

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-72-77

## ЭФФЕКТ НИТРОГЛИЦЕРИНА НА ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ И МИГРАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Бондаренко Н.А.<sup>1, 2</sup>, Лыков А.П.<sup>1, 2</sup>, Ким И.И.<sup>1, 2</sup>, Повещенко О.В.<sup>1, 2</sup>, Повещенко А.Ф.<sup>1, 2</sup>, Покушалов Е.А.<sup>2</sup>, Романов А.Б.<sup>2</sup>, Коненков В.И.<sup>1, 2</sup>, Караськов А.М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Лаборатория клеточных технологий ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии» СО РАМН, Новосибирск, Российская Федерация

<sup>2</sup> Центр новых технологий, лаборатория клеточных технологий ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск, Российская Федерация

**Цель.** Изучить эффекты влияния нитроглицерина на пролиферативную и миграционную активность мононуклеарных клеток и эндотелиальных прогениторных клеток у пациентов с хронической сердечной недостаточностью. **Материалы и методы.** Пролиферативный потенциал мононуклеарных клеток периферической крови у доноров и пациентов изучали в МТТ-тесте в присутствии 50 и 100 мкг/мл нитроглицерина, пролиферацию и миграцию эндотелиальных прогениторных клеток пациентов оценивали по изменению клеточного импеданса в режиме реального времени в присутствии различных доз нитроглицерина. **Результаты.** Показано, что нитроглицерин снижает пролиферативную активность *in vitro* мононуклеарных клеток пациентов с хронической сердечной недостаточностью, как спонтанную, так и стимулированную Конканавалин А. Мононуклеарные клетки периферической крови пациентов с хронической сердечной недостаточностью, полученные после процедуры мобилизации гранулоцитарным колониестимулирующим фактором, отвечают увеличением пролиферативной активности на нитроглицерин в дозе 50 мкг/мл, а при дозе 100 мкг/мл – подавлением пролиферативной активности. Мононуклеары условно здоровых доноров в ответ на стимуляцию нитроглицерином отвечают активацией пролиферативного потенциала. Показан стимулирующий эффект нитроглицерина на пролиферативный и миграционный потенциал эндотелиальных прогениторных клеток. **Заключение.** Установлен разнонаправленный и дозозависимый эффект нитроглицерина на различные типы клеток человека *in vitro*.

*Ключевые слова:* ишемическая болезнь сердца, нитроглицерин, мононуклеарные клетки, эндотелиальные прогениторные клетки.

## THE EFFECTS OF NITROGLYCERIN ON THE PROLIFERATIVE AND MIGRATORY POTENTIAL OF PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS

Bondarenko N.A.<sup>1, 2</sup>, Lykov A.P.<sup>1, 2</sup>, Kim I.I.<sup>1, 2</sup>, Poveschenko O.V.<sup>1, 2</sup>, Poveschenko A.F.<sup>1, 2</sup>, Pokushalov E.A.<sup>2</sup>, Romanov A.B.<sup>2</sup>, Konenkov V.I.<sup>1, 2</sup>, Karaskov A.M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Cell Technologies, FSBI «Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology», Novosibirsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Center of new technologies, laboratory of the cellular technologies, FSBI «E.N. Meshalkin Research Institute of Circulation Pathology», Novosibirsk, Russian Federation

**Aim.** To study the effects of nitroglycerin on proliferative and migratory activity of mononuclear cells and endothelial progenitor cells in patients with chronic heart failure. **Materials and methods.** Proliferative potential of peripheral blood mononuclear cells in donors and patients were studied in MTT-test in the presence of 50 and 100 mg/ml nitroglycerin. Proliferation and migration of endothelial progenitor cells in patients were evaluated

**Для корреспонденции:** Бондаренко Наталья Анатольевна. Адрес: 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2. Тел. 8 (906) 193-87-88. E-mail: bond802888@yandex.ru.

**For correspondence:** Bondarenko Natalia Anatolievna. Address: 630117, Novosibirsk, Timakova st., 2. Tel. 8 (906) 193-87-88. E-mail: bond802888@yandex.ru.

by changes in the cell impedance in real-time in the presence of various doses of nitroglycerin. **Results.** It is shown that nitroglycerin reduces *in vitro* both spontaneous and Concanavalin A stimulated proliferative activity of mononuclear cells in patients with chronic heart failure. Peripheral blood mononuclear cells in patients with chronic heart failure, obtained after procedure of mobilization by granulocyte colony-stimulating factor respond to nitroglycerin dose of 50 mg/ml with the increased proliferative activity, and with the suppressed proliferative activity to nitroglycerin dose of 100 mg/ml. Mononuclear cells of healthy donors respond to 50 mg/ml of nitroglycerin with the activation of proliferative capacity, but at a dose of 100 mg/ml spontaneous proliferative activity of mononuclear cells inhibit. It is also shown that the presence of nitroglycerin in medium dose in stimulating test leads to the inhibition of mononuclear cells proliferation from healthy donors. It is shown the stimulating effect of nitroglycerin on proliferative and migration potential of endothelial progenitor cells. **Conclusion.** Multidirectional and dose-dependent effects of nitroglycerin to the various types of human cells *in vitro* were observed.

*Key words:* coronary heart disease, nitroglycerin, mononuclear cells, endothelial progenitor cells.

## ВВЕДЕНИЕ

Нитраты, в том числе и нитроглицерин, широко используются в терапии ишемической болезни сердца (ИБС), острого инфаркта миокарда и хронической сердечной недостаточности (ХСН) [1]. Терапевтическая эффективность нитратов обусловлена их дилатационным действием на периферические вены и артерии, обусловленным высвобождением оксида азота, расслабляющего гладкомышечный слой стенки сосудов, что в конечном итоге приводит к возрастанию притока крови к ишемизированному миокарду. Кроме этого, оксид азота через уменьшение адгезии нейтрофилов к эндотелиальной выстилке сосудов, ингибирование экспрессии молекул адгезии и агрегации тромбоцитов способствует снижению риска развития атеросклеротических поражений сосудов [1]. Несмотря на улучшение гемодинамики и антиатерогенные эффекты нитроглицерина, клиническая эффективность его применения по-прежнему неоднозначна, в силу наличия влияния и на другие клетки организма [2]. Так, препараты, содержащие нитраты, способны вызывать толерантность после длительного, непрерывного применения или высокой дозы, что приводит к отмене клинического ответа, а затем развитию дисфункции эндотелия, как следствие активации генерации и продукции активных форм кислорода [3, 4]. В то же время помимо воздействия на эндотелий сосудов оксид азота влияет на функциональную активность различных клеток организма, таких как лимфоциты и моноциты периферической крови, эндотелиальные прогениторные клетки (ЭПК), фибробласты [5, 6].

В настоящее время для получения прогениторных клеток, в том числе и ЭПК, из периферической крови для клеточной терапии сердечно-сосудистых заболеваний применяют гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ), который приводит к выходу стволовых/прогениторных клеток (СПК) из костного мозга в периферическую кровь [7]. При этом эффекты действия нитроглице-

рина на функциональную активность мононуклеарных клеток (МНК) периферической крови и ЭПК, полученных в ходе мобилизации Г-КСФ, исследованы недостаточно.

В связи с этим **целью** данного исследования стало изучение эффекта влияния нитроглицерина на пролиферативную и миграционную активность МНК и ЭПК у пациентов с ХСН.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на МНК от условно здоровых доноров ( $n = 10$ ) и пациентов с ИБС с III–IV функциональным классом сердечной недостаточности по Нью-Йоркской классификации ( $n = 10$ ), давших письменное информированное согласие согласно протоколам, одобренным локальными этическими комитетами и утвержденным учеными советами обоих учреждений соисполнителей. Средний возраст пациентов –  $57,0 \pm 7,7$  года, длительность заболевания ИБС –  $7,2 \pm 5,4$  года, количество перенесенных инфарктов миокарда –  $1,5 \pm 0,8$ , фракция выброса левого желудочка –  $<35\%$ , давность перенесенного инфаркта – не менее 12 мес.

СПК костного мозга, в том числе и ЭПК, от пациентов с ХСН мобилизовали введением рекомбинантного человеческого Г-КСФ (Грасальва, Израиль, 3,0–5,0 мкг/кг; курс терапии 5 дней) для последующего интрамиокардиального введения.

МНК выделяли на градиенте плотности фикола-верографина ( $\rho = 1,078$  г/л (Биолот, СПб.).

Пролиферацию клеток исследовали через 72 часа инкубации в круглодонных 96-луночных планшетах в среде RPMI-1640 с 10% FCS (фетальная телячья сыворотка; Биолот, Россия) дополненной 0,3 мг/мл L-глутамина (Биолот, СПб) при  $37^\circ\text{C}$  в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе. Уровень пролиферативной активности МНК периферической крови здоровых доноров и пациентов с ХСН определяли в МТТ-тесте в триплетах ( $2 \times 105$  клеток/лунку) в спонтанном и стимулированном тестах в присутствии 15 мкг/мл Конканавалина А

(Кон А, Sigma, США), 50 и 100 мкг/мл нитроглицерина (Нитро, Финляндия) по включению клетками 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолиум бромид (Sigma, США) и преобразования его в формазан митохондриальными дегидрогеназами на спектрофотометре (Stat Fax 2100, США), которые выражали в условных единицах оптической плотности (ед. опт. пл.).

Эффект Кон А и нитроглицерина на пролиферативный потенциал мононуклеаров вычисляли по формуле: % стимуляции = (1 – оптическая плотность продукта реакции в опыте/оптическая плотность продукта реакции в контроле) × 100%.

Культуру ЭПК получали из МНК, мобилизованных введением Г-КСФ, от пациентов с ХСН. Г-КСФ, мобилизованные МНК в концентрации 10<sup>6</sup>/мл культивировали в эндотелиальной среде (EBM-2, Lonza, Switzerland) с добавлением 10% FCS, 80 мкг/мл гентамицина сульфата (Дальхимфарм, Россия), 2 ммоль L-глутамин (ICN, США) при 37 °С во влажной атмосфере с 5% содержанием CO<sub>2</sub>.

Пролиферативную и миграционную активность ЭПК изучали по изменению клеточного импеданса на аппарате xCELLigence System (Roche, США). В условиях исследования задается общее время сканирования и интервал сканирования, далее все измерения производятся в автоматическом режиме без вмешательства экспериментатора [8].

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы Statistica 6.0 for Windows (StatSoft, США). Полученные данные проверяли на нормальность распределения согласно критериям Колмогорова–Смирнова, меры центральной тенденции и рассеяния описаны медианой (Me), нижним (LQ) и верхним (Hq) квартилями. Достоверность различий оценивали по критерию Манна–Уитни, различия считали статистически значимыми при p < 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Интенсивность спонтанной пролиферации МНК условно здоровых доноров не превышала 0,3 ед. опт. пл. Как видно из табл. 1, в ответ на Кон А стимул МНК условно здоровых доноров отвечали увеличением интенсивности пролиферации (p < 0,05). Наличие в питательной среде нитроглицерина в дозе 50 мкг/мл также стимулировало уровень спонтанной пролиферации МНК (p < 0,05), в то время как при дозе 100 мкг/мл нитроглицерин не вызывал статистически значимого увеличения пролиферативного потенциала.

Необходимо отметить, что добавление нитроглицерина к митогенному стимулу (Кон А) статистически значимо подавляло интенсивность пролиферации МНК условно здоровых доноров (p < 0,05).

Как видно из табл. 2, анализ пролиферации МНК у больных с ХСН до проведения процедуры мобилизации СПК в периферическую кровь выявил, что нитроглицерин как в дозе 50 мкг/мл, так и в дозе 100 мкг/мл статистически значимо подавлял уровень спонтанной пролиферации (p < 0,05).

Необходимо отметить, что МНК пациентов с ХСН в ответ на Кон А не отвечали приростом интенсивности пролиферации, однако добавление к МНК нитроглицерина в дозе 50 или 100 мкг/мл приводило к статистически значимому подавлению пролиферативного потенциала МНК у пациентов с ХСН (p < 0,05).

Следует указать на то, что проведение процедуры мобилизации СПК введением Г-КСФ у пациентов с ХСН приводило к увеличению уровня спонтанной пролиферации МНК по сравнению с исходным уровнем пролиферации МНК и по сравнению с контрольной группой (p < 0,05). Кроме этого, после введения Г-КСФ у пациентов с ХСН отмечается

Таблица 1

### Эффект нитроглицерина на пролиферацию МНК условно здоровых доноров

Параметры	Показатель стимуляции пролиферации (в %)
Кон А	64; p = 0,02
Нитроглицерин 50 мкг/мл	22; p = 0,01
Нитроглицерин 100 мкг/мл	2; p = 0,72
Нитроглицерин 50 мкг/мл + Кон А	-68; p = 0,002
Нитроглицерин 100 мкг/мл + Кон А	-50; p = 0,003

Примечание. p – достоверность различий по сравнению со спонтанной пролиферативной активностью.

Таблица 2

### Показатели пролиферативной активности МНК пациентов с ХСН по данным МТТ-теста (Me; Lq-Hq)

Тип продукции	Уровень пролиферации (в ед. опт. пл.)	
	До мобилизации	После мобилизации
Спонтанная	0,29 (0,28–0,3)	0,49 (0,47–0,52)
Кон А	0,29 (0,25–0,36) p = 0,13	0,93 (0,9–0,11) p = 0,01
Нитроглицерин 50 мкг/мл	0,07 (0,06–0,08) p = 0,01	0,51 (0,46–0,52) p = 0,4
Нитроглицерин 100 мкг/мл	0,21 (0,12–0,21) p = 0,01	0,4 (0,33–0,48) p = 0,02
Нитроглицерин 50 мкг/мл + Кон А	0,03 (0,03–0,06) p = 0,02	0,54 (0,38–0,58) p = 0,02
Нитроглицерин 100 мкг/мл + Кон А	0,07 (0,03–0,08) p = 0,01	0,42 (0,36–0,42) p = 0,02

Примечание. p – достоверность различий по сравнению со спонтанной пролиферативной активностью.

также статистически значимое увеличение уровня пролиферативного ответа МНК на митогенный стимул по сравнению со спонтанным уровнем пролиферации, а также по сравнению с уровнем пролиферативного ответа МНК доноров и пациентов с ХСН до процедуры мобилизации ( $p < 0,05$ ).

Наличие нитроглицерина в питательной среде в дозе 50 мкг/мл статистически значимо не изменяло уровень спонтанной пролиферации МНК у пациентов с ХСН после процедуры мобилизации СПК в периферическую кровь. Однако в дозе 100 мкг/мл нитроглицерин статистически значимо снижал интенсивность спонтанной пролиферации МНК, обогащенных СПК ( $p < 0,05$ ). В то же время добавление нитроглицерина в дозе 50 или 100 мкг/мл в стимулирующем тесте приводило к статистически значимому подавлению уровней пролиферации МНК, обогащенных СПК у пациентов с ХСН, хотя даже на таком уровне интенсивность пролиферации была

выше, чем до проведения процедуры мобилизации ( $p < 0,05$ ).

Дополнительно нами проведено исследование пролиферативной активности ЭПК пациентов с ХСН в режиме реального времени по изменению клеточного импеданса (рис. 1). Показано достижение пика пролиферативной активности ЭПК к 4-му часу эксперимента и сохранность ее на таком уровне до 24 часов наблюдения, которое сменяется в дальнейшем ее снижением. В то же время нитроглицерин (50 мкг/мл) статистически значимо замедляет процесс подавления пролиферации ЭПК по сравнению с уровнем пролиферации ЭПК без нитроглицерина ( $p < 0,05$ ).

Также была изучена миграционная активность ЭПК пациентов с ХСН в режиме реального времени по изменению клеточного импеданса (рис. 2). Отмечено, что ЭПК пациентов с ХСН к 4-му часу эксперимента быстрее мигрируют по направле-

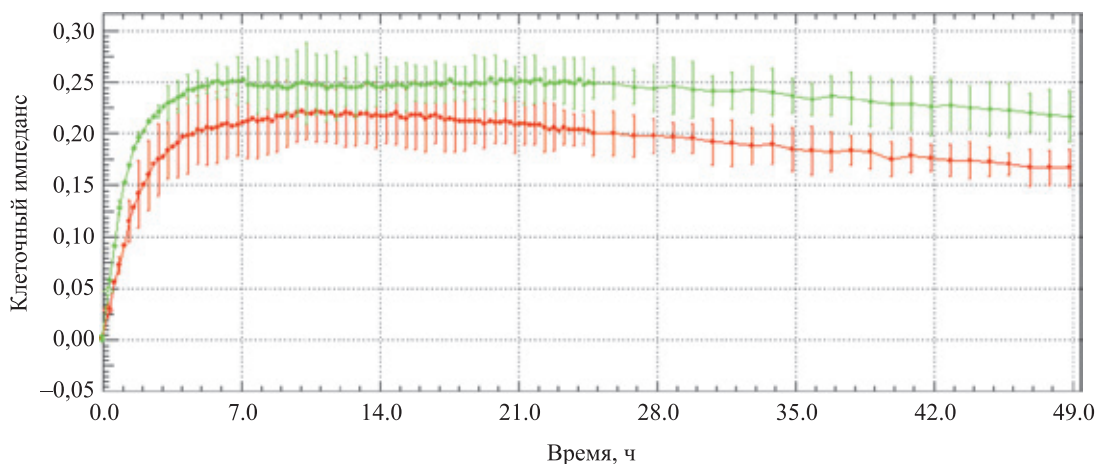


Рис. 1. Показатели пролиферативной активности культуры ЭПК мобилизованных Г-КСФ от пациентов с ХСН по данным изменения клеточного импеданса: красная линия – спонтанная пролиферация; зеленая линия – пролиферация в присутствии нитроглицерина

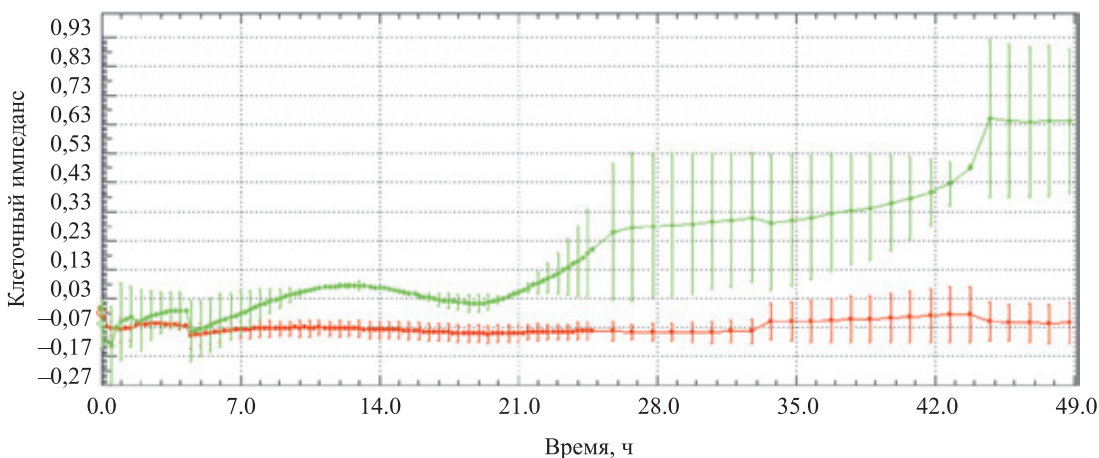


Рис. 2. Показатели миграционного потенциала ЭПК мобилизованных Г-КСФ от пациентов с ХСН по данным изменения клеточного импеданса: красная линия – спонтанная пролиферация; зеленая линия – пролиферация в присутствии нитроглицерина

нию к градиенту концентрации нитроглицерина по сравнению с контрольным уровнем миграции ЭПК. В более поздние сроки эксперимента отмечено статистически значимое увеличение миграционного потенциала ЭПК в направлении градиента концентрации нитроглицерина по сравнению с контрольными лунками ( $p < 0,05$ ).

Оксид азота регулирует функциональное состояние органов дыхания, желудочно-кишечного тракта, мочеполовой и сердечно-сосудистой систем. Кроме этого, оксид азота проявляет цитостатическую активность против микроорганизмов и злокачественных клеток и принимает участие в апоптозе. Известно, что нитроглицерин *in vitro* способен снижать пролиферативный потенциал мононуклеаров периферической крови, в основе которого лежит инактивация железосерных ферментов, отвечающих за синтез АТФ и репликацию ДНК [9]. Показано, что нитроглицерин угнетает функциональную активность и дифференцировку МНК в ЭПК через активацию апоптоза [5]. С учетом накопленных фактов о роли оксида азота в патогенезе заболеваний сердечно-сосудистой системы, а также в силу распространенного использования нитроглицерина как донатора оксида азота в терапии ишемической болезни сердца представлялось важным изучить эффект оксида азота на функциональную активность мононуклеаров периферической крови у пациентов с ХСН [2, 9].

Полученные нами данные об ингибировании, как спонтанной, так и митоген-стимулированной пролиферации МНК условно здоровых доноров и пациентов с ХСН не противоречат имеющимся литературным данным [5].

Учитывая тот факт, что МНК пациентов с ХСН находятся под постоянным влиянием гипоксии, что само по себе ведет к изменению функциональной активности клеток, дополнительное влияние нитроглицерина в различных дозах также приводило к снижению пролиферативного потенциала, как в спонтанном, так и Кон А стимулированном тесте. Полученные результаты исследований согласуются с литературными данными, отмечающими также подавление пролиферации МНК, индуцированной Т- и В-митогенами [10]. Полагают, что в основе антипролиферативного действия оксида азота лежит нарушение процессов репликации ДНК [11].

Известно, что Г-КСФ является эффективным мобилизующим фактором, способствующим выходу СПК из костного мозга в периферическую кровь, что приводит к обогащению МНК прогениторными клетками [7]. Ранее мы показали, что пролиферативная активность МНК от пациентов с ХСН увеличивается после проведения процедуры мобилизации Г-КСФ, как в спонтанных, так и стимулированных митогенами и цитокинами услови-

ях [12]. Учитывая, что обогащенная СПК фракция МНК используется для клеточной терапии у пациентов с ХСН, изучение эффекта нитроглицерина на функциональные свойства данных клеток явилось следующим этапом данного исследования.

Показано, что нитроглицерин в дозе 100 мкг/мл статистически значимо стимулирует спонтанный пролиферативный потенциал обогащенной СПК фракции МНК от пациентов с ХСН, а в дозе 50 мкг/мл статистически значимо стимулировал пролиферацию МНК в ответ на Кон А, что, скорее всего, обусловлено высоким содержанием СПК в популяции МНК у пациентов с ХСН после завершения процедуры мобилизации Г-КСФ, что согласуется с результатами недавних исследований, в которых показано стимулирующее влияние нитроглицерина на прогениторные клетки путем активации в них синтеза оксида азота [6].

Показано, что нитраты стимулируют пролиферативную активность СПК костного мозга [6]. Нами проведено исследование влияния нитроглицерина не только на функциональную активность МНК, но и на функциональную активность ЭПК от пациентов с ХСН, полученных при культивировании *in vitro*. Известно, что такие свойства эндотелиальных клеток, как пролиферация и миграция, обеспечивают процесс ангиогенеза. Причем функциональная активность как зрелых эндотелиальных клеток, так и ЭПК зависит от цитокинов и ростовых факторов [13]. Ранее нами была показана способность МНК, мобилизованных Г-КСФ от пациентов с ХСН, дифференцироваться в ЭПК [14]. Исследование пролиферативной и миграционной активности ЭПК показало, что нитроглицерин стимулирует как пролиферацию, так и миграцию клеток – предшественников эндотелия сосудов. Полученные нами данные согласуются с результатами исследования пролиферативной активности МНК при культивировании с нитроглицерином после мобилизации, подтверждая тезис о вкладе в пролиферацию МНК прогениторных клеток, мобилизованных из костного мозга [6].

Таким образом, установлено, что нитроглицерин проявляет разнонаправленное действие, как на малодифференцированные, так и на дифференцированные клетки пациентов с ХСН и доноров. С одной стороны, нитроглицерин обладает ингибирующим действием на пролиферацию МНК пациентов с ХСН, что связано с развитием толерантности к данному препарату. При этом у здоровых доноров, не принимающих нитраты, нитроглицерин способствует пролиферации МНК.

С другой стороны, в ходе мобилизации СПК введением Г-КСФ в популяции МНК возрастает их количество, и это ведет к возрастанию пролиферативного потенциала МНК у пациентов с ХСН, что позволяет нивелировать негативный эффект нитро-

глицерина на пролиферацию. Более того, отмечается позитивный эффект нитроглицерина на пролиферативный и миграционный потенциал ЭПК, что может свидетельствовать о сохранности высокой функциональной активности клеточного трансплантата при их интрамиокардиальном введении, даже при проведении пациентам терапии нитроглицерином.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, действие нитроглицерина носит разнонаправленный характер с учетом сроков получения мононуклеаров периферической крови. А именно до проведения процедуры мобилизации Г-КСФ у пациентов с ХСН отмечается ингибирующее влияние нитроглицерина на пролиферативный потенциал МНК, а после – активирование пролиферации, как спонтанной, так и митоген-стимулированной.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Meunzel T. Does nitroglycerin therapy hit the endothelium? *Journal of the American College of Cardiology*. 2001; 38: 1102–1105.
2. Mayer B, Beretta M. The enigma of nitroglycerin bioactivation and nitrate tolerance: news, views and troubles. *Br. J. Pharmacol.* 2008; 155: 170–184.
3. Gori T, Parker JD. Nitrate tolerance: a unifying hypothesis. *Circulation*. 2002; 106: 2510–2513.
4. Munzel T, Daiber A, Gori T. Nitrate Therapy: New Aspects Concerning Molecular Action and Tolerance. *Circulation*. 2011; 123: 2132–2144.
5. DiFabio JM, Thomas GR, Zucco L et al. Nitroglycerin attenuates human endothelial progenitor cell differentiation, function, and survival. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006; 318: 117–123.
6. Huang L, Qiu N, Zhang C et al. Nitroglycerin enhances proliferation and osteoblastic differentiation in human mesenchymal stem cells via nitric oxide pathway. *Acta Pharmacol. Sin.* 2008; 29: 580–586.
7. Aicher A, Zeiher AM, Dimmeler S. Mobilizing endothelial progenitor cells. *Hypertension*. 2005; 45: 321–325.
8. Лыков АП, Повещенко ОВ, Бондаренко НА, Повещенко АФ, Ким ИИ, Миллер ТВ и др. Оценка эффекта проангиогенных факторов на пролиферативную и миграционную активность клеток эндотелиальной линии EA.Hy926. *Бюллетень СО РАМН*. 2013; 4: 23–29.
9. Lykov AP, Poveshhenko OV, Bondarenko NA, Poveshhenko AF, Kim II, Miller TV et al. Estimation of the effect of proangiogenic factors on the proliferative and migration activities of the endothelial cells of line EA.Hy926. *Bulleten' SO RAMN*. 2013; 4: 23–29.
9. Kaesemeyer W, Ogonowski A, Jin L et al. Endothelial nitric oxide synthase is a site of superoxide synthesis in endothelial cells treated with glyceryl trinitrate. *Br. J. Pharmacol.* 2000; 131: 1019–1023.
10. Roland CR, Mangino MJ, Flye MW. Lanthanide «blockade» of antigen-presenting cells suppresses lymphocyte proliferation by inducing nitric oxide synthesis. *J. Surg. Res.* 1993; 54: 401–410.
11. Bamberger T, Masson I, Mathieu J et al. Nitric oxide mediates the depression of lymphoproliferative responses following burn injury in rats. *Biomed. Pharmacother.* 1992; 46: 495–500.
12. Ким ИИ, Повещенко ОВ, Коненков ВИ, Покушалов ЕА, Романов АБ, Бондаренко НА и др. Эффективность мобилизации CD34+ прогениторных клеток препаратом G-CSF в зависимости от ишемического анамнеза и возраста больных с хронической сердечной недостаточностью. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2012; 1: 75–78.
12. Kim II, Poveshhenko OV, Konenkov VI, Pokushalov EA, Romanov AB, Bondarenko NA et al. Efficacy of the mobilization of CD34+ progenitor cells by G-CSF administrations depends at the ischemic anamnesis and age of patients with chronic heart failure. *Patologija krovoobrashhenija i kardiohirurgija*. 2012; 1: 75–78.
13. Старикова ЭА, Амчиславский ЕИ, Соколов ДИ, Фрейдлин ИС, Полосухина ЕР, Барышников АЮ. Изменение поверхностного фенотипа эндотелиальных клеток под влиянием провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. *Медицинская иммунология*. 2003; 1–2: 39–48.
13. Starikova EA, Amchislavskij EI, Sokolov DI, Frejdlin IS, Polosuhina ER, Baryshnikov AJu. Deviations of endothelial cells surface phenotype under the influence of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines. *Medicinskaja immunologija*. 2003; 1–2: 39–48.
14. Бондаренко НА. Морфофункциональная характеристика эндотелиальных прогениторных клеток при хронической сердечной недостаточности: дис. ... канд. биол. наук. Н., 2013: 17.
14. Bondarenko NA. Morphofunctional characterization of endothelial progenitor cells in patients with chronic heart failure: dis. ... kand. biol. nauk. N., 2013: 17.

Статья поступила в редакцию 10.04.2014 г.