

© К. А. Хмельницкая, А. Я. Гудкова, Е. В. Шляхто, 2015 г.
УДК 612.181

**К. А. Хмельницкая, А. Я. Гудкова,
Е. В. Шляхто**

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О КЛЕТОЧНО-МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМАХ АНГИОГЕНЕЗА

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова; Федеральный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова, Санкт-Петербург

Ограниченные возможности современной медицины стимулируют интерес ученых к изучению процессов регенерации, поиску новых подходов в терапии заболеваний. Особое место занимает проблема образования новых сосудов, которая находит свое отражение в понятии ангиогенеза.

Впервые предложил термин «ангиогенез» британский хирург Д. Хантер в 1794 г., описывая рост кровеносных сосудов в рогах оленя. За пределы эмбриологии изучение ангиогенеза вышло, стал интенсивно изучаться с 70-х гг. прошлого века, когда Д. Фолкман в 1971 г. опубликовал в «New England Journal of Medicine» свою гипотезу, что рост и развитие опухоли зависят от ее васкуляризации и опухоль продуцирует в большом количестве фактор, стимулирующий рост сосудов [53]. Вскоре были идентифицированы первый ангиогенный фактор: основной фактор роста фибробластов, bFGF, Ю. Шингом и М. Клагсбрюном (1984), сосудисто-эндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor, VEGF) Н. Феррара (1989) и другие факторы, участвующие в ангиогенезе [42]. Начались исследования по изучению антагонистов факторов роста сосудов в терапевтических целях в онкологии. Исследователи начали проверять гипотезу улучшения кровоснабжения в ишемизированных тканях путем стимуляции ангиогенеза, был предложен термин «терапевтический ангиогенез» (1993), который также называют биологическим шунтированием, представляющий собой новую тактику улучшения перфузии ишемизированных тканей с помощью усиления естественных, но недостаточных процессов неоваскуляризации. В 1994 г. впервые в клинической практике Д. Иснер применил терапевтический ангиогенез с использованием генной терапии rhVEGF для лечения критической ишемии нижних конечностей IV степени [29]. В 1997 г. впервые Т. Asahara et al. описали выделение особой популяции стволовых клеток костного мозга из моноклеарной фракции — предшественников эндотелиальных клеток (ПЭК) (endothelial progenitor cells, EPC) для ангиогенеза [19].

В 2012 г. С. Яманака и Д. Гордон получили Нобелевскую премию в области физиологии и медицины за открытие индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSC), и появилось еще одно направление — получение дифференцированных эндотелиальных клеток (ЭК) из iPS-клеток из тканей различных органов [58, 60]. В настоящее время процессы ангиогенеза время являются областью интенсивных исследований.

Развитие сосудов происходит путем формирования их *de novo* в эмбриогенезе (васкулогенез) и путем роста новых сосудов из уже существующих (ангиогенез), как в эмбриогенезе, так и в постнатальном периоде. Процессы ангиогенеза активно происходят при заживлении ран, в эндометрии во время менструального цикла, в плаценте беременных, при ремоделировании тканей, играют важную роль в патогенезе таких патологических состояний, как сахарный диабет, рост и метастазирование опухолей, формирование атеросклеротических бляшек, ишемической болезни сердца (ИБС) [15].

Процесс ангиогенеза можно условно разделить на несколько этапов (рис. 1): локальное выделение факторов роста и медиаторов воспаления после повреждения тканей, гипоксии при ишемии приводит к повышению проницаемости сосудистой стенки, далее происходят констрикция ЭК и уменьшение плотности межклеточных контактов, разрушение базальной мембраны (БМ) матриксными металлопротеиназами, миграция ЭК через разрушенную БМ в паренхиму и циркуляция предшественников эндотелиальных клеток (ПЭК) из костного мозга, пролиферация мигрирующих ЭК и дифференциация ПЭК в ЭК под действием ангиогенных факторов, формирование новых незрелых капиллярных петель. В последующем происходит стабилизация и «взросление» первичных сосудистых структур за счет привлечения перicyтов и гладкомышечных клеток (ГМК) в зависимости от величины формирующегося сосуда, которые дифференцируются из мезенхимальных стволовых клеток (МСК), а также из ПЭК, в результате чего происходит организация сложной трехмерной сосудистой сети [10, 59, 60].

Процессы неоваскуляризации ишемизированных тканей осуществляются при участии и взаимодействии нескольких типов клеток сосудистой стенки — ЭК, прогениторных стволовых мезенхимальных стромальных клеток (МСК) и циркулирующих ПЭК. ЭК в условиях ишемии активируются за счет того, что при гипоксии в клетках тканей повышается экспрессия и секреция проангиогенных факторов, прежде всего, VEGF, рецепторы к которому селективно экспрессированы на ЭК. Взаимодействие VEGF с его рецепторами активирует экспрессию протеаз в ЭК, они разрушают межклеточные контакты и БМ, начинают активно делиться

и мигрировать в ишемизированную ткань. С этих основных процессов начинается ангиогенез при ишемии [11, 60].

Другим типом клеток, участвующих в процессах ангиогенеза, являются МСК. МСК дифференцируются в перициты и ГМК, которые локализуются периэндотелиально и способны контактировать с ЭК через поры в БМ. Важным механизмом влияния МСК является паракринный эффект, способность секретировать широкий спектр ангиогенных факторов (фактор роста фибробластов – bFGF, ангиопоэтин-1 – Анг1, интерлейкины, протеазы и др.). При совместном культивировании МСК и ЭК стабилизируются сосудоподобные структуры, образованные ЭК [11]. У пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) в сочетании с ожирением, сахарным диабетом пролиферативная активность МСК существенно снижалась по сравнению со здоровыми донорами [4].

Ключевую роль в процессах ангиогенеза играет особая популяция стволовых клеток, выделенная T. Asahara et al. из циркулирующей мононуклеарной фракции костного мозга – ПЭК [19]. Эти клетки характеризуются экспрессией ряда специфических для предшественников и зрелого эндотелия поверхностных клеточных маркеров CD34, CD133, VEGFR2 (рецепторы 2 типа к VEGF) и др. [25, 34, 50, 59]. Многие авторы относят к ПЭК различные субпопуляции, коэкспрессирующие в различных сочетаниях указанные выше маркеры: CD133+ / CD34+ / VEGFR2+, CD133+ / CD34+, CD133+ / VEGFR2+, CD34+ / VEGFR2+. Такое разнообразие фенотипов предшественников, с одной стороны, по-видимому, обусловлено тем, что точный и единственный фенотип ПЭК до сих пор не определен; с другой стороны, возможно, что указанные фенотипы отражают различные стадии дифференцировки ПЭК [13, 24, 37, 59]. Источниками получения ПЭК могут быть костный мозг, периферическая кровь, фетальные органы кроветворения и пуповинная кровь. ПЭК относят к популяции гематопоэтических (CD34+) стволовых клеток, однако имеются работы, где они были обнаружены ПЭК при дифференцировке мезенхимальных (CD34-) клеток костного мозга. Процесс перехода ПЭК из костного мозга к эндотелию включает 3 этапа: под воздействием ангиогенных факторов роста, цитокинов происходит мобилизация и высвобождение ПЭК из костного мозга, их циркуляция,

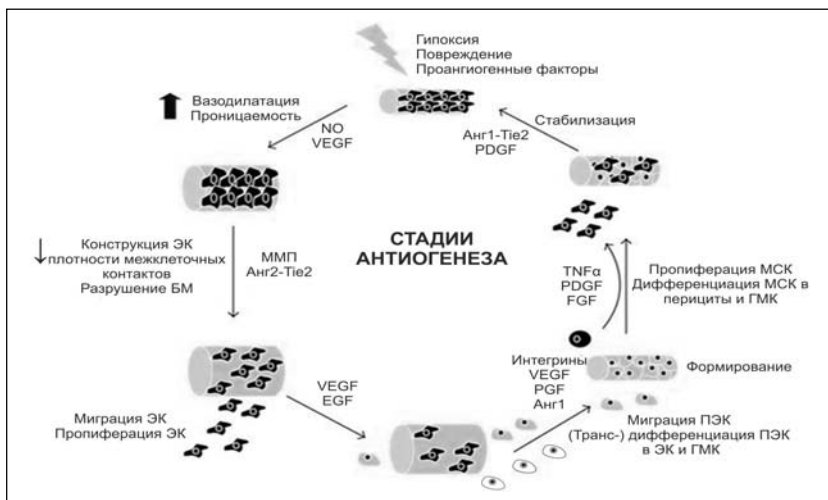


Рис. 1. Стадии ангиогенеза: ЭК – эндотелиальные клетки; БМ – базальная мембрана; MMP – матриксные металлопротеиназы; Анг1 – ангиопоэтин-1; Анг2 – ангиопоэтин-2; МСК – мезенхимальные стволовые клетки; ГМК – гладкомышечные клетки; ПЭК – предшественники эндотелиальных клеток; VEGF – сосудисто-эндотелиальный фактор роста; EGF – эпидермальный фактор роста; FGF – фактор роста фибробластов; PGF – плацентарный фактор роста; PDGF – тромбоцитарный фактор роста; TNF-α – фактор некроза опухоли-α

далее миграция к месту повреждения сосудов и ишемии тканей и, наконец, встраивание в область повреждения эндотелия сосудистой стенки, участие в реэндотелизации и формировании новых сосудов [25, 34, 37]. Процессы высвобождения стволовых клеток из костного мозга, направленная миграция и встраивание в зоны повреждения и/или ишемии объединяют в понятие «хоуминг». Выделяют «ранние» и «поздние» ПЭК, общими для них являются фенотипические признаки, клеточные маркеры, характерные для эндотелия. Однако по мере дифференцировки, созревания ПЭК их в зрелые ЭК изменяются клеточные маркеры, теряется CD133+, появляется vWF+ (фактор Виллебранда) [50]. В неоваскуляризации ПЭК могут участвовать опосредованно, выделяя множество факторов (рис. 2), которые способствуют процессам ангиогенеза, вазодилатации, уменьшению апоптоза, стимулируют мобилизацию и высвобождение ПЭК. Возможно и прямое участие в ангиогенезе путем вазодилатации, уменьшения апоптоза, стимулируют мобилизацию и высвобождение ПЭК, так и прямое участие в ангиогенезе путем дифференциации ПЭК в зрелые ЭК и трансдифференциации в ГМК сосудистой стенки и кардиомиоциты. Также может происходить процесс слияния (fusion) ПЭК с кардиомиоцитами, приводящий к образованию гибридных клеточных элементов с фенотипом обоих типов клеток [37, 39]. На количество и функциональные способности циркулирующих ПЭК могут оказывать влияние различные сердечно-сосудистые факторы риска, такие как гиперлипидемия,

сахарный диабет, возраст, курение, приводящие к снижению количества и миграционной активности ПЭК; выявлена отрицательная корреляция ПЭК и систолического артериального давления, индекса массы тела. Физическая нагрузка оказывала положительное действие на уровень и функциональную активность ПЭК [24, 37], отмечались более высокие уровни ПЭК у женщин по сравнению с мужчинами [45]. При ИБС имеются неоднозначные сведения, говорящие как о повышении, так и уменьшении уровня ПЭК в крови [27, 34, 45, 50], наличие систолической дисфункции влияло на уменьшение ПЭК [45]. Уровень ПЭК зависел от количества пораженных коронарных сосудов [16, 33], при выполнении коронарной реваскуляризации (баллонной ангиопластики, аорто-коронарного шунтирования) отмечался прирост циркулирующих ПЭК в крови, при этом исчезало достоверное различие между больными и здоровыми. Исходный уровень ПЭК в крови влиял на эффективность генной терапии rhVEGF165 [16]. При ХСН уровень ПЭК в крови снижался по мере нарастания тяжести проявлений и коррелировал с функциональным классом и фракцией выброса левого желудочка [18, 32, 37]; при сочетании с сахарным диабетом 2 типа отмечались еще более низкие значения, причем обратно коррелировали с уровнем гликемии [11]. Также имеются исследования о связи уровня ПЭК в крови и выживаемости, у больных с ИБС при более высоких исходных уровнях ПЭК в крови летальных исходов от сердечно-сосудистых причин отмечалось меньше

[24, 44]. Такие лекарственные препараты, как ингибиторы АПФ, блокаторы рецепторов ангиотензина II, блокаторы кальциевых каналов, G-CSF, эритропоэтин, ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы (статины), в ряде исследований продемонстрировали положительное действие в виде увеличения ПЭК, однако терапия статинами в высоких дозах оказывала ингибирующее действие [24, 35, 37, 43, 45].

В процессах ангиогенеза участвуют многие ангиогенные факторы. Ключевым проангиогенным фактором, который принимает участие практически на всех стадиях ангиогенеза, является VEGF. VEGF-путь — это первый сигнальный путь, активируемый во время васкулогенеза. Участие VEGF-A, одной из 7 изоформ семейства VEGF, в ангиогенезе наиболее доказано, причем различные изоформы VEGF-A, такие как VEGF120, VEGF188, VEGF165, неодинаково значимы [15, 38, 41]. Обсуждается также участие VEGF-B в регуляции клеточной адгезии и миграции в процессах ангиогенеза. В эмбриональном периоде очень важен уровень VEGF, что подтверждается гибелью эмбрионов на 11 – 12-й день внутриутробного развития при выключении одного из аллелей VEGF-A у нокаутных мышей [15]. Рецепторами для VEGF являются обладающие тирекиназной активностью VEGFR-1 (Flk1) и VEGFR-2 (Flk1/KDR), расположенные на поверхности ЭК. В отличие от других факторов роста, стимулирующих пролиферацию многих типов клеток, VEGF является селективным митогеном для эндотелия и гипоксия-зависимым белком, в ответ на гипоксию уровень VEGF может увеличиваться до 30 раз под влиянием HIF-1a (Hypoxia Inducible Factor-1a) [41]. VEGF, активируя синтез эндотелиальной NO-синтазы и образование NO, способствует вазодилатации и стимулирует образование металлопротеаз, разрушающих связи между ЭК и внеклеточным матриксом, тем самым, принимает участие в миграции клеток. В процессе стабилизации и «взросления» вновь образованной незрелой сосудистой сети важно длительное локальное наличие VEGF. Экспрессия генов VEGF и FGF играет определяющую роль в развитии коллатеральных сосудов при ишемии миокарда, описан ряд полиморфизмов гена VEGF-A, связанных с риском развития инфаркта миокарда [48]. При хронической ишемии нижних конечностей отмечалось повышенное образование VEGF CD14+ -клетками популяции мононуклеарной фракции костного мозга, однако эти

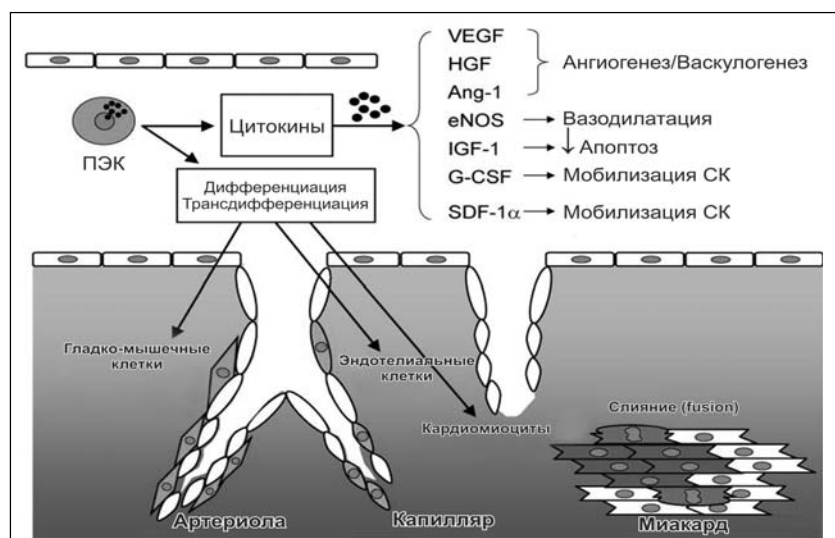


Рис. 2. Участие предшественников эндотелиальных клеток в процессах ангиогенеза: ПЭК — предшественники эндотелиальных клеток; СК — стволовая клетка; VEGF — сосудисто-эндотелиальный фактор роста; HGF — фактор роста гепатоцитов; Ang1 — ангиопоэтин-1; e-NOS — эндотелиальная NO-синтаза; IGF-1 — инсулиноподобный фактор роста-1; G-CSF — гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; SDF-1α — фактор стромальных клеток-1α

клетки были не способны стимулировать образование трубочек, сформированными ЭК *in vitro* [2]. Имеются противоречивые данные о VEGF при ХСН, этого фактора может быть недостаточно для стимуляции ангиогенеза, особенно в сочетании с сахарным диабетом, поскольку гипергликемия негативно отражается на клетках-мишенях VEGF [9]. В настоящее время активно исследуется использование генетических терапевтических конструкций (генная терапия) VEGF, и в ряде последних клинических исследований наиболее эффективной признается генная терапия VEGF165 [3, 22, 41].

Наряду с VEGF, также в ангиогенезе участвуют другие проангиогенные и антиангиогенные факторы. Известно более 30 эндогенных проангиогенных молекул – FGF, PDGF, bFGF, SDF- α , Анг-1, G-CSF и т. д. и антиангиогенных факторов – Анг-2, ангиостатин, эндостатин, ингибитор VEGF и т. д. [38]. Описанный среди первых ангиогенных факторов фактор роста фибробластов (FGF) обладает проангиогенной активностью, FGF-рецепторы экспрессируются на ЭК и ГМК; тромбоцитарный фактор роста (PDGF) участвует в стабилизации и формировании сосудистой сети, привлекая МСК; фактор клеток стромы- α (SDF- α) с его G-белковым трансмембранным рецептором (CXCR4) выполняет ключевую роль в привлечении ПЭК в зону повреждения миокарда – хоуминге – и оказывает прямое проангиогенное действие, индуцируя экспрессию в клетках HIF-1 α и VEGF [60]. Важную роль в процессах эмбрионального и постнатального ангиогенеза играют ангиопоэтин-1 (Анг-1), ангиопоэтин-2 (Анг-2) и их рецептор Tie-2. Анг-1, связываясь с Tie-2-рецептором, который экспрессируется в ЭК, способствует миграции ПЭК, контролирует созревание и стабильность новых кровеносных сосудов. VEGF и Анг-1 играют важные взаимодополняющие роли в процессах ангиогенеза: VEGF является обязательным для формирования первичного сосудистого сплетения, а Анг-1 необходим для стабилизации и созревания ЭК сосудистой стенки. Анг-2 является антагонистом Анг-1 и антагонистическим лигандом для Tie-2-рецептора, синтезируется в ЭК и хранится в органеллах Weibel Palade, быстро высвобождается при клеточной активации, стимулирует апоптоз ЭК, конкурентно ингибирует связывание Анг-1 [55]. Показано повышение Анг-2 и уменьшение Tie-2 с возрастом, положительная связь Анг-2 и Tie-2 с сахарным диабетом, ожирением, гипер-

триглицеридемией, гипертензией, метаболическим синдромом, генетические корреляции с концентрациями Анг-2 и Tie-2 [57]. Анг-2 оказался предиктором общей смертности и ассоциировался с высоким риском сердечно-сосудистой смертности [40].

В последние годы обсуждается новая роль хорошо известного протробогенного маркера повреждения ЭК vWF [14] как антиангиогенного регулятора ангиогенеза, который ингибирует VEGFR2-зависимый сигнальный путь [46], при дефиците vWF ЭК демонстрировали проангиогенный фенотип [52].

Стимуляторы и ингибиторы ангиогенеза оказывают влияние на процессы апоптоза, угнетая или, наоборот, способствуя развитию апоптоза соответственно. Так, функциональными последствиями апоптоза ЭК в эмбриогенезе могут быть смерть эмбриона в результате дефектов сосудистой сети и кровотечений, а в постнатальном периоде – подавление ангиогенеза, сосудистая регрессия [23]. Фактор апоптоза Fas-лиганда, который относится к суперсемейству фактора некроза опухоли, через взаимодействие с Fas-рецептором запускает апоптоз эндотелиоцитов, а внутриклеточные белки семейства Bcl-2 повышают чувствительность ЭК к FAS-апоптозу [31]. Апоптотические ЭК и кардиомиоциты являются источником аннексинов [12]. При ХСН отмечалось повышение апоптотических прогениторных ЭК CD34+ /annexin V+ /propidium I+ по мере увеличения функционального класса (NYHA), снижения фракции выброса левого желудочка [26]. Имеются противоречивые данные о роли регулятора апоптоза p53 в процессах ангиогенеза – как

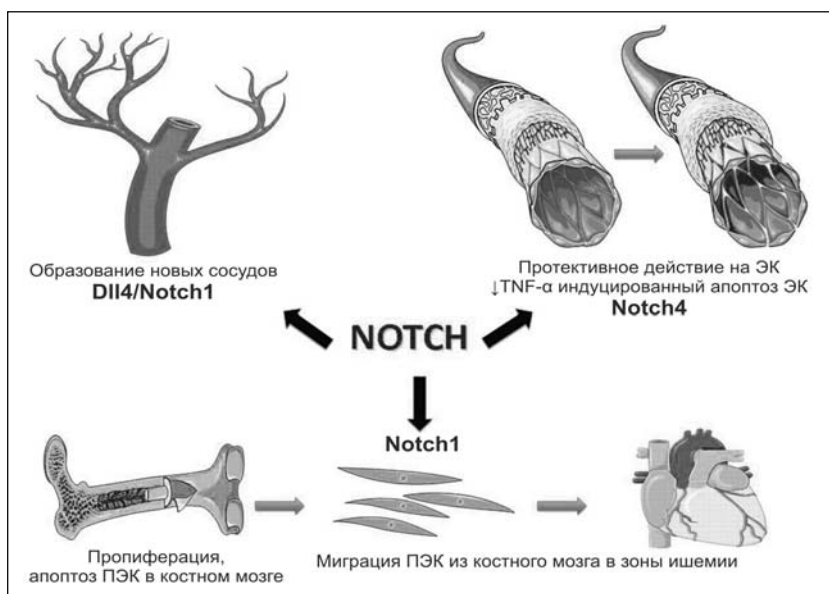


Рис. 3. Notch-сигнальный путь и ангиогенез [61]: ЭК – эндотелиальные клетки; ПЭК – предшественники эндотелиальных клеток; TNF- α – фактор некроза опухоли- α

о его ингибирующем, так и о стимулирующем влиянии [28, 31, 54]. Важными компонентами выживания ЭК в ангиогенезе признаны интегрины ν , при ингибировании сосудистых интегринов инициируется апоптоз ангиогенных клеток [51].

В последние годы активно исследуется Notch-сигнальный путь, играющий важную роль в клеточной дифференциации, пролиферации, процессах апоптоза и ангиогенеза (рис. 3). Notch-путь участвует в эмбриогенезе сердечно-сосудистой системы, развитии и созревании сосудистой стенки коронарных сосудов, репаративных процессах сердца. Нарушения этого сигнального пути могут приводить к врожденным порокам, аномалиям проводящей системы сердца. Notch-сигнальный путь представлен системой Notch-рецепторов и их лигандов, причем эндотелий экспрессирует Notch-рецепторы 1, 4 и Notch-лиганды Delta-like-1, 4 (Dll1, Dll4) и Jagged 1 (Jag1). Notch-путь осуществляет регуляцию трансдифференциации ПЭК в кардиомиоциты, оказывая протективный эффект при ишемии миокарда, и непосредственно участвует в стимуляции процессов ангиогенеза, улучшая перфузию миокарда при ишемии [61]. Также этот сигнальный путь участвует в механизмах дифференциации МСК через взаимодействие с ламинами А/С [1, 6], при воздействии экспрессии Dll1 увеличивалась экспансия гемопоэтических CD34⁺-стволовых клеток пуповинной крови *in vitro* при совместном культивировании с МСК [5]. Dll4/Notch-1 способствуют образованию

новых кровеносных сосудов, при этом Dll4 определяет, сколько отростков образуется от родительского сосуда в процессе ангиогенеза, а Notch-4 защищает ЭК от TNF- α -индуцированного апоптоза. Участвуя в стимуляции пролиферации, хоуминга ПЭК, Notch-1 также стимулирует процессы ангиогенеза, воздействуя на C-X-C chemokine receptor type 4 и повышает высвобождение ПЭК при ишемии миокарда путем регуляции процессов апоптоза в костном мозге [47]. Таким образом, Notch-сигнальный путь играет важную роль в регуляции эндотелиального гомеостаза и неоангиогенеза.

В настоящее время большой интерес для исследователей представляет посттранскрипционная регуляция генома с участием микроРНК (миРНК). МиРНК — это класс эндогенных некодирующих коротких молекул РНК длиной 18 — 25 нуклеотидов, которые были открыты в 1993 г. МиРНК играют важную роль в дифференциации, пролиферации клеток, апоптозе, процессах фиброза и ангиогенеза [8, 20]. Показано, что нарушение функционирования определенных миРНК может приводить к развитию сердечно-сосудистых заболеваний, в частности, атеросклероза, ИБС и ХСН; так, миРНК-25 способствует прогрессированию сердечной недостаточности, при блокировании этой миРНК-25 тормозится прогрессирование ХСН, улучшается функция сердца и выживаемость [56].

В последние годы обнаружено, что в процессах ангиогенеза активную роль играют миРНК [36, 49], но несмотря на то, что объем литературных данных по этой проблеме постоянно расширяется, пока не много известно о посттранскрипционном пути регулирования экспрессии генов, ассоциированных с ангиогенезом. Различные кластеры миРНК, подавляя или активизируя основные процессы, связанные с ангиогенезом, по механизму действия могут быть разделены (рис. 4) на проангиогенные миРНК и антиангиогенные миРНК [7]. Проангиогенные миРНК представлены различными кластерами. Так, миРНК-126, локализованная на хромосоме 9q34.3, закодированная в интроне 7-го гена epidermal growth factor like-7, специфично экспрессируется в ЭК, и генами-мишенями для миРНК-126 являются такие индукторы ангиогенеза, как VEGF и FGF, которые играют важную роль в развитии коллатеральных сосудов при ишемии миокарда [20]. Один из обширных кластеров в геноме человека миРНК 17–92, включающий в себя 7 миРНК (миРНК-17–5p, миРНК-17–3p, миРНК-18a, миРНК-19a, миРНК-20a, миРНК-19-b-1 и миРНК-92–1), регулирует процесс образования сосудов с помощью репрессии антиангиогенного фактора тромбоспондина-1 (TSP-1) и фактора соединительной ткани (CTGF). Другой ген-мишенью для данной группы миРНК является HIF-1 α [7, 30].

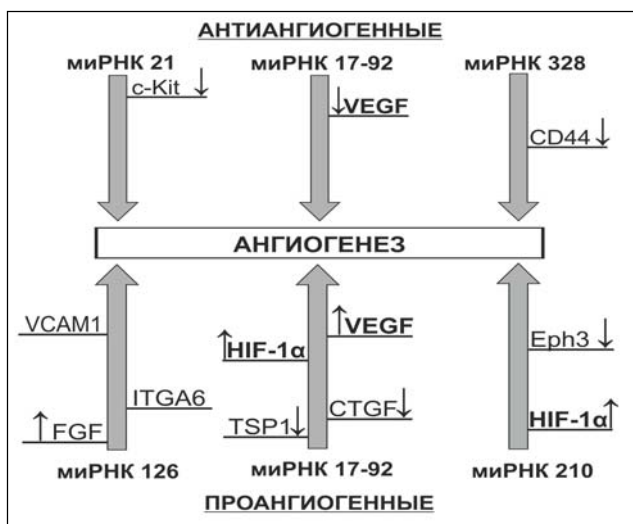


Рис. 4. Регулирование экспрессии генов, ассоциированных с ангиогенезом, с помощью микроРНК [7]. Процессы ангиогенеза регулируются на посттранскрипционном уровне с помощью изменения экспрессии и функций генов, кодирующих белковые факторы, каждый из этих генов служит мишенью для специфических миРНК, которые различным образом регулируют их экспрессию (черными стрелками показан характер изменения экспрессии гена, на который действует данная миРНК)

миРНК-130а — это другой проангиогенный регулятор ангиогенеза ЭК, который изменяет экспрессию генов GAX (GrowthArrest-specific Homeobox) и HOXA5 (HomeoboxA5), снижая экспрессию обоих этих генов. Проангиогенная миРНК-210 является одним из ключевых звеньев при развитии гипоксии, блокирует миграцию и дифференцировку ЭК в результате связывания с генами-мишенями HIF-1 α и эфрина А3 (ephrin-A3, Eph-3). HIF-1 α индуцирует экспрессию миРНК-210 в эндотелиоцитах, а молекулы эфринов контролируют ангиогенный фенотип кровеносных сосудов и играют важную роль в ЭК. МиРНК-210 подавляет экспрессию гена Eph-3 в ответ на гипоксию, способствуя индукции ангиогенеза [36]. К антиангиогенным миРНК относится миРНК-221, которая блокирует пролиферацию ЭК и ангиогенез, связываясь с важным звеном в регулировании ангиогенеза и восстановлении сосудистой стенки геном c-Kit и снижая его экспрессию. Причем уровни ПЭК с миРНК 221/222 значительно повышены у больных с ИБС [8, 20]. МиРНК-328, взаимодействующая с геном рецептора гиалуроновой кислоты CD44, снижает его экспрессию, ослабляя адгезию и миграцию, блокирует образование капиллярных структур. Интересно, что кластер миРНК-17–92, который рассматривался выше, наряду с проангиогенными миРНК, включает в себя и антиангиогенные миРНК, такие как миРНК-15-b, миРНК-16, миРНК-20a и миРНК-20b. Экспрессия этих миРНК существенно снижается при гипоксии, что может быть связано со стабилизацией HIF-1 α . С другой стороны, наличие миРНК-15-b, миРНК-16, миРНК-20a и миРНК-20b существенно снижает экспрессию белка VEGF, уровень экспрессии которого зависит от различных факторов риска и характера течения инфаркта миокарда [36]. Некоторые группы миРНК могут участвовать в регуляции нескольких процессов: так, миРНК21 — в блокировании апоптоза, ангиогенеза и в развитии фиброза. Экспрессия таких факторов, как VEGF и HIF-1 α , может меняться неоднозначно — у этих генов более сложная схема регуляции [7]. Было показано, что повышенная экспрессия VEGF у больных ХСН на уровне РНК не реализовывалась на уровне секреции [9]. В 2008 г. впервые было сообщено о миРНК в циркулирующем кровотоке [21], также обнаружены внеклеточные миРНК в других биологических жидкостях — моче и слюне. Уровни циркулирующих миРНК стабильны у здоровых доноров и могут быстро и значительно изменяться в ходе развития и прогрессирования заболевания [17]. Имеются немногочисленные исследования ангиогенных циркулирующих миРНК: так, отмечались повышенные уровни миРНК-21 у больных с острым коронарным синдромом, миРНК-126 были увеличены у 10 больных с ХСН, и была показана обратная корреляция уровня миРНК-126 с улучше-

нием состояния по двум точкам (снижением функционального класса от IV к III NYHA и концентрации NT-проBNP) по сравнению с контрольной группой [7].

Таким образом, ангиогенез — это комплексный, многофакторный, многоэтапный процесс, в который вовлечены клеточные, гуморальные и молекулярно-генетические механизмы. В настоящее время активно изучаются процессы ангиогенеза в различных областях медицины (онкология, офтальмология, нейрохирургия, акушерство), и, конечно, особенно актуальным является изучение процессов ангиогенеза для сердечно-сосудистых заболеваний с альтернативной идеей использования ангиогенеза для улучшения перфузии в зоне ишемии путем терапевтического ангиогенеза в ишемизированных тканях с применением различных ангиогенных факторов, клеточной, генной терапии и генетически модифицированных стволовых клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богданова М. А., Гудкова А. Я., Забирник А. С. и др. Роль ядерных ламинов А/С в остеогенной дифференцировке мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток // Цитология. — 2014. — Т. 56. — № 4. — С. 260–267.
2. Бутылин П. А., Мельн И. А., Зубова Е. С. и др. Анализ ангиогенного потенциала гемопоэтических клеток и их субпопуляций у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей // Трансляционная мед. — 2012. — № 6 (17). — С. 42–48.
3. Деев Р. В., Бозо И. Я., Мжавангазе Н. Д. и др. Фаза 2Б-3 клинического исследования генноиндуцированного терапевтического ангиогенеза (VEGF165) и отсроченное наблюдение за пациентами с хронической ишемией нижних конечностей IIА–III стадий // Сердце и сосуды. — 2013. — Т. 43. — № 3. — С. 77–86.
4. Дмитриева Р. И., Ключкина М. А., Минулина И. Р. и др. Выбор стратегии экспансии мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга, полученных от доноров с сердечной недостаточностью и коморбидностями // Гены и клетки. — 2013. — Т. 8. — № 1. — С. 36–42.
5. Жук С. В. Изучение воздействия экспрессии лигандов Notch в стромальных клетках на экспансию гемопоэтических клеток *in vitro* / С. В. Жук, А. Ю. Зарицкий, Д. В. Моторин, П. А. Бутылин // Трансляционная мед. — 2012. — № 6 (17). — С. 34–41.
6. Забирник А. С. Ламины и ламинопатии: роль в самообновлении и дифференцировке стволовых клеток взрослого организма / А. С. Забирник, А. Я. Гудкова, А. Б. Малашичева, А. А. Костарева // Трансляционная мед. — 2013. — № 6 (23). — С. 77–82.
7. Колобов Г. А. Ишемическая болезнь сердца: регулирование с помощью микроРНК / Г. А. Колобов, М. А. Сазонова, И. А. Собенин, А. Ю. Постнов // Кардиолог. вестн. — 2011. — Т. VI. — № 2 (XVIII). — С. 5–9.
8. Кочетов А. Г., Жиров И. В., Масенко В. П. и др. Перспективы применения микроРНК в диагностике и терапии сердечной недостаточности // Кардиолог. вестн. — 2014. — Т. IX. — № 2. — С. 62–67.
9. Минулина И. Р., Дмитриева Р. И., Анисимов С. В. и др. Функциональные свойства мезенхимных стволовых клеток жировой ткани больных сердечной недостаточностью и

- коморбидностями // Трансляционная мед. — 2012. — № 5 (16). — С. 73–81.
10. Мнихович М. В., Гершон Д., Брикман М. и др. Морфогенетические механизмы клеточных взаимодействий в процессе ангиогенеза // Журн. анатомии и гистопатол. — 2012. — Т. 1. — № 3. — С. 53–65.
11. Парфенова Е. В., Ткачук В. А. Влияние гиперклиземии на ангиогенные свойства эндотелиальных и прогениторных клеток сосудов // Вестник РАН. — 2012. — № 1. — С. 38–44.
12. Петрищев Н. Н., Васина Л. В., Луговая А. В. Содержание растворимых маркеров апоптоза и циркулирующих аннексин V-связанных апоптотических клеток в крови больных острым коронарным синдромом // Вестник Санкт-Петербург. ун-та. — 2008. — № 11 (1). — С. 14–23.
13. Руга М. М., Арефьева Т. И., Соколова А. В. и др. Циркулирующие предшественники эндотелиальных клеток при нарушенном углеводном обмене у больных ишемической болезнью сердца // Сахарный диабет. — 2010. — № 1. — С. 13–20.
14. Ситникова М. Ю., Хмельницкая К. А., Иванов С. Г. и др. Влияние терапии метопрололом-CR/XL на состояние эндотелия, некоторые показатели атеросклероза и системы гемостаза у пациентов с хронической сердечной недостаточностью ишемической этиологии // Сердечная недостаточность. — 2002. — Т. 3. — № 4. — С. 169–171.
15. Старостин И. В., Талицкий К. А., Булкина О. С. и др. Коллатеральный кровоток в миокарде: роль фактора роста эндотелия сосудов // Кардиология. — 2012. — Т. 52. — № 11. — С. 49–55.
16. Талицкий К. А., Булкина О. С., Арефьева Т. И. и др. Эффективность терапевтического ангиогенеза у больных с хронической ишемией нижних конечностей // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. — 2011. — Т. VI. — № 3. — С. 89–98.
17. Фегоров А. В., Костарева А. А., Галагугза М. М. и др. Перспективы использования микроРНК в качестве биомаркера ишемического повреждения миокарда // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2012. — Т. 1. — № 3. — С. 69–75.
18. Хмельницкая К. А. Процессы ангиогенеза у больных хронической сердечной недостаточностью // 12-я Санкт-Петербург. ассамблея молодых ученых и специалистов: сборник. — СПб.: РГГМУ, 2007. — С. 84.
19. Asahara T., Murohara T., Sullivan A. et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis // Science. — 1997. — № 275. — P. 964–967.
20. Chang T. Y., Huang T. S., Wang H. W. et al. miRNome traits analysis on endothelial lineage cells discloses biomarker potential circulating microRNAs which affect progenitor activities // BMC Genomics. — 2014. — Vol. 15. — № 802. — P. 1–12.
21. Chen X., Ba Y., Ma L. et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases // Cell Res. — 2008. — № 18. — P. 997–1006.
22. Deveza L., Choi J., Fan Y. Therapeutic angiogenesis for treating cardiovascular diseases // Theranostics. — 2012. — Vol. 8. — № 2. — P. 801–814.
23. Dimmeler S., Zeiher A. Endothelial cell apoptosis in angiogenesis and vessel regression // Circulation Research. — 2010. — № 87. — P. 434–439.
24. Fadini G. P., Losordo D., Dimmeler S. Critical reevaluation of endothelial progenitor cell phenotypes for therapeutic and diagnostic use // Circulation Research. — 2012. — Vol. 110. — P. 624–637.
25. Fadini G. P. A look at the bone marrow predicts the global outcome // Circulation Research. — 2015. — Vol. 116. — P. 232–234.
26. Geft D., Schwartzberg S., Rogowsky O. et al. Circulating apoptotic progenitor cells in patients with congestive heart failure // PLoS ONE. — 2008. — Vol. 3. — № 9. — P. e3238.
27. George A. L., Bangalore-Prakash P., Rajoria S. et al. Endothelial progenitor cell biology in disease and tissue regeneration // Journal of Hematology and Oncology. — 2011. — № 4 (24). — P. 1–8.
28. Ghahremani M., Goossens S., Nittner. URL: <http://www.nature.com/cdd/journal/v20/n7/full/cdd201312a.html-aff3> D. et al. p53 promotes VEGF expression and angiogenesis in the absence of an intact p21-Rb pathway // Cell Death and Differentiation. — 2013. — P. 888–897.
29. Isner J. M. et al. Clinical evidence of angiogenesis after arterial gene transfer of phVEGF165. URL: http://www.biomedexperts.com/Abstract_bme/8709735/Clinical_evidence_of_angiogenesis_after_arterial_gene_transfer_of_phVEGF165_in_patient_with_ischaemic_limb_in_patient_with_ischaemic_limb // Lancet. — 1996. — № 348 (9024). — P. 370–374.
30. Jakob P., Landmesser U. Role of microRNAs in stem/progenitor cells and cardiovascular repair // Cardiovascular Research. — 2012. — № 93. — P. 614–622.
31. Johnson A., DiPietro L. Apoptosis and angiogenesis: an evolving mechanism for fibrosis // The FASEB J. — 2013. — Vol. 27. — № 10. — P. 3893–3901.
32. Khmel'nitskaya K. A., Shlyakhto E. V. CD34+ and endothelial progenitor cells in patients with chronic heart failure // Eur. Heart J. — 2011. — Vol. 32. — P. 918.
33. Khmel'nitskaya K. A., Shlyakhto E. V. The circulating endothelial progenitor cells decreased in patients with angiographically significant coronary artery diseases and chronic heart failure // Eur. J. of Heart Failure. — 2013. — Vol. 15 (1). — P. s299.
34. King T. F., McDermott J. H. Endothelial progenitor cells and cardiovascular disease // J. Stem Cells. — 2014. — № 9 (2). — P. 93–106.
35. Korah M., Jarajapu Y., Grant M. et al. Pharmacological modulators of endothelial progenitor cell therapy: implications for treatment with thiazolidinediones // J. Pharmacol Clin Toxicol. — 2013. — Vol. 1. — № 1. — P. 1–6.
36. Landskroner-Eiger S., Moneke I., Sessa W. C. miRNAs as Modulators of Angiogenesis // J. CSH Perspective in Medicine. — 2013. — № 3 (2). — P. 1–13.
37. Lee P. S., Poh K. K. C. Endothelial progenitor cells in cardiovascular diseases // World J Stem Cells. — 2014. — Vol. 6. — № 3. — P. 355–366.
38. Li N., Wang C., Jia L. et al. Heart regeneration, stem cells, and cytokines // Regenerative Medicine Research. — 2014. — Vol. 2. — № 6. — P. 1–6.
39. Liu H. B., Gong Y. F., Yu C. J. et al. Endothelial progenitor cells in cardiovascular diseases: from biomarker to therapeutic agent // Regenerative Medicine Research. — 2013. — Vol. 1. — № 9. — P. 1–5.
40. Lorbeer R., Baumeister S. E., Dorr M. et al. Circulating angiopoietin-2, its soluble receptor Tie-2, and mortality in the general population // European Journal of Heart Failure. — 2013. — Vol. 15. — № 12. — P. 1327–1334.
41. Muona K. Safety of VEGF gene therapy in cardiovascular diseases // Dissertations in Health Sciences. Publications of the University of Eastern Finland (Department of Biotechnology and Molecular Medicine). — 2013. — 95 p.
42. Nachman R. L. Endothelium: from cellophane to orchestral maestro // The Jour. of Clinical Investigation. — 2012. — Vol. 122. — № 3. — P. 796–797.
43. Nagai T., Komuro I. Gene and cytokine therapy for heart failure: molecular mechanisms in the improvement of cardiac function // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. — 2012. — Vol. 303. — № 5. — P. 501–512.

44. Patel R. S., Li Q., Ghaseemzadeh N. et al. Circulating CD34⁺ progenitor cells and risk of mortality in a population with coronary artery disease // *Circulation Research*. — 2015. — Vol. 116. — P. 289–297.

45. Pelliccia F., Greco C., Franzoni F. et al. Endothelial Progenitor Cells in Coronary Artery Disease: The 5-Year Experience at a Single Center // *Cardiology and Angiology: An International Journ.* — 2013. — Vol. 1. — № 1. — P. 1–8.

46. Randi A. M., Laffan M. A., Starke R. D. Von Willebrand Factor, Angiodysplasia and Angiogenesis // *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.* — 2013. — № 5 (1). — P. e2013060.

47. Rizzo P., Miele L., Ferrari R. The Notch pathway: a crossroad between the life and death of the endothelium // *Eur. Heart J.* — 2013. — Vol. 34. — P. 2504–2509.

48. Rogers M. S., D'Amato R. J. Common Polymorphisms in Angiogenesis // *J. CSH Perspective in Medicine*. — 2012. — № 2 (9). — P. 1–20.

49. Seeger F. H., Zeiher A. M., Dimmeler S. MicroRNAs in stem cell function and regenerative therapy of the heart // *ArteriosclerThrombVasc Biol.* — 2013. — № 33. — P. 1739–1746.

50. Siddique A., Shantsila E., Lip G. Y. H. et al. Endothelial progenitor cells: what use for the cardiologist? // *Journal of Angiogenesis Research*. — 2010. — Vol. 2. — № 6. — P. 1–13.

51. Somanath P. R., Ciocea A., Byzova T. V. Integrin and growth factor receptor alliance in angiogenesis // *Cell BiochemBiophys*. — 2009. — № 53 (2). — P. 53–64.

52. Starke R. D. et al. Endothelial von Willebrand factor regulates angiogenesis // *Blood*. — 2011. — Vol. 117. — № 3. — P. 1071–1080.

53. Stephenson J. A., Goddard J. C., Al-Taani O. et al. Tumour angiogenesis: a growth area — from John Hunter to Judah Folkman and Beyond // *J. of Cancer Research*. — 2013. — ID 895019. — P. 1–6.

54. Teodoro J. G. et al. Inhibition of tumor angiogenesis by p53: a new role for the guardian of the genome // *J. of Molecular Medicine*. — 2007. — Vol. 85. — № 11. — P. 1175–1186.

55. Thurston G., Daly C. The complex role of angiotensin-2 in the angiotensin — Tie signaling pathway // *J. CSH Perspective in Medicine*. — 2012. — № 2 (4). — P. 1–13.

56. Wahlquist C., Jeong D., Rojas-Munoz A. et al. Inhibition of miR-25 improves cardiac contractility in the failing heart // *Nature*. — 2014. — Vol. 508. — № 7497. — P. 531–535.

57. Wolfgagng L., Zachariah J. P., Xanthakis V. et al. Clinical and genetic correlates of circulating angiotensin-2 and soluble Tie-2 in the community // *Circulation: Cardiovascular Genetics*. — 2010. — Vol. 3. — № 3. — P. 300–306.

58. Yamamoto T., Shibata R., Ishii M. et al. Therapeutic reendothelialization by induced pluripotent stem cells after vascular injury — brief report // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2013. — Vol. 33. — № 9. — P. 2218–2221.

59. Yoder M. C. Human Endothelial Progenitor Cells // *J. CSH Perspective in Medicine*. — 2012. — № 2 (9). — P. 1–15.

60. Zang L., Qungbo X. Stem/Progenitor cells in vascular regeneration // *Atheroscler. TrombVasc Biol.* — 2014. — Vol. 34. — № 6. — P. 1114–1119.

61. Zhou X. L. et al. Role of Notch signaling in the mammalian heart // *Br. J. Med. Biol. Research*. — 2014. — Vol. 47. — № 1. — P. 1–10.

РЕЗЮМЕ

К. А. Хмельницкая, А. Я. Гудкова, Е. В. Шлякто

Современные представления о клеточно-молекулярных механизмах ангиогенеза

В обзоре представлены современные научные литературные данные, рассмотрены проведенные исследования, посвященные изучению молекулярных, клеточных и генетических механизмов в процессах ангиогенеза. Авторы детально анализируют этапы процесса ангиогенеза, роль ведущих проангиогенных и антиангиогенных факторов, факторов апоптоза, обладающих различной направленностью в регуляции развития кровеносных сосудов. Проводится подробный анализ роли особой популяции стволовых клеток костного мозга — предшественников эндотелиальных клеток — в процессах неоваскуляризации. Обсуждаются и анализируются участие VEGF-, Ang/Tie-зависимых и Notch-сигнальных путей, посттранскрипционной регуляции генома с участием микроРНК в процессах ангиогенеза.

Ключевые слова: ангиогенез, ангиогенные факторы, антиангиогенные факторы, факторы апоптоза, стволовые клетки, предшественники эндотелиальных клеток, сосудисто-эндотелиальный фактор роста, Notch, микроРНК.

SUMMARY

K. A. Khmel'nitskaya, A. Y. Gudkova, E. V. Shlyakhto

Modern conception about cellular and molecular mechanisms of angiogenesis

The review contains modern scientific literary data, recently conducted studies, which devoted to studying of molecular, cellular and genetic mechanisms in processes of angiogenesis. The authors describe in detail angiogenesis stages, value of the main proangiogenic and antiangiogenic factors, apoptosis factors, which have different orientation in regulation of blood vessels development. Role of a special population of bone marrow-derived stem cells — endothelial progenitor cells (EPC) in the neovascularization is analyzed. Participation of VEGF-dependent, ANG/Tie-dependent and Notch-signaling pathways, posttranscription regulation of a genome with participation of microRNA in angiogenesis processes are discussed and reviewed.

Key words: angiogenesis, angiogenic factors, antiangiogenic factors, apoptosis factors, stem cells, endothelial progenitor cells, vascular-endothelial growth factor, Notch, microRNA.