

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

УДК 616.1-08

ПРОБЛЕМА РЕСТЕНОЗА ПОСЛЕ ЧРЕСКОЖНЫХ ВНУТРИКОРОНАРНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО ПРОФИЛАКТИКИ С ПОМОЩЬЮ ГЕНОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

А.А. Ломоносова
С.Ю. Григорова
Ю.И. Афанасьев

*Белгородский
государственный
университет*

e-mail: anastasia_los@mail.ru

В обзоре представлены современные взгляды на проблемы развития рестеноза после чрескожных внутрикоронарных вмешательств и освещены превентивные меры его профилактики с помощью генной терапии.

Ключевые слова: атеросклероз, ангиопластика, стент, рестеноз, генотерапия.

Среди обилия консервативных и оперативных подходов в коррекции атеросклеротической окклюзии коронарных сосудов в последние годы интерес вызывает чрескожные внутрикоронарные вмешательства (ЧКВ). С помощью данного метода удаётся достичь оптимального увеличения просвета стенозированный участка коронарной артерии, используя компрессионное воздействие на неё раздутого специального баллона или имплантируя специальный стент.

Однако, несмотря на определённые успехи подобного подхода, в ходе динамических наблюдений обнаружены и негативные стороны внутрикоронарного вмешательства.

Так, в многолетних исследованиях было показано, что у части больных после стентирования коронарных артерий через 4-6 месяцев регистрируется рестеноз стента. Как показывают данные литературы, частота рестеноза стента в эти сроки наблюдения достигает до 20-40%.

Одним из первых предположений в поиске причин развития рестеноза явилась гипотеза о металлической основе стента, как инородного тела, способном инициировать воспалительный процесс в сосудистой системе и, тем самым, способствовать развитию рестеноза. О правомерности существования такого механизма свидетельствуют многочисленные данные об очевидном снижении частоты рестеноза при имплантации покрытых лекарственными препаратами стентов [1, 2, 3, 4]. Использование покрытых сиролимусом стентов сопровождалось снижением частоты рестеноза через 6-12 месяцев после имплантации стента до 4,8%. При применении стентов с антипролиферативным покрытием («Cypher») у больных с поражением основного ствола левой коронарной артерии частота рестеноза оказалась значительно более высокой и составила 16,7%. Следует отметить, что при исследованной локализации патологического процесса разница в развитии рестеноза после имплантации стентов с лекарственным покрытием и без него не обнаружена [4].



Таким образом, при использовании имплантатов с лекарственным покрытием полностью решить проблему рестеноза не удалось.

На сегодняшний день выделяют целый ряд иных факторов возникновения рестеноза, в том числе и клинических. К последним относятся: нестабильная стенокардия, сахарный диабет, хронический гемодиализ, никотиновая независимость. Очерчены и ангиографические факторы риска развития рестеноза, такие как длина стеноза более 20 мм, многососудистое поражение, множественность стенозов на протяжении одного сосуда, хроническая полная окклюзия сосудов, коллатерали к дилатированным сосудам, площадь стенозирования, загиб в зоне стеноза (угол более 45°) и другие.

В проведенной систематизации многочисленных причин развития рестеноза после ЧКВ особое место отводится внутренним факторам, определяющим интенсивность воспалительной реакции и тромбообразование, а также инициацию гиперпластического процесса гладкомышечных клеток в интима коронарных сосудов [5, 6, 7], приводящих в конечном итоге к образованию неоинтимы и формированию отрицательного гемодинамического ремоделирования участка повреждения артерии [8].

Избыточная миграция, пролиферация и апоптоз гладкомышечных клеток (ГМК), а также ремоделирование внеклеточного матрикса являются одним из основных механизмов роста неоинтимы и развития рестеноза в целом.

Клетки, полученные при биопсии артерий пациентов с рестенозом, обладают более выраженной способностью к пролиферации и миграции при стимуляции митогенами и факторами хемотаксиса, чем ГМК из первичных атеросклеротических бляшек [9, 10].

После миграции в зону повреждения, часть клеток неоинтимы начинают активно делиться, а часть клеток активно синтезируют внеклеточный матрикс [11].

Направленное движение клеток сосудистой стенки регулируется протеазами, молекулами адгезии и интегринами, а также цитокинами моноцитарно-макрофагального происхождения, определяющими интенсивность неспецифической воспалительной реакции, являющейся важнейшим звеном рестеноза [12, 13]. В ранние сроки после повреждения эта реакция обеспечивается нейтрофилами, способствующими увеличению образования активных форм кислорода и запускающих процесс экспрессии генов, ответственных за пролиферацию клеток [14]. Более длительная воспалительная реакция, продолжительностью несколько недель, обусловлена инфильтрацией стенки сосуда моноцитами, трансформирующимися в макрофаги, секретирующие широкий набор цитокинов и факторов роста [15].

Ремоделирование внеклеточного матрикса, наряду с клеточными миграционно-пролиферативными процессами, является ключевым механизмом структурной перестройки сосудистой стенки [11]. В блок управления этими процессами, помимо цитокинов и факторов роста, входят фибринолитическая система (активаторы плазминогена-плазмин) и система матриксных металлопротеиназ (ММП). Эти системы обеспечивают локальный внутриклеточный протеолиз, необходимый для направленного движения клеток в тканях, активации факторов роста и перестройки внеклеточного матрикса [16].

В развитии рестеноза описаны 4 фазы, отражающие процесс восстановления раневой поверхности в сосудистой стенке после ЧКВ. Это тромботическая фаза [36], которая начинается с 1-2 суток; фаза пролиферации и миграции ГМК из меди в интиму, продолжительностью от нескольких суток, с максимумом на седьмой день, до 1 месяца, с переходом в фазу синтеза матрикса, развития неоинтимы, приводящей к ремоделированию сосудистой стенки и формированию рестеноза, продолжительностью от 7 дней до 3-6 месяцев [20]. Роль генетического базиса в развитии этих фаз после ЧКВ показана в подавляющем числе работ [17, 24, 35].

К настоящему времени идентифицированы следующие полиморфизмы генов, влияющих на гемостаз: -455G/A гена β -фибриногена, C807T гена GP Ia, P1A1/P1A2 гена GP IIIa, 4G/5G гена ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1) и I691 G/A гена фактора V Лейдена [18].

Установлено, что повышение уровней в плазме фибриногена и PAI-1 является предиктором рестеноза после ЧКВ [19].

Убедительных данных по полиморфизмам системы воспаления в ассоциации с рестенозом обнаружить не удалось: не выявлены ассоциации между полиморфизмом -174G/с гена IL-6, гена TNF- α (-863 C/A), гена TNF- α (-308G/A).

Тем не менее, зарегистрирована ассоциация аллеля 2 антагониста ИЛ-1 рецептора с более низким риском рестеноза после коронарного стентирования, особенно у молодых пациентов, что подтверждает роль воспаления в развитии рестеноза после установки стента.

Поиск полиморфизма ренин-ангиотензиновой системы в ассоциации с рестенозом позволил установить ассоциацию между M235T и T174M полиморфизма гена ангиотензиногена только для T-аллеля полиморфизма M235T в случаях баллонной ангиопластики.

При генотипировании ангиотензин I-превращающего фермента у пациентов, перенёвших стентирование венечных артерий, выявлена значимость генотипа DD АПФ в формировании более высокого риска развития рестеноза [26, 27].

При оценке генов компонентов антиоксидантной системы показана кандидатная роль в развитии рестеноза гена эндотелиальной синтазы NO, гена eNOS Glu298Asp и 786T>C гена eNOS, а также полиморфизма 677 C>T гена метилентетрагидрофолат редуктазы (MTHFR).

Интерес представляет ген урокиназы.

Урокиназа – фермент, превращающий плазминоген в плазмин, способствующий расщеплению фибрина и компонентов внеклеточного матрикса, регулирующий рост сосудов, ранозаживление, инвазию клеток и метастазирования [20].

Было обнаружено, что после экспериментальной баллонной ангиопластики, урокиназа стимулирует рост неоинтимы, меди, неоадвентиции и констриктивное ремоделирование артерии [21,22].

Полученные на сегодняшний день данные показывают очевидную перспективу разработки и внедрения технологий генной терапии в лечении многих мультифакториальных процессов, в том числе и рестеноза.

Генная терапия, направленная на подавление тромбообразования, заключается в локальной гиперэкспрессии NO-синтазы, что ведёт к увеличению синтеза NO в сосудистой стенке, вследствие чего уменьшается агрегация тромбоцитов и подавляется рост неоинтимы [29].

Литературные сведения показывают, что генная терапия осуществляется преимущественно путём прямого введения экзогенных ДНК, встроенных в векторную систему, в стенку сосуда или миокард.

Реализация данного направления сопряжена с решением трёх основополагающих проблем. Это – идентификация генов, модификация которых способна достичь желаемого терапевтического эффекта; совершенствование векторных систем в плане их безопасности и обеспечения продуктивности вводимого генного материала; развитие способов целевой доставки векторов в соответствующие мишени [20,23].

Перенос гена сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) с помощью катетера в коронарный сосуд позволил существенно уменьшить (до 6% случаев) развитие рестеноза через 6 месяцев после ЧКВ и значительно увеличить перфузию миокарда [25].

Результаты генной терапии с использованием иных генетических материалов носят неоднозначный характер. Обнадёживающие эффекты получены в эксперименте при применении мутантного гена, кодирующего протеолитически неактивную урокиназу [20].

Для введения экзогенных ДНК в клетки сосудов человека или животного используют непрямую (клеточную) (*ex vivo*) и прямую (*in vivo*) генную терапию.

Генная терапия *in vivo* основана на прямом введении терапевтических генов, встроенных в векторную систему, в стенку сосуда, миокард.

Векторные системы включают невирусные и вирусные векторы. Первые представлены плазмидной ДНК, которая вводится в комплексе с липосомами, положительно заряженными липидными пузырьками, обволакивающими отрицательно заряжен-



ную ДНК и способствующими лучшему проникновению через отрицательно заряженную клеточную мембрану. Но эффективность трансфекции тканей *in vivo* плазмидной ДНК очень низкая и не превышает 0,1%.

Плазмидная ДНК не встраивается в геном хозяина и обеспечивает только временную экспрессию гена – 2-4 недели [33, 34].

Вирусные векторы представлены дефектными по репликации ретровирусами, аденовирусами и рядом других вирусов.

Ретровирусные векторы могут обеспечивать длительную экспрессию введенного гена [33]. Их применение для прямой генной терапии ограничено низкой эффективностью трансдукции, опасностью возможной онкогенности из-за случайного встраивания промоторов и тем, что они вносят ДНК только в пролиферирующие клетки [29].

Эффективная трансдукция клеток сосудов достигается при использовании аденовирусных векторов, которые способны воздействовать как на делящиеся, так и не делящиеся клетки. Они не интегрируются в геном хозяина, но обуславливают кратковременную экспрессию гена – не более 4 недель. Главным недостатком является развитие побочных иммунных и воспалительных реакций

Используются механические подходы для доставки векторов в сосуд с помощью внутрисосудистых систем, периваскулярных и миокардиальных [29].

Внутрисосудистая доставка осуществляется путем прямых инъекций или инфузий в просвет сосудов, с помощью различных конструкций, созданных на основе доставочных систем и баллонных катетеров для ангиопластики: пористые и микропористые диффузионные катетеры, двухбаллонные катетеры и многоканальцевые катетеры, катетеры с баллончиками, покрытыми гидрогелем, катетеры-инфилтраторы, катетеры, оснащенные устройством для ионофореза [29].

Периваскулярная доставка генов в сосуд осуществляется с помощью специальных катетеров [30], что позволяет полностью избежать системного попадания гена.

Помимо этого используются внутримыокардиальные инъекции растворов векторов, которые проводятся во время операций аорто-коронарного шунтирования (АКШ) с помощью малой торакотомии, а также из полости левого желудочка с помощью специальных катетеров с иглами для трансэндокардиальных инъекций [31].

Цитостатический подход включает в себя введение в аденовирусном векторе в поврежденный участок сосуда генов, кодирующих белки, являющихся естественными ингибиторами пролиферации [29], экспрессия которых подавлена в пролиферирующих клетках.

Таковыми генами являются ген ретинобластомы, блокирующий входение клетки в клеточный цикл, образуя комплекс с фактором транскрипции E2F, что препятствует синтезу ДНК; ген, кодирующий белок p21-ингибитор циклин-зависимых киназ, обеспечивающих прохождение клетки в S-фазу, и один из гомеобоксных генов *gas*, кодирующий цитостатический белок. С этой же целью использовали мутантный неактивный протоонкоген из семейства *ras*, продукт которого является одним из звеньев в цепи передачи митогенного сигнала. Во всех случаях достигалось эффективное подавление роста неоинтимы на 50-80% [29].

Другим цитостатическим подходом является подавление экспрессии белков, определяющих входение клетки в клеточный цикл и прохождение фаз цикла. Для этого использовали введение антисмысловых олигонуклеотидов, подавляющих экспрессию протоонкогенов *c-myc* и *c-myb*, циклин-зависимых киназы 1 и 2 (CDK) и ядерного антигена пролиферирующих клеток (PCNA). Наиболее существенное подавление образования неоинтимы достигалось при совместном введении олигонуклеотидов против PCNA и CDK2 [29,32].

Таким образом, генотерапевтическое направление в профилактике рестеноза после ЧКВ находится в стадии интенсивного развития. С решением вопросов выбора многофункционального гена-кандидата, совершенствования векторов и способов целевой доставки генов в клетки-мишени, генная терапия рестенозов, безусловно, займёт лидирующие позиции в профилактике негативных явлений после ЧКВ.



Литература

1. Foley D.P. Influence of coronary vessel size on renarrowing process and late angiographic outcome after successful balloon angioplasty // *Circulation*. – 1999; 90: 1239-1251.
2. Бабунашвили А.М. и др. Эффективность стентов, покрытых сиролimusом, при лечении рестенозов коронарных сосудов после ранее проведенных интервенционных процедур.// Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева. – 2006; №3: 45-46.
3. Бабунашвили А.М. и др. Эффективность стентов, покрытых сиролimusом, при лечении длинных и очень длинных атеросклеротических поражений коронарных сосудов.// Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева. – 2006; №3: 46.
4. Бокерия Л.А. и др. Стентирование при лечении больных ИБС с поражением ствола левой коронарной артерии.//Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева. – 2006; №3: 49-50.
5. Petrovic D., Peterlin B. Genetic markers of restenosis after coronary angioplasty and after stents implantation // *Med. Sci. Monit*. 2005 Apr; 11(4): RA 127-35.
6. Rittersma S.Z., Kremer Hovinga J.A., Koch K.T., Boekholdt S.M., Van Aken B.E. e.d. Relationship between in vitro lipopolysaccharide-induced cytokine response in whole blood, angiographic in stent restenosis, and tollike receptor 4 gene polymorphisms // *Clin. Chem*. – 2005 Mar; 51 (3): 516-21.
7. Аронов Д.М. Лечение и профилактика атеросклероза. – М.: Триада – X – 2000. – 411 с.
8. Mulvaney M.J., Baumbach G.L., Aalkjaer C., Heagerty A.M., Korsgaard N., Schiffrin E.L., Heistad D.D. Vascular remodeling // *Hypertension*. – 1996; 28(3): 505-506.
9. Voisard R., Koschnik S., Baur R., Vogel U., Mattfeldt T., Hemmer W., Hannekum A., Hoher M., Hombach V. High-dose diltiazem prevents migration and proliferation of vascular smooth muscle cells in various in vitro models of human coronary restenosis.// *Coron. Artery Dis*. – 1997 Mar-April; 8(3-4): 189-201.
10. Jackson C.L., Raines E.W., Ross R., Reidy M.A. Role of endogenous platelet-derived growth factor in arterial smooth muscle cell migration after balloon catheter injury.// *Arterioscler Thromb*. – 1993 Aug; 13 (8): 1218-26.
11. Clowes A.W., Reidy M.A., Clowes M.M. Mechanisms of stenosis after arterial injury.// *Lab. Invest*. – 1983; 49 (2): 208-215.
12. Hoshida M., Alpers C.E., Smith L.L., Giachelli C.M., Schwartz S.M. Alpha-V beta-3 integrin expression in normal and atherosclerotic artery // *Circ. Res*. – 1995; 77 (6): 1129-35.
13. Menshikov M., Elizarova E., Plakida K., Timofeeva F., Khaspekov G., Beabealashvili R., Bobik A., Tkachuk V. Urokinase upregulates matrix metalloproteinase-9 expression in THP-1 monocytes via gene transcription and protein sintesis // *Biochem. J*. – 2002; 367(pt 3): 833-839.
14. Tardif J.G., Gregoire J., L`Allier P.L. Prevention of restenosis with antioxidants: mechanisms and implications // *Am. J. Cardiovasc Drugs*. – 2002; 2(5): 323-34.
15. Ikeda U. Inflammation and coronary artery disease // *Curr Pharm Des*. – 2003. Mar.; 1(1): 65-70.
16. Sierevogel M.S., Pasterkamp G., de Kleijn D.P., Strauss B.H. Matrix metalloproteinases: a therapeutic target in cardiovascular disease // *Curr Pharm Des*. – 2003; 9(13): 1033-40.
17. Korshunov V., Solomatina M., Plekhanova O., Parfyonova Ye., Berk B. Strain-dependent expression of proteolytic molecules during vascular remodeling in the mice.// *J. Vasc. Res*. – 2004; 41(6): 481-490.
18. Lane D.A., Grsnt P.J. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease // *Blood*. Mar 2000; 95: 1517-1532.
19. Sakata K. Miura, Sugino H. et al. Impaired fibrinolysis early after percutaneous transluminal coronary angioplasty in associated with restenosis // *Am. Heart J.*, 1996; 131: 1-6.
20. Парфёнова Е.В., Ткачук В.А. Перспективы генной терапии сердечно-сосудистых заболеваний // *Вопросы медицинской химии*. – 2000. – Т 46; №3: 293-310.
21. Парфёнова Е.В., Плеханова О.С., Ткачук В.А. Роль активаторов плазминогена в ремоделировании сосудов и ангиогенезе // *Биохимия*. – 2002; 67 (1): 119-34.
22. Плеханова О.С., Соломатина М.А., Домогатский С.П., Наумов В.Г., Ткачук В.А., Парфёнова Е.В., Чазов Е.И. Урокиназа стимулирует, а тканевой активатор плазминогена подавляет развитие стеноза кровеносных сосудов // *Российский физиологический журнал*. – 2001; 87(5): 584-93.
23. Кривцов Г.Г., Жданов Р.И. Адресная доставка функциональных генов и генотерапия с помощью углеводов-содержащих векторов // *Вопросы медицинской химии*. – 2000; №3: 1-3.
24. Agema W.R.P., Jukema J.W., Pimstone S.N. and Kastelein J.J.P. Genetic aspects of restenosis after percutaneous coronary interventions / *Europ. Heart*. – 2001; 22: 2058-74.



25. Метелица В.И. Справочник по клинической фармакологии сердечно-сосудистых средств. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2005. – 1528 с.
26. Koch W., Mehilli J., Beckerath N., Bottiger C., Schomig A., Kastrati A. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitors and restenosis after coronary artery stenting in patients with the DD genotype of the ACE gene // *J Am Coll Cardiol*. – 2003; 41: 1957-1961.
27. Jorgensen E., Kelbaek H., Helqvist S., Kastrup J. et al. Predictors of coronary in-stent restenosis: importance of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitors // *J AM Coll Cardiol*. – 2001; 38:1434-1439.
28. Kastrati A., Koch W., Berger P., Mehilli J., Stephenson K. et al. Protective role against restenosis from an interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism in patients treated with coronary stenting // *J Am Coll Cardiol*; 36: 2168-2173.
29. Парфёнова Е.В., Ткачук В.А. Перспективы генной терапии сердечно-сосудистых заболеваний // *Вопросы медицинской химии*. – 2000; №3: 293-310.
30. Fernandez-Ortiz A, Badimon JJ, Falk E, Fuster V, Meyer B, Mailhac A, et al. Characterization of the relative thrombogenicity of atherosclerotic plaque components: implications for consequences of plaque rupture // *J Am Coll Cardiol*. – 1994; 23: 1562-9.
31. Kutryk M., Foley D., van den Brand M., Hamburger J. et al. Local intracoronary administration of antisense oligonucleotide against c-myc for the prevention of in-stent restenosis // *J Am Coll Cardiol*. – 2002; 39: 281-287.
32. Прасолов В.С., Иванов Д.С. Ретровирусные векторы в генной терапии // *Вопросы медицинской химии*. – 2000; №3: 207-225.
33. Богданенко Е.В., Свиридов Ю.В., Московцев А.А., Жданов Р.И. Невирусный перенос генов *in vivo* в генной терапии // *Вопросы медицинской химии*. – 2000; №3: 226-245.
34. Шувалова Ю.А., Мешков А.Н., Каминных А.И., Пиксина Г.Ф., Кухарчук В.В. Патофизиологические механизмы и генетические маркеры рестеноза после ЧКВ // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. – 2007; №5: 24-26.
35. Le Breton H., Plow E.E. Topol E.J. Role of platelets in restenosis after percutaneous coronary revascularization // *J Am Coll of Card* – 1996; 28: p. 1643-1651.

PROBLEM OF THE RESTENOSIS AFTER PERCUTANEOUS INTRACORONARY INTERVENTIONS AND PROSPECTS FOR PREVENTION THROUGH GENOTHERAPEUTIC IMPACT

A.A. Lomonosova
S.Y. Grigorova
Y.I. Afanasiev

Belgorod
State
University

e-mail: anastasia_lo@mail.ru

In a review modern view to the problem of restenosis development after percutaneous intracoronary interventions is presented and the preventive measures of his prophylaxis by gene therapy are highlighted.

Key words: atherosclerosis, angioplasty, stent, restenosis, genotherapy.