

СТИМУЛЯЦИЯ АНГИОГЕНЕЗА ЭНДОГЕННЫМИ ФАКТОРАМИ РОСТА

Шевченко Ю.Л., Борщев Г.Г.*

Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова, Москва

УДК: 612.181:575.113.1:57.017-64
DOI: 10.25881/BPNMSC.2018.73.55.022

Резюме. Цель обзора литературы – анализ влияния различных эндогенных факторов роста на стимуляцию ангиогенеза. Рассмотрены вопросы регулирования процесса неоваскулогенеза в организме. Подобно рассмотрены: сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор роста фибробластов (FGF), трансформирующий фактор роста (TGF α), фактор роста гепатоцитов (HGF), урокиназа. Подчеркнута роль витаминов в неоваскулогенезе. Приведены исследования по применению факторов стимуляции ангиогенеза в клинической практике – «терапевтический ангиогенез».

Ключевые слова: ангиогенез, сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор роста фибробластов (FGF), трансформирующий фактор роста (TGF α), фактор роста гепатоцитов (HGF), урокиназа, терапевтический ангиогенез.

Организм человека – уникальная биологическая система, способная к самовосстановлению и самоизлечению. Многие физиологические процессы, основа которых была заложена в процессе эмбриогенеза, способны к повторному включению, обеспечивая выживание организма в изменившихся условиях жизни. Одним из процессов, с которым встречается каждое живое существо на планете – является ишемия. Процессы ишемии возникают в результате различных воздействий на организм: внешних (пребывание в среде с низким парциальным давлением кислорода и пр.), внутренних (сдавление органов и тканей в результате развития опухолей и пр.), патологических явлений внутри сосудов организма (развитие атеросклероза, тромбоза и пр.). Последняя причина наиболее актуальна, ввиду её распространённости и сложности лечения. Дефицит кровообращения становится причиной нарушения метаболизма, а также приводит к нарушению функционирования определённых органов. Изменения, которые развиваются в тканях в условиях ишемии, могут приводить к внутриклеточным повреждениям при кратковременной и поверхностной ишемии или глубоким деструктивным процессам с исходом в инфаркт органа. Если ишемия носит длительный характер, в ткани начинается атрофия, а постоянная гипоксия активирует клетки соединительной ткани – фибробласты, которые начинают активно образовывать коллаген. Следствием длительной ишемии становится склероз.

Комплекс патоморфологических и патофизиологических изменений, происходящий в тканях бассейна повреждённого сосуда, включает целый ряд последо-

STIMULATION OF ANGIOGENESIS WITH ENDOGENIC GROWTH FACTORS

Shevchenko Yu.L., Borshchev G.G.*

Federal State Budgetary Institution «National Medical and Surgical Center named after N.I. Pirogov» of the Ministry of Health of the Russian Federation

Abstract. The aim of the literature review was to analyze the effect of various endogenous growth factors on the stimulation of angiogenesis. The problems of regulation of neovascularization processes in the body are considered. Similarly, the following growth factors are considered: vascular endothelial growth factor (VEGF), fibroblast growth factor (FGF), transforming growth factor (TGF α), hepatocyte growth factor (HGF), urokinase. The topic of the role of vitamins in neovascularization is touched upon. In conclusion, studies are considered that address the use of angiogenesis stimulation factors in clinical practice – therapeutic angiogenesis.

Keywords: angiogenesis, vascular endothelial growth factor (VEGF), fibroblast growth factor (FGF), transforming growth factor (TGF α), hepatocyte growth factor (HGF), urokinase, therapeutic angiogenesis.

вательных состояний: тканевую гипоксию, ишемический некроз, в ряде случаев – воспаление, развитие грануляционной ткани и фиброз. Клиническое значение острой или хронической ишемии напрямую связано с топографо-анатомической локализацией зоны ишемии и функциональной активностью тканей, попавших в условия нарушенной макро- и микроциркуляции. При хронической ишемии длительно текущий функциональный, а затем и морфологический урон тканям и органам приводит к развёртыванию клинической картины тех или иных заболеваний, нуждающихся в лечении. Чаще всего причинами хронической ишемии выступает атеросклероз известных локализаций – коронарных сосудов, сосудов головного мозга, нижних конечностей, мезентериальных сосудов и др.

Пытаясь компенсировать недостаток кислорода и питательных веществ, организм предпринимает различные меры: уменьшение работы органа (снижение функциональной нагрузки), артериальная вазоконстрикция, направленная на увеличение скорости кровотока в ишемизированной ткани, включение сети коллатерального кровоснабжения. Это может компенсировать патологические процессы на довольно длительный срок. Однако со временем наступает стадия декомпенсации, когда собственные физиологические процессы не могут справиться с дальнейшим прогрессированием возникающих изменений. В этот момент включаются резервные компенсаторные процессы, одним из которых является неоваскулогенез. Стимулируя развитие новых сосудов в месте ишемии, организм компенсирует недостаток кислорода

* e-mail: glebcenter@mail.ru

и питательных веществ в органе или его части. Данный процесс носит название неоваскуляризации (НВ).

Процесс ангиогенеза

В 1787 британский хирург D. Hunter впервые описал ангиогенез [43]. Это комплексный процесс, включающий четыре стадии: протеолитическое разрушение базальной мембраны сосудов и межклеточного матрикса, миграция и прикрепление эндотелиальных клеток, их пролиферация и, наконец, формирование тубулярных структур [5].

Начальный этап – включение ангиогенеза. Недостаточное кровоснабжение ведёт к гипоксии вследствие уменьшения диффузии кислорода. Гипоксия – главный стимул ангиогенеза. Происходит активация метаболических путей, регулируемых такими белками, как индуцируемый гипоксией фактор 1, что ведёт к увеличению экспрессии проангиогенных факторов, включая VEGF и факторы роста фибробластов. В тот момент, когда действие проангиогенных факторов превышает действие антиангиогенных, эндотелиальные клетки переходят из обычного дремлющего состояния в активное. Этот момент называется «включением ангиогенеза». После него, происходит разрыв базальных мембран и внеклеточного матрикса, главным образом, в результате повышения активности матриксных металлопротеиназ. Эти изменения матрикса способствуют миграции эндотелиальных клеток во внесосудистое пространство, где они начинают размножаться. Затем клетки организуются в трубочки с просветом, образуя новую капиллярную сеть. По ходу этого процесса привлекаются перициты, которые прикрепляются к новым сосудам и стабилизируют их. До этой точки созревания целостность и выживание эндотелиальных клеток зависят от VEGF [55].

Ангиогенез – процесс регулируемый, и в организме человека регуляция осуществляется группой ангиогенных и антиангиогенных факторов, обеспечивающих формирование новых сосудов. Логическим завершением процесса ангиогенеза можно считать ангиогенез. В противоположность ангиогенезу, ангиогенез является процессом развития *de novo* коллатеральных кондуитов с формированием сосудов, способных значительно увеличивать кровоток [20; 36].

Таким образом, ангиогенез индуцируется тогда, когда метаболические потребности превышают перфузионную способность существующих сосудов. По-видимому, механизм этого адаптивного ответа в том, что относительный недостаток кислорода приводит к повышению ангиогенных стимулов. Паракринный механизм влияния заключается в действии на рост сосудов в тканях с низким уровнем перфузии. Существует ряд клеток, способных повышать уровень VEGF *in vitro* во время гипоксии, к которым относятся фибробласты, миоциты гладкой и поперечнополосатой мускулатуры, пигментный эпителий сетчатки, астроциты и эндотелиальные клетки, а также некоторые опухолевые клетки.

Таким образом, ангиогенез индуцируется тогда, когда метаболические потребности превышают перфузионную способность существующих сосудов.

Молекулярные механизмы, регулирующие НВ, контролируются многочисленными про- и антиангиогенными растворимыми полипептидами, такими как сосудистый эндотелиальный фактор роста – vascular endothelial growth factor (VEGF), ангиопоэтины, фактор роста фибробластов – fibroblast growth factor (FGF), тромбоцитарный фактор роста, трансформирующий фактор роста-Р (TGFP), фактор некроза опухоли-а (TNF-а), колониестимулирующие факторы, такие как G-CSF и GM-CSF, СХС хемокины и др., активирующие или подавляющие процессы НВ [8]. К тому же, некоторые мембрансвязанные белки играют огромную роль в НВ (интегрины, кадгеринины, синдеканы, эфринины). Механические стимулы также могут обладать про- и антиангиогенными эффектами [30; 60].

Рассмотрим отдельно полипептиды, влияющие на процессы неангиогенеза.

Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF)

VEGF первоначально был открыт как неопознанный опухолевый фактор, повышающий сосудистую проницаемость. Однако впоследствии был определён как белок, усиливающий пролиферацию и миграцию эндотелиоцитов.

Учитывая, что VEGF – это стрессиндуцированный белок, его регуляция сравнивается с другими кислород- и глюкозрегулируемыми белками, поэтому физиологический и ростовой ангиогенез можно рассматривать как адаптационный ответ на дефицит кислорода. Для того чтобы кислород и питательные вещества поступали в достаточном количестве, каждая клетка макроорганизма должна быть близко расположена к капилляру. В 1989 г. несколько независимых групп учёных получили данные в пользу индукции VEGF гипоксией и гипогликемией. По данным ряда авторов VEGF функционирует в динамическом сочетании с цитокинами, их растворимыми рецепторами и антагонистами, протеолитическими ферментами, регулирующими их освобождение из внеклеточного матрикса [5].

Фактор роста эндотелия сосудов (или фактор проницаемости сосудов) является основным регулятором ангиогенеза. Его важнейшая роль подтверждается тем, что мыши, имеющие всего один аллель нормального VEGF-A, погибают внутриутробно. В большинстве опухолей человека концентрация VEGF повышается, что сопровождается усилением инвазивности, склонностью к рецидивам и худшим прогнозом [55].

VEGF экспрессируется эндотелиальными клетками, макрофагами, тромбоцитами, обладает выраженной митогенной активностью по отношению к эндотелиоцитам, но лишён данного свойства для других видов клеток. Экспрессия VEGF регулируется гипоксией. Сосудистый фактор индуцирует реакции, позволяющие эндотелиальным клеткам пролиферировать, мигрировать, собираться

в трубки и формировать связанную сеть, выживать и усиливать свою проницаемость.

По-видимому, механизм этого адаптивного ответа в том, что относительный недостаток кислорода приводит к повышению ангиогенных стимулов. Паракринный механизм влияния заключается в действии на рост сосудов в тканях с низким уровнем перфузии. Существует ряд клеток, способных повышать уровень VEGF *in vitro* во время гипоксии, к которым относятся фибробласты, миоциты гладкой и поперечнополосатой мускулатуры, пигментный эпителий сетчатки, астроциты и эндотелиальные клетки, а также некоторые опухолевые клетки.

VEGF индуцируется гипоксией в большинстве, если не во всех клетках *in vitro*. Эксперименты, проведенные в клеточных монослоях, показали, что VEGF может быть независимо индуцирован гипоксией или гипогликемией. Интересен факт, что не происходит индукции VEGF в культивируемых клетках глиомы, лишённых и кислорода, и глюкозы. Повышение экспрессии VEGF требует синтеза белка, который не может идти при двойном стрессе. Способность реагировать на гипоксию и гипогликемию даёт преимущество в ситуации, когда существует дефицит только одного из метаболитов. Неясно, однако, проходят ли эти два ответа через два разных пути, или они вырабатывают общий медиатор, действующий как проксимальный индуктор VEGF. Исследования разных метаболитов, накапливаемых во время гипоксии и гипогликемии по отношению к их способности непосредственно индуцировать VEGF, не дали убедительных результатов. Показано, что VEGF индуцируется аденозином, а также ионами кобальта. Это свидетельствует о том, что белок гема может быть вовлечён в этот процесс.

Снижение уровня VEGF обуславливает апоптоз эндотелия, ведущий к обструкции просвета и регрессии сосудов. VEGF стимулирует миграцию эндотелиальных клеток путем усиления подвижности и увеличения экспрессии матричных металлопротеиназ и плазминогенных активаторов. Сосудистый фактор роста обеспечивает выход из сосудов плазменных белков (фибронектин, фибриноген, факторы коагуляции) и активирует экспрессию тканевого фактора (клеточный инициатор коагуляции крови), что ведёт к формированию зацепок для мигрирующих эндотелиальных, гладкомышечных и воспалительных клеток. Кроме того, VEGF может влиять на ангиогенез путем рекрутирования лейкоцитов (продуцирующих ангиогенные факторы) посредством стимуляции экспрессии адгезирующих рецепторов лейкоцитов. VEGF играет существенную роль в формировании просвета капилляров. VEGF121 и VEGF165 увеличивают, тогда как VEGF189 снижает диаметр просвета. Разные физиологические функции VEGF зависят от определенных уровней VEGF [11; 14; 25]

Предполагается, что экстравазальный фибриноген и другие белки плазмы приводят к образованию фибринового геля, выполняющего роль субстрата эндотелиального и других ростовых факторов. VEGF осуществляет

свои эффекты через рецепторы эндотелиальных клеток, каждый из которых обладает тирозинкиназной активностью: VEGF-R1, VEGF-R2, VEGF-R3, соответствующие различным изоформам пептида.

Фактор роста фибробластов (FGF)

Кроме VEGF в процессе ангиогенеза принимают участие другие факторы роста, одним из них является фактор fibroblast growth factor (FGF – фактор роста фибробластов). Идентифицировано более 20 структурно родственных членов семейства FGF. Они осуществляют свою ангиогенную активность путем взаимодействия с различными поверхностными рецепторами эндотелиальных клеток. Фактор роста фибробластов (в отличие от VEGF) специфичен не только для эндотелиальных клеток, его рецепторы обнаружены на многих других клетках, включая фибробласты и гладкомышечные клетки сосудов. FGF (также, как и VEGF) стимулирует многие функции эндотелиоцитов, такие как пролиферация, миграция, внеклеточная протеолитическая активность и трубчочкообразование. Выделяют два типа рецепторов для FGF: рецепторы высокой (FGFR-1, FGFR-2, FGFR-3, FGFR-4) и низкой аффинности, находящиеся на плазматической мембране.

В наибольшей степени исследованы два представителя этого – aFGF (кислый или FGF-1) и bFGF (щелочной или FGF-2) [10; 23]. Факторы роста фибробластов связываются со своими высоко аффинными рецепторами на поверхности эндотелиальных и гладкомышечных клеток [27]. Наряду с митогенным действием, представители семейства FGF стимулируют продукцию эндотелием различных протеаз, в том числе активаторов плазминогена и коллагеназы, способных к ферментативному расщеплению внеклеточного матрикса. bFGF также способен улучшать микроциркуляцию в ишемизированных зонах [40]. Как и VEGF, bFGF стимулирует вазодилатацию, и его системное введение способно приводить к значительной гипотензивной реакции [57]. Сосуды в ишемизированной ткани особенно чувствительны к сосудорасширяющему действию факторов роста. После восстановления кровотока нормализуется как чувствительность микрососудов к вазодилатирующему действию ростовых факторов, так и экспрессия рецепторов факторов роста. Ишемия приводит к усилению экспрессии FGF и его рецепторов [6], параллельно со стимуляцией роста эндотелиальных клеток. У больных с хронической ишемией уровень bFGF в сыворотке крови значительно ниже, чем у больных с острой ишемией [51], однако подобные различия достоверно не отражаются на прогнозе больных. Эти данные свидетельствуют о том, что хотя bFGF в эксперименте увеличивал коллатеральную циркуляцию, улучшал функцию и перфузию ткани, изменения в уровне эндогенного bFGF у больных с острой ишемией не оказывали протективного действия [26; 54].

Трансформирующий фактор роста (TGF β)

TGF β был впервые выделен более 20 лет назад из культуры клеток саркомы по его способности стиму-

лируют способность эпидермального фактора роста вызывать трансформацию и пролиферацию не-неопластических (non-neoplastic) фибробластов [31; 44]. В настоящее время известно более 30 структурно сходных представителей семейства TGF β , включая TGF β 1. Эти цитокины были разделены на подгруппы согласно сходству последовательности и специфической направленности сигнальных систем, в семействах TGF β 1 [47]. TGF β связан с широким спектром биологических процессов, включая клеточную пролиферацию, рост, дифференцировку и апоптоз. TGF β играет роль в патофизиологии различных заболеваний сердечно-сосудистой системы. В ответ на гемодинамическую перегрузку [45] и ишемию миокарда [24] кардиомиоциты синтезируют и секретируют TGF β 1. Действие TGF β опосредовано взаимодействием рецепторов I и II типов, стимулированным лигандами [19].

Фактор роста гепатоцитов (HGF)

Фактор роста гепатоцитов (HGF) исходно считался специфическим для гепатоцитов фактором роста, однако сейчас известно, что он является фактором роста с большим количеством функций и его рецептор c-met присутствует не только на эпителиальных клетках, но и на кардиомиоцитах, эндотелиальных клетках и гематопоетических клетках [35]. Основными функциями HGF является стимуляция митогенеза, усиление клеточной подвижности, морфогенез и обеспечение выживания клеток [38]. Соответственно, HGF потенциально может модифицировать некоторые ключевые процессы ангиогенеза, что объясняет благоприятный эффект повышения уровня HGF у пациентов с острым коронарным синдромом [42].

HGF является мощным ангиогенным фактором, что может иметь большое значение в условиях ишемии миокарда [52]. В нескольких экспериментальных работах HGF обладал протективным эффектом при ишемии/реперфузии миокарда. Оно К. с соавт. показали повышение экспрессии HGF и его рецептора на экспериментальной модели инфаркта миокарда [39]. Это указывает на то, что активация системы HGF может быть частью защитной программы в условиях острой ишемии миокарда. Важно, что экспрессия HGF быстро возрастает при многих патологических процессах, тогда как повышение экспрессии рецептора HGF специфично для ишемии миокарда. Кроме того, Nakamura с соавт. [34; 56] обнаружили, что введение HGF крысам на модели ишемии/реперфузии приводит к значительному подавлению апоптоза в миокарде, ограничению инфарктной зоны и улучшению сердечной функции, тогда как введение антител, нейтрализующих HGF, увеличивало зону инфаркта и смертность от сердечной недостаточности. Другие исследования выявили, что HGF обладает кардиопротективным действием у пациентов с нестабильной стенокардией. Основной мишенью HGF являются сосудистые эндотелиальные клетки. В эксперименте было показано, что HGF восстанавливает вызванную ишемией эндотелиальную дисфункцию, под-

держивает эндотелий-зависимую регуляцию коронарного кровотока [58]. HGF также стимулирует пролиферацию гематопоетических клеток-предшественников. Недавние исследования продемонстрировали, что гематопоетические клетки-предшественники способствуют регенерации эндотелия после деэндоотелизации [37]. Таким образом, кроме ангиогенных эффектов, HGF способен вызывать регенерацию эндотелия, обеспечивая улучшение выживания клеток и подавляя апоптоз. Учитывая вышеизложенное, повышенный уровень HGF в сыворотке может соответствовать лучшему клиническому прогнозу у больных ИБС, благодаря комбинации его кардио- и васкулопротективных эффектов. Вероятно, мероприятия, увеличивающие уровень HGF в крови больных, могут быть благоприятными для пациентов с прогностической точки зрения [16; 49].

Урокиназа

Результаты исследований Парфёновой Е.В. и Ткачука В.А. позволяют высказать гипотезу о том, что одним из новых потенциально терапевтических генов для генной терапии, направленной на предотвращение рестеноза и стимуляцию ангиогенеза, может быть ген урокиназы [4].

Для многих про-ангиогенных факторов роста, секретируемых клетками в латентной или мембранно-связанной форме, необходим их перевод в активное состояние под действием ряда протеолитических ферментов, осуществляющих процессинг латентных форм или расщепление компонентов межклеточного матрикса, ограничивающих биологическую активность связанных с ними факторов роста. Основной каскад системы, обеспечивающий внеклеточный протеолитический процессинг, включает активатор плазминогена урокиназного типа (урокиназа), плазмин, а также металлопротеиназы. Урокиназа, превращающая плазминоген в плазмин, протеазу широкой субстратной специфичности, секретируется клетками крови и сосудов и является одним из компонентов системы фибринолиза, препятствующей образованию тромбов. Но наиболее важная функция урокиназы – обеспечение подвижности (миграции) клеток, а, следовательно, регуляция таких процессов, как рост сосудов, ранозаживление, инвазия клеток и метастазирование [50].

Урокиназа, непосредственно или через образование плазмина, осуществляет высвобождение связанных в матриксе и активацию латентных факторов роста, таких как bFGF, VEGF, HGF, инсулиновый фактор роста (IGF), эпидермальный фактор роста (EGF) и TGF β [41].

Роль урокиназы в ангиогенезе впервые была отмечена на моделях васкуляризации роговицы, а также при опухолевом ангиогенезе [59]. Помимо локализации протеолиза на клеточной поверхности связывание урокиназы с ее рецептором опосредует миграцию эндотелиальных клеток и формирование капилляроподобных трубочек через механизм, независимый от её протеолитической активности, связанный с активацией внутриклеточных

сигнальных систем. Для образования капилляроподобных трубочек в фибриновом матриксе под действием ангиогенных факторов роста также необходимо присутствие урокиназы и ее связывание с рецептором [29].

Многими группами было показано, что экспрессия про-ангиогенных факторов роста (VEGF, bFGF, TGF β 3) в значительной степени находится под контролем гипоксии, в условиях которой происходит усиление их синтеза. При гипоксии также наблюдалась повышенная экспрессия рецептора урокиназы [7].

Роль витаминов в неопластическом ангиогенезе

Витамины играют большую роль во многих биохимических реакциях организма, влияя на различные клеточные функции. Выявлено влияние различных витаминов на процессы неопластического ангиогенеза, однако множество работ продемонстрировало отрицательное влияние витаминов на процессы ангиогенеза [9; 13; 28; 32; 33; 59].

Применение факторов ангиогенеза в клинической практике

Как известно, первые химически не идентифицированные факторы были выделены из злокачественных опухолей в середине XX века. Folkman J. выдвинул гипотезу о том, что прогрессирующее развитие злокачественных опухолей зависит от их васкуляризации [12]. Позднее Svet-Moldavsky G.J. и Chimishkyan K.L. (1977) высказали идею о возможности применения выделенных из опухолей факторов ангиогенеза для лечения ИБС [53]. Позднее эта методика получила общепотребимое название «терапевтический ангиогенез».

Многочисленные исследования описывают клиническое применение факторов роста для стимуляции ангиогенеза. Так, В. Shumacher с соавт. выполняли миокардиальные инъекции FGF пациентам во время проведения коронарного шунтирования. В зоне введения ангиогенных факторов роста почти в 3 раза увеличилась перфузия миокарда за счет развития микрососудистого русла [48].

F.W. Sellke с соавт. проводили введение bFGF в эпикардальную жировую ткань пациентам с миокардиальной ишемией при выполнении коронарного шунтирования. В течение 3 месяцев после проведенных операций не было получено никаких данных о токсических влияниях bFGF на печень, почки, кровь. Авторы отмечают выраженное увеличение перфузии в зоне ишемии [46]. Также опытным путем доказано, что естественная смесь факторов роста, введенная в зону ишемии, значительно более активно стимулирует ангиогенез, чем введение отдельных факторов FGF или VEGF.

Первые результаты клинического применения терапевтического ангиогенеза с использованием гена человека VEGF165 представили Л.А. Бокерия с соавт. [1]. Авторы отмечают безопасность и эффективность применения данной методики, как альтернативного способа реваскуляризации тканей при ишемии в случаях, когда применение стандартных методов реваскуляризации является невозможным.

В дальнейшем данные о применении нативных плазмид с генами VEGF для лечения пациентов с ХИНК представил А.В. Гавриленко. В контролируемом исследовании было доказано, что генно-инженерные стимуляторы ангиогенеза могут быть эффективно использованы в комплексном лечении пациентов с ХИНК, демонстрируя при этом приемлемую переносимость и безопасность. Показано, что технологии терапевтического применения факторов роста могут быть использованы как в качестве самостоятельного метода лечения, так и в сочетании с реконструктивными сосудистыми операциями для улучшения отдаленных результатов последних [2; 3].

В международном исследовании VIVA тестировали внутрикоронарное введение рекомбинантных факторов роста (VEGF у 178 больных ИБС, не являющихся оптимальными кандидатами для хирургической или эндоваскулярной реваскуляризации). Через 120 дней после интракоронарного введения белка сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF-1) в группе, получавшей большие дозы, отмечалось уменьшение выраженности стенокардии, однако, не подтвержденное объективными данными при сравнении радиоизотопной перфузии миокарда и коронароангиографии [21].

В исследовании FIRST – FGF в различных формах вводились непосредственно в эпикард, в коронарные артерии или внутривенно пациентам с тяжёлыми формами ИБС. В ходе этих исследований, включавших небольшое количество больных и проводившихся без использования плацебо открытым методом, было показано значительное улучшение клинической симптоматики стенокардии и переносимости физической нагрузки.

Наиболее оптимистичные результаты использования факторов роста были получены в исследовании AGENT. Исследование проведено как плацебо контролируемое, группу плацебо составили 10 больных ИБС, основную группу – 60. В исследовании AGENT (Angiogenic GENE Therapy) через 12 недель после интракоронарного введения гена FGF4 в составе аденовируса с нарушенной репликацией (Ad5-FGF4), детальный анализ подгрупп выявил улучшение показателей тредмил-теста у пациентов с длительностью исходной нагрузочной пробы менее 10 минут [17; 18; 22].

Первым исследованием, продемонстрировавшим неоспоримое клиническое улучшение у пациентов с тяжёлой стенокардией, явилось широкомасштабное рандомизированное исследование генной терапии REVASC (Randomized Evaluation of VEGF for Angiogenesis in Severe Coronary disease) [15]. Сравнивались 2 группы больных: в одной проводилась инъекция интрамиокардиально в стенку левого желудочка посредством миниторакотомии гена VEGF121 в составе аденовируса с нарушенной репликацией (Ad-VEGF121), в другой продолжалась оптимальная медикаментозная терапия. Значительное улучшение по данным тредмил-теста (увеличение времени до появления болей и до возникновения депрессии сегмента ST 1 мм и более)

было выявлено через 26 недель, а происходящее клиническое улучшение наблюдалось уже от 3-х месяцев после процедуры.

Таким образом, вопросы возможности управления ангиогенезом и его программирования довольно широко представлены в мировой литературе. Продолжаются исследования, как отдельных факторов роста, так и их клинического воздействия на организм животных и человека. Созданы и разрабатываются методы терапевтического ангиогенеза, используя различные полипептиды для формирования новых сосудов в ишемизированных тканях. Некоторые из этих методов, такие как генная терапия, клеточные технологии, требуют дальнейшего изучения.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Бокерия, Л.А., Георгиев, Г.П., Голухова, Е.З. Возможности использования генных и клеточных технологий для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. // Бюллетень НЦССХ им. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания. Креативная кардиология Новые технологии в диагностике и лечении заболеваний сердца». 2004. № 3. С. 19–38. [Bokeriya, L.A., Georgiev, G.P., Goluhova, E.Z. Vozmozhnosti ispol'zovaniya gennyh i kletochnyh tekhnologij dlya lecheniya serdechno-sosudistyh zabolevanij. // Byulleten' NCSSKH im. Bakuleva RAMN «Serdechno-sosudistye zabolevaniya. Kreativnaya kardiologiya Novye tekhnologii v diagnostike i lechenii zabolevanij serdca». 2004. № 3. S. 19–38].
2. Бочков, П.Н., Константинов, Б.А., Гавриленко, А.В. Генно-инженерные технологии в лечении хронической ишемии нижних конечностей. 9–10: 6–11. // Вестник РАМН. 2006. № 10. С. 6–11. [Bochkov, P.N., Konstantinov, B.A., Gavrilenko, A.V. Genno-inzhenernyye tekhnologii v lechenii hronicheskoy ishemii nizhnih konechnostey. 9–10: 6–11. // Vestnik RAMN. 2006. № 10. S. 6–11].
3. Гавриленко, А.В., Воронов, Д.А., Бочков, Н.П. Комплексное лечение пациентов с хронической ишемией нижних конечностей с использованием генных индукторов ангиогенеза: ближайшие и отдаленные результаты // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2011. Т. 6. № 3. С. 84–88. [Gavrilenko, A.V., Voronov, D.A., Bochkov, N.P. Kompleksnoe lechenie pacientov s hronicheskoy ishemiej nizhnih konechnostey s ispol'zovaniem gennyh induktorov angiogeneza: blizhajshie i otdalennyye rezultaty // Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya. 2011. T. 6. № 3. S. 84–88].
4. Парфенова, Е.В., Ткачук, В.А. Перспективы генной терапии сердечно-сосудистых заболеваний // Вопросы медицинской химии. 2000. Т. 46. № 3. С. 293–310. [Parfenova, E.V., Tkachuk, V.A. Perspektivy gennoj terapii serdechno-sosudistyh zabolevanij // Voprosy medicinskoj himii. 2000. T. 46. № 3. S. 293–310].
5. Петрова, Л.В., Кушлинский, Н.Е., Ильина, Л.В. Фактор роста эндотелия сосудов как показатель гипоксии тканей, его возможная роль в патогенезе плоского лишая слизистой оболочки рта // Вестник дерматологии и венерологии. 2004. № 5. С. 7–8. [Petrova, L.V., Kushlinskij, N.E., Il'ina L.V. Faktor rosta ehndoteliya sosudov kak pokazatel' gipoksii tkanej, ego vozmozhnaya rol' v patogeneze ploskogo lishaya slizistoj obolochki rta // Vestnik dermatologii i venerologii. 2004. № 5. S. 7–8].
6. Boodhwani, M., Voisine, P., Ruel, M., Sodha, N.R., Feng, J., Xu, S.H., Bianchi C., and Sellke F.W. Comparison of vascular endothelial growth factor and fibroblast growth factor-2 in a swine model of endothelial dysfunction // Eur J Cardiothorac Surg. 2008. Vol. 33. No. 4. P. 645-50.
7. Busso, N., Masur, S.K., Lazega, D., Waxman, S., and Ossowski, L. Induction of cell migration by pro-urokinase binding to its receptor: possible mechanism for signal transduction in human epithelial cells // The Journal of Cell Biology. 1994. No. 126. P. 259–270.
8. Carmeliet, P. Angiogenesis in health and disease // Nat Med. 2003. Vol. 9. P. 653-60.
9. Conejo-Garcia, J.R., Benencia, F., Courreges, M.C., Kang, E., Mohamed-Hadley, A., Buckanovich, R.J., Holtz, D.O., Jenkins, A., Na, H., Zhang, L., et al. Tumor-infiltrating dendritic cell precursors recruited by a beta-defensin contribute to vasculogenesis under the influence of Vegf-A // Nat Med. 2004. Vol. 10. No. 9. P. 950-8.
10. Detillieux, K.A., Sheikh, F., Kardami, E., and Cattini, P.A. Biological activities of fibroblast growth factor-2 in the adult myocardium // Cardiovasc Res. 2003. Vol. 57. No. 1. P. 8–19.
11. Ferrara, N. Role of vascular endothelial growth factor in the regulation of angiogenesis. // Kidney International. 1999. Vol. 56. P. 794-814.
12. Folkman, J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications // N Engl J Med. 1971. No. 285. P. 1182–6.
13. Fraineau, S., Monvoisin, A., Clahaut, J., Talbot, J., Simonneau, C., Kanthou, C., and Benzakour, O. The vitamin K-dependent anticoagulant factor, protein S, inhibits multiple VEGF-A-induced angiogenesis events in a Mer- and SHP2- dependent manner // Blood. 2012. No. 120. P. 5073–5083.
14. Freedman, S.B., Jeffrey Isner, M. Therapeutic Angiogenesis for Coronary Artery Disease. R.Eview. // Ann.Intern.Med. 2002. Vol. 132. P. 54–71.
15. Fuchs, S., Dib, N., Cohen, B.M., Okubagzi, P., Diethrich, E.B., Campbell A., and Macko J. A randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter, pilot study of the safety and feasibility of catheter-based intramyocardial injection of AdVEGF121 in patients with refractory advanced coronary artery disease. // Catheter Cardiovasc Interv. Sep 2006. Vol. 68. No. 3. P. 372-8.
16. Fumihiro, S., Yoshiaki, T., Junya, A., Iekushi, K., Dosaka, N., Yokoi, T., Koibuchi, N., Kusunoki, H., Aizawa, Y., and Morishita, R. Hepatocyte Growth Factor, but not Vascular Endothelial Growth Factor, Attenuates Angiotensin II-Induced Endothelial Progenitor Cell Senescence // Hypertension. 2009. No. 1. P. 128–134.
17. Grines, C.L., Watkins, M.W., Helmer, G., Penny, W., Brinker, J., Marmur, J.D., West, A., Rade, J.J., Marrott, P., Hammond, H.K., and Engler, R.L. Angiogenic Gene Therapy (AGENT) trial in patients with stable angina pectoris. // Circulation. Mar 2002. Vol. 105. No. II. P. 9083-4.
18. Grines, C.L., Watkins, M.W., Mahmarian, J.J., Iskandrian, A.E., Rade, J.J., Marrott, P., Pratt, C., and Kleiman, N. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of Ad5FGF-4 gene therapy and its effect on myocardial perfusion in patients with stable angina. // J Am Coll Cardiol. Oct 2003. Vol. 42. No. 8. P. 1339-47.
19. Heldin, C.H., Miyazono, K., and ten Dijke, P. TGF-beta signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins // Nature. 1997. No. 390. P. 465–471.
20. Helisch, A., Schaper, W. Arteriogenesis: the development and growth of collateral arteries. // Microcirculation. 2003. Vol. 10. P. 83–97.
21. Henry, T.D., Annex, B.H., McKendall, G.R., Azrin, M.A., Lopez, J.J., Giordano, F.J., Shah, P.K., Willerson, J.T., Benza, R.L., Berman, D.S., et al. The VIVA trial: Vascular endothelial growth factor in Ischemia for Vascular Angiogenesis. // Circulation. 2003. Vol. 107. P. 1359–1365.
22. Henry, T.D., Grines, C.L., Watkins, M.W., Dib, N., Barbeau, G., Moreadith, R., Andrasfay, T., and Engler, R.L. Effects of Ad5FGF-4 in patients with angina: an analysis of pooled data from the AGENT-3 and AGENT-4 trials. // J Am Coll Cardiol. Sep 2007. Vol. 50. No. II. P. 1038-46.
23. House, S.L., Bolte, C., Zhou, M., Doetschman, T., Kleivitsky, R., Newman, G., and Schultz, J.J. Cardiac-specific overexpression of fibroblast growth factor-2 protects against myocardial dysfunction and infarction in a murine model of low-flow ischemia // Circulation. 2003. Vol. 108. No. 25. P. 3140-8.
24. Ikeuchi, M., Tsutsui, H., Shiomi, T., Matsusaka, H., Matsushima, S., Wen, J., Kubota, T., and Takeshita, A. Inhibition of TGF-beta signaling exacerbates early cardiac dysfunction but prevents late remodeling after infarction // Cardiovasc Res. 2004. No. 64. P. 526–535.
25. Isner, J.M., Vale, P., Douglas, W., Symes, J., Losordo, D.W., and Asahara T. Angiogenesis and cardiovascular disease. // Dialogues in Cardiovascular Medicine. 2001. Vol. 6. No. 3.
26. Kardami, E., Detillieux, K., Ma, X., Jiang, Z., Santiago, J.J., Jimenez, S.K., and Cattini, P.A. Fibroblast growth factor-2 and cardioprotection // Heart Fail Rev. 2007. Vol. 12. No. 3. P. 267-77.
27. Khurana, R., Simons, M. Insights from angiogenesis trials using fibroblast growth factor for advanced arteriosclerotic disease // Trends Cardiovasc Med. 2003. No. 13. P. 116-22.
28. Komi, Y., Sogabe, Y., Ishibashi, N., Sato, Y., Moriwaki, H., Shimokado, K., and Kojima, S. Acyclic retinoid inhibits angiogenesis by suppressing the MAPK pathway // Lab Invest. 2010. Vol. 90. No. 1. P. 52–60.
29. Koolwijk, P., van Erck, M.G., de Vree, W.J., Vermeer, M.A., Weich, H.A., Hanemaaijer, R., and van Hinsbergh, V.W. Cooperative effect of TNFalpha, bFGF, and VEGF on the formation of tubular structures of human microvascular endothelial cells in a fibrin matrix. Role of urokinase activity // The Journal of Cell Biology. 1996. Vol. 132. No. 6. P. 1177-88.

30. Lei, L., Zhou, R., Zheng, W., Christensen, L.P., Weiss, R.M., and Tomanek, R.J. Bradycardia induces angiogenesis, increases coronary reserve, and preserves function of the postinfarcted heart // *Circulation*. 2004. Vol. 110. No. 7. P. 796-80.
31. Massague, J. Type beta transforming growth factor from feline sarcoma virus-transformed rat cells. Isolation and biological properties // *J Biol Chem*. 1984. No. 259. P. 9756-9761.
32. Matsubara, K., Matsumoto, H., Mizushima, Y., Lee, J.S., and Kato, N. Inhibitory effect of pyridoxal 5'-phosphate on endothelial cell proliferation, replicative DNA polymerase and DNA topoisomerase. // *Int J Mol Med*. 2003. Vol. 12. No. 1. P. 51-5.
33. Matsubara, K., Mori, M., Matsuura, Y., and Kato, N. Pyridoxal 5'-phosphate and pyridoxal inhibit angiogenesis in serum-free rat aortic ring assay // *Int J Mol Med*. 2001. Vol. 8. No. 5. P. 505-8.
34. Matsumoto, K., Nakamura, T. Hepatocyte growth factor: Renotropic role and potential therapeutics for renal diseases // *Kidney Int*. 2001. No. 59. P. 2023-2038.
35. Motohiro, K., Yukio, K., Toshikazu, N., and Yuichi, S. Efficient Extraction by the Liver Governs Overall Elimination of Hepatocyte Growth Factor in Rats // *Farmacology*. 1999. No. 290. P. 373-379.
36. Muinck, E.D., Simons, M. Re-evaluating therapeutic neovascularization. // *J Mol Cell Cardiol*. 2004. Vol. 36. P. 25-32.
37. Naoki, K., Koichi, N., Kuniaki, N., Morishita, R., Kaneda, Y., Uenoyama, M., Ikeda, T., and Fujikawa, K. Nonviral Gene Transfer of Human Hepatocyte Growth Factor Improves Streptozotocin-Induced Diabetic Neuropathy in Rats // *Diabetes*. 2005. No. 54. P. 846-854.
38. Ohno, T., Yuge, T., Kariyazono, H., Igarashi, H., Joh-o, K., Kinugawa, N., Kusahara, K., and Hara, T. Serum hepatocyte growth factor combined with vascular endothelial growth factor as a predictive indicator for the occurrence of coronary artery lesions in Kawasaki disease. // *Eur J Pediatr*. Feb 2002. Vol. 161. No. 2. P. 105-11.
39. Ono, K., Matsumori, A., Shioi, T., Furukawa, Y., and Sasayama, S. Enhanced expression of hepatocyte growth factor/c-Met by myocardial ischemia and reperfusion in a rat model // *Circulation*. 1995. No. 1. P. 2552-2558.
40. Palmen, M., Daemen, M.J., De Windt, L.J., Willems J., Dassen, W.R., Heeneman, S., Zimmermann, R., Van Bilsen, M., and Doevendans, P.A. Fibroblast growth factor-1 improves cardiac functional recovery and enhances cell survival after ischemia and reperfusion: a fibroblast growth factor receptor, protein kinase C, and tyrosine kinase-dependent mechanism // *J Am Coll Cardiol*. 2004. Vol. 44. No. 5. P. 1113-23.
41. Prager, G.W., Breuss, J.M., Steurer, S., Mihaly J., and Binder, B.R. Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces rapid pro-urokinase (pro-uPA) activation on the surface of endothelial cells // *Blood*. 2004. Vol. 103. No. 3. P. 955-962.
42. Rahman, S., Patel, Y., Murray, J., Patel, K.V., Sumathipala, R., Sobel, M., and Wijelath, E.S. Novel hepatocyte growth factor (HGF) binding domains on fibronectin and vitronectin coordinate a distinct and amplified Met-integrin induced signalling pathway in endothelial cells // *BMC Cell Biol*. 2005. No. 6. P. 8-15.
43. Ribatti, D. History of research on tumor angiogenesis. Netherlands: Springer, 2009. 125 p.
44. Roberts, A.B., Anzano, M.A., Lamb, L.C., Smith, J.M., Frolik, C.A., Marquardt, H., Todaro, G.J., and Sporn, M.B. Isolation from murine sarcoma cells of novel transforming growth factors potentiated by EGF // *Nature*. 1982. No. 295. P. 417-419.
45. Ruwhof, C., van Wamel, A.E., Egas, J.M., and van der Laarse, A. Cyclic stretch induces the release of growth promoting factors from cultured neonatal cardiomyocytes and cardiac fibroblasts // *Mol Cell Biochem*. 2000. No. 208. P. 89-98.
46. Sellke, F.W., Wang, S.Y., Friedman, M., Harada, K., Edelman, E.R., Grossman, W., and Simons, M. Basic FGF enhances endothelium-dependent relaxation of the collateral-perfused coronary microcirculation // *Am J Physiol*. 1994. Vol. 267. No. 4. P. 1303-11.
47. Shi, Y., Massague, J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus // *Cell*. 2003. No. 113. P. 685-700.
48. Shumacher, B., Pecher, P., and von Specht, B.U. Induction of neoangiogenesis in ischemic myocardium by human growth factors: First clinical results of a new treatment of coronary heart disease. // *Circulation*. 1998. Vol. 97. No. 7. P. 645-650.
49. Soeki, T., Tamura, Y., Shinohara, H., Tanaka, H., Bando, K., and Fukuda N. Serial changes in serum VEGF and HGF in patients with acute myocardial infarction. // *Cardiol*. 2000. Vol. 93. No. 3. P. 168-74.
50. Solomatina, M., Plekhanova, O., Men'shikova, M., Ratner, E., Tkachuk, V., and Parfenova, E. Urokinase Increases the Content and Activity of Matrix Metalloproteinases 2 and 9 during *in Vivo* Constrictive Arterial Remodeling // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2005. Vol. 139. No. 3. P. 283-6.
51. Song, H., Kwon, K., Lim, S., Kang, S.M., Ko, Y.G., Xu, Z., Chung, J.H., Kim, B.S., Lee, H., Joung, B., et al. Transfection of mesenchymal stem cells with the FGF-2 gene improves their survival under hypoxic conditions // *Mol Cells*. 2005. Vol. 19. No. 3. P. 402-7.
52. Suzuki, H., Murakami, M., Shoji, M., Iso, Y., Kondo, T., Shibata, M., Ezumi, H., Hamazaki, Y., Koba, S., and Katagiri, T. Hepatocyte growth factor and vascular endothelial growth factor in ischaemic heart disease. // *Coron Artery Dis*. Jul 2003. Vol. 14. No. 4. P. 301-7.
53. Svet-Moldavsky, G.J., Chimishkyan, K.L. Tumor angiogenesis factor for revascularization in ischemia and myocardial infarction // *Lancet*. 1977. No. 1. P. 913-6.
54. Tamura, K., Nakajima, H., Rakue, H., Sasame, A., Naito, Y., Nagai, Y., and Ibukiyama, C. Elevated circulating levels of basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor in patients with acute myocardial infarction. // *Jpn Circ J*. May 1999. Vol. 63. No. 5. P. 357-61.
55. Thornton, A.D., Ravn, P., Winslet, M., and Chester, K. Angiogenesis inhibition with bevacizumab and the surgical management of colorectal cancer // *Br J Surg*. Dec 2006. Vol. 93. No. 12. P. 1456-63.
56. Ueda, H., Nakamura, T., Matsumoto, K., Sawa, Y., Matsuda, H., and Nakamura, T. A potential cardioprotective role of hepatocyte growth factor in myocardial infarction in rats // *Cardiovasc Res*. 2001. No. 51. P. 41-50.
57. Vatner, S.F. FGF induces hypertrophy and angiogenesis in hibernating myocardium // *Circ Res*. 2005. Vol. 96. No. 7. P. 705-7.
58. Yasuda, S., Goto, Y., Baba, T., Satoh, T., Sumida, H., Miyazaki, S., and Nonogi, H. Enhanced secretion of cardiac hepatocyte growth factor from an infarct region is associated with less severe ventricular enlargement and improved cardiac function // *J Am Coll Cardiol*. 2000. No. 36. P. 115-121.
59. Zhang, M., Volpert, O., Shi, Y., and Bouck, N. Maspin is an angiogenesis inhibitor // *Nature Medicine*. 2000. Vol. 1. P. 196-199.
60. Zheng, W., Seftor, E.A., Meininger, C.J., Hendrix, M.J., and Tomanek, R.J. Mechanisms of coronary angiogenesis in response to stretch: role of VEGF and TGF-beta. // *Am J Physiol, Heart Circ Physiol*. 2001. No. 280. P. H909-17