

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МАКРОФАГОВ, ТРОМБОЦИТОВ И КЛЕТОК ЭНДОТЕЛИЯ КАК ЗЕРКАЛО ЭВОЛЮЦИИ НАШИХ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ ОБ АТЕРОГЕНЕЗЕ В КАРДИОНЕФРОЛОГИИ

И.И. Топчий

ГУ «Институт терапии имени Л.Т. Малой АМН Украины», Харьков

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, эндотелиальные клетки, апоптоз, apoіkіs, нейтрофилы, моноциты, тромбоциты, азота оксид, молекулы адгезии, стволовые клетки, статины.

Пять лет назад, в апреле 2003 года, состоялась последняя из запланированных Л.Т. Малой всеукраинская конференция «Прогресуючі нефропатії і ремоделювання серцево-судинної системи — сучасні уявлення про механізми розвитку, нове в діагностиці, лікуванні та профілактиці» [7]. В названии этой конференции отражены основные проблемы современной кардионефрологии, предопределившие главную тенденцию исследований начала XXI века — изучение универсальных, независимых от этиологии заболевания механизмов поражения сердца и сосудов, целью которых является разработка технологий профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний на основе использования естественных механизмов репарации и регенерации. Предлагаемая статья является своеобразным продолжением подведения итогов работы отдела нефрологии за истекший период. В предыдущих публикациях были изложены наши представления о механизмах развития артериальной гипертензии [12], фиброзирующих процессов в почках [11, 17] и вариантах повреждения сосудов у пациентов с хронической болезнью почек (ХБП) [10,20]. На основании анализа имеющихся в отделе результатов исследований и данных литературы предпринята попытка обсудить роль нарушений взаимодействия в системе кровь/сосудистая стенка при апоптозе и регенерации эндотелиальных клеток (ЭК) у больных с заболеваниями почек в свете меняющихся представлений о механизмах развития атеро- и артериолосклероза.

В последние годы в клинике внутренних болезней был внедрен новый показатель поражения сердечно-сосудистой системы — наличие микроальбуминурии. Казалось бы, зачем кардиологам вводить в обиход чисто нефрологический термин при таком количестве клинических, инструментальных и биохимических синдромов и симпто-

мов? Наверное, это связано с тем, что количественных методов определения поражения сосудов на ранних стадиях заболевания крайне мало. Десятилетиями мы употребляем термин «дисфункция эндотелия» (ДЭ), стыдливо прикрывая ни к чему не обязывающим определением наши пробелы в знании процесса и методическую беспомощность. Много лет мы работали под очарованием стройной теории R.G. Gerrity, согласно которой окисленные ЛПНП специфическими рецепторами гепатоцитов уже не распознаются, но зато захватываются scavenger-рецепторами макрофагов, которые в свою очередь зачем-то проникают в субинтимальное пространство артериальной стенки и закладывают основы будущей бляшки [3, 29]. В настоящее время атеросклероз представляется как воспалительный процесс, независимо от вида начального повреждения стенки сосуда [1, 2], а термин ДЭ стал своеобразной «черной дырой», куда мы складываем до лучших времен те нестыковки и непонятности, которые у незаангажированных исследователей все время появляются. Вместе с тем функция любого органа зависит от целостности его структуры. И пока клиницисты были увлечены моноцитарным клиренсом липидов [36, 62], азота оксидом (NO) и его недостаточностью при тромботических осложнениях или избытком при воспалительном компоненте [4,14], биологи с цитологами усиленно искали причину и варианты нарушения эндотелиального барьера. Почему при таких различных заболеваниях, как гломерулонефрит, сахарный диабет или гипертоническая болезнь, пациенты погибают в основном от разрыва атеросклеротической бляшки, в основе которой лежит отслойка эндотелия? Пациенты с ХБП чаще умирают от ишемической болезни сердца (ИБС), чем в общей популяции. Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (2003) признает, что ХБП является

фактором риска ИБС [31]. Попытки профилактики сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с заболеванием почек привели к неожиданному открытию — статины не влияют на развитие ИБС у больных, находящихся на лечении методом гемодиализа. Негативные результаты большого, рандомизированного, управляемого исследования, изучавшего влияние терапии статинами на развитие сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с диабетом, находящихся на лечении методом гемодиализа, были полной неожиданностью для исследователей в этой области [42]. Безусловно, при ХБП, помимо традиционных, имеется множество дополнительных факторов риска, включающих протеинурию, дисбаланс электролитов, воспаление, увеличенный окислительный стресс и изменение уровня NO [6, 35]. Но ведь что-то происходит при этом с самими клетками эндотелия. С курса физиологии мы помним, что в течение нескольких секунд в организме заменяются миллионы клеток. Что заставляет ЭК при атеросклерозе срываться с привычного места и куда девались клетки, которые должны были их заменить? Почему у ряда пациентов с глубоким атеросклерозом, где уже, кажется, и образовываться тому же NO не из чего, нет фатальных осложнений, а у молодых мужчин с единственным надрывом эндотелия — обширнейший инфаркт?

Эндотелий стратегически расположен между стенкой кровеносных сосудов и потоком крови. Он ощущает на себе механические стимулы, такие как давление и напряжение сдвига, а также гормональное влияние различных вазоактивных субстанций. Эндотелий играет также роль в митогенезе, ангиогенезе, сосудистой проницаемости и балансе жидкости в организме [5, 33]. Необходимо определить с некоторыми характеристиками эндотелия как наибольшей по массе и функции эндокринной железой в организме человека. Миллиарды клеток эндотелия занимают огромную площадь будучи монослоем, и выполнять свои многочисленные функции эти клетки могут только при условии целостности эндотелиального слоя (ЦЭС). Обычно клетки тесно связаны с тканью, к которой они прилегают, а коммуникативные соединения между соседними клетками, так же, как между клетками и внеклеточным матриксом (ВКМ) обеспечивают прохождение сигналов для роста или выживания. В 1972 году J. Кегг ввел термин «апоптоз» — явление программируемой клеточной смерти, сопровождаемой набором характерных цитологических признаков (маркеров апоптоза) и молекулярных процессов. При этом гибель клетки, в отличие от некроза, проявляется в уменьшении ее размера, конденсации и фрагментации хроматина, уплотнении наружной и цитоплазматических мембран без выхода содержимого клетки в окружающую среду. Апоікіс (на греческом — бездомный) является формой апоптоза, который индуцирован отщеплением клеток от окружающего ВКМ. Функциональный контакт клеток обеспечивается интегринами — его потеря активизирует

apoікіс и ухудшает ангиогенез [28, 34]. Когда клетка отделена от ВКМ, то есть когда есть потеря нормальных клеточно-матричных взаимодействий, она превращается в клетку «без определенного места жительства» (буквально — «клетка-бомж») (ЭКБ), подвергается apoікіс, и их количество на единицу объема крови используют как показатель повреждения ЦЭС [25]. Учитывая незначительный процент содержания ЭКБ в крови, сам по себе этот показатель мало что может сказать о функции эндотелиального слоя (ФЭС), хотя такие попытки и предпринимаются [37]. Неясно также, почему опухолевые клетки могут избежать apoікіс и вторгнуться в другие органы [34].

В настоящее время к маркерам развития apoікіс относят такие количественные показатели повреждения эндотелия, как содержание ЭКБ (CD146) в крови и, в какой-то мере, количество стволовых эндотелиальных клеток-предшественников (ЭКП) (CD133, CD34), которые в сумме составляют циркулирующие клетки эндотелия (ЭКЦ). По их соотношению судят об активности процесса повреждения [25, 41]. Из-за методических трудностей, исследователи чаще используют ряд косвенных признаков повреждения эндотелия, которые в какой-то мере характеризуют и ФЭС и ЦЭС. К таковым относятся: содержание фактора von Willebrand и С-реактивного белка, отношение активности iNOS к eNOS, содержание асимметричного диметиларгинина (АДМА); содержание G-катепсина, активность протеиназы и химазы [38] содержание VE-кадгерина, ICAM (CD54), VCAM (CD106), E-селектина (CD62L) [17,25], продукты лизиса триглицеридов [28]. К косвенным признакам апоптоза эндотелия можно отнести также повышение активности в плазме крови m-кальпаинов — кальцийзависимых цистеиновых протеаз, которые реализуют свой потенциал путем расщепления белков цитоскелета и повышения активности эффекторной каспазы 3, одного из ключевых ферментов апоптоза в клетках [39]. Опубликованная в 2006 году работа K. Daub et al. об образовании пенных клеток из стволовых клеток-предшественников [26] вызвала некоторую сумятицу в представлениях об атерогенезе, потому мы надеемся, что предлагаемый анализ наших результатов внесет в эту неразбериху некоторую ясность. В этом мини-обзоре сделана попытка связать процессы появления ЭКБ с некоторыми показателями функции эндотелия и функционально-морфологическими свойствами форменных элементов крови у больных ХБП. Не имея возможности определить количество ЭКЦ, мы попытались охарактеризовать выраженность структурных изменений ЦЭС путем изучения косвенных признаков повреждения эндотелия, о котором судили по наличию или отсутствию белка в моче. Рассматривается также роль и перспектива терапевтического применения стволовых ЭКП при сердечно-сосудистых заболеваниях.

Проанализированы результаты обследования 514 больных в возрасте 35—65 лет (237 мужчин, 277

женщин), из которых у 171 больных был диагностирован хронический гломерулонефрит (ХГН), у 176 — диабетическая нефропатия (ДН), у 167 — гипертоническая болезнь (ГБ, группа сравнения). Контрольную группу составили 20 здоровых лиц соответствующего пола и возраста. Больные были разделены на три основные группы: I группа — 128 пациентов с микроальбуминурией; II группа — 74 больных с протеинурией и III группа — 312 больных без следов белка в моче. Все группы были сопоставимы по возрасту и полу. В исследование не включали лиц с повышенным уровнем креатинина в плазме крови, со нестабильной стенокардией, системными заболеваниями соединительной ткани и лиц, переживших острые сосудистые катастрофы менее 1 года назад. При установлении диагноза ХБП пользовались классификацией, принятой на II Национальном съезде нефрологов Украины (2005), диагноз ГБ и ИБС устанавливали в соответствии с рекомендациями Украинской ассоциации кардиологов (2004), анализировали клинические и инструментальные данные, принимали во внимание наличие стабильной стенокардии, поражения периферических и церебральных сосудов, перенесенные инфаркт миокарда и ишемический инсульт.

Активность процессов перекисного окисления липидов изучали по концентрации малонового диальдегида в сыворотке крови; состояние антиоксидантной системы оценивали по концентрации SH-групп, активности супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы (К) [12,14]. Из воспалительных модуляторов изучали содержание межклеточной адгезивной молекулы-1 (ICAM-1, CD54), сосудистой адгезивной молекулы-1 (VCAM-1, CD106), E-селектина (CD62L) [13,16]. Содержание фактора von Willebrand определяли по ристомидин-активированной агрегации тромбоцитов, содержание G-катепсина, активность химазы и m-кальпаинов в сыворотке крови определяли с помощью иммуноферментного фотометра-анализатора Humagreader, Human (Германия) [8]. Исследовали функциональные свойства форменных элементов крови: изучали адгезивные свойства моноцитов, содержание липидов и маркер апоптоза Fas/TNFRSF6 (CD95) в составе их клеточных мембран [3, 30]. Определяли выделение моноцитами урокиназы и PAI-I под влиянием Анг-II и гликированных протеинов [30]; исследовали ФМЛФ активированную агрегацию нейтрофилов и спонтанную адгезию нейтрофилов с определением в них концентрации IL-1b и IL-8 и экспрессии L-селектина, ICAM (CD54), VCAM (CD106) на поверхности клеток [10]. Активность iNOS и eNOS в плазме крови и лейкоцитах определяли по количеству нитрит-аниона, образующегося после инкубации методом Грина под влиянием реактива Гриса. Для определения активности индуцированной изоформы фермента вместо CaCl₂ в среду вводили EDTA. Активность конститутивной изоформы рассчитывали как разницу между общей и индуцированной активностью [18]. АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов изучали фотоэлектроколметри-

ческим методом с определением чувствительности тромбоцитов к L-аргинину и S-нитрозоглутатиону *in vitro* [20]. В соответствии со стандартами лечения больных ХБП применяли ингибиторы АПФ и блокаторы рецепторов к ангиотензину II, антагонисты кальция, бета-блокаторы; дезагреганты, гипополипидемические средства, антиоксиданты и антикоагулянты; донаторы и стимуляторы оксида азота. Основные результаты исследования представлены в таблице.

Метаболические изменения, лежащие в основе отслоения эндотелиальных клеток и разрушения сосудов, изучены недостаточно. Известно, что оксидантный стресс и длительное увеличение содержания провоспалительных цитокинов играет патогенетическую роль в развитии васкулопатий [2, 14, 28]. Результаты ранее проведенных исследований показали, что у больных ХБП отмечается уменьшение активности антиоксидантных ферментов, при котором изменяются функциональные свойства нейтрофилов, моноцитов и тромбоцитов с повышением количества рецепторов к ICAM, VCAM и L-селектина на поверхности клеток [12,15]. Настоящий анализ свидетельствует об определенной связи этих показателей с выраженностью альбуминурии у обследованных. Выявленное нарушение соотношения NOS с повышением содержания iNOS в клетках белой крови сопровождалось повышением протеолитической их активности с увеличением активности химазы и катепсина G — известных факторов денудации эндотелия [39]. В работе M. Maugraa et al. (2006) было показано, что в развитии эрозий человеческой коронарной артерии большую роль играет наличие в местах повреждения эндотелия тучных клеток и нейтрофилов, которые определялись в интиме сосудов в соотношении 5:1. Авторы продемонстрировали, что воздействие на коронарные артерии рекомбинантной человеческой химазой, триптазой и катепсином G индуцировало повреждение эндотелия путем расщепления VE-кадгерина и фибронектина, необходимых для межклеточного взаимодействия [38]. В исследовании мы не могли определить указанные факторы повреждения в капиллярах клубочков, но косвенные показатели свидетельствуют о подобном механизме отслоения эндотелия и при гломерулопатиях. Особо следует отметить тенденцию к повышению активности m-кальпаинов при повышении уровня потери белка с мочой. Установлено, что эти протезы могут расщеплять белки цитоскелета и повышают внутриклеточную активность каспазы 3, одного из ключевых ферментов апоптоза, в том числе и в клетках эндотелия [39]. Кроме того, практически у всех больных отмечалась гипертриглицеридемия, а по данным L. Eiselein et al. (2007), продукты гидролиза триглицеридов усиливают проницаемость эндотелия, в частности и путем индукции апоптоза его клеток [28]. Повышение уровня фактора von Willebrand, признанного маркера отслоения эндотелия в плазме крови вместе с увеличением активности m-кальпаинов и количества лейкоцитов с маркерами апоптоза

Таблица. Факторы и маркеры повреждения эндотелия у обследованных больных

Показатель	Контрольная группа	Нормо-альбуминурия	Микро-альбуминурия	Протеинурия
Количество пациентов	20	312	128	74
Количество пациентов с симптомами атеросклероза	—	56 (18%)	47 (37%)	30 (41%)
Общий холестерин сыворотки, ммоль/л	4,00 ± 0,27	4,82 ± 0,78	4,78 ± 0,02*	6,40 ± 0,87*#
Триглицериды сыворотки крови, ммоль/л	0,99 ± 0,02	1,20 ± 0,04*	1,86 ± 0,87*	2,01 ± 0,06*#
Сиаловые кислоты, ед.	110 ± 11	150 ± 15	210 ± 22	250 ± 21#
Серомукоиды, ед.	0,110 ± 0,02	0,170 ± 0,017	0,230 ± 0,05	0,250 ± 0,019*
Фактор von Willebrand, %	100 ± 2,4	108 ± 5,6	135 ± 7,8*	172 ± 9,1*#
Активность m-кальпаинов в сыворотке крови, г/(л·ч)	0,654 ± 0,105	2,13 ± 0,34*	3,34 ± 0,65*	3,82 ± 1,08*#
Нетрипсиноподобная протеиназа-химаза, г/(л·ч)	0,0149±0,002	0,034±0,009	0,051±0,009*	0,073±0,012*
Концентрация катепсина G, мг/л	0,20 ± 0,05	0,23 ± 0,07	0,25 ± 0,05	0,40 ± 0,15*
Нейтрофилы с рецепторами к ICAM-1 (CD54), %	8,50 ± 0,68	12,60 ± 0,85*	18,40 ± 0,86*	38,91 ± 1,20*#
Нейтрофилы с рецепторами к VCAM (CD106), %	10,6 ± 0,23*	13,1 ± 0,70*	28,50 ± 1,50*	29,80 ± 1,30*#
Нейтрофилы с рецепторами к L-селектину (CD62L), %	12,80 ± 0,80	16,57 ± 0,47	62,00 ± 2,90*#	40,90 ± 1,80*#
Спонтанная адгезия нейтрофилов, %	38,00 ± 1,60	48,00 ± 1,90*	56,00 ± 3,37*	75,00 ± 3,20*#
Транслокация рецепторов IL-1β на нейтрофилах, %	23,80 ± 2,30	28,00 ± 2,50	27,00 ± 3,20*	42,00 ± 5,20*#
Транслокация рецепторов IL-8 на нейтрофилах, %	18,00 ± 2,27	23,00 ± 2,70	28,30 ± 5,30	31,00 ± 3,50*#
IL-1β в плазме крови, пг/мл	16,80 ± 3,30	26,70 ± 5,60	38,60 ± 5,40*	39,70 ± 4,10*#
IL-8 в плазме крови, пг/мл	9,90 ± 1,20	18,60 ± 2,30*	32,90 ± 6,10*#	28,20 ± 6,30*
ФМЛФ-индуцированная агрегация нейтрофилов, %	11,70 ± 2,00	17,30 ± 4,30	32,90 ± 6,10*	37,90 ± 7,30*#
Триглицериды в моноцитах, мкг/мг белка (только при ДН)	20,1 ± 1,5	28,0 ± 4,2	30,0 ± 3,2	32,0 ± 4,3
CD95 ⁺ -лейкоциты (только при ДН), %	26,5 ± 3,6	32,4 ± 3,9	35,4 ± 4,9	51,9 ± 4,8*#
АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов, %	36,8 ± 5,2	48,9 ± 6,5 #	65,8 ± 4,7	69,9 ± 6,0 *
Содержание NO в плазме крови, мкмоль/л	45,2±11,5	37,4±8,14	25,4±5,2*	29,3±6,5
Уровень нитритов в плазме крови, мкмоль/л	13,0 ± 2,4	12,5 ± 1,1	10,0 ± 1,2	8,5 ± 1,4*
Активность eNOS в плазме крови, пмоль/(мин·мг белка)	0,925 ± 0,084	0,855 ± 0,084	0,704 ± 0,048*	0,660 ± 0,044*#
Активность iNOS в плазме крови, пмоль/(мин·мг белка)	0,419 ± 0,028	0,427 ± 0,034	0,465 ± 0,030	0,536 ± 0,052*
Активность eNOS в нейтрофилах, пмоль/(мин·мг белка)	532,9 ± 24,2	368 ± 27,2	365 ± 21,2	234 ± 18,2 *
Активность iNOS в нейтрофилах, пмоль/(мин·мг белка)	175,6 ± 10,2	245 ± 24,6	475 ± 20,3	524 ± 27,6*#

Примечание. * $P < 0,05$ по сравнению с контролем; # $P < 0,05$ по сравнению с результатами у больных без следов белка в моче.

CD95⁺ могут косвенно свидетельствовать об усилении апоікіс сосудистого эндотелия и повышении проницаемости капилляров клубочков в этой группе больных.

Возможный механизм участия лейкоцитов в отслоении клеток эндотелия, приводящий к появлению эрозий как в капиллярах клубочков, так и в магистральных сосудах, представлен на рис. 1.

Эндотелиальные клетки являются одной из главных клеточных составляющих кровеносных сосудов, и одно из наиболее важных их свойств — функция привратника, контролирующего инфильтрацию белков и клеток крови в стенку сосудов. Эти уникальные характеристики достигаются благодаря специализированной трансцеллюлярной системе везикулярного транспорта и скоординированному открытию и закрытию межклеточных соединений. Новая и важная концепция состоит в том, что межклеточные соединения (МКС) являются не только местами прикреплений между эндотелиальными клетками — они могут функционировать как сигнальные структуры, сообщающие клетке о ее положении, границах роста, апоптозе, и регулировать сосудистый гомеостаз в целом.

Следовательно, любые изменения в организации МКС могут иметь сложные последствия, которые будут нарушать взаимодействие эндотелия с элементами крови или модифицировать нормальную архитектуру стенки сосудов. МКС образуются с помощью трансмембранных адгезивных белков,

таких как VE-cadherin в AJs и claudin-5 в TJs [32], которые обеспечивают связь между клетками в виде «застежек-молний» по краям клеток. Внутри клеток адгезивные белки МКС сцеплены с актиновым цитоскелетом, и это взаимодействие стабилизирует монослой эндотелиальных клеток. Благодаря своим цитоплазматическим хвостам адгезивные белки МКС связаны с цитоскелетом и сигнальными белками, что делает возможным закрепление адгезивных белков на актиновых микрофиламентах и перенос сигналов внутрь клетки [40]. Недавние исследования показали, что эти структуры играют ключевую роль в стабилизации эндотелия в покоем состоянии — переключение этих клеток со сливного, покоящегося состояния в состояние миграции и пролиферации, например, во время образования новых сосудов сопровождается модуляцией организации и системы передачи сигналов МКС [33]. Специализированная трансцеллюлярная система пузырьков включает органеллы эндотелиальных клеток, известные как vesiculo-vascular organellae — рециркулирующие везикулы (RV), — которые участвуют в трансэндотелиальном прохождении растворимых макромолекул. Эти системы поддерживают интегральность эндотелия и защищают сосуды от любого неконтролируемого увеличения проницаемости, воспаления или тромботических реакций [35, 37]. Изменение баланса NOS в плазме крови у обследованных нами больных может свидетельствовать о на-

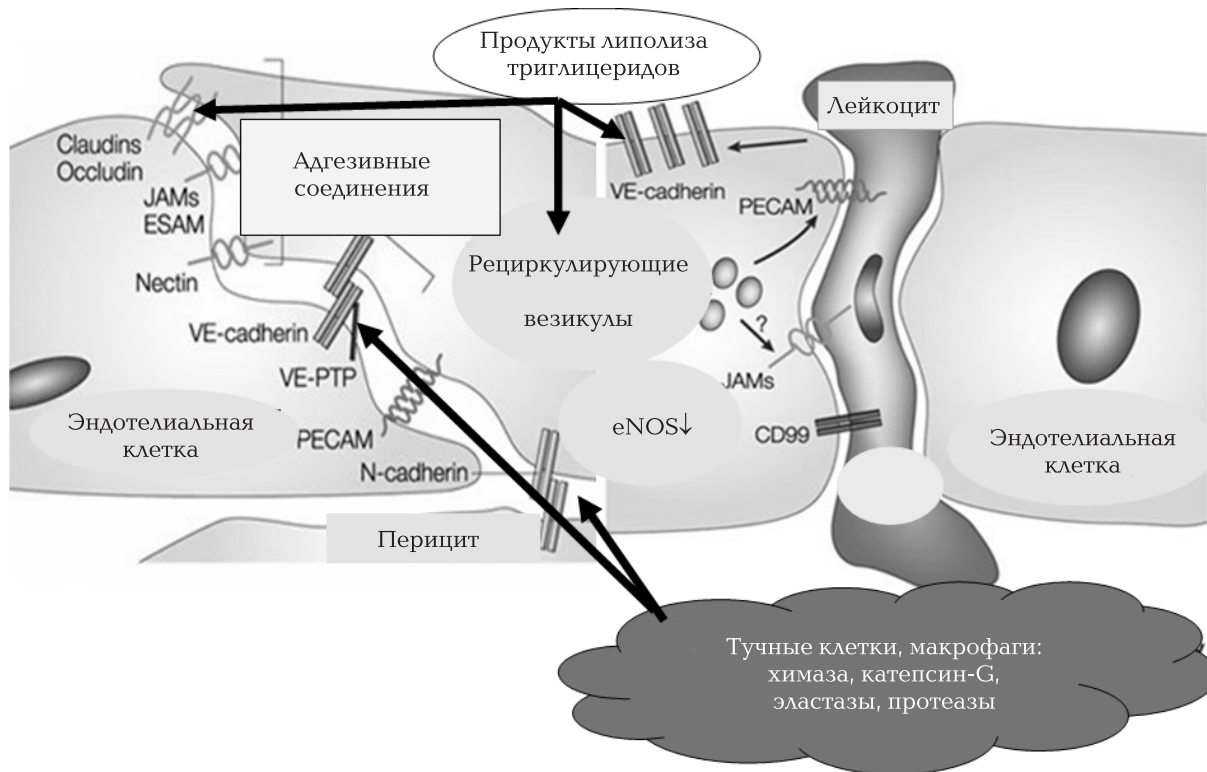


Рис. 1. Механизм проникновения лейкоцитов в субэндотелиальное пространство и их участия в апоікіс и эрозии эндотелия

Лейкоциты выделяют избыточное количество iNOS, ослабляют VE-кадгериновые связи между клетками эндотелия и интимой, стимулируют выделение в них каспаз-ферментов и снижение экспрессии eNOS.

Продукты липолиза триглицеридов, выделение химазы, катепсина-G, эластаз и металлопротеиназ лейкоцитами приводят к отслоению эндотелия.

рушении NO-образующей функции эндотелия в случае ХБП в связи с уменьшением содержания eNOS, при этом снижение NO-опосредованных противосвертывающих свойств может вносить вклад в прилипание и агрегацию клеток крови в пределах поврежденного эндотелия. Ранее мы показали, что у больных ХБП в связи с оксидантным стрессом нарушается выделение NO из его депо в S-нитрозотиолах [14]. В последние годы появились данные, свидетельствующие о том, что еще одним источником депонированного NO является нитрит, поэтому наблюдаемое снижение содержания нитрита при альбуминурии может также свидетельствовать о снижении выработки NO клетками поврежденного эндотелия.

Клеточная специфичность компонентов МКС и РВ указывает на то, что они могут быть необходимы для селективного межклеточного распознавания и/или специфических функциональных свойств эндотелиальных клеток. Так, появление в циркулирующей крови растворимого CD146 или клеток, несущих этот маркер, свидетельствует о денудации эндотелия [25]. Полагают также, что значительное уменьшение в циркуляции уровня CD146 клеток с сопутствующим повышением уровней CD34 эндотелиальных клеток-предшественников свидетельствует об увеличении циркулирующих стволовых клеток, включаемый в репарацию сосуда и об уменьшении повреждения эндотелия [27].

Известно, что тромбоциты — первые из циркулирующих клеток крови, которые взаимодействуют с местом повреждения сосудов. Более того, недавно было показано, что тромбоциты стимулируют хемотаксис и миграцию зародышевых эндотелиальных клеток-предшественников к поврежденной стенке сосудов у мышей [35]. Однако в 2006 году была опубликована работа К. Daub et al., в которой авторы продемонстрировали, что активированные тромбоциты не только рекрутируют CD34

клетки-предшественники к местам отслоения эндотелия, но и вызывают трансформацию CD34 клеток в пенистые [26]. Одним из решающих факторов таких изменений является модификация свойств тромбоцитов под воздействием триглицеридов и липопротеидов низкой плотности [28, 40]. Полученные данные о повышении индекса агрегации тромбоцитов, увеличении количества липидсодержащих моноцитов и CD95⁺-лейкоцитов у больных ХБП, а также связь этих показателей с выраженностью альбуминурии могут свидетельствовать о нарушении процессов репарации эндотелия капилляров клубочков с сохраняющимися на неопределенное время участками десквамации в местах предполагаемого отслоения CD146 клеток (рис. 2).

В такой ситуации эндотелий не может быть представлен в виде идеального «газона» размером с футбольное поле, а будет напоминать футбольную площадку после игры местных команд в проливной дождь. Тот факт, что такие нарушения структуры эндотелия не всегда не дают характерные симптомы ИБС, может свидетельствовать о том, что такие эрозии еще гемодинамически незначимы.

До какой степени эти данные можно экстраполировать на механизмы развития атеросклероза в магистральных сосудах, сказать по нашим результатам трудно, но общие биологические закономерности нарушения целостности эндотелия как в капиллярах почек, так и более крупных сосудах прослеживаются, о чем говорит увеличение процента больных с верифицированным атеросклерозом в случаях с более выраженной альбуминурией. Факт возможности образования пенистых клеток из CD34 ЭКП ставит под вопрос неизбежность теории о макрофагальном скаванджер-механизме развития атеросклероза и нацеливает исследователей на разработку новых технологий профилактики и лечения атеросклероза путем воздействия на состав и функциональные свойства циркулирующих клеток-предшественников.

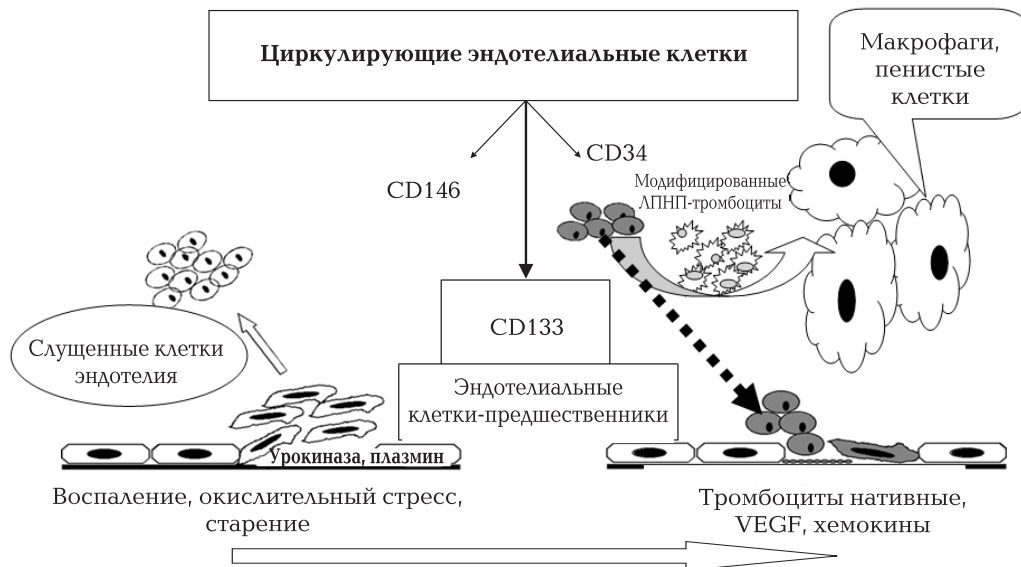


Рис. 2. Упрощенная схема замещения переносщих апоікіс эндотелиальных клеток (CD146) эндотелиальными клетками-предшественниками (CD133/CD34) и образования пенистых клеток из CD34-клеток под воздействием ЛПНП-модифицированных тромбоцитов при оксидантном стрессе

Перспективные методы коррекции репарации и регенерации эндотелия с применением стволовых клеток

О механизмах появления эрозий эндотелия у пациентов с ИБС уже упоминалось выше [38], но дифференциация ЭКП и их созревание в определенных органах, по-видимому, зависит от локальных межклеточных и клеточно-матричных взаимодействий, активации факторов роста. Экспериментальные работы показали, что реакция гломерулярных клеток на повреждение более сложна и сопровождается значительными изменениями фенотипической адаптации. Например, поврежденные эндотелиальные клетки наряду с потерей их противосвертывающих, противовоспалительных и антипролиферативных характеристик, изменяют свой фенотип с приобретением прокоагулянтных, провоспалительных и митогенных свойств. [13] Сообщается о стимуляторах стволовых клеток — ростовом факторе созревания и chemolactin при гломерулонефритах [37]. Выделение активированными гломерулярными клетками стимулирующих факторов может быть ключевым моментом в привлечении ЭКП к клубочку и их созревании в процессе репарации и/или сморщивания. Другие факторы роста, которые могут воздействовать на перемещение КП, такие, как PDGF и bFGF, также вовлечены в патогенез гломерулярной пролиферации и сморщивания [33].

Установлено, что количество ЭКП в периферической крови может увеличиться в ответ на фармакологические вмешательства, например, при

назначении статинов или блокаторов ангиотензиновых рецепторов [23]. Более того, в работе F.Deschaseaux et al. (2007) представлены данные, которые могут быть одной из вероятных причин неэффективности применения статинов в исследовании 4D. Авторы культивировали мононуклеарные клетки пациентов, получающих и не получающих статины, и показали, что количество CD34⁺, CD34⁺/CD144⁺ клеток было значительно больше в статинпозитивных группах, чем в статинотрицательных. В культуре обнаружены два типа ЭКП: ранние ЭКП дали колонии, включающие удлиненные клетки на 5-й день, тогда как поздние ЭКП генерировали подобные булыжнику колонии с сильными пролиферирующими свойствами [27]. Эти результаты доказывают, что только длительное лечение статинами на ранних стадиях атерогенеза оказывает воздействие на формирование в кровотоке поздних эндотелиальных клеток-предшественников с CD34⁺/CD144⁺ фенотипом. Перспективы лечения ХБП с использованием стволовых клеток представлены на рис. 3.

Мощным стимулятором функциональной активности и пролиферации ЭКП является также рекомбинантный человеческий эритропоетин (rhEPO) или его аналог darbepoetin [21]. Выраженная стимуляция ЭКП in vitro и in vivo отмечалась даже при небольших терапевтических дозах rhEPO в лечении почечной анемии [24]. Установлено положительное влияние на функциональные свойства эндотелия донаторов L-аргинина, агонистов пролифератора пероксисом и ω-3-ненасыщенных жирных кислот [15,17]. Уменьшить содержание про-

I. Восстановление целостности эндотелия сосудов

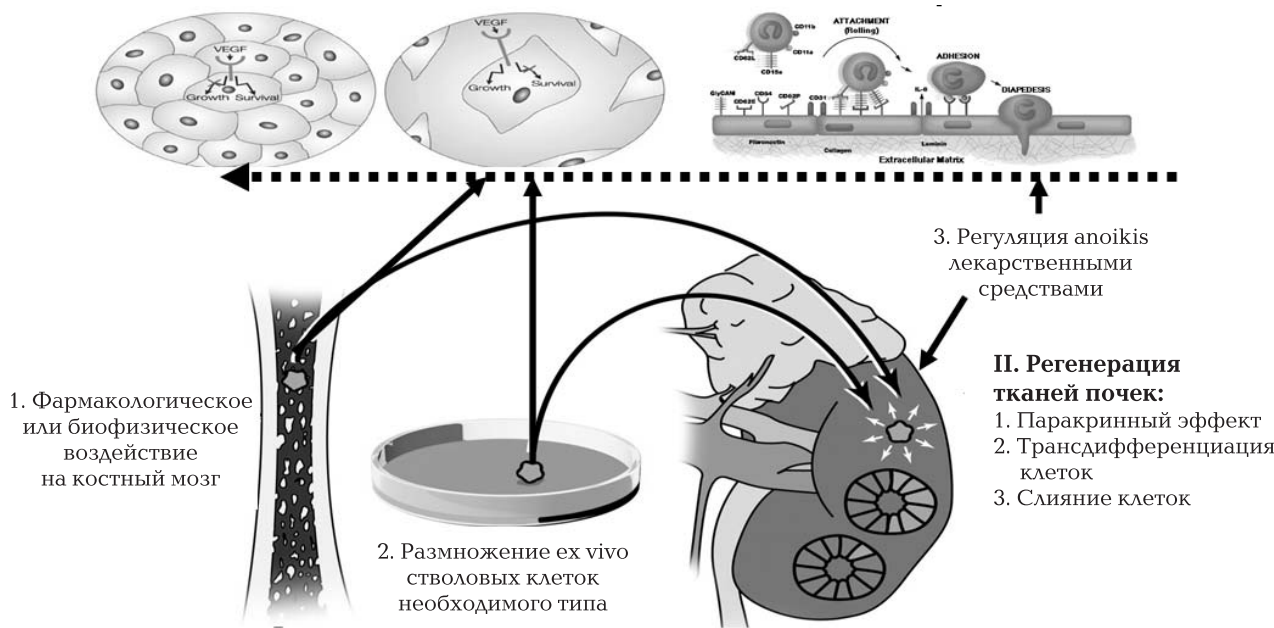


Рис. 3. Методы лечения васкулопатий при ХБП

Стволовые клетки, привлекаемые к почке и сосудам из костного мозга или доставляемые после размножения изолированной популяции стволовых клеток ex vivo, могут вносить вклад в репарацию ткани через продукцию специфических цито/хемокинов и факторов роста или путем трансформации в почечные фенотипы при слиянии клеток. Фармакологическое воздействие позволит контролировать anoikis и замедлить атерогенез у больных ХБП

воспалительных факторов при ХБП пытались также методами экстракорпоральной их коррекции [16, 22]. Однако с удалением из циркулирующей крови пенных клеток, липопротеидов низкой плотности и других факторов атерогенеза мы, по-видимому, «с водой выплескивали и ребенка», так как при этом в крови должно было уменьшаться и количество ЭКП.

В настоящее время все еще нет единой точки зрения о возможности применения различных комбинаций стволовых ЭКП, нет четких критериев степени их активности, так как маркеры, используемые для их идентификации (например, CD34⁺ или CD133⁺), не связаны непосредственно с их активностью. Кроме того, необходимы дальнейшие исследования по изучению эффективности терапевтических мероприятий (генная и фармакологическая терапия), направленных на улучшение функции ЭКП. Можно ли стволовую клетку дифференцировать *in vitro* до введения этих клеток реципиентам с болезнями почек — это является предметом дальнейших исследований.

Ограничения исследования

Известно, что все научные рассуждения остаются только догадками без хорошо разработанных, управляемых клинических испытаний, основанных на большой базе патофизиологических и эпидемиологических доказательств. Главным недостатком проведенных нами исследований было отсутствие технической возможности количественного определения циркулирующих эндотелиаль-

ных клеток, но это уже предмет дальнейших исследований.

Выводы

Имеющиеся данные свидетельствуют о бифазной роли тромбоцитов в репарации и регенерации эндотелия. Фатальные и приводящие к инвалидности осложнения атеросклероза, такие, как острый коронарный синдром и инсульт, вызваны образованием артериального тромба в месте эрозии эндотелия, или разорвавшейся атеросклеротической бляшки. С другой стороны, тромбоциты необходимы для наведения ЭКП в места *apoptosis* эндотелия и если репарация эндотелиального слоя происходит в соответствии с физиологическими законами апоптоза, нежелательный артериальный тромбоз может быть предотвращен, а атеросклероз мог бы быть намного более доброкачественной болезнью. Стимуляция ЭКП с помощью статинов и/или rhEPO, коррекция системы L-аргинин/ азота оксид и размножение стволовых клеток с заданными свойствами *in vitro* с последующим введением этих клеток пациентам может стать многообещающей терапевтической стратегией при лечении сердечно-сосудистых заболеваний и профилактике их осложнений. Этот подход может быть полезен и у больных с заболеваниями почек, риск сердечно-сосудистых осложнений у которых особенно высок. В этом случае назначать препараты, воздействующие на механизмы отслоения эндотелия, необходимо на более ранней стадии хронической болезни почек.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Амосова Е.Н. Рекомендации Европейского общества кардиологов по диагностике и лечению стабильной стенокардии: что нового? // *Theoria. Укр. мед. вісн.*— 2006.— № 11.— С. 5—12.
2. Волков В.И., Яковлева Л.М., Бонгар Т.М. и др. Дозозависимый вплив симвастатину на активність запального процесу у хворих на гострий коронарний синдром без підйому сегмента ST // *Укр. кард. журн.*— 2006.— № 6.— С. 24—27.
3. Кондаков И.К., Гальчинская В.Ю., Топчий И.И. и др. Особенности популяционного состава лейкоцитов у больных диабетической нефропатией // *Кровообіг та гемостаз.*— 2006.— № 1—2.— С. 28—31.
4. Копица Н.П., Литвин Е.И., Петюнина О.В. Низкомолекулярные гепарины как обязательный компонент терапии больных острым коронарным синдромом без элевации сегмента ST // *Врачебная практика.*— 2007.— № 3.— С. 17—22.
5. Коркушко О.В., Лишневская В.Ю., Дужак Г.В. Возрастные особенности функционального состояния эндотелия микрососудов // *Кровообіг та гемостаз.*— 2007.— № 4.— С. 5—11.
6. Крутиков Е.С., Топчий И.И. Динамика показателей цитокинового звена иммунитета у больных, получающих хроническую гемодиализную терапию // *Врачебная практика.*— 2007.— № 4.— С. 68—71.
7. Малая Л.Т., Топчий И.И. Основные механизмы развития, методы лечения и профилактики ремоделирования сердца и сосудов при заболеваниях почек: Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції «Прогресуючі нефропатії і ремоделювання серцево-судинної системи — сучасні уявлення про механізми розвитку, нове в діагностиці, лікуванні та профілактиці». — Харків, 2003.— С. 50.
8. Самохіна Л.М., Кравченко Н.О., Максимова Н.А. // Пат. 44066А Україна, МПК G 01 № 33/48. Набір для визначення активності або концентрації катепсину G в біологічних рідинах. Опубл. 15.01.02. Бюл. № 1.
9. Сняченко О.В., Игнатенко Г.А., Мухин И.В., Грушина М.В. Сравнительная эффективность ингибиторов ГМГ-КоА редуктазы у больных хроническим гломеруло-нефритом без нефротического синдрома // *Укр. журн. нефрології та діалізу.*— 2007.— № 3.— С. 40—44.
10. Топчий И.И. Функциональные свойства макрофагов при хронической болезни почек и методы их коррекции // *Врачебная практика.*— 2007.— № 1.— С. 85—94.
11. Топчий И.И. Взаимодействие оксида азота, калликреин-кининовой и плазминоген-плазминовой систем как терапевтическая мишень для лечения и профилактики фиброза при хронической болезни почек // *Укр. журн. нефрології та діалізу.*— 2007.— № 2.— С. 2—8.
12. Топчий И.И. Окислительный стресс, повышение содержания асимметричного диметиларгинина и разобщенность NO-синтаз как факторы развития артериаль-

ной гіпертензії при хронічній хворобі нирок // Укр. терапевт. журн.— 2007.— № 3.— С. 8—15.

13. *Топчий І.І.* Епітеліально-мезенхімальна трансформація — фактор розвитку фіброзу при хронічній хворобі нирок у хворих на цукровий діабетом 2 типу — результат дефіциту eNOS і механічного стреса? // *Внутрішня медицина.*— 2007.— № 6.

14. *Топчий І.І., Горбач Т.В., Бондарь Т.Н.* Взаємозв'язок змін антиоксидантної системи і метаболізму оксиду азоту у хворих на хронічну хворобу нирок з артеріальною гіпертензією // *Серце і судини.*— 2006.— № 1.— С. 89—94.

15. *Топчий І.І., Горбач Т.В., Кириченко А.Н., Денисенко В.П.* Вплив ω-3-ненасичених жирних кислот на показники антиоксидантної системи, гемодинаміку і метаболізм оксиду азоту у хворих на діабетичну нефропатію з артеріальною гіпертензією // *Кровообіг та гемостаз.*— 2007.— № 3.— С. 68—72.

16. *Топчий І.І., Корджеро Г.А., Шабалтас Н.Л. і др.* Озонотерапія в комплексному лікуванні хворих на діабетичну нефропатію // *Експериментальна і клінічна медицина.*— 2005.— № 1.— С. 69—73.

17. *Топчий І.І., Тверетінов А.Б., Щербань Т.Д. і др.* Вплив ренопротекторної гіпотензивної терапії і ω-3-поліненасичених жирних кислот на запалювальний компонент діабетичної нефропатії // *Укр. тер. журн.*— 2007.— № 2.— С. 40—46.

18. *Топчий І.І., Тверетінов О.Б., Денисенко В.П. і др.* Вплив лікування на активність NO-синтази та вміст стабільних метаболітів оксиду азоту у хворих на діабетичну нефропатію // *Медицина сьогодні і завтра.*— 2007.— № 2.— С. 98—102.

19. *Топчий І.І., Шабалтас Н.Л., Василенко О.А.* Вплив L-аргініну, S-нітрозоглутаміну і препаратів-донаторів оксиду азоту на функціональні властивості тромбоцитів у хворих на хронічний гломерулонефрит і гіпертонічну хворобу // *Врач. практика.*— 2001.— № 2.— С. 25—29.

20. *Топчий І.І., Шабалтас Н.Л.* Вплив препаратів-донаторів оксиду азоту на функціональні властивості тромбоцитів і рівень стабільних метаболітів NO у хворих на хронічний гломерулонефрит і гіпертонічну хворобу // *Медицина сьогодні і завтра.*— 2002.— № 1.— С. 86—89.

21. *Топчий І.І., Горбач Т.В., Денисенко В.П., Кириченко А.Н.* Вплив рекомбінантного людського еритропоїтину на функцію ендотелію і гемодинаміку у діалізованих хворих на хронічну ниркову недостатність: Матер. IV Всеукр. науко-практ. конф. (з міжнародним участям) «Нові в клінічній фармакології і фармакотерапії захворювань внутрішніх органів».— Харків, 2002.— С. 145—146.

22. *Топчий І.І., Щербань Т.Д., Бондарь Т.Н.* Зміни ліпідного обміну, системи гемостазу і складу лейкотрієнів у хворих на гломерулонефрит і ІБС при гемо-, плазмасорбції і лейкоцитоплазмаферезі: В кн. *Достиження і перспективи розвитку терапії в канун ХХІ століття.*— Харків, 2000.— С. 581—586.

23. *Bahlmann F.H., De Groot K., Mueller O.* Stimulation of endothelial progenitor cells. New putative therapeutic effects of angiotensin II receptor antagonists // *Hypertension.*— 2005.— Vol. 45.— P. 526—529.

24. *Bahlmann F.H., De Groot K., Spandau J.* Erythropoietin regulates endothelial progenitor cells // *Blood.*— 2004.— Vol. 103.— P. 921—926.

25. *Boos C. J., Lane D.A., Karpha M. et al.* Circulating endothelial cells, arterial stiffness, and cardiovascular risk stratification in Hypertension // *Chest.*— 2007.— Vol. 132.— P. 1540—1547.

26. *Daub K., Langer H., Seizer P. et al.* Platelets induce differentiation of human CD34⁺ progenitor cells into foam cells

and endothelial cells // *The FASEB J.*— 2006.— Vol. 20.— P. 2559—2561.

27. *Deschaseaux F., Selmani Z., Falcoz Pierre-Emmanuel. et al.* Two types of circulating endothelial progenitor cells in patients receiving long term therapy by HMG-CoA reductase inhibitors // *European Journal of Pharmacology.*— 2007.— Vol. 562.— P. 111—118.

28. *Eiselein L., Wilson D. W., Lame M.W., Rutledge J.C.* Lipolysis products from triglyceride-rich lipoproteins increase endothelial permeability, perturb zonula occludens-1 and F-actin, and induce apoptosis // *Am. J. Physiol.*— *Heart Circ Physiol.*— 2007.— Vol. 292.— P. 2745—2753.

29. *Hill J.M., Zalos G., Hlaxox J.P. et al.* Circulating endothelial progenitor cells vascular function and cardiovascular risk // *N. Engl. J. Med.*— 2003.— Vol. 348.— P. 593—600.

30. *Galchinskaya V.Yu., Topchiy I.I., Semenovykh P.S.* Angiotensin II and glycated protein induce monocyte secretion of PAI-1 in patients with diabetic nephropathy // *World Congress of Nephrology.*— 2007.— Rio de Janeiro, Brazil.— *Book of Abstracts.*— M-PO-0638.

31. K/DOQI clinical practice guidelines for management of dyslipidemias in patients with kidney disease // *Am. J. Kidney Dis.*— 2003.— Vol. 41.— S.1—9.

32. *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.

33. *Kang D.H., Johnson R.J.* Vascular endothelial growth factor: A new player in the pathogenesis of renal fibrosis // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*— 2003.— Vol. 12.— P. 43—49.

34. *Lance A.L., Kohn E.* Cancer and homeless cell // *Nature.*— 2004.— Vol. 430.— P. 973—974.

35. *Langer H., May A.E., Daub K. et al.* Adherent platelets recruit and induce differentiation of murine embryonic endothelial progenitor cells to mature endothelial cells in vitro // *Circ. Res.*— 2005.— Vol. 98.— P. 2—10.

36. *Li A. C., Binder C. J., Gutierrez A. et al.* Differential inhibition of macrophage foam-cell formation and atherosclerosis in mice by PPAR alpha, beta/delta, and gamma // *J. Clin. Invest.*— 2004.— Vol. 114.— P. 1564—1576.

37. *Malyszko J., Malyszko J.S., Kozminski P. et al.* Adipokines, linking adipocytes and vascular function in hemodialyzed patients may also be possibly related to CD146, a novel adhesion molecule // *Clin. Appl. Thromb. Hemost.*— 2007.— Vol. 26.— P. 17—23.

38. *Mayranpa M.I., Heikkila H.M., Lindstedt K.A. et al.* Desquamation of human coronary artery endothelium by human mast cell proteases: implications for plaque erosion // *Coronary Artery Disease.*— 2006.— Vol. 17.— P. 611—621.

39. *Peltier J., Bellocq A., Perez J.* Calcipain activation and secretion promote glomerular injury in experimental glomerulonephritis: evidence from calpastatin-transgenic mice // *J. Am. Soc. Nephrol.*— 2006.— Vol. 17, N 12.— P. 3415—3423.

40. *Rafii S., Lyden D.* Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration // *Nat. Med.*— 2003.— Vol. 9.— P. 702—712.

41. *Schmidt-Lucke C., Rossig L., Fichtlscherer S. et al.* Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair // *Circulation.*— 2005.— Vol. 111.— P. 2981—2987.

42. *Wanner C.* Atorvastatin in patients with type 2 diabetes mellitus undergoing hemodialysis // *N. Engl. J. Med.*— 2005.— Vol. 353.— P. 238—248.

43. *Werner N., Kosiol S., Schiegl T. et al.* Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes // *N. Engl. J. Med.*— 2005.— Vol. 353.— P. 999—1007.

44. *Xu Q.* The impact of progenitor cells in atherosclerosis // *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.*— 2006.— Vol. 3.— P. 94—101.

**ВЗАЄМОДІЯ МАКРОФАГІВ, ТРОМБОЦИТІВ ТА КЛІТИН ЕНДОТЕЛІЮ
ЯК ЗЕРКАЛО ЕВОЛЮЦІЇ НАШИХ УЯВЛЕНЬ ПРО АТЕРОГЕНЕЗ У КАРДІОНЕФРОЛОГІЇ**

І.І. Топчій

Ендотеліальна ерозія вважається важливим компонентом патогенезу атеросклерозу та його ускладнень, але молекулярних механізмів її розвитку досі нез'ясовано. В статті на основі вивчення взаємодії макрофагів, тромбоцитів та клітин ендотелію розглянуто механізми ушкодження ендотелію у хворих з хронічною хворобою нирок з урахуванням літературних даних та аналізу результатів обстеження 514 хворих з хронічною хворобою нирок, з яких у 171 був гломерулонефрит, у 176 хворих — діабетична нефропатія, а також 167 хворих на гіпертонічну хворобу (група порівняння).

**THE INTERACTION OF MACROPHAGES, PLATELETS AND ENDOTHELIAL CELLS
AS A MIRROR OF EVOLUTION OF OUR PERCEPTION OF ATHEROGENESIS IN CARDIONEPHROLOGY**

I.I. Topchiy

It is generally accepted that endothelial erosion is an important contributor to the pathogenesis of atherosclerosis and its complications, but the molecular mechanisms still remain unclear. The article considered the mechanisms of endothelial injury based on the investigations of macrophages, platelets and endothelial cells interactions in patients with chronic renal diseases with account of the literature data and analysis of the results of the study of 514 patients with chronic renal diseases, from them 171 patients suffered from glomerulonephrtis, 176 subjects had diagnosis of diabetic nephropathy, besides 167 patients with an essential hypertension composed the group of comparison.