

В.Ю. Лишневская, д.м.н., Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарева НАМН Украины, г. Киев

# Роль L-аргинаина в терапии артериальной гипертензии: фокус на функцию эндотелия и ангиогенез

**Неблагоприятный прогноз при артериальной гипертензии (АГ) определяется не только уровнем артериального давления. В числе доказанных факторов риска сердечно-сосудистых осложнений АГ – активация симпатoadренальной и ренин-ангиотензиновой систем, дисфункция эндотелия, повышение активности пристеночного внутрисосудистого тромбообразования, воспаления и целый ряд других факторов, приводящих к развитию атеросклероза и его осложнений у больных с гипертонической болезнью.**

Следует отметить, что риск развития кардиальной дисфункции при гипертонии определяется не только системными механизмами сосудистого поражения. Очень важную роль в прогрессировании диффузной ишемии миокарда и дегенеративных изменений в нем играет возникающая при гипертрофии относительная (и абсолютная) капиллярная недостаточность. К сожалению, сердце нельзя отнести к органам с большим капиллярным резервом: при отсутствии нагрузки миокард использует 75% имеющегося у него капиллярного запаса (в отличие, скажем, от скелетной мускулатуры, имеющей аналогичный процент резервного кровотока). Кроме того, капиллярная сеть любого органа организована таким образом, чтобы радиуса диффузии кислорода двух соседних капилляров было достаточно для обеспечения равномерной перфузии находящегося в их «ведении» перфузируемого участка.

Что же происходит при гипертонии? Во-первых, существующая при длительном повышении уровня артериального давления избыточная гемодинамическая нагрузка на миокард требует использования имеющегося небольшого капиллярного резерва для покрытия увеличившихся энергетических потребностей сердечной мышцы. Во-вторых, радиус диффузии кислорода в «окрестностях» капилляра – величина неизменная, поэтому развивающаяся при АГ гипертрофия миокарда постепенно приводит к возникновению зон межкапиллярной гипоперфузии, в последствии замещающихся соединительной тканью и создающих основу развития диффузной сердечной недостаточности.

В этих условиях основным (и, пожалуй, практически единственным) физиологическим механизмом, направленным на борьбу с прогрессирующей тканевой гипоксией, является физиологический компенсаторный ангиогенез.

Согласно определению ангиогенез – это процесс образования новых кровеносных сосудов в органе или ткани. Основным стимулом к активации ангиогенеза выступает гипоксия или ишемия тканей, в результате которой индуцируемый гипоксией активатор транскрипции факторов ангиогенеза – фактор-1 (HIF-1) – стимулирует экспрессию многих ангиогенных факторов и прежде всего фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и его рецепторов. VEGF избирательно воздействует на эндотелиоциты, вызывая сложный каскад последовательных функциональных и биохимических изменений эндотелия, в результате которого формируются тонкостенные эндотелиальные структуры, выполняющие функцию новых сосудов для осуществления кровоснабжения в зонах гипоперфузии.

В ишемизированных тканях активный ангиогенез приводит к увеличению плотности капиллярной сети и уменьшению периферического сосудистого сопротив-

ления, что необходимо для обеспечения перфузии тканей и восстановления их нормальной жизнеспособности.

В свою очередь недостаточный физиологический ангиогенез, обусловленный недостаточной продукцией факторов роста или экспрессией их рецепторов, либо увеличенной продукцией его ингибиторов, может способствовать нарастанию тяжести ишемических заболеваний.

К сожалению, активность компенсаторного физиологического ангиогенеза во взрослом организме соответствует потребностям ишемизированного органа далеко не всегда. Особенно это касается миокарда, регенераторные возможности сосудистой сети которого крайне невелики – несмотря на наличие предрасполагающих к активации ангиогенеза условий (гипоксии, воспаления и т.д.), самостоятельное развитие достаточной коллатеральной сети, и в том числе у больных АГ, зачастую ниже потребностей гипертрофированного миокарда.

В связи с этим с начала 90-х годов прошлого века медицинская наука начала активно заниматься поиском возможных путей стимуляции активности компенсаторного ангиогенеза. На протяжении последних 20 лет было опубликовано несколько тысяч статей, описывающих результаты сотен исследований по различным подходам к стимуляции ангиогенеза.

Существующие сегодня подходы к стимуляции ангиогенеза можно разделить на четыре основных направления:

- введение в зону гипоперфузии рекомбинантных факторов роста (FGF-2, rhVEGF);
- использование в качестве стимуляторов ангиогенеза генов, связанных с длительной экспрессией транскрипционных факторов;
- введение предшественников эндотелиальных клеток (стволовых клеток);
- фармакологическая коррекция.

Следует отметить, что во всех представленных направлениях есть часть исследований, результаты которых вселяют надежду на успех, и есть другая часть, обескураживающие результаты которой наводят на мысль о полной бесперспективности подобных работ.

Первые неконтролируемые клинические исследования с использованием рекомбинантных белков были проведены на больных ишемической болезнью сердца (ИБС) и пациентах с критической ишемией нижних конечностей и дали весьма обнадеживающие предварительные результаты по эффективности. Однако данные двойных слепых плацебо-контролируемых исследований оказались менее оптимистичными. В двух больших исследованиях, в которых тестировали внутрикоронарное введение рекомбинантных факторов роста (VEGF в исследовании VIVA и FGF-2 в исследовании FIRS) у больных ИБС, имеющих противопоказания к хирургической реваскуляризации, не наблюдалось различий в клинической картине пациентов в

группах лечения стимуляторами ангиогенеза и группой плацебо через несколько месяцев после процедуры. Похожая ситуация возникла и в исследовании TRAFFIC, в котором более выраженное увеличение времени безболевого ходьбы у получавших FGF-2 в первые 3 мес нивелировалось через 6 мес за счет увеличения времени безболевого ходьбы в группе получавших плацебо.

В качестве альтернативы рекомбинантным белкам с целью стимуляции ангиогенеза была предложена генная терапия. В отличие от рекомбинантных белков генетические конструкции обеспечивали менее резкое и более длительное повышение содержания ангиогенного фактора, что позволяет избежать частых и многократных инъекций или инфузий. Однако генная терапия также имеет недостатки, связанные с введением чужеродного генетического материала и возможностью иммунного ответа при использовании для доставки генов аденовирусных векторов. В многочисленных экспериментальных работах на моделях ишемии задних конечностей, хронической ишемии миокарда и инфаркта миокарда как у мелких (мышь, крыса), так и у крупных (кролик, собака, свинья, овца) животных были получены бесспорные доказательства стимуляции как ангиогенеза, так и артериогенеза, а также улучшения функции и перфузии миокарда или скелетных мышц при использовании плазмидных и аденовирусных конструкций, содержащих кодирующую часть генов факторов роста. В большинстве этих работ тестировали конструкции с VEGF и FGF (секретируемый FGF-4), регулируемые цитомегаловирусным промотором.

В первых неконтролируемых клинических исследованиях по генной терапии ИБС также были получены позитивные результаты, доказаны хорошая переносимость, возможность выполнения и кратковременная безопасность введения в миокард генетических конструкций, кодирующих ангиогенные факторы при использовании как плазмидных, так и аденовирусных векторов. Однако двойные слепые плацебо-контролируемые исследования (фазы II/III) по генной терапии для стимуляции ангиогенеза дали смешанные результаты. Так, в исследовании KAT (введение в коронарную артерию VEGF-165 в плазмидном и аденовирусном векторе с помощью инфузионно-перфузионного катетера после ангиопластики и стентирования) существенное улучшение перфузии миокарда отмечено только при использовании гена VEGF в аденовирусном векторе. В другом исследовании EVROINJECT-1 (плазмид с VEGF-165 вводили в зону гипертрофированного миокарда трансэндокардиально с помощью катетера NOGA 80 больным ИБС с III-IV классом стенокардии) через 3 мес улучшилась локальная сократимость стенки левого желудочка в группе больных, получивших генную терапию. В рандомизированном исследовании



В.Ю. Лишневская

REVASC при внутримиекардиальном введении через малую торакотомию VEGF-121 в аденовирусном векторе повышалась толерантность к нагрузке и уменьшался класс стенокардии у 67 неоперированных больных ИБС. Однако эти данные нельзя оценивать однозначно, поскольку дизайн этого исследования исключал обследование адекватной контрольной группы больных. К тому же нельзя исключить, что торакотомия может стимулировать васкуляризацию миокарда.

Еще одним перспективным методом стимуляции ангиогенеза, дающим достаточно оптимистичные на сегодняшний день результаты, является использование в качестве стимуляторов ангиогенеза стволовых клеток.

В большинстве исследований по использованию стволовых клеток для улучшения перфузии миокарда у больных с хронической сердечной недостаточностью получены результаты, которые указывают на усиление глобальной функции левого желудочка и уменьшения признаков его ремоделирования. Самым большим в этой области было клиническое исследование BOOST (Bone Marrow Transfer to Enhance ST-Elevation Infarct Regeneration Trial), результаты которого показали, что у пациентов с острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST, перенесшим чрескожное коронарное вмешательство, которые с пятого дня после операции получали терапию клетками костного мозга, величина фракции выброса левого желудочка статистически значимо возросла по сравнению с таковой у пациентов контрольной группы (6,7 по сравнению с 0,7%). Вместе с тем окончательных результатов по продолжительности и устойчивости эффекта данного вида терапии, а также о частоте развития возможных побочных эффектов пока нет.

Таким образом, несмотря на более чем 20-летние усилия, значительных успехов в решении проблемы терапевтического ангиогенеза не удалось добиться.

Почему же результаты контролируемых клинических исследований не оправдали ожиданий, которые были порождены данными экспериментальных и неконтролируемых клинических работ по терапевтическому ангиогенезу? Причин для этого может быть несколько. Это и несоответствие многих экспериментальных моделей ишемии тканей и особенностей реваскуляризации миокарда и скелетных мышц у человека и животных, особенно у мелких животных, на которых выполняли большинство работ. И опасность системного эффекта стимуляторов ангиогенной активности не только в зоне введения, но и в нежелательных очагах. И быстрое разрушение вводимых ростовых факторов и их предшественников.

Однако особое место среди «виновников» недостаточной эффективности попыток искусственной активации ангиогенеза следует отдать эндотелию: именно его функциональная несостоятельность у

пациентов с заболеваниями сердечно-сосудистой системы, и АГ в том числе, является важным фактором отсутствия адекватной проангиогенной реакции на введение стимуляторов сосудистого роста.

Дело в том, что эндотелий является основным участником ангиогенеза на всех этапах формирования новых сосудов. Это положение становится более понятным при рассмотрении процесса ангиогенеза, в котором принято выделять следующие фазы:

– активация эндотелиальных клеток и перичитов;

– деградация базальной мембраны активными факторами, синтезируемыми эндотелием;

– миграция эндотелиальных клеток из микроциркуляторного русла под влиянием хемотаксических веществ, синтезируемых фибробластами, тучными клетками, тромбоцитами и др.;

– пролиферация эндотелиальных клеток;

– дифференциация эндотелиальных клеток, формирование межклеточных контактов и просвета сосудов;

– образование базальной мембраны эндотелиальными клетками и перичитами;

– формирование и стабилизация кровеносного сосуда, образование новых капилляров.

Очевидно, что основным «игровым полем» в реализации всех этапов ангиогенеза является эндотелий. Если продолжить сравнение, основной «игрок» на этом поле – NO, который по образному сравнению Marina Ziche является режиссером и главным актером ангиогенеза.

Роль NO в обеспечении проангиогенной программы эндотелия чрезвычайно многообразна, поскольку NO – это триггер и трансдуктор роста и дифференциации клеток, участвующих в ангиогенезе, посредством активации конститутивной NO-синтазы, повышения уровня цГМФ, митогенактивируемой киназы, экспрессии фактора роста фибробластов. В результате повышения уровня NO в поврежденной ткани происходит уменьшение признаков воспаления, повреждения и проявлений сосудистых поражений.

В эксперименте на мышах, трансгенных по гиперэкспрессии eNOS, показано, что связанное с гиперактивацией eNOS увеличение уровня NO приводит к значительно более выраженному по сравнению с дикими мышами повышению синтеза эндотелиального фактора роста сосудов, усилению процесса формирования новых капилляров и повышению объемной скорости кровотока в ишемизированной конечности животного.

Показательным подтверждением роли NO в активации ангиогенеза были данные другого экспериментального исследования, в котором было показано, что блокирование синтеза NO эндотелием снижает синтез фактора роста эндотелия сосудов на 40%. В то же время введение L-аргинина крысам с предварительно ингибированной L-NAME NO-синтазой приводило к увеличению не только синтеза NO, но и уровня фактора роста эндотелия сосудов и, соответственно, к повышению активности ангиогенеза. В этом же исследовании было показано, что максимальная активность ангиогенеза наблюдается при воздействии факторов воспаления в присутствии дополнительных доз L-аргинина (в сравнении с «чистым» воспалением). Существует целый ряд экспериментальных работ, в которых установлено, что применение L-аргинина в виде пищевой добавки устраняет обусловленное эндотелиальной дисфункцией угнетение ангиогенеза,

а также уменьшает эндотелиальную дисфункцию в коронарных артериях.

Клиническая значимость этих данных, безусловно, велика, поскольку они свидетельствуют о том, что L-аргинин может быть потенциально полезным в качестве фактора активности терапевтического ангиогенеза. В пользу данного вывода свидетельствуют данные использования аргининнасыщенного пептида (RP39) после повреждения интимы нижних конечностей, результаты которого показали существенное усиление ангиогенеза в зоне поражения. Об этом говорят и итоги исследования EMAT (Endothelial Modulation In Angiogenic Therapy), в котором была проверена гипотеза об эффективности и безопасности использования L-аргинина с целью усиления эффекта хирургического ангиогенеза. Согласно результатам данного исследования у пациентов с поражением трех коронарных артерий, которым проводили лечение посредством введения плазмидной ДНК (10 инъекций по 200 мг) с геном, кодирующим VEGF-165, либо плацебо и дополнительно назначали L-аргинин перорально в дозе 6 г/сут или плацебо. После лечения у пациентов, которые получали комбинацию VEGF и L-аргинина, спустя 3 мес по сравнению с исходным периодом отмечали улучшение перфузии передней стенки по данным позитронно-эмиссионной томографии ( $p=0,02$ ), тенденцию к уменьшению зон нарушения перфузии ( $p=0,10$ ), а также повышение сократимости передней стенки ( $p=0,02$  при использовании критерия Краскела-Уоллиса).

Представленные данные свидетельствуют о том, что L-аргинин имеет перспективы не только как препарат, улучшающий функциональное состояние эндотелия, но и как эффективное и безопасное средство активации компенсаторного ангиогенеза. Это положение было подтверждено нами в исследовании по изучению функционального состояния эндотелия и активности компенсаторного ангиогенеза у больных пожилого возраста с АГ под влиянием стандартной терапии и после добавления L-аргинина.

Было обследовано 75 больных с гипертонической болезнью II стадии 1 и 2 степени АГ. Данная группа больных длительное время в качестве терапии получала периндоприл в суточной дозе 10 мг. Обследование проводили на фоне приема периндоприла и после добавления к терапии на 14 дней L-аргинина в дозе 1,5 г перорально в виде раствора для питья (Тивортин® аспарат, «Юрия-Фарм»). Функциональное состояние эндотелия определяли путем проведения пробы с реактивной гиперемией и изучения объемной скорости кровотока кожи при помощи лазерного доплеровского флоуметра ЛАКК-2 (Россия) на средней трети внутренней поверхности предплечья. Уровень фактора роста эндотелия сосудов определяли в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с помощью набора реактивов фирмы Bender Medsystems (Австрия).

Согласно полученным результатам, несмотря на нормализацию артериального давления на фоне терапии периндоприлом, большие различались по состоянию эндотелиальной функции и активности физиологического компенсаторного ангиогенеза. У 45 больных на фоне терапии периндоприлом имело место достоверное увеличение процента прироста показателя микроциркуляции при проведении пробы с реактивной гиперемией, что свидетельствует о сохранном функциональном состоянии эндотелия. В то же время у 30 больных на фоне проводимого лечения прирост показателя микроциркуляции был недостаточным. Одновременно с недостаточным влиянием на функциональное состояние

**Таблица 1. Уровень фактора роста эндотелия сосудов в зависимости от влияния базисной терапии периндоприлом на функциональное состояние эндотелия**

Группы пациентов	Прирост показателя микроциркуляции, %	Уровень фактора роста эндотелия сосудов, пг/мл
Пациенты с недостигнутой коррекцией функции эндотелия сосудов	292,69±27,44	340,13±27,44
Пациенты со скорректированной функцией эндотелия сосудов	375,52±28,31*	433,65±22,09*

\*  $p<0,05$  - достоверность разницы показателей в группе после лечения.

**Таблица 2. Динамика изменения процента прироста показателя микроциркуляции и уровня фактора роста эндотелия сосудов на фоне лечения L-аргинином**

Показатель	До лечения	После лечения
Прирост показателя микроциркуляции, %	292,69±27,44	367,08±22,52*
Уровень фактора роста эндотелия сосудов, пг/мл	340,13±27,44	425,84±21,37*

\*  $p<0,05$  - достоверность разницы показателей в группе после лечения.

эндотелия в группе пациентов, принимавших периндоприл, был достоверно более низкий уровень фактора роста эндотелия сосудов.

При добавлении L-аргинина к терапии периндоприлом в группе больных с эндотелиальной недостаточностью наблюдалось увеличение процента прироста показателя микроциркуляции, что свидетельствует об улучшении эндотелий-зависимой вазодилатации, а значит, и об улучшении NO-синтезирующей функции эндотелия. Данные изменения являются важными для людей пожилого возраста, страдающих гипертонической болезнью, поскольку наличие у них эндотелиальной дисфункции способствует прогрессированию этого заболевания и значительно повышает риск возникновения осложнений (табл. 2).

На фоне улучшения функционального состояния эндотелия у данной группы больных определялось повышение уровня фактора роста эндотелия сосудов в сыворотке крови – ключевого медиатора ангиогенеза (табл. 2). Поскольку фактор

роста эндотелия сосудов – это белок, индуцирующий активный рост клеток эндотелия и формирование новых капилляров, можно предположить, что повышение его содержания способствует инициации процесса ангиогенеза.

На основании полученных нами данных можно предположить, что L-аргинин оказывает выраженный эндотелиопротекторный и проангиогенный эффект, его применение у лиц пожилого возраста с гипертонической болезнью улучшает перфузию органов-мишеней, что важно для предупреждения осложнений данного заболевания.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что точку в вопросе активного воздействия на процесс ангиогенеза ставить рано. Особенно это касается возможностей использования с целью стимуляции роста сосудов медикаментозных средств, в частности L-аргинина, терапевтический потенциал которого сегодня окончательно не изучен.

3

## ТИВОРТИН® Незамінний донатор оксиду азоту



### У складі комплексної терапії ІХС сприяє:

- підвищенню толерантності до фізичного навантаження<sup>1,2</sup>;
- зниженню добового використання нітрогліцерину<sup>3</sup>;
- при комбінованому використанні із статинами достовірно більше знижує рівень тригліцеридів у порівнянні із плацебо+статини<sup>3</sup>;
- нівелюванню побічної дії бета-адреноблокаторів – еректильної дисфункції.

- Конopleв Ф. L-аргинин при ішемічній хворобі серця: дослідження продовжуються // Терапія-2010-№10-С. 64-68
- Слободський В.А. Досвід застосування препарату Тивортин аспарат при лікуванні пацієнтів зі стабільною стенокардією напруження/Український медичний часопис-2009-5.
- F. Schulze et coact., 2009. Nutrition Research. 2009 May; 29(5):291-7.

Форма випуску:  
4,2% р-н L-аргініну гідрохлориду 100 мл для інфузій  
L-аргініну аспарат (1г/5мл), розчин для пиття у флаконах по 100 та 200 мл

Юрія-ФАРМ

ТОВ «Юрія-Фарм»  
Адреса: 03680, м. Київ, вул. М. Амосова, 10  
телефон/факс: 275-01-08; 275-92-42  
e-mail: mtk@urifarm.com.ua  
www.tivortin.com  
www.uf.ua