза, вероятно, опосредуется дефицитом гемопоэтических циркулирующих ЭПК с фенотипами CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup> и CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>. В то же время мобилизация ЭПК негемопоэтического происхождения с фенотипами CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> из периферических тканей существенным образом снижается еще на этапе формирования асимптомной дисфункции миокарда ЛЖ и в дальнейшем является важным предиктором прогрессирования ХСН ишемического генеза.

## Выводы

У пациентов с документированной ишемической болезнью сердца независимо от наличия хронической сердечной недостаточности традиционные факторы сердечно-сосудистого риска, такие как сахарный диабет 2 типа, гиперлипидемия, артериальная гипертензия, приверженность к курению, способны сохранять негативное влияние на циркулирующие эндотелиальные прогениторные клетки как гемопоэтического, так и негемопоэтического происхождения, обуславливая снижение их уровня.

У больных ишемической болезнью сердца снижение концентрации циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток с фенотипами CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> ассоциируется с тяжестью контрактильной и релаксационной дисфункции миокарда левого желудочка, тогда как уровень мононуклеаров с фенотипами CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup> и CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup> в большей мере отражает распространенность и выраженность атеросклеротического поражения коронарных артерий.

В когорте пациентов с хронической сердечной недостаточностью ишемического генеза наиболее

мощным предсказующим потенциалом в отношении снижения уровня циркулирующих потенциальных ангиопоэтических эндотелиальных прогениторных клеток обладают функциональный класс хронической сердечной недостаточности, сниже-

ние фракции выброса левого желудочка менее 42 %, повышение концентрации NT-проBNP более 554 пг/мл, увеличение отношения E/E<sub>m</sub> более 15.

**Конфликт интересов:** не декларируется.

## Литература

- Adams V., Lenk K., Linke A. et al. Increase of circulating endothelial progenitor cells in patients with coronary artery disease after exercise-induced ischemia // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2004. – Vol. 24. – P. 684–690.
- Agatston A.S., Janowitz W.R., Hildner F.J. et al. Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 1994. – Vol. 15 (4). – P. 827–832.
- Alba A.C., Lalonde S.D., Rao V. et al. Circulating Proangiogenic Progenitor Cells Independently Predict Functional Capacity in Heart Failure Patients // *Can. J. Cardiol.* – 2012. – Nov 8. pii: S0828-282X(12)01215-9. [Epub ahead of print]
- Bakogiannis C., Tousoulis D., Androulakis E. et al. Circulating endothelial progenitor cells as biomarkers for prediction of cardiovascular outcomes // *Curr. Med. Chem.* – 2012. – Vol. 19(16). – P. 2597–2604.
- Banerjee S., Brilakis E., Zhang S. et al. Endothelial progenitor cell mobilization after percutaneous coronary intervention // *Atherosclerosis.* – 2006. – Vol. 189(1). – P. 70–75.
- Bluemke D.A., Achenbach S., Budoff M. et al. Noninvasive coronary artery imaging: magnetic resonance angiography and multidetector computed tomography angiography: a scientific statement from the American Heart Association Committee on Cardiovascular Imaging and Intervention, and the Councils on Clinical Cardiology and Cardiovascular Disease in the Young // *Circulation.* – 2008. – Vol. 118. – P. 586–606.
- Bozdog-Turan I., Turan R.G., Paranskaya L. et al. Correlation between the functional impairment of bone marrow-derived circulating progenitor cells and the extend of coronary artery disease // *J. Transl. Med.* – 2012. – Vol. 10. – P. 143.
- Budoff M.J., Achenbach S., Blumenthal R.S. et al. Intervention AHACoCIa, Intervention AHACoCRa, American Heart Association Committee on Cardiac Imaging CoCC. Assessment of coronary artery disease by cardiac computed tomography: a scientific statement from the American Heart Association Committee on Cardiovascular Imaging and Intervention, Council on Cardiovascular Radiology and Intervention, and committee on Cardiac Imaging, Council on Clinical Cardiology // *Circulation.* – 2006. – Vol. 114. – P. 1761–1791.
- Chen J.Z., Zhang F.R., Tao Q.M. et al. Number and activity of endothelial progenitor cells from peripheral blood in patients with hypercholesterolaemia // *Clin. Sci. (Lond).* – 2004. – Vol. 107. – P. 273–280.
- Dimmeler S., Aicher A., Vasa M. et al. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via the PI 3-kinase/Akt pathway // *J. Clin. Invest.* – 2001. – Vol. 108. – P. 391–397.
- Fadini G.P., Baesso I., Albiero M. et al. Technical notes on endothelial progenitor cells: ways to escape from the knowledge plateau // *Atherosclerosis.* – 2008. – Vol. 197, N 2. – P. 496–503.
- Fadini G.P., Maruyama S., Ozaki T. et al. Circulating progenitor cell count for cardiovascular risk stratification: a pooled analysis // *PLoS ONE.* – 2010. – Vol. 5. – P. e11488.
- Hill J.M., Zalos G., Halcox J.P. et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – Vol. 348. – P. 593–600.
- Hirschi K.K., Ingram D.A., Yoder M.C. Assessing identity, phenotype, and fate of endothelial progenitor cells // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2008. – Vol. 28, N 9. – P. 1584–1595.
- Levey A.S., Stevens L.A., Schmid C.H. et al. for the CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate // *Ann. Intern. Med.* – 2009. – Vol. 150(9). – P. 604–612.
- Liew A., Barry F., O'Brien T. Endothelial progenitor cells: diagnostic and therapeutic considerations // *Bioessays.* – 2006. – Vol. 28(3). – P. 261–270.
- McMurray J.J.V., Adamopoulos S., Anker S. D. et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012 // *Eur. Heart J.* – 2012. – Vol. 33. – P. 1787–1847.
- Morishita T., Uzui H., Nakano A. et al. Number of endothelial progenitor cells in peripheral artery disease as a marker of severity and association with pentraxin-3, malondialdehyde-modified low-density lipoprotein and membrane type-1 matrix metalloproteinase // *J. Atheroscler. Thromb.* – 2012. – Vol. 19(2). – P. 149–158.
- Padfield G.J., Tura-Ceide O., Freyer E. et al. Endothelial progenitor cells, atheroma burden and clinical outcome in patients with coronary artery disease // *Heart.* – 2013. – Feb 6. [Epub ahead of print].
- 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. – P. 952–958.
- Pellerin D., Sharma R., Elliott P., Veyrat C. Tissue Doppler, strain, and strain rate echocardiography for the assessment of left and right systolic ventricular function // *Heart.* – 2003. – Vol. 89 (90003). – P. iii9–17.
- Qian C., Schoemaker R. G., van Gilst W. H., Roks A. J.M. The role of the renin-angiotensin-aldosterone system in cardiovascular progenitor cell function // *Clin. Sci.* – 2009. – Vol. 116. – P. 301–314.
- Ravi S., Caves J.M., Martinez A.W. et al. Effect of bone marrow-derived extracellular matrix on cardiac function after ischemic injury // *Biomaterials.* – 2012 [Epub ahead of print]
- Schiller N.B., Shah P.M., Crawford M. et al. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms // *J. Am. Soc. Echocardiogr.* – 1989. – Vol. 2. – P. 358–367.
- Schmidt-Lucke C., Rossig L., Fichtlscherer S. et al. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair // *Circulation.* – 2005. – Vol. 111, N 22. – P. 2981–2987.
- Singh N., Van Craeyveld E., Tjwa M. et al. Circulating apoptotic endothelial cells and apoptotic endothelial microparticles independently predict the presence of cardiac allograft vasculopathy // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2012. – Vol. 60(4). – P. 324–331.
- Tamura H., Okamoto S., Iwatsuki K. et al. In vivo differentiation of stem cells in the aorta-gonad-mesonephros region of mouse embryo and adult bone marrow // *Exp. Hematol.* – 2002. – Vol. 30(8). – P. 957–966.
- Tung J.W., Parks D.R., Moore W.A. et al. New approaches to fluorescence compensation and visualization of FACS data // *Clin. Immunol.* – 2004. – Vol. 110(3). – P. 277–283.
- Vasa M., Fichtlscherer S., Aicher A. et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease // *Circ. Res.* – 2011. – Vol. 89(1). – P. E1–7.
- Werner N., Nickenig G. Influence of cardiovascular risk factors on endothelial progenitor cells: limitations for therapy? // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2006. – Vol. 26. – P. 257–266.
- Xiao Q., Kiechl S., Patel S. et al. Endothelial progenitor cells, cardiovascular risk factors, cytokine levels and atherosclerosis: Results from a large population-based study // *PLoS ONE.* – 2007. – Vol. 2. – P. e975–e980.

## Циркулюючі ендотеліальні прогеніторні клітини як маркер тяжкості хронічної серцевої недостатності ішемічного генезу

О. Є. Березін, О. О. Кремзер

Запорізький державний медичний університет

**Мета роботи** — оцінити вміст циркулюючих ендотеліальних прогеніторних клітин різних субпопуляцій з фенотипами CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>, CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> і CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> у пацієнтів із хронічною серцевою недостатністю ішемічного генезу в зіставленні з їхніми клінічними характеристиками, виразністю систолічної та діастолічної дисфункцій лівого шлуночка.

**Матеріали і методи.** У дослідження введено 153 пацієнтів (86 чоловіків) віком 48–62 роки з ішемічною хворобою серця за наявності стенозу хоча б однієї коронарної артерії > 50 %/перенесеного інфаркту міокарда із зубцем Q і 25 здорових добровольців. У 109 (71,2 %) хворих на ішемічну хворобу серця діагностовано хронічну серцеву недостатність. Фенотипування популяцій мононуклеарних клітин здійснювали за методом проточної цитофлуориметрії за допомогою моноклональних антитіл, мічених флуорохромами. Циркулюючі ендотеліальні прогеніторні клітини визначали як CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>. Для ідентифікації субпопуляцій ендотеліальних прогеніторних клітин, що коекспресують антиген CD14, додатково визначали антигени CD309 (VEGFR2) і Tie2.

**Результати та обговорення.** У пацієнтів із ішемічною хворобою серця незалежно від наявності хронічної серцевої недостатності традиційні чинники серцево-судинного ризику, такі як цукровий діабет 2 типу, гіперліпідемія, артеріальна гіпертензія, прихильність до куріння, здатні зберігати негативний вплив на циркулюючі ендотеліальні прогеніторні клітини як гемопоетичного, так і негемопоетичного походження, зумовлюючи зниження їхнього рівня. При цьому зниження концентрації циркулюючих ендотеліальних прогеніторних клітин із фенотипами CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> і CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> асоціюється з тяжкістю контрактильної і релаксаційної дисфункції міокарда лівого шлуночка, тоді як рівень мононуклеарів із фенотипами CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup> і CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup> більшою мірою відображає поширеність і виразність атеросклеротичного ураження коронарних артерій.

**Висновки.** У когорті пацієнтів із ішемічною хворобою серця та хронічною серцевою недостатністю найпотужніший потенціал щодо зниження циркулюючого рівня ендотеліальних прогеніторних клітин мають функціональний клас хронічної серцевої недостатності, зниження фракції викиду лівого шлуночка менше 42 %, підвищення концентрації NT-proBNP понад 554 пг/мл, збільшення E/Em до понад 15.

Результати дослідження вперше оприлюднено на Європейському конгресі з серцевої недостатності Європейського товариства кардіологів (25–28 травня 2013 р., Лісабон, Португалія).

**Ключові слова:** циркулюючі ендотеліальні прогеніторні клітини, ішемічна хвороба серця, хронічна серцева недостатність.

## Circulating endothelial progenitor cells as markers of severity of ischemic chronic heart failure

A. E. Berezin, A. A. Kremzer

Zaporizhzhia State Medical University

**The aim** — to evaluate the circulating endothelial progenitor cells level phenotyped as CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>, CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> and CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> in patients with ischemic chronic heart failure in relation to their clinical characteristics, severity of systolic and diastolic dysfunctions of the left ventricle.

**Materials and methods.** 153 patients (86 men) aged 48–62 years with angiographically proven coronary artery disease in the presence of stenotic lesions of at least one coronary artery by > 50 % / myocardial infarction with Q-wave in history and 25 healthy volunteers were included in the study. Ischemic chronic heart failure was diagnosed in 109 (71.2 %) patients using traditional criteria in accordance with current clinical guideline. Phenotyping of mononuclear cells was performed by flow cytometers using monoclonal antibodies labeled with fluorochromes. Circulating endothelial progenitor cells were defined as CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>. CD309 (VEGFR2) and Tie2 antigens were further defined in order to identify subpopulations of endothelial progenitor cells coexpressing CD14 antigen.

**Results and discussion.** Patients with coronary heart disease, regardless of the presence of chronic heart failure, have traditional cardiovascular risk factors such as type 2 diabetes, hyperlipidemia, hypertension, adherence to smoking which are able to maintain a negative effect on circulating endothelial progenitor cells of both hematopoietic and non-hematopoietic origin causing decrease in their levels. The decrease in the concentration of circulating endothelial progenitor cells of the phenotype CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> and CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup>Tie2<sup>+</sup> is associated with the severity of contractile and relaxation myocardial dysfunction of the left ventricle, whereas the level of mononuclear cells of the phenotype CD45<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup> and CD45<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup> to a greater extent reflects the prevalence and severity of atherosclerotic lesions of the coronary arteries.

**Conclusions.** The functional class of chronic heart failure, reduced left ventricular ejection fraction < 42 %, increased concentrations of NT-proBNP above 554 pg/ml, elevation in E/Em to over 15 have powerful potential to reduce the level of circulating endothelial progenitor cells in the patients with ischemic heart disease and chronic heart failure.

The results were first presented at European Congress of Heart Failure (European Society of Cardiology), May 25–28, 2013, Lisbon, Portugal.

**Key words:** circulating endothelial progenitor cells, ischemic heart disease, chronic heart failure.