

DOI: 10.15825/1995-1191-2015-2-23-29

ФАКТОРЫ РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ ПРИ ОТТОРЖЕНИИ ТРАНСПЛАНТИРОВАННОГО СЕРДЦА

О.П. Шевченко^{1, 2}, Е.А. Стаханова¹, А.О. Шевченко^{1, 3}, Н.П. Можейко¹, О.Е. Гичкун^{1, 2}

¹ ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

² ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

³ ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Цель: определить клиническое значение биомаркеров – членов семейства факторов роста эндотелия сосудов VEGF-A, VEGF-D, PlGF-1 при развитии сердечно-сосудистых осложнений у реципиентов сердца. **Материалы и методы.** 103 реципиента сердца в возрасте от 16 до 73 ($46,9 \pm 13,6$) лет, из них 85 (82,5%) мужчин. У 65 реципиентов (47 мужчин и 18 женщин) диагнозом для трансплантации была дилатационная кардиомиопатия, у 38 – ишемическая болезнь сердца. Концентрацию факторов роста эндотелия сосудов (VEGF-A, VEGF-D, плацентарного фактора роста PlGF) измеряли с использованием технологии xMAP с помощью сформированной для настоящего исследования мультиплексной панели, составленной на основе наборов реагентов Simplex ProcartaPlex™ (Affymetrix, США). **Результаты.** Концентрация каждого из биомаркеров не зависела от пола, возраста и диагноза у реципиентов сердца. Уровень VEGF-A ниже после трансплантации сердца ($p = 0,000$). При уровне VEGF-A после трансплантации сердца выше порогового значения ($\geq 316,5$ пг/мл) риск острого клеточного отторжения выше в 5,8 раза. При уровне PlGF-1 после трансплантации сердца выше порогового значения ($\geq 5,33$ пг/мл) риск острого клеточного отторжения выше в 1,8 раза. При одновременном определении уровней VEGF-A и PlGF-1 у пациентов с трансплантированным сердцем при концентрации обоих биомаркеров выше пороговых значений риск острого клеточного отторжения выше в 6,4 раза, чем у пациентов с уровнем ниже порогового значения. **Заключение.** Результаты настоящего исследования показывают, что измерение уровней VEGF-A и PlGF-1 может быть перспективным индикатором для скрининга пациентов с высоким риском острого клеточного отторжения.

Ключевые слова: трансплантация сердца, острое клеточное отторжение, VEGF-A, VEGF-D, PlGF-1.

VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTORS IN HEART TRANSPLANT REJECTIONS

O.P. Shevchenko^{1, 2}, E.A. Stakhanova¹, A.O. Shevchenko^{1, 3}, N.P. Mogeiko¹, O.E. Gichkun^{1, 2}

¹ V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

³ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Aim: to determine the clinical significance of vascular endothelial growth factors VEGF-A, VEGF-D, PlGF-1 to assess the risk of cardiovascular complications in heart recipients. **Materials and methods.** 103 patients, aged 16 to 73 years, 85 males and 18 females. 65 recipients (47 men and 18 women) had dilated cardiomyopathy, 38 – coronary heart disease (CHD). The concentration of VEGF-A, VEGF-D, PlGF-1 was measured using xMAP technology with sets of reagents Simplex ProcartaPlex™. **Results.** After HTx the level of VEGF-A significantly decreased, $p = 0.001$. There were no correlations between the levels of VEGF-A, VEGF-D and PlGF-1 with age, gender and diagnosis. After HTx VEGF-A level was higher in recipients with ACR than in those without it ($p = 0.001$). ACR frequency was significantly higher in patients with high VEGF-A level (≥ 316.5 pg/ml, RR = 5.8 ± 0.5 , AUC = 0.779). After HTx PlGF-1 level was higher in recipients with ACR too ($p = 0.039$). ACR frequency

Для корреспонденции: Стаханова Екатерина Анатольевна. Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 190-38-77. E-mail: transplant2009@mail.ru.

For correspondence: Stakhanova Ekaterina Anatolievna. Address: 1, Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. (499) 190-38-77. E-mail: transplant2009@mail.ru.

was significantly higher in patients with high PIGF-1 level (≥ 5.33 pg/ml, RR = 1.8 ± 0.5 , AUC = 0.65). There were no correlations between VEGF-D level with ACR and all three biomarkers with AMR. ACR frequency was significantly higher with both high VEGF-A and PIGF-1 levels (RR = 6.4). **Conclusion.** Serum levels of VEGF-A and PIGF-1 after HTx may be regarded as indicators of increased risk of ACR.

Key words: heart transplantation, acute cellular rejection, VEGF-A, VEGF-D, PIGF-1.

К настоящему времени достигнут существенный прогресс в наблюдении и лечении пациентов с трансплантированным сердцем, позволивший обеспечить длительные сроки выживания после операции и высокие показатели качества жизни реципиентов [1]. Однако острое клеточное и гуморальное (антителоопосредованное) отторжение, болезнь коронарных артерий (васкулопатия) трансплантированного сердца по-прежнему являются главными причинами потери трансплантата на ранних и отдаленных сроках после операции, а диагностика указанных осложнений базируется на результатах инвазивных методов – эндомикардиальной биопсии и коронароангиографии. Прогнозирование и ранняя, доклиническая диагностика осложнений у пациентов с трансплантированным сердцем на основе неинвазивных (малоинвазивных) технологий являются предметом интенсивных исследований [2, 3].

Вовлечение в деструктивные процессы эндотелиальных клеток сосудов является неотъемлемым и одним из ключевых компонентов при развитии как клеточного, так и гуморального отторжения и васкулопатии трансплантата. Предполагают, что биологически активные молекулы, участвующие в активации, повреждении клеток эндотелия сосудов могут являться индикаторами и потенциальными биомаркерами этих процессов [4].

В последние годы получены убедительные данные о прогностическом значении ряда биомаркеров воспаления, неоангиогенеза в отношении развития сердечно-сосудистых осложнений у больных ишемической болезнью сердца и у пациентов с трансплантированным сердцем [5–8]. Среди таких биомаркеров – цитокины семейства факторов роста эндотелия сосудов, которые участвуют в инициации и регуляции процессов воспаления и неоангиогенеза. Факторы роста эндотелия сосудов VEGF-A, VEGF-D – мощные ангиогенные факторы, которые продуцируются макрофагами, фибробластами, гепатоцитами, эндотелиальными и другими клетками. Они участвуют в активации, пролиферации, миграции и дифференцировке клеток эндотелия кровеносных и лимфатических сосудов, взаимодействуя с ними через специфические тирозинкиназные рецепторы (VEGFR) [9,10].

Плацентарный фактор роста (PIGF) – гетеродимерный гликопротеин, относящийся к семейству факторов роста эндотелия сосудов. Существуют несколько изоформ: PIGF-1, -2, -3, -4, отличающихся

наличием или отсутствием гепаринсвязывающегося домена [11]. Биологическая роль PIGF до конца не выяснена, но известно, что этот фактор участвует в инициации воспалительного процесса в сосудистой стенке: привлечении из кровотока циркулирующих моноцитов и макрофагов в зону повреждения или в область атеросклеротической бляшки; усилении пролиферации гладкомышечных клеток и стимуляции макрофагов к выделению хемоаттрактантного макрофагального белка MCP-1 и фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) [12].

Цель настоящего исследования: определить клиническое значение биомаркеров – членов семейства факторов роста эндотелия сосудов VEGF-A, VEGF-D, PIGF-1 при развитии сердечно-сосудистых осложнений у реципиентов сердца.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 103 пациента с сердечной недостаточностью III – IV функционального класса по классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA), ожидающих трансплантацию сердца, в возрасте от 16 до 73 ($46,9 \pm 13,6$) лет, из них 85 (82,5%) мужчин и 18 (17,5%) женщин. У 65 реципиентов (47 мужчин и 18 женщин, от 16 до 73; $41,8 \pm 13,4$ года) причиной сердечной недостаточности до трансплантации сердца была дилатационная кардиомиопатия (ДКМП), у 38 (все мужчины, от 28 до 67; $55,2 \pm 9,2$ года) – ишемическая болезнь сердца (ИБС). Все пациенты с застойной сердечной недостаточностью до трансплантации сердца получали медикаментозную терапию в соответствии с индивидуальными показаниями и тяжестью состояния.

В период с марта 2011 г. по июнь 2014 г. всем пациентам была выполнена трансплантация сердца (в отделениях кардиохирургических № 2 – зав. отделением член-корреспондент РАН, профессор Д.В. Шумаков и № 3 – зав. отделением профессор Р.Ш. Сайтгареев). Длительность наблюдения реципиентов после трансплантации сердца составила от 215 до 1122 ($366,37 \pm 278,37$) сут. После трансплантации реципиенты получали комбинированную иммуносупрессивную терапию, включающую препараты такролимуса, микофенолата мофетила и метилпреднизолона.

Плановое обследование пациентов включало клинический осмотр, термометрию, вирусологическое и бактериологическое исследования, дина-

мику изменений общих и биохимических показателей крови, общий анализ мочи, коагулограмму (в клинико-диагностической лаборатории – зав. к. м. н. Н.П. Шмерко). Измерение концентрации такролимуса проводили автоматизированным методом, используя анализатор ARCHITECT i2000 (Abbott, США) и набор реагентов ARCHITECT Tacrolimus Kit (Abbott, США). Всем реципиентам сердца проводили электро-, эхокардиографическое (в отделении ультразвуковой и функциональной диагностики – зав. к. м. н. И.Ю. Тюняева) обследование. Морфологическое и иммуногистохимическое исследования эндомикардиального биоптата осуществляли с оценкой фиксации основных классов иммуноглобулинов (G, A, M) и C4d-компонента комплемента в стенках сосудов миокарда методами прямой и непрямой иммунофлюоресценции на криостатных срезах; результаты оценивали с учетом рекомендаций международного общества трансплантации сердца и легких (ISHLT) 2005 г. (в отделе клинической патологии – зав. профессор И.М. Ильинский). Верификация диагноза васкулопатии трансплантата проводилась по результатам коронароангиографического и внутрисосудистого ультразвукового исследования (в отделении рентгенодиагностических методов лечения – зав. профессор Б.Л. Миронков).

Концентрацию всех трех исследуемых цитокинов семейства факторов роста эндотелия сосудов измеряли одновременно в одном образце крови с использованием технологии xMAP, которая объединяет принципы проточной цитометрии с применением флуоресцентно-окрашенных магнитных микросфер, нагруженных специфическими антителами. Использованы наборы реагентов Simplex ProcartaPlex™ (Affymetrix, США) для VEGF-A, VEGF-D, плацентарного фактора роста PlGF-1. Детекция результатов проводилась на проточном флуоресцентном анализаторе Luminex (Luminex Corporation, США). Обработка результатов проводилась с помощью программного обеспечения xPONENT 3.1 [13].

Анализ полученных данных производили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel и пакета прикладных программ для научно-технических расчетов IBM SPSS STATISTICS 20 (IBM SPSS Inc., США). Данные представлены как среднее арифметическое и стандартное отклонение ($M \pm SD$) для параметрических и как медиана и интерквартильный размах для непараметрических переменных. При сравнении зависимых выборок рассчитывали парный критерий Уилкоксона, для сравнения независимых переменных применяли U-критерий Манна–Уитни. Проводили анализ площади под ROC-кривыми (receiver operating characteristic), определение чувствительности, специфичности, порогового значения для каждого параметра.

Для всех критериев критический уровень значимости принимался равным 5%, т. е. нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования уровней VEGF-A, VEGF-D, PlGF-1 у пациентов, страдавших сердечной недостаточностью, на этапе дотрансплантационного обследования и после трансплантации сердца представлены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты анализа уровней цитокинов – членов семейства факторов роста эндотелия сосудов у пациентов до и после трансплантации сердца

Биомаркеры	Концентрация, пг/мл M [интерквартильный размах]		Достоверность различий (p)
	До ТС	После ТС	
VEGF-A	638,95 [268,67–959,09]	199,14 [109,93–432,43]	0,000
VEGF-D	41,01 [17,84–100,35]	50,58 [25,87–115,81]	0,194
PlGF-1	3,35 [1,00–6,86]	4,8 [1,81–9,97]	0,388

Диапазон концентраций исследуемых биомаркеров в сыворотке крови пациентов как до, так и после трансплантации сердца достаточно широк, и в таблице представлены уровни VEGF-A, VEGF-D и PlGF-1 в виде медианы и интерквартильного размаха. Сравнительный анализ показал отсутствие различий в концентрациях исследуемых биомаркеров у пациентов с ДКМП и ИБС: VEGF-A ($p = 0,761$), VEGF-D ($p = 0,495$), PlGF-1 ($p = 0,179$); у мужчин и женщин: VEGF-A ($p = 0,797$), VEGF-D ($p = 0,663$), PlGF-1 ($p = 0,244$). Не выявлено также связи уровней биомаркеров с возрастом пациентов. У пациентов до трансплантации сердца выявили корреляцию между уровнями VEGF-A и PlGF-1 ($r = 0,298$, $p = 0,002$).

Характер динамики уровней VEGF-A, VEGF-D и PlGF-1 после трансплантации сердца оказался различным (рис. 1).

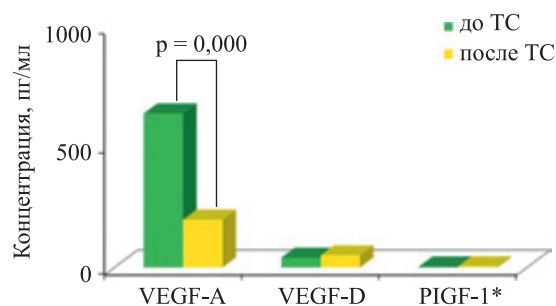


Рис. 1. Сравнительный анализ уровней цитокинов – членов семейства факторов роста эндотелия сосудов до и после трансплантации сердца. * – концентрация PlGF-1 $\times 10$

Концентрация VEGF-A у реципиентов сердца была достоверно ниже, чем у пациентов, находящихся в листе ожидания, в отличие от уровней двух других биомаркеров, значимых различий которых в общей группе пациентов как до, так и после трансплантации выявить не удалось.

В течение периода наблюдения после трансплантации сердца у 44 пациентов были верифицированы следующие сердечно-сосудистые осложнения: острое клеточное (n = 17) или гуморальное (n = 19) отторжение, васкулопатия трансплантата (n = 8). У 59 пациентов по результатам исследования эндомикардиальных биоптатов не было обнаружено морфологических и иммуногистохимических признаков отторжения и по данным коронароангиографии – признаков васкулопатии трансплантата.

Сравнительный анализ уровней VEGF-A, VEGF-D, PlGF-1 у пациентов с сердечно-сосудистыми осложнениями и без таковых показал, что уровень VEGF-A выше у пациентов с осложнениями (рис. 2).

VEGF-A играет важную роль в инициации процессов воспаления, является одним из наиболее сильных регуляторов сосудистой проницаемости, обеспечивает привлечение мононуклеаров к месту повреждения, а также стимулирует их миграцию через эндотелий и функциональную активность [14]. В настоящее время VEGF рассматривается как мультифункциональный провоспалительный цитокин, который оказывает митогенное действие как на эндотелиальные клетки, так и на моноциты-макрофаги, а также увеличивает проницаемость стенок микрососудов для жидкости и различных макромолекул. Патогенетическое значение повышенной концентрации данного фактора в крови выявлено у больных атеросклерозом и сердечной недостаточностью. Нарастание уровня VEGF-A в сыворотке крови считают фактором риска развития сердечно-сосудистой патологии и ее осложнений [15]. Допустимо предположить, что обнаруженное в настоящем исследовании более высокое содержание VEGF-A у пациентов с сердечно-сосудистыми осложнениями может быть отражением участия цитокина в их развитии, а изменение уровня VEGF-A – потенциальным индикатором риска осложнений.

На рис. 3 представлены результаты сравнения уровней VEGF-A, VEGF-D и PlGF-1 у пациентов без осложнений и у пациентов с различными осложнениями: острым клеточным (3А), гуморальным (3Б) отторжением и васкулопатией трансплантата (3В).

Анализ показал, что только у пациентов с острым клеточным отторжением достоверные различия имеют место по сравнению с пациентами без осложнений: концентрация VEGF-A и PlGF-1 выше у пациентов с ОКО.

С целью сравнения диагностической значимости определяемых показателей в качестве маркеров рис-

ка острого клеточного отторжения, а также с целью определения их пороговых значений был проведен анализ характеристических кривых ROC (рис. 4).

При анализе кривых ROC было выявлено, что значения площади под кривой ROC у VEGF-A = 0,779 ± 0,056 ([0,67 – 0,89], p = 0,000), PlGF-1 = 0,652 ± 0,080 ([0,50 – 0,81], p = 0,048), VEGF-D =

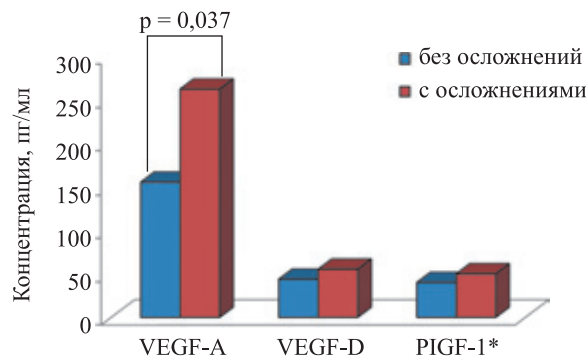


Рис. 2. Сравнительный анализ уровней цитокинов – членов семейства факторов роста эндотелия сосудов после ТС у пациентов с сердечно-сосудистыми осложнениями и без таковых. * – концентрация PlGF-1 × 10

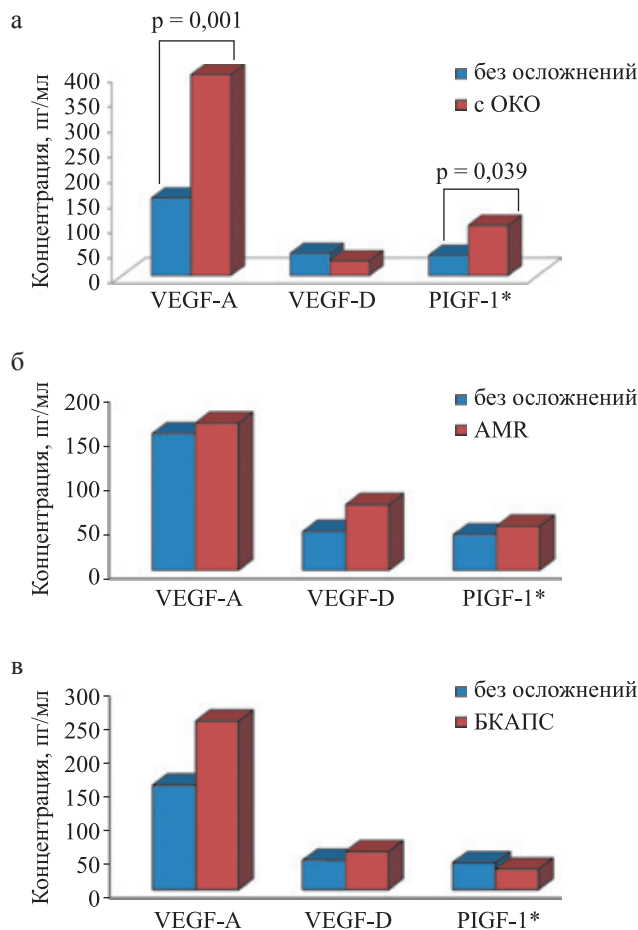


Рис. 3. Сравнительный анализ уровней VEGF-A, VEGF-D и PlGF-1 у пациентов без сердечно-сосудистых осложнений и пациентов с ОКО (а), AMR (б) и BKAPC (в). * – концентрация PlGF-1 × 10

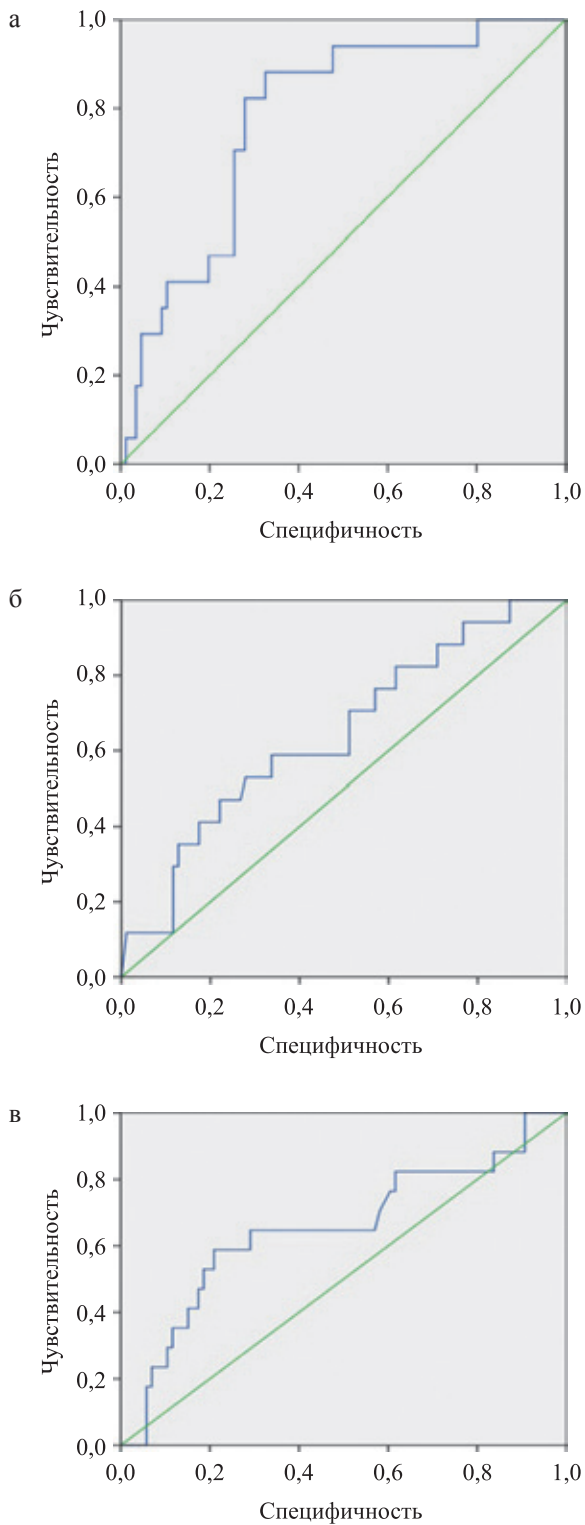


Рис. 4. Анализ площади под ROC-кривой VEGF-A (а), VEGF-D (б) и PlGF-1 (в) при остром клеточном отторжении

0,644 ± 0,073 ([0,50 – 0,79], p = 0,061). На основании полученных данных в качестве потенциальных маркеров клеточного отторжения могут рассматриваться VEGF-A и PlGF-1. Среди сравниваемых биомаркеров наибольшей диагностической значимостью обладает тот, у которого площадь под ROC-кривой выше, т. е. VEGF-A.

Пороговые уровни биомаркеров, значимые для диагностики острого клеточного отторжения, определяли по наиболее оптимальному сочетанию значений чувствительности и специфичности. Для определения порогового уровня строились графики зависимостей чувствительности и специфичности от концентрации биомаркера в крови, искомым значением находили в точке пересечения построенных кривых (рис. 5).

Пороговый уровень VEGF-A, значимый для диагностики острого клеточного отторжения, составил 316,5 пг/мл (чувствительность – 0,77, специфичность – 0,72). Уровень VEGF-A выше порогового значения был у 37 пациентов с трансплантированным сердцем, из них у 12 (32,4%) развилось острое клеточное отторжение. Уровень VEGF-A ниже порогового значения был у 66 пациентов с трансплантированным сердцем, из них у 5 (7,6%) развилось острое клеточное отторжение. Относительный риск ОКО у пациентов с уровнем VEGF-A выше порогового значения оказался 5,80 ± 0,53 [95% ДИ 2,04 – 16,50].

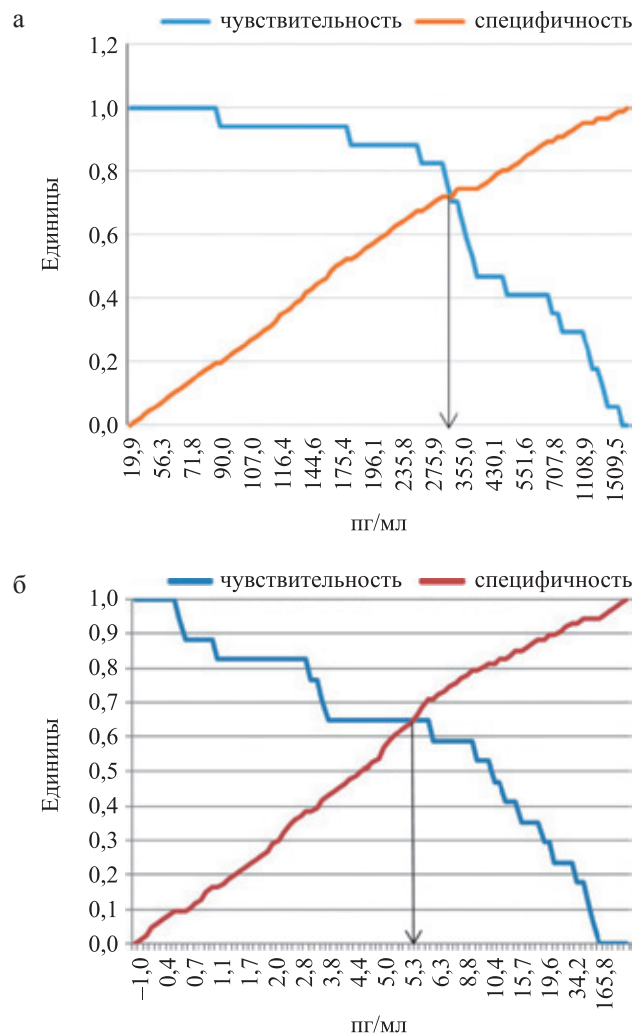


Рис. 5. Определение порогового значения VEGF-A (а) и PlGF-1 (б) при остром клеточном отторжении

Пороговый уровень PIGF-1, значимый для диагностики острого клеточного отторжения, составил 5,33 пг/мл (чувствительность – 0,65, специфичность – 0,52). Уровень PIGF-1 выше порогового значения был у 52 пациентов, из них у 11 (21,2%) развилось острое клеточное отторжение. Уровень PIGF-1 ниже порогового значения был у 51 пациента с трансплантированным сердцем, из них у 6 (11,8%) развилось острое клеточное отторжение. Относительный риск ОКО у пациентов с уровнем PIGF-1 выше порогового значения оказался $1,80 \pm 0,47$ [95% ДИ 0,72 – 4,50].

У 22 пациентов уровни обоих биомаркеров были выше их пороговых значений, среди этих пациентов у 9 (40,9%) было диагностировано острое клеточное отторжение. У 47 пациентов уровни обоих биомаркеров ниже их пороговых значений. Среди этих пациентов у 3 (6,4%) было диагностировано острое клеточное отторжение. Риск развития острого клеточного отторжения у пациентов с уровнем и VEGF-A, и PIGF-1, превышающим пороговое значение, оказался в 6,4 раза выше, чем у пациентов с уровнем обоих маркеров ниже пороговых значений ($RR = 6,41 \pm 0,62$ [95% ДИ 1,92 – 21,34] пг/мл, чувствительность составила 0,75, специфичность – 0,77).

Согласно результатам настоящего исследования, из трех исследуемых показателей наибольшей диагностической значимостью при остром клеточном отторжении трансплантированного сердца обладает VEGF-A, в меньшей степени – PIGF-1, однако анализ уровня последнего может оказаться полезным при использовании в комплексном тесте на VEGF-A и PIGF-1. Не обнаружено связи уровня VEGF-D с риском острого клеточного отторжения в данной группе пациентов. Возможно, это объясняется различными функциональными свойствами цитокинов, и уровень VEGF-D может быть связан с вовлечением в патологический процесс лимфатических сосудов трансплантата [10], но для проверки этого предположения необходимы дальнейшие исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У пациентов с терминальной сердечной недостаточностью, ожидающих трансплантацию сердца, концентрация биомаркеров – членов семейства факторов роста эндотелия сосудов VEGF-A, VEGF-D и PLGF-1 варьирует в широких пределах. Содержание в сыворотке крови каждого из маркеров не коррелирует с полом, возрастом пациентов и этиологией сердечной недостаточности.

У пациентов с трансплантированным сердцем имеет место снижение уровня VEGF-A в сравнении с исходным, определяемым на этапе дотрансплантационного исследования. У пациентов с уровнем

VEGF-A выше определенного порогового значения (316,5 пг/мл), уровнем PIGF-1 выше определенного порогового значения (5,33 пг/мл), уровнями обоих маркеров выше пороговых значений риск развития острого клеточного отторжения выше, чем у пациентов без сердечно-сосудистых осложнений ($RR = 5,80 \pm 0,53$, $RR = 1,80 \pm 0,47$, $RR = 6,40 \pm 0,62$ соответственно).

Результаты настоящего исследования показывают, что измерение уровней VEGF-A и PIGF-1 может быть перспективным индикатором для скрининга пациентов с высоким риском острого клеточного отторжения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Lund LH, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Dipchand AI, Benden C, Christie JD et al. The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirtieth Official Adult Heart Transplant Report – 2013; Focus Theme: Age *J Heart Lung Transplant.* 2013; 32 (10): 951–964. DOI: 10.1016/j.healun.2013.08.006.PMID: 24054804.
2. Richter B, Koller L, Hohensinner PJ, Zorn G, Brekalo M, Berger R et al. A multi-biomarker risk score improves prediction of long-term mortality in patients with advanced heart failure. *Int J Cardiol.* 2013; 168 (2): 1251–1257. DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.11.052. PMID: 23218577.
3. Frick M, Antretter H, Pachinger O, Pözl G. Biomarker for diagnosis of rejection after heart transplantation. *Herz.* 2010; 35 (1): 11–16. DOI: 10.1007/s00059-010-3309-3.PMID: 20140784.
4. Labarrere CA, Jaeger BR. Biomarkers of heart transplant rejection: the good, the bad, and the ugly! *Transl Res.* 2012; 159 (4): 238–251. DOI: 10.1016/j.trsl.2012.01.018. PMID: 22424428.
5. Kimura K, Hashiguchi T, Deguchi T, Horinouchi Sh, Uto T, Oku H et al. Serum VEGF – as a prognostic factor of atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2007; 194: 182–188. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2006.07.025>.
6. Daly KP, Seifert ME, Chandraker A, Zurakowski D, Nohria A, Givertz MM et al. VEGF-C, VEGF-A and related angiogenesis factors as biomarkers of allograft vasculopathy in cardiac transplant recipients. *J Heart Lung Transplant.* 2013; 32 (1): 120–128. DOI: 10.1016/j.healun.2012.09.030.PMID: 23260712.
7. Шевченко ОП, Орлова ОВ, Шевченко АО, Туликов МВ. Неоангиогенез и коронарный атеросклероз: диагностическое значение нового биохимического маркера – плацентарного фактора роста PIGF – у больных ишемической болезнью сердца. *Кардиология.* 2006; 11: 9–15. Shevchenko OP, Orlova OV, Shevchenko AO, Tulikov MV. Neoangiogenesis i koronarnyy ateroskleroz: diagnosticheskoe znachenie novogo biokhimicheskogo markera – platsentarnogo faktora rosta PIGF – u bol'nykh ishemicheskoy bolezn'yu serdtsa. *Kardiologiya.* 2006; 11: 9–15. [In Russ, English abstract].

8. Шевченко АО, Слесарева ЮС, Шевченко ОП. Лабораторная диагностика повреждения атеросклеротической бляшки у больных ишемической болезнью сердца: PAPP-A (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2011; 5: 3–10. *Shevchenko AO, Slesareva YuS, Shevchenko OP. Laboratornaya diagnostika povrezhdeniya ateroskleroticheskoy blyashki u bol'nykh ishemicheskoy bolezniyu serdtsa: PAPP-A (obzor literatury). Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2011; 5: 3–10. [In Russ, English abstract].
9. Taimeh Z, Loughran J, Birks EJ, Bolli R. Vascular endothelial growth factor in heart failure. *Nat. Rev. Cardiol.* 2013; 10 (9): 519–530. DOI: 10.1038/ncardio.2013.94.
10. Geissler HJ, Dashkevich A, Fischer UM, Fries JW, Kuhn-Régnier F, Addicks K et al. First year changes of myocardial lymphatic endothelial markers in heart transplant recipients. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2006; 29 (5): 767–771. PMID: 16439147.
11. Cao Y, Ji WR, Qi P, Rosin A. Placenta growth factor: identification and characterization of a novel isoform generated by RNA alternative splicing. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 235 (3): 493–498. DOI: 10.1006/bbrc.1997.6813. PMID 9207183.
12. Carnevalea D, Lembo G. Placental growth factor and cardiac inflammation. *Trends Cardiovasc Med.* 2012; 22 (8): 209–212. DOI: 10.1016/j.tcm.2012.07.022. PMID: 22925712.
13. Breen EJ, Polaskova V, Khan A. Bead-based multiplex immuno-assays for cytokines, chemokines, growth factors and other analytes: Median fluorescence intensities versus their derived absolute concentration values for statistical analysis. *Cytokine.* 2015; 71 (2): 188–198. DOI: 10.1016/j.cyto.2014.10.030. PMID: 25461398.
14. Ribatti D. The discovery of angiogenic growth factors: the contribution of Italian scientists. *Vascular Cell.* 2014; 6 (1): 8. DOI: 10.1186/2045-824X-6-8. PMID: 24690161.
15. Киселева ЕП, Крылов АВ, Старикова ЭА, Кузнецова СА. Фактор роста сосудистого эндотелия и иммунная система. *Успехи современной биологии*. 2009; 129 (4): 1–12. *Kiseleva EP, Krylov AV, Starikova EA, Kuznetsova SA. Faktor rosta sosudistogo endoteliya i immunnaya sistema. Uspekhi sovremennoy biologii = Biology Bulletin Reviews.* 2009; 129 (4): 1–12. [In Russ, English abstract].

Статья поступила в редакцию 13.04.2015 г.