

## КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МАРКЕРА НЕОАРТЕРИОГЕНЕЗА – ПЛАЦЕНТАРНОГО ФАКТОРА РОСТА PLGF У РЕЦИПИЕНТОВ ТРАНСПЛАНТИРОВАННОГО СЕРДЦА

Шевченко О.П.<sup>1</sup>, Орлова О.В.<sup>1</sup>, Эль-Бустани С.<sup>2</sup>, Казаков Э.Н.<sup>1</sup>, Кормер А.Я.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ, Москва

<sup>2</sup> ГОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования Росздрава», Москва

В последние годы активно изучается роль процессов неоангиогенеза при атеросклерозе и васкулопатии аллотрансплантата сердца. Плацентарный фактор роста (PLGF) – маркер неоангиогенеза – белок семейства эндотелиальных факторов роста (VEGF). Изучали связь уровня PLGF с развитием васкулопатии трансплантированного сердца и его значения для прогнозирования и оценки риска прогрессирования этой патологии. Обследовано 34 пациента до трансплантации сердца (ТС) и в различные сроки после нее ( $42,5 \pm 8,5$  года, 29 мужчин и 5 женщин, 21 пациент с дилатационной кардиомиопатией, 13 – с ишемической болезнью сердца). Результаты исследования показали, что уровень PLGF у пациентов до ТС является независимым фактором риска развития сердечно-сосудистых осложнений после ТС. Выявление уровней PLGF  $> 12$  пг/мл у реципиентов в первый год после ТС связано с высоким риском развития сердечно-сосудистых осложнений в более поздние сроки после ТС. Повышенный уровень PLGF ( $>12$  пг/мл) у реципиентов с БКАПС в отдаленные сроки после ТС может служить индикатором риска прогрессирования васкулопатии, развития рестенозов после ангиопластики.

*Ключевые слова:* трансплантация сердца, васкулопатия трансплантированного сердца, плацентарный фактор роста

## CLINICAL SIGNIFICATION OF MARKER OF NEOANGIOGENESIS PLACENTA GROWTH FACTOR PLGF IN HEART TRANSPLANT RECIPIENTS

Shevchenko O.P., Orlova O.V., El-Boustani S.<sup>1</sup>, Kazakov E.N., Kormer A.J.

<sup>1</sup> Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow

<sup>2</sup> Russian Medical Academy Postgraduated Study, Moscow

In transplanted hearts, peri- and postoperative ischemic and alloimmune stimuli may be interpreted as inadequate tissue perfusion leading to activation of angiogenic signaling. Placenta growth factor (PLGF) is a marker of neoangiogenesis, belongs to vascular endothelial growth factors (VEGF) family. It has been shown that PLGF serum levels are elevated during acute rejection and decrease after immunosuppressive therapy in pediatric heart transplant recipients. The study was aimed to investigate clinical and prognostic significance of PLGF in heart transplant recipients. 34 patients (pts) ( $42,5 \pm 8,5$  years, 29 men and 5 women, 21 patient with dilated cardiomyopathy, 13 – with ischemic heart disease) underwent heart transplantation (HTx) and were examined before and after HTx. Our results showed that pretransplant PLGF is a marker of posttransplant cardiovascular risk. Revealing PLGF plasma level in recipients during the first year after HTx also has prognostic value concerning development of cardiovascular complications. In the remote terms (1–16 years) after HTx PLGF plasma levels were significantly higher in recipients with TxCAD than in recipients without TxCAD. These findings confirm participation of PLGF in damage of the transplanted heart vessels.

*Key words:* heart transplantation, transplant coronary artery disease, placenta growth factor

Статья поступила в редакцию 05.06.09 г.

**Контакты:** Шевченко Ольга Павловна, д. м. н., профессор, зам. директора по научно-исследовательской работе ФГУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ.

Тел. 8-963-644-9600, e-mail: transplant2009@mail.ru

В отдаленном периоде после трансплантации сердца (ТС) болезнь коронарных артерий пересаженного сердца (БКАПС) является одной из главных причин заболеваемости и смертности реципиентов. Коронарная болезнь пересаженного сердца, или васкулопатия трансплантата, развивается у 12,5% реципиентов через 3 года, у 15% – через 5 лет и у 42,8% – спустя 5 лет после трансплантации и является основной причиной смерти у 61,8% реципиентов сердца [1–3, 23].

Патогенез БКАПС сложен и недостаточно изучен. Ангиографические и гистопатологические признаки этого заболевания описаны достаточно подробно, однако отсутствие четких данных о патогенезе БКАПС не позволяет в настоящее время разработать принципы эффективной профилактики и терапии, предотвращающей или в значительной степени замедляющей развитие и прогрессирование этой патологии.

Развитию патологических изменений в сосудах пересаженного сердца способствуют не только традиционные факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний – такие как возраст реципиента и донора, артериальная гипертония, гиперлипидемия, гиперхолестеринемия, сахарный диабет, – но также частые и тяжелые эпизоды отторжения и цитомегаловирусная инфекция. Синергизм иммунных и неиммунных механизмов развития болезни коронарных артерий пересаженного сердца доказан многочисленными клиническими и экспериментальными исследованиями [1, 23].

В последние годы активно изучается роль процессов неоангиогенеза при атеросклерозе и васкулопатии аллотрансплантата сердца. Проблема неоангиогенеза привлекает к себе внимание по нескольким причинам. С одной стороны, имеется перспектива лечения больных атеросклерозом при помощи медикаментозных средств, способствующих неоангиогенезу и, соответственно, улучшающих кровоснабжение ишемизированного миокарда, с другой стороны, известно, что неоваскуляризация способствует нестабильности течения атеросклероза [15–18, 22, 25].

В настоящее время показано, что неоангиогенез (неоваскуляризация) в атеросклеротической бляшке коронарных артерий является ключевым фактором, способствующим прогрессированию атеросклеротической бляшки, приводящему к дестабилизации и увеличению риска ее повреждения за счет активации локального воспаления, привлечения активных клеток, разрушения межклеточного матрикса [10, 13, 25].

Один из маркеров неоангиогенеза, плацентарный фактор роста (PLGF) – представитель семейства эндотелиальных факторов роста (VEGF) – является сильным моноцитарным хемоаттрактантом и уча-

ствует в регуляции роста эндотелия сосудов. PLGF представляет собой гетеродимерный гликопротеид с молекулярной массой 50 кДа. Биологическая роль PLGF до конца не выяснена, однако считается, что основная роль PLGF заключается в участии в процессах репараций во взрослом организме, связанных с воздействием патологических факторов, и в частности при ишемии. Показано, что этот фактор инициирует воспалительный процесс в сосудистой стенке, который включает в себя привлечение из кровотока циркулирующих моноцитов и макрофагов в зону повреждения или в область атеросклеротической бляшки, а также усиление пролиферации гладкомышечных клеток и стимуляцию макрофагов к выбросу хемоаттрактантного макрофагального белка MCP-1 и фактора некроза опухолей альфа (ФНО- $\alpha$ ) [8, 9, 14, 20, 24].

Клиническое значение PLGF у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) обусловлено тем, что в настоящее время этот маркер рассматривают как показатель нестабильного течения атеросклероза, кроме того, более высокие уровни PLGF в плазме крови больных ИБС связаны с неблагоприятным отдаленным прогнозом [4, 5, 12, 13, 21]. Вопрос о клиническом значении PLGF у реципиентов сердца и при БКАПС остается открытым. В настоящем исследовании изучали связь маркера неоангиогенеза – плацентарного фактора роста PLGF с развитием васкулопатии трансплантированного сердца и его значения для прогнозирования и оценки риска прогрессирования БКАПС.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 34 пациента (107 образцов крови) до трансплантации и в различные сроки после нее в возрасте от 18 до 65 лет ( $42,5 \pm 8,5$  лет), 29 мужчин и 5 женщин. У 21 реципиента причиной застойной сердечной недостаточности III–IV функционального класса по NYHA до ТС была дилатационная кардиомиопатия, у 13 пациентов – ишемическая болезнь сердца. Максимальная длительность наблюдения пациентов после ТС составила 9 лет. У 20 реципиентов была ангиографически подтвержденная болезнь коронарных артерий пересаженного сердца, у 5 из этих реципиентов признаки БКАПС были выявлены в период наблюдения, в течение первых трех лет после ТС. У 14 реципиентов ангиографических признаков болезни коронарных артерий пересаженного сердца не было.

Все пациенты на момент обследования не имели признаков воспаления и/или инфекции. В исследование также не включались пациенты с наличием двух или более клинико-лабораторных признаков воспаления (повышенное, более 5 мг/л содержание СРБ, лейкоцитоз или палочкоядерный сдвиг лейко-

цитарной формулы, субфебрильная или фебрильная температура тела, наличие других клинических проявлений или позитивных данных бактериологического исследования).

Все пациенты с застойной сердечной недостаточностью до трансплантации сердца получали медикаментозную терапию в соответствии с индивидуальными показаниями и тяжестью состояния. Все реципиенты сердца получали трехкомпонентную иммуносупрессивную терапию, включающую метилпреднизолон, циклоспорин А и селлсепт.

Забор крови для исследования производили одновременно с плановым обследованием пациентов, включающим термометрию, вирусологическое, бактериологическое, электро-, эхокардиографическое исследования, динамику изменений общих и биохимических показателей крови, коагулограмму, общий анализ мочи, определение кислотно-щелочного равновесия. Всем реципиентам сердца проводили морфологическое (в лаборатории клинической патологии, заведующий – проф. И.М. Ильинский) и иммуногистохимическое (в лаборатории трансплантационной иммунологии, под руководством проф. Л.В. Белецкой) исследования эндомикардиального биоптата, измерения концентрации циклоспорина А и коронароангиографическое исследование (в отделении рентгенофункциональных методов исследования, заведующий – проф. В.В. Честухин).

Измерение концентрации PLGF осуществляли методом иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов «R and D SYSTEMS», США. Кроме того, у всех пациентов измеряли уровни в плазме крови С-реактивного белка, СРБ, hsСРБ – методом иммунотурбидиметрии с усилением латексом (Orion, Финляндия и Aptec Diagnostics nv, Бельгия), методом иммуноферментного анализа определяли концентрации неоптерина, НП (IBL, Германия), интерлейкина-6, ИЛ-6, растворимой формы лиганда CD40, sCD40L (Bender MedSystems, Австрия), гомоцистеина, ГЦ (Axis-Shield, Германия–Норвегия), IgG-антител к кардиолипину, АКЛ («Лаборатория диагностических систем», Россия), ассоциированного с беременностью протеина плазмы А, PAPP-A (Diagnostic Systems Laboratories INC, США).

Анализ данных производили с помощью стандартных методов статистической обработки с использованием программного обеспечения Microsoft Excel и пакета прикладных программ для научных технических расчетов SPSS 11.5 (LEAD Technologies Inc., США). Для представления полученных данных использовались методы описательной статистики. Для всех критериев и тестов критический уровень значимости принимался равным 5%, т. е. нулевая гипотеза отвергалась при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

У пациентов с застойной сердечной недостаточностью до трансплантации сердца средний уровень PLGF составил  $10,2 \pm 2,4$  пг/мл (от 7 до 15 пг/мл,  $n = 33$ ). Через год после ТС средний уровень PAPP-A составил  $12,0 \pm 2,2$  пг/мл (от 7 до 20 пг/мл,  $n = 40$ ) и достоверно не отличался от такового до трансплантации. У реципиентов в отдаленные сроки (1–16 лет) после ТС уровень PLGF составил  $16,7 \pm 7,2$  пг/мл (от 9 до 32 пг/мл,  $n = 34$ ) и был достоверно выше ( $p < 0,05$  и  $p < 0,01$  соответственно), чем у реципиентов в первый год после ТС и пациентов с СН (рис. 1).

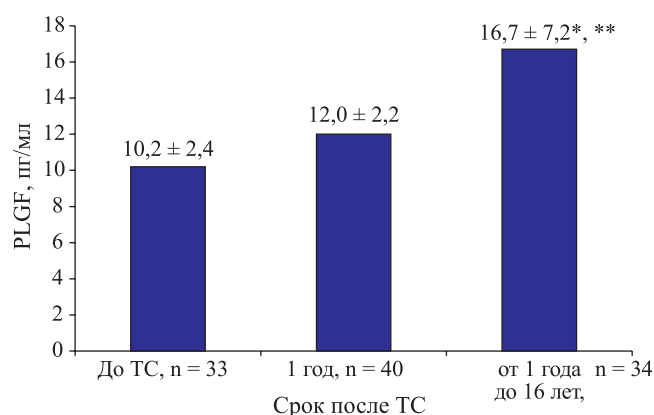


Рис. 1. Увеличение уровня PLGF у больных после трансплантации сердца. \* –  $p < 0,01$  в сравнении с пациентами до ТС, \*\* –  $p < 0,05$  в сравнении с реципиентами в первый год после ТС

Уровни PLGF не были связаны с возрастом, полом, этиологией сердечной недостаточности (дилатационной кардиомиопатией или ишемической болезнью сердца) до ТС, наличием артериальной гипертензии и уровнями в крови общего холестерина ( $p = 0,32$ ), холестерина липопротеидов низкой плотности ( $p = 0,53$ ), липопротеидов высокой плотности ( $p = 0,48$ ), триглицеридов ( $p = 0,34$ ).

Медиана распределения значений уровней PLGF, определенных у всех обследованных пациентов, соответствовала 12 пг/мл.

Для оценки связи уровней PLGF с прогнозом все пациенты были разделены на две подгруппы с уровнями этого маркера в плазме крови выше и ниже медианы распределения:  $\geq 12$  пг/мл и  $< 12$  пг/мл соответственно.

Измерение уровня PLGF у пациентов с сердечной недостаточностью, ожидающих ТС, имело прогностическое значение в отношении раннего развития сердечно-сосудистых осложнений после ТС, а именно – раннего, в течение первых трех лет после ТС, развития БКАПС, острого коронарного синдрома, летального исхода от сердечно-сосудистых причин, развития острого клеточного отторжения

трансплантата степени 3А, острого отторжения с нарушениями гемодинамики и тяжелого гуморального отторжения 3 балла.

Из 33 пациентов с застойной СН, обследованных до ТС, сердечно-сосудистые осложнения после трансплантации возникли у 11 пациентов. У 8 из этих пациентов уровни PLGF до ТС были выше 12 пг/мл (средний уровень PLGF составил  $13,2 \pm 2,8$  пг/мл). Среди 21 пациента без указанных осложнений после ТС уровень  $PLGF \geq 12$  пг/мл был выявлен у 5 больных (средний уровень PLGF составил  $9,7 \pm 2,8$  пг/мл).

На рис. 2 представлены кривые, отражающие кумулятивную долю пациентов без развившихся нежелательных событий после ТС в группах больных с уровнем  $PLGF \geq 12$  пг/мл ( $n = 14$ ) и с уровнем  $PLGF < 12$  пг/мл ( $n = 19$ ), определяемых до ТС. Только у трех (15,8%) пациентов с исходным уровнем  $PLGF < 12$  пг/мл развились сердечно-сосудистые осложнения после ТС (максимальный срок наблюдения составил 96 месяцев). Средняя продолжительность периода до наступления нежелательных событий в этой группе пациентов составила  $21,7 \pm 9,5$  месяца. У пациентов с исходным уровнем  $PLGF \geq 12$  пг/мл нежелательные события после ТС развились у 8 из 14 пациентов (57,1%), причем у пяти из них уже в течение первого года после ТС. Средняя продолжительность периода до наступления нежелательных событий составила  $12,5 \pm 5,8$  месяца. Сравнительный анализ с использованием теста Каплана–Майера позволил выявить достоверные различия в выживаемости без нежелательных событий (35,7 и 84,2% соответственно,  $p < 0,05$ ).

Вычисляли относительный риск (RR) развития болезни коронарных артерий пересаженного сердца у больных с застойной сердечной недостаточностью при исходно повышенных уровнях PLGF ( $\geq 12$  пг/мл).

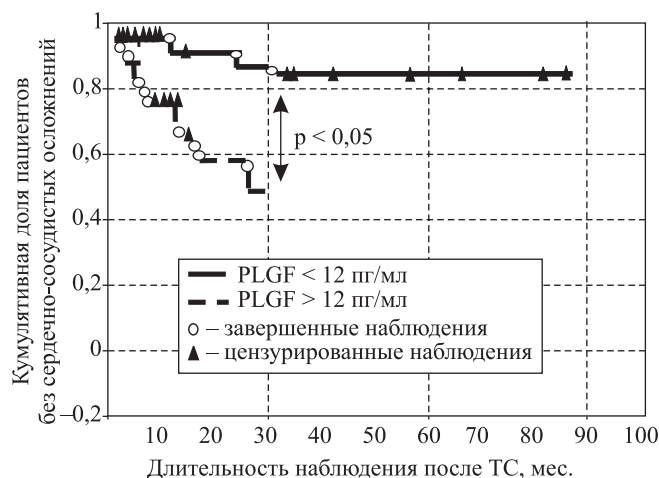


Рис. 2. Кумулятивная доля пациентов без развившихся сердечно-сосудистых осложнений в группах с различным уровнем PLGF до ТС

Относительный риск развития БКАПС у пациентов с уровнями  $PLGF \geq 12$  пг/мл составил 3,8. С достоверностью 95% относительный риск попадал в пределы 1,55–4,55.

Измерение уровня PLGF у реципиентов сердца в первый год после трансплантации также имело прогностическое значение в отношении развития сердечно-сосудистых осложнений в более поздние сроки.

Из 40 пациентов, обследованных в первый год после трансплантации (измерение уровня PLGF производили через 1–6 месяцев после ТС), в последующем сердечно-сосудистые осложнения (через 2–35 месяцев после ТС) возникли у 18 пациентов, и у 15 из них уровень PLGF до развития этих осложнений был выше 12 пг/мл (средний уровень PLGF составил  $14,1 \pm 3,5$  пг/мл). Среди 22 пациентов без указанных осложнений уровень  $PLGF > 12$  пг/мл был выявлен только у восьми больных (средний уровень PLGF составил  $10,2 \pm 2,8$  пг/мл).

На рис. 3 представлены кривые, отражающие кумулятивную долю реципиентов без развившихся сердечно-сосудистых осложнений в группах больных с уровнем  $PLGF \geq 12$  пг/мл ( $n = 23$ ) и с уровнем  $PLGF < 12$  пг/мл ( $n = 17$ ). Только у трех пациентов (17,6%) с уровнем  $PLGF < 12$  пг/мл развились сердечно-сосудистые осложнения, в среднем через  $23,8 \pm 11,1$  месяца, у остальных 14 пациентов в течение всего периода наблюдения (максимальный срок наблюдения 96 месяцев) не были выявлены конечные точки исследования. У 15 из 23 (65,2%) пациентов с уровнем  $PLGF \geq 12$  пг/мл нежелательные события развились в сроки от 2 до 35 месяцев после ТС. Средняя продолжительность периода до наступления нежелательных событий составила  $18,5 \pm 9,5$  месяца. Сравнительный анализ с использованием теста Каплана–Майера позволил выявить

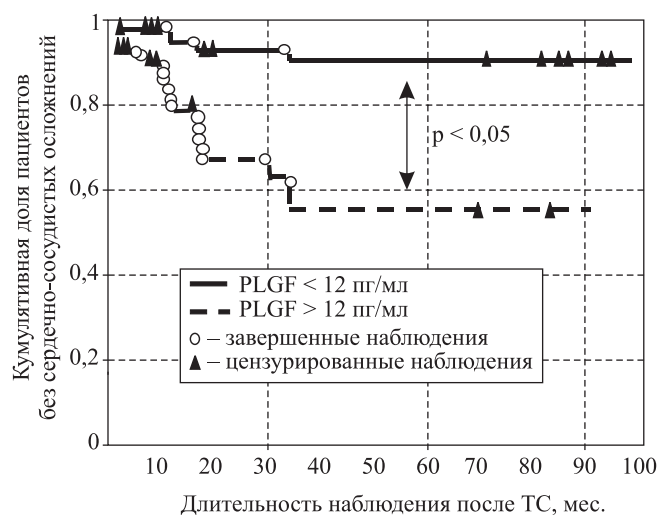


Рис. 3. Кумулятивная доля пациентов без развившихся сердечно-сосудистых осложнений в группах с различным уровнем PLGF в первый год после ТС

достоверные различия в выживаемости без нежелательных событий (34,8 и 82,3% соответственно,  $p < 0,05$ ). Относительный риск развития БКАПС у реципиентов с уровнями PLGF  $\geq 12$  пг/мл составил 3,5. С достоверностью 95% относительный риск попадал в пределы 1,5–4,55.

В отдаленные сроки (1–16 лет) после ТС концентрация PLGF была достоверно выше у реципиентов с ангиографически подтвержденной БКАПС ( $22,5 \pm 5,0$  пг/мл, от 9 до 32 пг/мл,  $n = 20$ ), чем у реципиентов без БКАПС ( $12,3 \pm 4,6$  пг/мл, от 9 до 17 пг/мл,  $n = 14$ ,  $p < 0,01$ ).

Наиболее высокие уровни PLGF были выявлены у 6 реципиентов с быстро прогрессирующей БКАПС. Так, один реципиент умер от острого инфаркта миокарда, пяти пациентам более 4–6 раз выполнялась ангиопластика коронарных артерий каждые 6–12 месяцев. Следует отметить, что у всех этих реципиентов васкулопатия трансплантата развилась в течение первого года после ТС, уровни PLGF до трансплантации и на протяжении всего периода наблюдения после трансплантации сердца (в течение 1,5–9 лет) оставались выше 12 пг/мл (рис. 4).

При оценке диагностического значения PLGF при развитии болезни коронарных артерий пересаженного сердца за верхнюю границу принята медиана распределения уровня PLGF – 12 пг/мл. Диагностическая чувствительность PLGF у реципиентов с БКАПС составила 85%, т. е. у 85% реципиентов сердца с васкулопатией трансплантата уровень PLGF был выше 12 пг/мл. Диагностическая специфичность PLGF составила 80,5% – у 80,5% пациентов без БКАПС уровень PLGF не превышал 12 пг/мл. Диагностическая значимость положительных результатов составила 75,5%, т. е. в 75,5% образцов крови пациентов с БКАПС уровень PLGF превышал 12 пг/мл. Диагностическая значимость отрицательных результатов составила 87,5%, т. е. в 87,5% случаев уровни PLGF ниже 12 пг/мл были обнаружены у пациентов без БКАПС.

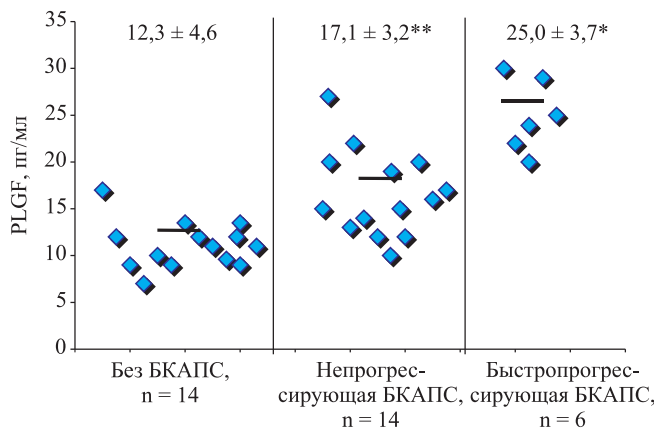


Рис. 4. Уровни PLGF у реципиентов в отдаленные сроки (1–16 лет) после ТС. \* –  $p < 0,01$ ; \*\* –  $p < 0,05$  в сравнении с реципиентами без БКАПС

Исследовали связь уровня PLGF с другими лабораторными маркерами, потенциально значимыми в патогенезе БКАПС.

В таблице представлены корреляции уровня PLGF с концентрациями провоспалительных и проатерогенных маркеров у пациентов до трансплантации сердца, в первый год и отдаленные сроки после нее.

У пациентов в терминальной стадии сердечной недостаточности до трансплантации сердца не было выявлено связи уровня PLGF с концентрациями С-реактивного белка (СРБ), неоптерина (НОП), интерлейкина-6 (ИЛ-6), гомоцистеина (ГЦ), антител к кардиолипину (АКЛ). Связь уровня PLGF с концентрациями ассоциированного с беременностью протеина плазмы А (РАРР-А) и растворимой формы лиганда CD40 (sCD40L) носила характер тенденции.

В первый год после ТС уровень PLGF также не был связан с концентрациями СРБ, неоптерина и ИЛ-6. Однако выявлена достоверная корреляция средней силы уровня PLGF с концентрациями РАРР-А и sCD40L ( $r = 0,45$ ,  $p = 0,04$  и  $r = 0,55$ ,  $p = 0,045$ ) (рис. 5). Связь уровня PLGF с концентрациями гомоцистеина ( $r = 0,29$ ,  $p = 0,065$ ), антител к

Таблица

**Связь уровня PLGF с концентрациями провоспалительных и проатерогенных маркеров у пациентов до трансплантации сердца**

PLGF, пг/мл	до ТС		1-й год после ТС		1–16 лет после ТС	
	r	p	r	p	r	p
СРБ, мг/л	0,23	0,063	0,28	0,067	0,35	0,07
НОП, нмоль/л	0,19	0,075	0,55	0,06	<b>0,57</b>	<b>0,035</b>
ИЛ-6, пг/мл	0,1	0,1	0,12	0,12	0,1	0,15
ГЦ, мкмоль/л	0,26	0,066	0,29	0,065	0,32	0,67
АКЛ, МЕ/мл	0,24	0,068	0,28	0,065	0,32	0,06
sCD40L, нг/мл	0,32	0,06	<b>0,55</b>	<b>0,045</b>	0,25	0,065
РАРР-А, мМЕ/мл	0,34	0,065	<b>0,45</b>	<b>0,04</b>	<b>0,55</b>	<b>0,013</b>

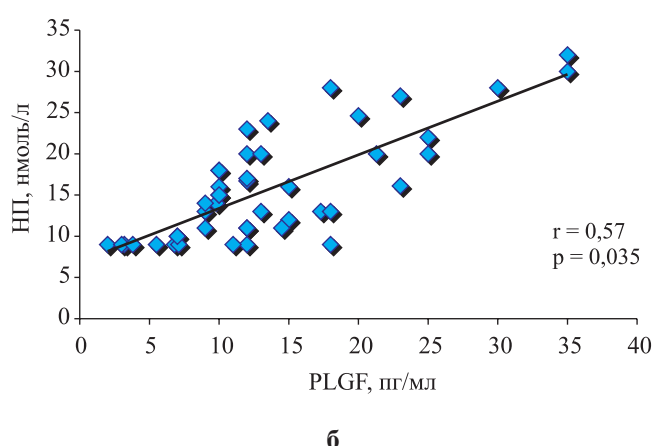
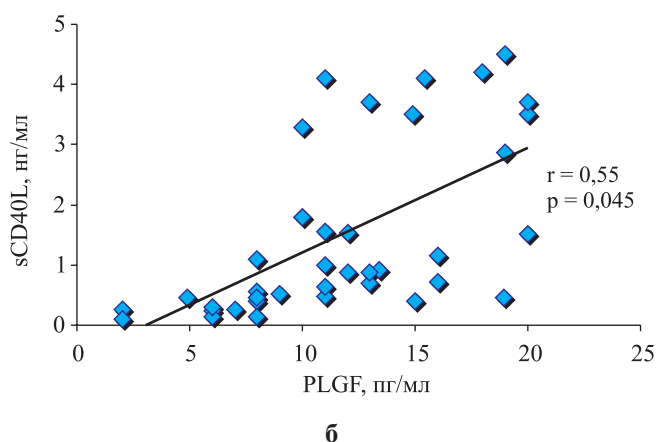
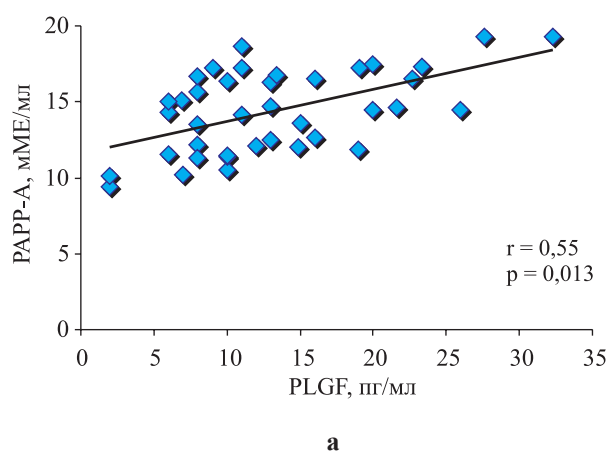
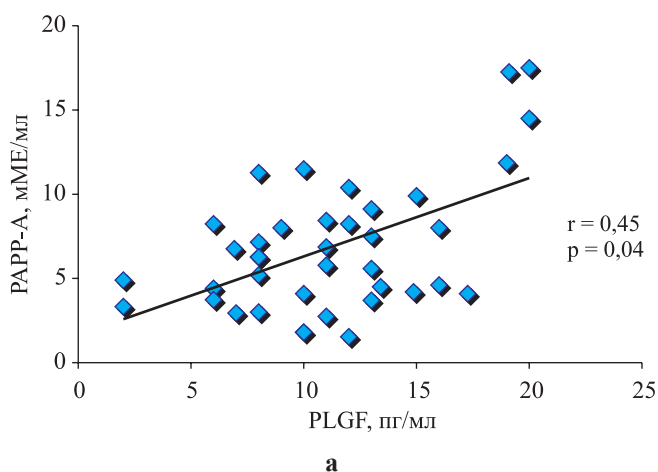


Рис. 5. Корреляция уровня PLGF с концентрациями PAPP-A (а) и sCD40L (б) у реципиентов в первый год после ТС

Рис. 6. Корреляция уровня PLGF с концентрацией PAPP-A (а) и неоптерина (б) у реципиентов в отдаленные (1–16 лет) сроки после ТС

кардиолипину ( $r = 0,28$ ,  $p = 0,065$ ) и неоптерина ( $r = 0,57$ ,  $p = 0,035$ ) носила характер тенденции.

Через 1–16 лет после ТС не было выявлено связи уровня PLGF с концентрациями СРБ, ИЛ-6, гомоцистеина и sCD40L. Однако выявлена достоверная корреляция средней силы уровня PLGF с концентрациями PAPP-A ( $r = 0,55$ ,  $p = 0,013$ ) и неоптерина ( $r = 0,57$ ,  $p = 0,035$ ) (рис. 6). Связь уровня PLGF с концентрацией антител к кардиолипину ( $r = 0,32$ ,  $p = 0,06$ ) носила характер тенденции.

По результатам опубликованных ранее работ, уровень PLGF у больных ИБС в среднем составляет  $14,3 \pm 8,5$  пг/мл, верхние границы I, II и III квартилей распределения составили 7,5, 8 и 20,5 пг/мл соответственно. Показано, что выявление высоких уровней PLGF в крови ( $>7,5$  пг/мл) у больных ИБС является фактором риска неблагоприятного прогноза в отношении развития в ближайшие два года острого коронарного синдрома, инфаркта миокарда, летального исхода от сердечно-сосудистых причин [4, 5]. Нами получены аналогичные результаты: у всех обследованных пациентов с застойной сердечной недостаточностью и реципиентов сердца средний уровень PLGF составил  $10,2 \pm 2,4$  пг/мл,

медиана распределения соответствовала 12 пг/мл. Прогноз, характеризующийся выживаемостью без нежелательных событий (раннего, в течение первых трех лет после ТС, развития БКАПС, острого коронарного синдрома, развития острого клеточного отторжения трансплантата степени 3А, острого отторжения с нарушениями гемодинамики, тяжелого гуморального отторжения 3 балла, летального исхода от сердечно-сосудистых причин), у обследованных нами пациентов с уровнями PLGF  $< 12$  пг/мл оказался достоверно лучше, чем у больных с уровнями в крови этого маркера  $\geq 12$  пг/мл.

Получены данные, что у больных острым коронарным синдромом (нестабильная стенокардия и инфаркт миокарда) концентрации PLGF была достоверно выше, чем у больных стабильной стенокардией напряжения и лиц без ИБС [4, 5, 12]. По результатам наших исследований уровень PLGF был достоверно выше у реципиентов с БКАПС, чем у реципиентов без таковой. Кроме того, наиболее высокие уровни PAPP-A были выявлены нами у реципиентов с развившейся в ранние сроки (до 3 лет) и быстро прогрессирующей БКАПС, требующей неоднократных повторных ангиопластик пораженных сосудов.

Ранее получены данные о том, что уровни PLGF у больных ИБС не зависят от возраста, пола, индекса массы тела, наличия артериальной гипертензии, сахарного диабета, наличия в анамнезе перенесенного инфаркта миокарда или острого нарушения мозгового кровообращения. Однако уровень PLGF коррелировал с концентрацией гомоцистеина и неоптерина у больных ИБС [4, 5]. Нами также не было выявлено связи уровня PLGF с возрастом, полом, этиологией сердечной недостаточности (дилатационной кардиомиопатией или ишемической болезнью сердца) до ТС, уровнями липидов в плазме крови, наличием артериальной гипертензии. Кроме того, уровни PLGF не коррелировали с концентрациями СРБ, неоптерина, ИЛ-6, гомоцистеина, антител к кардиолипину у пациентов до трансплантации сердца. Таким образом, PLGF является независимым фактором риска развития сердечно-сосудистых осложнений после ТС, не связанным с нарушениями липидного обмена и другими факторами сердечно-сосудистого риска (воспалением, гипергомоцистеинемией, повышенными уровнями аутоантител к кардиолипину), выявляемых до ТС.

Однако нами выявлена связь уровня PLGF у реципиентов в первый год после ТС с концентрациями маркера эндогенной деструкции тканей, ассоциированного с беременностью протеина плазмы А, PAPP-A и маркером активированных тромбоцитов, растворимой формы лиганда CD40. В отдаленные сроки после ТС выявлена достоверная корреляция средней силы уровня PLGF с концентрациями PAPP-A и неоптеринемией.

Неоптерин – D-эритро-(1', 2', 3'-тригидрокси-пропил)птеридин (НП) – продукт активированных макрофагов, которые вырабатывают его в ответ на стимуляцию интерфероном гамма. Выявление повышенных концентраций НП в биологических жидкостях свидетельствует об активации клеточного иммунитета [11]. Таким образом, обнаруженная нами связь уровня PLGF с НП может объясняться повышенной активностью макрофагов у лиц с более высокими уровнями PLGF. Показано, что PLGF оказывает прямое действие на моноциты/макрофаги, активируя их посредством рецепторов VEGFR-1, что приводит к активации моноцитарной/макрофагальной PI3 киназы и увеличению выброса провоспалительных цитокинов и матриксных металлопротеиназ [20]. CD40L – один из провоспалительных цитокинов, выделяемых активированными тромбоцитами, однако источниками CD40L являются и другие клетки, в том числе и те, которые участвуют в атерогенезе, такие как Т- и В-лимфоциты, базофилы, эозинофилы, тучные клетки, моноциты, макрофаги, натуральные киллеры, купферовские клетки, эпителиальные клетки, эндотелиоциты и др. sCD40L уникален тем, что среди множества

биологических факторов в сердечно-сосудистой патологии он может быть маркером как тромбоза, так и воспаления. Известно, что система CD40/CD40L также играет роль в регуляции экспрессии матриксных металлопротеиназ [19]. Кроме того, ранее нами было показано, что CD40L и PAPP-A – цинк-содержащая матриксная металлопротеиназа – играют роль в развитии васкулопатии трансплантата, и выявление повышенных их уровней у пациентов до ТС связано с неблагоприятным отдаленным прогнозом после ТС в отношении развития сердечно-сосудистых осложнений [6, 7].

Этими данными можно объяснить выявленную нами корреляцию уровня PLGF с концентрациями PAPP-A и sCD40L у реципиентов сердца.

Результаты настоящего исследования позволяют сделать следующие заключения.

Уровни PLGF у пациентов с застойной сердечной недостаточностью и реципиентов сердца не связаны с возрастом, полом, этиологией сердечной недостаточности (дилатационной кардиомиопатией или ишемической болезнью сердца), наличием артериальной гипертензии и показателями липидного обмена. Не было выявлено связи уровня PLGF с концентрациями С-реактивного белка, неоптерина, интерлейкина-6, гомоцистеина, антител к кардиолипину у пациентов до трансплантации сердца.

Уровень PLGF у пациентов до ТС является независимым фактором риска развития сердечно-сосудистых осложнений после ТС, а именно – раннего, в течение первых трех лет после ТС, развития БКАПС, острого коронарного синдрома, острого клеточного отторжения степени 3А, тяжелого гуморального отторжения 3 балла, острого отторжения трансплантата с нарушениями гемодинамики.

Уровень PLGF увеличивается с течением времени после трансплантации сердца.

Выявление уровней PLGF  $\geq 12$  пг/мл у реципиентов в первый год после трансплантации сердца связано с высоким риском развития сердечно-сосудистых осложнений в более поздние сроки после ТС.

В отдаленные сроки (1–16 лет) после ТС уровень PLGF связан с развитием БКАПС: концентрация PLGF достоверно выше у реципиентов с ангиографически подтвержденной БКАПС, чем у реципиентов без БКАПС. Повышенный уровень PLGF ( $\geq 12$  пг/мл) у реципиентов с БКАПС в отдаленные сроки после ТС может служить индикатором риска прогрессирования васкулопатии, развития рестенозов после проведения ангиопластики пораженных сосудов.

У реципиентов в первый год после ТС уровень PLGF связан с концентрацией маркера эндогенной деструкции тканей, ассоциированного с беременностью протеина плазмы А, и маркера активированных тромбоцитов, растворимой формы

лиганда CD40. В отдаленные сроки, через 1–16 лет после ТС, уровень PLGF связан с концентрациями RAPP-A-маркера эндогенной деструкции тканей и неоптерином – маркером активированных макрофагов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Болезнь коронарных артерий пересаженного сердца / Под ред. академика В.И. Шумакова. М.: Медицинское информационное агентство, 2008. 160 с.
2. Казаков Э.Н., Хубутия М.Ш., Кормер А.Я. Причины, ограничивающие длительное выживание пациентов с пересаженным сердцем // Вестник трансплантол. и искусственных органов. 2001. № 3–4. С. 29–32.
3. Трансплантация сердца / Под ред. В.И. Шумакова. М.: Медицинское информационное агентство, 2006. 400 с.
4. Шевченко А.О., Шевченко О.П., Орлова О.В., Туликов М.В. Неoангиогенез и коронарный атеросклероз: диагностическое значение нового биохимического маркера – плацентарного фактора роста PLGF у больных ИБС // Кардиология. 2006. № 11. С. 9–145.
5. Шевченко А.О., Шевченко О.П., Эль-Бустани С., Князев А.Н. Маркер неоартериогенеза PLGF коррелирует с толщиной комплекса интима–медиа общей сонной артерии и отдаленным прогнозом у больных ИБС // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2007. № 6 (5). С. 340–341.
6. Шевченко О.П., Орлова О.В., Казаков Э.Н. и др. Клиническое значение ассоциированного с беременностью протеина плазмы А (РAPP-A) при васкулопатии трансплантированного сердца // Вестник трансплантол. и искусственных органов. 2008. № 5. С. 23–28.
7. Шевченко О.П., Орлова О.В., Казаков Э.Н. и др. Клиническое значение растворимого лиганда CD40 у реципиентов сердца // Вестник трансплантол. и искусственных органов. 2009. № 1. С. 40–45.
8. Apple F.S., Wu A.H., Mair J. et al. Future Biomarkers for Detection of Ischemia and Risk Stratification in Acute Coronary Syndrome // Clinical Chemistry. 2005. Vol. 51. P. 810–824.
9. Bjorndahl M., Cao R., Eriksson A., Cao Y. Blockage of VEGF-Induced Angiogenesis by Preventing VEGF Secretion // Circ Res. 2004. Vol. 94. P. 1443–1450.
10. Celletti F.L., Waugh J.M., Amabile P.G. et al. Vascular endothelial growth factor enhances atherosclerotic plaque progression // Nat. Med. 2001. Vol. 7. P. 425–429.
11. Fuchs D., Gruber A., Murr C. et al. Use of neopterin for the monitoring of cell-mediated immune response *in vivo* // Faist E., Bauer A.E., Schildberg F.W. (Eds.) The immune consequences of trauma, shock and sepsis. Mechanisms and therapeutic approaches. Lengerich, Pabst Science Publishers. 1996. Vol. 2.1. P. 144–150.
12. Heeschen C., Dimmeler S., Fichtlscherer S. et al. Prognostic value of placental growth factor in patients with acute chest pain. JAMA. 2004. Vol. 291. P. 435–441.
13. Khurana R., Simons M., Martin J.F., Zachary I.C. Role of angiogenesis in cardiovascular disease: a critical appraisal // Circulation. 2005. Vol. 112. P. 1813–1824.
14. Khurana R., Moons L., Shafi S. et al. Placental growth factor (PLGF) promotes atherosclerotic intimal thickening and macrophage accumulation // Circulation. 2005. Vol. 111. P. 2828–2836.
15. Luttun A., Tjwa M., Moons L. et al. Revascularization of ischemic tissues by PLGF treatment, and inhibition of tumor angiogenesis, arthritis and atherosclerosis by anti-Flt1 // Nat. Med. 2002. Vol. 8. P. 831–840.
16. Moreno P.R., Purushothaman K.R., Fuster V. et al. Plaque neovascularization is increased in ruptured atherosclerotic lesions of human aorta: implications for plaque vulnerability // Circulation. 2004. Vol. 110. P. 2032–2038.
17. Moulton K.S., Heller E., Konerding M.A. et al. Angiogenesis inhibitors endostatin or TNP-470 reduce intimal neovascularization and plaque growth in apolipoprotein E-deficient mice // Circulation. 1999. Vol. 99. P. 1726–1732.
18. Moulton K.S., Vakili K., Zurakowski D. et al. Inhibition of plaque neovascularization reduces macrophage accumulation and progression of advanced atherosclerosis // Proc. Natl. Acad. Sci USA. 2003. Vol. 100. P. 4736–4741.
19. Pontrelli P., Ursi M., Ranieri E. et al. CD40L proinflammatory and profibrotic effects on proximal tubular epithelial cells: role of NF- $\kappa$ B and Lyn // JASN. 2006. Vol. 17. P. 627–636.
20. Selvaraj S.K., Giri R.K., Perelman N. et al. Mechanism of monocyte activation and expression of proinflammatory cytochemokines by placenta growth factor // Blood. 2003. Vol. 102. P. 1515.
21. Shevchenko O.P., Shevchenko A.O., Orlova O.V. et al. Circulating Placenta Growth Factor Predicts Event-Free Survival in Coronary Artery Disease Patients // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2006. Vol. 26. P. 53–57.
22. Simons M. Angiogenesis: Where Do We Stand Now? // Circulation. 2005. Vol. 111. P. 1556–1566.
23. Taylor D.O., Yowell R.L., Kfoury A.G. et al. Allograft coronary artery disease: clinical correlations with circulating anti-HLA antibodies and the immunopathologic pattern of vascular rejection // J. Heart Lung. Transp. 2000. Vol. 70. P. 518.
24. Tjwa M., Luttun A., Autiero M., Carmeliet P. VEGF and PLGF: two pleiotropic growth factors with distinct roles in development and homeostasis // Cell Tissue Res. 2003. Vol. 314. P. 5–14.
25. Virmani R., Kolodgie F.D., Burke A.P. et al. Atherosclerotic Plaque Progression and Vulnerability to Rupture: Angiogenesis as a Source of Intraplaque Hemorrhage // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2005. Vol. 25. P. 2054–2061.