

---

## КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

---

### АНГИОГЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ ПРЕКУРСОРОВ

А.А. Лызиков

Гомельский государственный медицинский университет

Большие успехи, достигнутые в области терапевтического неоангиогенеза, привлекают внимание все большего числа исследователей. В статье рассмотрены основные фенотипические характеристики и ангиогенные эффекты клеток — предшественников эндотелиоцитов.

Ключевые слова: терапевтический неоангиогенез, клетки — предшественники эндотелиоцитов, фенотипические характеристики, ангиогенные эффекты.

### ANGIOGENIC EFFECTS OF ENDOTHELIAL PRECURSORS

A.A. Lyzikov

Gomel State Medical University

Great advances recently achieved in field of therapeutic angiogenesis attract attention of researchers. Basic phenotypical characteristics and angiogenic effects of endothelial precursors are described in the article.

Key words: therapeutic angiogenesis, endothelial precursors, phenotypical characteristics, angiogenic effects.

Несмотря на впечатляющие успехи сосудистой хирургии, все еще остается большая группа больных с критической ишемией нижних конечностей, у которых отсутствуют условия для проведения реконструктивных операций. Еще недавно такие больные были обречены на различного уровня ампутацию конечности и последующую глубокую инвалидность. Однако большие достижения в области индукции неоангиогенеза при помощи стволовых клеток — предшественников эндотелиоцитов резко повышают шансы на выживаемость конечности и привлекают внимание все большего числа исследователей.

#### **Эндотелиальные прекурсоры (ЭП) и формирование сосудистых структур в эмбриогенезе**

Для развития успешных методов индукции неоваскуляризации во взрослом организме необходимо понимание процесса формирования сосудистых сетей во время эмбриогенеза. В пренатальном периоде гемангиобласты, происходящие из

вентральной аорты человека, дают начало клеточным элементам, лежащим в основе как ангиогенеза и формирования примитивных капиллярных сетей, так и гематопоеза [1, 2]. В дополнение к маркерам гематопоетической линии эмбриональные гемангиобласты характеризуются экспрессией рецептора 2 к фактору роста сосудистых эндотелиальных клеток (VEGFR-2) и обладают высоким пролиферативным потенциалом к формированию колоний бластов в ответ на воздействие фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) [3, 4, 5, 6]. В ответ на регулирующее влияние различных факторов транскрипции и дифференциации эмбриональные гемангиобласты (ЭГ) образуются, мигрируют и дифференцируются в клетки эндотелиальной линии, создавая примитивную сосудистую сеть. Дифференциация ЭГ в плюрипотентные стволовые клетки и в ЭП связана с ко-экспрессией фактора транскрипции GATA-2, поскольку GATA-2 отрицательные эмбриональные стволовые клетки полностью блокированы в

дефинитивном гематопозе и участвуют в образовании фетальной печени и костного мозга [7]. Более того, ранние предшественники гематопозитической и эндотелиоцитарной линий, выделяясь из эмбрионального вентрального эндотелия, экспрессируют VEGF рецепторы, GATA-2 и  $\alpha$ -интегрины [8]. Вследствие капиллярной формации вновь образованные первичные сосуды рассеиваются, суживаются, подвергаются ремоделированию и регрессии под влиянием VEGF, ангиопоэтинов и других факторов в процессе, называемом ангиогенезом. Финальным компонентом, необходимым для формирования зрелой капиллярной сети в процессе эмбрионального органогенеза, является вовлечение клеток мезенхимальной линии для формирования поддерживающих структур, таких как гладкомышечные клетки и перicytes.

#### **ЭП во взрослом костном мозге и постнатальном ангиогенезе**

Isner и соавт. в интригующем сообщении несколько лет назад продемонстрировали, что клетки-ЭП при определенных обстоятельствах могут быть идентифицированы в периферическом кровообращении, то есть при особых обстоятельствах *in vitro* может быть индуцирована дифференцировка таких клеток в эндотелиоциты и они могут быть интегрированы в стенки существующих сосудистых структур в ишемизированных тканях [9].

Эти данные расходятся с многочисленными исследованиями с использованием различных экспериментальных моделей периферической ишемии, которые демонстрировали потенциальную способность выделенных из костного мозга элементов индуцировать неоваскуляризацию в тканях, находящихся в условиях ишемии [9, 10, 11, 12, 13, 14, 15]. Хотя в этих исследованиях не была достоверно определена природа выделенных из костного мозга ЭП, тем не менее такие сообщения показали потенциальную важность данного источника ЭП, который может быть полезным в индукции роста коллатерального сосудистого русла в ишемизированных тканях, определив сущность данного процесса как терапевтический ангиогенез.

#### **Фенотипическая характеристика ЭП в костном мозге взрослого человека**

В последние годы было проведено фенотипирование ЭП костного мозга взрос-

лого человека [16]. При помощи экспериментальных моделей *in vivo* и *in vitro* стала возможной точная идентификация характеристик поверхности и биологических характеристик ЭП клеток, выделенных из костного мозга. Вслед за введением фактора стимуляции гранулоцитарных колоний (ФСГК) (G-CSF) производилось изъятие мобилизованных мононуклеарных клеток (МНК) и отделение CD34+ клеток при помощи анти-CD34+моноклональных магнитных антител. Из CD34+ клеток 90–95% также экспрессировали маркер гематопозитической линии CD45, 60–80% экспрессировали рецептор фактора стволовых клеток CD117 и менее 1% — маркер моноцитарно-макрофагальной линии CD14. Среди CD34+CD117+ клеток экспрессия CD117 была тусклой в 75–85% и яркой — в 15–25%. Как CD34+ CD117 *тусклые*, так и CD34+CD117 *яркие* популяции содержали клетки эндотелиальной линии, что определяли по экспрессии рецептора фактора роста сосудистого эндотелия VEGFR-2. Высокая плотность экспрессии VEGFR-2 определялась в 20–30% CD117 *тусклых* клеток и низкая — в 10–15% CD117 *ярких* клеток. При квадратично-параметрическом анализе VEGFR-2+ клетки в CD34+CD117 *тусклые* популяции проявили фенотипические характеристики сосудистого эндотелия, включая высокий уровень экспрессии Tie-2, eсNOC, фактора фон Виллебранд, E-селектина (CD62E), и CD54. Напротив, VEGFR-2+ клетки в CD34+CD117 *яркие* популяции проявили фенотипические характеристики ЭП, включая ко-экспрессию Tie-2, также как AC133, но не маркеров зрелого эндотелия, таких как eсNOC, фактора фон Виллебранд, E-селектина (CD62E), и CD54. Эти клетки дополнительно определялись как экспрессирующие белковые характеристики примитивных гемангиобластов, свойственных для эмбриогенеза, включая факторы транскрипции GATA-2 и GATA-3. Внутриклеточное окрашивание CD34+ клеток, сортированных по признаку CD117 яркой или тусклой экспрессии, показало, что уровни протеина GATA-2, определяемых при среднеканальной флуоресценции, были приблизительно на 25% выше в CD34+CD117 *яркие*, чем в CD34+CD117 *тусклые* популяции.

Этот постулат был подтвержден количественным анализом мРНК, причем уро-

вень GATA-2 мРНК оказался на 58% выше в CD34+клетках, ярко экспрессирующих CD117, по сравнению с клетками, тускло экспрессирующими CD117. Поскольку поверхностная экспрессия VEGFR-2, Tie-2, и AC133 также определялась в группе CD117 тусклых клеток, которые проявляли низкие уровни активности GATA-2 мРНК и протеина, был сделан вывод, что фенотип эмбриональных костномозговых ангиобластов требует наличия яркой поверхностной экспрессии CD117 и клеточной активности GATA-2 в дополнение к экспрессии VEGFR-2, Tie-2, и AC133.

#### **Пролиферация ангиобластов человека в ответ на фактор роста сосудистого эндотелия и дифференцировка в эндотелиоциты**

Поскольку в экспериментах частота встречаемости предшественников эндотелиоцитов оказалась повышенной как при воздействии VEGF [17], так и при региональной ишемии [9, 10, 11, 12], впоследствии были изучены пролиферативные ответы фенотипических детерминированных ангиобластов на воздействие VEGF и факторов ишемической плазмы. CD117 яркие GATA-2 высокие ангиобласты проявили значительно более высокие пролиферативные ответы по сравнению с CD117 тусклыми GATA-2 низкими клетками костного мозга одного донора при культивировании в течение 96 часов либо с VEGF, либо с факторами ишемической плазмы. Расширенная популяция ангиобластов, содержащая большие бластные клетки, определяется по прямолинейному выбросу, которая продолжает экспрессировать незрелые маркеры, включая GATA-2, GATA-3 и CD117 яркие, но не маркеры зрелых эндотелиоцитов, включая eNOS, E-селектина, демонстрируя бластную пролиферацию без дифференцировки в условиях данной культуры. Однако культивирование фибронектина в среде эндотелиального роста приводит к чрезмерному развитию монослоев с эндотелиальной морфологией, функциональными и фенотипическими свойствами, характерными для эндотелиоцитов, включая стандартный захват ацетилированных липопротеинов низкой плотности и ко-экспрессию CD34, фактора VIII и eNOS.

Таким образом, введение взрослым людям фактора стимуляции гранулоцитарных

колоний (ФСГК) (G-CSF) мобилизует в периферическом русле происходящую из костного мозга популяцию с фенотипическими и функциональными характеристиками эмбриональных ангиобластов, которые определяются по специфическому фенотипу поверхности, высоким пролиферативным ответом к VEGF и цитокинам ишемической плазмы и способностью дифференцировки в эндотелиальные клетки при культивировании в среде, обогащенной факторами роста эндотелия.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Tavian M., Coulombel L., Luton D. et al. Aorta-associated CD34 hematopoietic cells in the early human embryo // *Blood*. — 1996. — Vol. 87. — P. 67–72.
2. Jaffredo T., Gautier R., Eichmann A., Dieterlen-lievre F. Intraaortic hemopoietic cells are derived from endothelial cells during ontogeny // *Development*. — 1998. — Vol. 125. — P. 4575–4583.
3. Kennedy M., Firpo M., Choi K. et al. A common precursor for primitive erythropoiesis and definitive haematopoiesis // *Nature*. — 1997. — Vol. 386. — P. 488–493.
4. Choi K., Kennedy M., Kazarov A. et al. A common precursor for hematopoietic and endothelial cells // *Development*. — 1998. — Vol. 125. — P. 725–732.
5. Elefanty AG., Robb L., Birner R., Begley CG. Hematopoietic-specific genes are not induced during in vitro differentiation of scl-null embryonic stem cells // *Blood*. — 1997. — Vol. 90. — P. 1435–1447.
6. Labastie M. C., Cortes F., Romeo P.-H. et al. Molecular Identity of hematopoietic precursor cells emerging in the human embryo // *Blood*. — 1998. — Vol. 92. — P. 3624–3635.
7. Tial F.Y., Keller Q. An early hematopoietic defect in mice lacking the transcription factor GATA-2 // *Nature*. — 1994. — Vol. 371. — P. 221–225.
8. Ogawa M., Kizumoto M., Nishikawa S. et al. Expression of alpha4-integrin defines the earliest precursor of hematopoietic cell lineage diverged from endothelial cells // *Blood*. — 1999. — Vol. 93. — P. 1168–1177.
9. Asahara T., Murohara T., Sullivan A. et al. Isolation of putative progenitor for endothelial angiogenesis // *Science*. — 1997. — Vol. 275. — P. 964–967.
10. Folkman J. Therapeutic angiogenesis in ischemic limbs // *Circulation*. — 1998. — Vol. 97. — P. 108–110.
11. Takahashi T., Kalka C., Masuda H. et al. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization // *Nat Med*. — 1999. — № 5. — P. 434–438.
12. Kalka C., Masuda H., Takahashi T. et al. Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor

cells for therapeutic neovascularization // Proc Natl Acad Sci USA. — 2000. — Vol. 97. — P. 3422–3427.

13. Rafii S., Shapiro F., Rimarachin J. et al. Isolation and characterization of human bone marrow microvascular endothelial cells: hematopoietic progenitor cell adhesion // Blood. — 1994. — Vol. 84. — P. 10–19.

14. Shi Q., Rafii S., Wu MH-D. et al. Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells // Blood. — 1998. — Vol. 92. — P. 362–367.

15. Lin Y., Weisdorf D.J., Solovey A., Hebbel R.P. Origins of circulating endothelial cells and endothelial

outgrowth from blood // J Clin Invest. — 2000. — Vol. 105. — P. 71–77.

16. Kocher A.A., Schuster M.D., Szabolcs M.J. et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function // Nat Med. — 2001. — № 7. — P. 430–436.

17. Asahara T., Takahashi T., Masuda H. et al. VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells // EMBO J. — 1999. — № 18. — P. 3964–3972.

Поступила 05.12.2005

УДК 618.4: 616.43

## ЭНДОКРИННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ РОДОВОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Е.Л. Лашкевич

Гомельский государственный медицинский университет

В статье представлен обзор современных представлений об эндокринных изменениях, происходящих в организме женщины при преждевременных родах. Показана роль кортизола, половых гормонов, окситоцина, простагландинов, а также различных маточных рецепторов в развитии родовой деятельности.

Ключевые слова: преждевременные роды, эндокринная система, кортизол, эстрогены, прогестерон, окситоцин, простагландины.

## ENDOCRINE REGULATION OF BIRTH ACTIVITY

E.L. Lashkevich

Gomel State Medical University

The article reviews the recent concepts about endocrine changes occurring in the women's body during the premature birth. There are illustrated the role of cortifan, reproductive hormones, oxytocine, prostaglandines and different uterus' receptions in defelopement of birth activity.

Key words: premature birth, endocrine system, cortifan, oestrogens, progesterone, oxytocine, prostaglandines.

В последние годы широко изучается влияние эндокринной системы на развитие родовой деятельности. Во время беременности преобладает тонус симпатического отдела вегетативной нервной системы, что блокирует сократительную деятельность матки даже при воздействии утеротонических средств (ацетилхолина, окситоцина, простагландинов). В процессе возникновения и развития родовой деятельности наблюдаются резкие колебания функциональной активности отделов вегетативной нервной системы, однако преобладает тонус парасим-

патической нервной системы с выделением в гуморальную среду ацетилхолина. Местное действие ацетилхолина обусловлено деполяризацией и повышением возбудимости клеточной мембраны, усилением трансмембранного перехода ионов натрия, калия и кальция, освобождением кальция из клеточного депо, т.е. электро- и фармакомеханическими влияниями. В опытах было определено, что ацетилхолин достоверно активизирует сократительную активность матки [9].

На моторную функцию матки также оказывают значительное влияние медиа-