

Ангиогенез и васкулогенез при сахарном диабете: новые концепции патогенеза и лечения сосудистых осложнений

Коненков В.И., Климонтов В.В.

ФГБУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск
(директор – академик РАМН В. И. Коненков)

Гипергликемия и другие нарушения метаболизма способны нарушать баланс между проангиогенными и антиангиогенными регуляторами и вести к неадекватному образованию новых сосудов при сахарном диабете (СД). В свою очередь, нарушения ангиогенеза и васкулогенеза являются важными механизмами в развитии сосудистых осложнений СД. Активация ангиогенеза в сетчатке рассматривается как краеугольный камень пролиферативной диабетической ретинопатии. Избыточный ангиогенез в почках наблюдается на начальных стадиях диабетического поражения почек. Напротив, развитие макрососудистых осложнений сопровождается подавлением интенсивности ангиогенеза и васкулогенеза. В последние годы были предложены новые подходы к лечению, основанные на коррекции ангиогенеза. В клинических исследованиях показана эффективность ингибиторов ангиогенеза («анти-VEGF терапии») при диабетическом отеке макулы и пролиферативной ретинопатии. Экспериментальные данные указывают на то, что ингибиторы ангиогенеза могут тормозить развитие диабетического поражения почек. Стимуляция ангиогенеза и васкулогенеза с помощью стволовых клеток и ростовых факторов – перспективное направление лечения поражений крупных сосудов при СД.

Ключевые слова: ангиогенез, диабетические микроангиопатии, макроангиопатии, ингибиторы ангиогенеза

Vasculogenesis and angiogenesis in diabetes mellitus: novel pathogenetic concepts for treatment of vascular complications

Konenkov V.I., Klimontov V.V.

Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk, Russian Federation

Hyperglycemia along with other metabolic disorders may disrupt the balance of pro- and antiangiogenic regulators, thus leading to a maladaptive formation of new blood vessels in the state of diabetes mellitus (DM). In their turn, aberrant angiogenesis and vasculogenesis are important mechanisms of vascular complications in DM. Activation of retinal angiogenesis is a cornerstone of proliferative diabetic retinopathy, though in diabetic nephropathy excessive angiogenesis is only seen at early stages. Quite on the contrary, macrovascular complications are characterized by certain inhibition of both angiogenesis and vasculogenesis. Novel therapeutic approaches, based on correction of angiogenesis, have emerged recently. Clinical trials have shown efficacy of angiogenesis inhibitors (the «anti-VEGF» agents) for management of diabetic macular edema and proliferative retinopathy. Experimental evidence also indicates that this treatment may hinder the progress of diabetic nephropathy. In addition, stimulation of angiogenesis and vasculogenesis with stem cells or growth factors promise an option for treatment of large vessels in DM.

Keywords: angiogenesis, diabetic microangiopathy, macroangiopathy, angiogenesis inhibitors

Сахарный диабет (СД) является одним из приоритетов национальных систем здравоохранения в большинстве стран мира. По данным Международной федерации диабета, распространенность СД среди взрослого населения планеты достигла 8,3%, в общей структуре смертности на долю этого заболевания приходится 8,2% [1]. Сосудистые осложнения – основная причина ранней инвалидизации и смерти больных СД. Изучение патогенеза этих осложнений и разработка новых методов их лечения остаются в числе важнейших задач диабетологии. В последние годы усилия ряда исследовательских групп были направлены на изучение нарушений механизмов образования новых сосудов (ангиогенеза и васкулогенеза) при СД. Прогресс, достигнутый в этой области, не только расширил представления о патогенезе диабетических ангиопатий,

но и позволил разработать принципиально новые подходы к лечению.

В данном обзоре обобщены данные о роли нарушений ангиогенеза и васкулогенеза в развитии сосудистых осложнений СД (ретинопатии, нефропатии, ангиопатии нижних конечностей), рассмотрены новые подходы к лечению этих осложнений, основанные на коррекции ангиогенеза и васкулогенеза.

Механизмы формирования сосудов: ангиогенез и васкулогенез

Ангиогенез представляет собой образование новых капилляров из ранее существующих путем миграции и пролиферации дифференцированных эндотелиальных клеток. Данный процесс протекает в несколько

Таблица 1

Основные физиологические стимуляторы и ингибиторы ангиогенеза [2, 3]

| | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Факторы роста (VEGF, TGF-β, FGF и др.) • Ангиопоэтин-1 • Колониестимулирующие факторы (G-CSF, GM-CSF) • Ангиогенин • Матриксные металлопротеиназы, активаторы плазминогена • Белки, связанные с мембраной (интегрины, кадгерин и др.) • Гормоны (эритропоэтин, лептин) | <ul style="list-style-type: none"> • Ангиопоэтин-2* • Ангиостатин • Эндостатин • Интерферон-α, -β, -γ • Интерлейкин-4, -12, -18 • Индуцибельный протеин-10 • Тромбоцитарный фактор-4 • Ингибиторы матриксных металлопротеаз • Пролактин • Ретиноиды |
|---|--|

* в определенных ситуациях действует как ангиогенный фактор.

этапов и включает активацию эндотелиальных клеток, экспрессию в них протеаз, растворение базальной мембраны, миграцию эндотелиальных клеток из стенок сосудов через периваскулярную ткань по направлению к ангиогенному стимулу, образование первичных высокопроницаемых сосудистых структур, последующую стабилизацию и «взросление» этих структур за счет привлечения перицитов и гладкомышечных клеток и организации их в сложную трехмерную сосудистую сеть. В процессе ангиогенеза взаимодействуют компоненты клеточного матрикса, растворимые факторы и клетки. Основным стимулом к ангиогенезу при физиологических и патологических состояниях является недостаток кислорода (гипоксия или ишемия), который через индуцируемый гипоксией фактор-1 (HIF-1) индуцирует экспрессию многих ангиогенов, прежде всего фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и его рецепторов (VEGFR1 и VEGFR2). VEGF избирательно стимулирует пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток, их предшественников и моноцитов, увеличивает сосудистую проницаемость, способствует вазодилатации через усиление продукции оксида азота NO. В процессе стабилизации и «взросления» вновь образованной незрелой сосудистой сети участвуют тромбоцитарный фактор роста (PDGF), трансформирующий фактор роста β (TGF- β), фактор роста фибробластов (FGF), ангиопоэтины и другие факторы [2, 3].

Ремоделирование сосудов в физиологических и патологических условиях контролируется балансом между активаторами ангиогенеза и его ингибиторами (табл. 1). Сдвиг баланса в сторону активаторов, как правило, кратковременный, приводит к стимуляции образования сосудов при ишемии, заживлении ран, воспалении. Патологическая активация ангиогенеза характерна для злокачественных опухолей. Недостаточный адаптивный ангиогенез, обусловленный снижением продукции активаторов либо увеличением синтеза ингибиторов, может способствовать нарастанию тяжести ишемических заболеваний сердечно-сосудистой системы: ИБС, ишемии нижних конечностей [2–4].

Васкулогенез. В настоящее время доказано, что новые сосуды в постнатальном периоде могут образовываться не только из ранее существующих сосудов, но и de novo из гематопозитических клеток. Последний процесс получил название «васкулогенез». Важнейшую роль в васку-

логенезе играют эндотелиальные прогениторные клетки (ЭПК). Данные клетки представляют собой гетерогенную популяцию, характеризующуюся экспрессией различных маркеров клеток гематопозитического (CD14, CD34, CD133) и эндотелиального (VEGFR2, CD31, CD144, фактор Виллебранда) ряда. ЭПК могут быть идентифицированы в составе мононуклеарных клеток путем сортировки по набору поверхностных антигенов или при культивировании *in vitro*. Вопрос о том, какие маркеры в наибольшей степени выявляют истинные ЭПК, остается дискуссионным [5–7].

Источниками ЭПК являются костный мозг, мезенхимальные предшественники, тканевые резидентные клетки. При возникновении ишемии или повреждении эндотелия ЭПК могут быть мобилизованы в кровотоки. Стимуляторами мобилизации ЭПК из костного мозга выступают гранулоцитарный и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующие факторы (G-CSF и GM-CSF), VEGF, ангиопоэтин-1, эритропоэтин и другие регуляторы. Поступившие в кровоток ЭПК мигрируют в зону повреждения, накапливаются в ней и дифференцируются в эндотелиоциты. Сеть эндотелиальных клеток, создаваемая васкулогенезом, в дальнейшем служит каркасом для ангиогенеза [2, 3, 5, 6].

Нарушения ангиогенеза и васкулогенеза в развитии сосудистых осложнений СД

Ретинопатия. Пролиферативная диабетическая ретинопатия (ДР) – классический пример патологического процесса, в основе которого лежит неадекватный ангиогенез. Вызываемая ишемией избыточная пролиферация сосудов сетчатки, зрительного нерва, радужки, прорастание сосудов в стекловидное тело являются основной причиной драматического снижения зрения у пациентов с СД.

Отправной точкой в изучении роли ангиогенеза в формировании ДР послужила работа Glaser В.М. и соавт., в 1980 г. описавших ангиогенную активность сетчатки в условиях *in vitro* [8]. Экстракты стекловидного тела больных с пролиферативной ДР, в отличие от пациентов без неоваскуляризации, стимулировали пролиферацию эндотелиоцитов. Авторы предположили, что сетчатка глаза способна выделять некий фактор с ангиогенной активностью. Природа этого фактора стала

понятной лишь в середине 90-х годов, когда была установлена роль VEGF в стимуляции ангиогенеза при ишемии сетчатки [9, 10]. В серии последующих исследований была показана взаимосвязь между гиперпродукцией VEGF и выраженностью неоваскуляризации [11–16], установлена активация экспрессии рецепторов VEGF (VEGFR-2 и VEGFR-3) при ДР [17]. Оказалось, что блокада сигнальных путей VEGF способна предупреждать неоваскуляризацию сетчатки в экспериментах [18]. Последовавшие вслед за этим клинические исследования показали эффективность локальной нейтрализации VEGF при пролиферативной ДР и других заболеваниях глаз, протекающих с неоваскуляризацией (см. ниже). В настоящее время гиперпродукция VEGF отводит ведущую роль в повышении проницаемости ретинальных сосудов, развитии отека макулы и неоваскуляризации сетчатки при ДР [19].

Вместе с тем, в сетчатке больных СД меняется синтез и других регуляторов ангиогенеза. При пролиферативной ДР и отеке макулы в витреальной жидкости возрастает содержание мощного ангиогена – стромального фактора-1 (SDF-1) [13]. Блокада SDF-1 тормозит неоваскуляризацию сетчатки в эксперименте [20]. У больных с пролиферативной ДР зафиксировано резкое повышение содержания ангиопоэтина-2 в витреальной жидкости [15]. Показано, что высокий уровень глюкозы увеличивает экспрессию ангиопоэтина-2 в эндотелиоцитах сетчатки. Роль ангиопоэтина-2 в патогенезе ДР связана с повышением проницаемости ретинальных сосудов [21]. Кроме того, гиперэкспрессия этого регулятора стимулирует синтез VEGF и ангиопоэтина-1, способствует образованию новых сосудов и снижению числа перicyтов [22].

Несомненный интерес представляют данные об участии эритропоэтина в развитии неоваскуляризации сетчатки. Установлено, что сетчатка является местом синтеза эритропоэтина и его рецепторов [23]. У больных СД с пролиферативной ДР повышается содержание эритропоэтина в стекловидном теле [24], рецепторы эритропоэтина экспрессируются в микрососудах эпиретинальных мембран [25]. Можно предполагать, что эритропоэтин, действуя аутокринным и паракринным путем, может проявлять свои ангиогенные свойства в сетчатке. Блокада эритропоэтина в эксперименте тормозит ретинальную неоваскуляризацию [14, 24]. Показано, что эритропоэтины, применяемые для лечения нефрогенной анемии (эпоэтин δ , дарбэпоэтин α , эпоэтин β), индуцируют VEGF-зависимый ангиогенез в условиях *in vitro*. Ангиогенный эффект эритропоэтинов является дозозависимым и различается у разных препаратов [26]. Клиническое значение этих данных требует уточнения.

В некоторых работах изучено содержание ингибиторов ангиогенеза в сетчатке при ДР. Сообщалось о снижении уровня фактора роста пигментного эпителия (PEDF), являющегося ингибитором ангиогенеза, в стекловидном теле у больных с пролиферативной ДР [27]. Низкая внутриглазная концентрация PEDF оказалась предиктором прогрессирования ретинопатии [28]. Дру-

гие авторы, напротив, зафиксировали повышение содержания PEDF в стекловидном теле при пролиферативной ДР [12]. Сообщалось, что на прогрессирование ДР влияет баланс между VEGF и ингибитором ангиогенеза эндостатином [11]. Больные с пролиферативной ДР имеют повышенный уровень растворимых рецепторов VEGFR-1 и тромбоспондина-2 в витреальной жидкости [29].

Таким образом, развитие ДР характеризуется нарушением баланса между стимуляторами и ингибиторами ангиогенеза в сетчатке. Повышение экспрессии ингибиторов ангиогенеза, зафиксированное некоторыми авторами, наблюдалось на фоне гиперпродукции VEGF и, по-видимому, является защитным механизмом. Сдвиг баланса в сторону стимуляторов ангиогенеза способствует развитию неоваскуляризации.

Обсуждается роль изменений васкулогенеза в формировании ДР. Предполагают, что нарушение трофической функции ЭПК способствует развитию дегенеративных изменений сосудов сетчатки на непролиферативной стадии ДР, а избыточное количество и/или дисфункция ЭПК могут иметь отношение к неоваскуляризации сетчатки на пролиферативной стадии [6]. Как показали иммуногистохимические исследования сосудов эпиретинальных мембран пациентов с пролиферативной ДР, количество сосудов, экспрессирующих CD133, VEGFR-2, CD14 и SDF-1, а также стромальных клеток, экспрессирующих CD133, VEGFR-2 и CD14, связано с активностью неоваскуляризации [30]. Оказалось, что содержание ЭПК (CD34/CD133/CD309) в периферической крови у больных СД 1 типа (СД1) снижено на непролиферативной стадии ДР и повышено у больных с активной неоваскуляризацией. Количество так называемых «зрелых» ЭПК (CD34/CD133/CD309/CD31) увеличено у больных с пролиферативной ретинопатией [31]. У больных СД 2 типа (СД2) с непролиферативной и пролиферативной ДР зафиксирована корреляция между количеством циркулирующих клеток, несущих маркер CD34, и выраженностью изменений в сетчатке [32].

Сообщалось, что циркулирующие ЭПК больных с пролиферативной ДР имеют повышенный клоногенный потенциал [33]. По другим данным, функция ЭПК при пролиферативной ДР снижена: это касается способности к миграции, взаимодействию с эндотелиоцитами сетчатки и формированию новых сосудистых структур [34]. Показано, что интраокулярное и системное введение CD34⁺-ЭПК, полученных от больных СД, не способно активировать васкулогенез в сетчатке у грызунов с диабетической, ишемической и кислород-индуцированной ретинопатией. ЭПК от здоровых людей, напротив, участвовали в репарации сосудов в этих моделях [35]. Роль васкулогенеза в развитии ДР требует дальнейших исследований.

Нефропатия. Сведения об аномалиях ангиогенеза в почках больных СД начали накапливаться с 1987 года, когда R. Osterby и G. Nyberg описали добавочные сосуды в сосудистых тельцах и в капсулах клубочков у больных с СД1 [36]. В 1993 г. W. Min и N. Yamanaка, подвергнув трехмерному анализу фрагменты почек 94 больных с ди-

абетической нефропатией (ДН), обнаружили в области сосудистого полюса некоторых клубочков дополнительные эфферентные сосуды, анастомозирующие с ветвями приносящих артериол и перитубулярными капиллярами [37]. В дальнейшем было показано, что в одном почечном клубочке пациента с ДН может обнаруживаться до 18 дополнительных выносящих сосудов [38]. Феномен неоваскуляризации клубочков наблюдается при обоих типах СД, этот процесс аналогичен таковому в сетчатке и чаще встречается у больных с пролиферативной ретинопатией [39, 40].

Длина и площадь поверхности капиллярных петель в клубочках увеличивается на начальных стадиях ДН [41]. По мере прогрессирования нефропатии и формирования гломерулосклероза пролиферативная активность эндотелиоцитов и количество капилляров в клубочках снижаются [42]. Предполагают, что неоваскуляризация, развивающаяся на начальных этапах ДН, представляет собой компенсаторную реакцию на гипертрофию клубочков, экспансию мезангия [40], внутриклубочковую гипертензию или повышенный кровоток [38]. В то же время структурная незрелость вновь образованных сосудов может вести к повышенной проницаемости для компонентов плазмы и росту альбуминурии [43].

Для СД характерны значительные изменения синтеза регуляторов ангиогенеза в почках. Показано, что степень неоваскуляризации клубочков у больных СД коррелирует с экспрессией VEGF [44]. Данный фактор рассматривается как один из ведущих медиаторов в развитии ДН. С его гиперпродукцией связывают увеличение проницаемости почечного фильтра, развитие гиперфильтрации и альбуминурии. Основными продуцентами VEGF в клубочках почек являются подоциты, рецепторы VEGF обнаруживаются главным образом в эндотелии [42]. У животных с СД экспериментальная активация синтеза VEGF-A значительно ухудшает течение нефропатии, приводя к развитию узелкового гломерулосклероза и массивной протеинурии [45]. Уровень VEGF в крови у больных СД1 и СД2 прямо связан с альбуминурией [46, 47]. По нашим данным, мочевая экскреция VEGF увеличена у больных СД1 с микро- и макроальбуминурией и коррелирует с объемом мезангия и толщиной базальной мембраны клубочков [48]. Повышение экспрессии VEGFR-2 у крыс с СД наблюдается на самых ранних этапах развития нефропатии; в отдаленный период (32 нед после инъекции стрептозотоцина) экспрессия VEGFR-2 нормализуется [49]. Имеются данные об активации почечной экспрессии ангиопоэтинов при экспериментальном СД [50, 51].

Об изменениях васкулогенеза при ДН известно немного. Показано, что стволовые/прогениторные клетки присутствуют в почечной паренхиме и в капсуле почки [6], однако особенности их «поведения» при СД не изучены. Сообщалось, что содержание ЭПК в периферической крови у больных СД1 с микроальбуминурией достоверно ниже, чем у пациентов с нормальной экскрецией альбумина с мочой [52]. Другие авторы не обнаружили различий в количестве ЭПК между боль-

ными СД1 с нефропатией и пациентами с длительным СД1 без поражения почек [53]. Известно, что уменьшение количества и ухудшение функциональных свойств ЭПК наблюдаются при хронической почечной недостаточности, даже при умеренном снижении функции почек [54, 55]. Одной из причин снижения мобилизации ЭПК в кровотоке у таких пациентов является дефицит эритропоэтина. Введение рекомбинантного эритропоэтина способствует увеличению количества и ангиогенных свойств ЭПК у больных СД на гемодиализе [56].

Макроангиопатия нижних конечностей. Гипергликемия и связанные с ней расстройства метаболизма нарушают нормальный ангиогенез в зонах ишемии нижних конечностей, вызванной поражением крупных сосудов. Высокий уровень глюкозы снижает экспрессию рецепторов VEGF в культивируемых эндотелиальных клетках, подавляет способность этих клеток к направленной миграции и формированию сосудоподобных структур. Кроме того, избыток глюкозы уменьшает способность мезенхимальных стромальных клеток стимулировать ангиогенез через паракринную активность [57, 58]. Показано, что выраженность нарушений продукции VEGF, эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) и интенсивности ангиогенеза в зоне ишемии конечности у мышей с СД зависит не только от уровня, но и от диапазона колебаний гликемии [59]. Важную роль в нарушении ангиогенеза играют поздние продукты гликирования, накапливающиеся в условиях гипергликемии [60, 61].

Большое значение в прогрессировании макроангиопатии нижних конечностей придают нарушениям васкулогенеза. В ряде исследований зафиксировано снижение количества циркулирующих ЭПК у больных СД1 и СД2 [62–67], а также у животных с экспериментальным СД [68]. Обнаружена взаимосвязь между снижением количества ЭПК в крови и выраженностью нарушений периферического кровообращения. Наименьшее содержание ЭПК обнаружено у больных СД2 с ишемией нижних конечностей [63]. Показано, что даже в отсутствие клиники макроангиопатии снижение количества ЭПК у больных СД1 ассоциировано с нарушенной эндотелий-зависимой дилатацией сосудов и толщиной интимы-меди сонных артерий [64]. Наличие ретинопатии и макроангиопатии нижних конечностей оказывает разнонаправленное влияние на количество циркулирующих ЭПК больных СД2 (так называемый «диабетический парадокс») [69, 70].

Снижение числа циркулирующих ЭПК при СД может быть следствием нарушения их мобилизации или повышения апоптоза [71]. Эксперименты на мышах с СД показали торможение дифференцировки костномозговых клеток-предшественниц в ЭПК [72], снижение мобилизации ЭПК в условиях гипоксии [73], недостаточную активацию синтеза HIF-1 α , VEGF и мобилизацию ЭПК при ишемии конечности [68]. In vitro высокая концентрация глюкозы снижает пролиферацию и увеличивает апоптоз ЭПК [66]. Проапоптотическим действием обладают поздние продукты гликирования [74, 75]. В крови больных СД с макроангиопатией

зафиксировано увеличение числа ЭПК, находящихся в состоянии апоптоза [76]. У крыс линии Zucker, характеризующихся резистентностью к инсулину, обнаружено снижение трансдукции сигнала инсулина в ЭПК и повышенный апоптоз этих клеток [77]. У мышей с частичным дефектом гена инсулинового рецептора (линия IRKO), сохраняющих нормальную толерантность к глюкозе, обнаруживается снижение количества ангиогенных клеток-предшественниц в крови и снижение их мобилизации под действием VEGF [78].

Установлено, что при СД изменяется не только количество, но и функция ЭПК. В ЭПК больных СД 1-го типа обнаружены изменения экспрессии 1591 гена, в числе которых гены, регулирующие жизненный цикл, адгезию и межклеточные коммуникации ЭПК [79]. Ангиогенный потенциал ЭПК при СД снижен, что может являться следствием уменьшения способности к пролиферации, миграции и внедрению в формирующиеся сосуды [62, 73]. Гипергликемия нарушает дифференцировку ЭПК в эндотелиоциты под влиянием SDF-1 [77]. В ЭПК пациентов с СД обнаружено снижение экспрессии рецепторов SDF-1 CXCR4. Экспрессию CXCR4 тормозят высокий уровень глюкозы и окисленные липопротеиды низкой плотности [65]. Поздние продукты гликирования снижают способность ЭПК к миграции и формированию новых сосудов [75]. Нарушения мобилизации, пролиферации и повышенный апоптоз ЭПК у животных с СД ассоциированы с замедленным заживлением ран [81, 82].

Таким образом, нарушения васкулогенеза при диабетической макроангиопатии нижних конечностей характеризуются нарушением мобилизации ЭПК в кровотоки, повышенным апоптозом и нарушением функциональных свойств циркулирующих ЭПК. Снижение количества и дисфункция ЭПК связаны с метаболическими нарушениями, характерными для СД. Неадекватный васкулогенез нарушает адаптивные возможности и способствует развитию трофических нарушений при ишемической форме синдрома диабетической стопы.

Подходы к коррекции нарушений ангиогенеза и васкулогенеза

Открытие роли нарушений ангиогенеза и васкулогенеза в развитии сосудистых осложнений СД поставило вопрос о возможностях коррекции этих нарушений с помощью традиционных и новых методов терапии.

Влияние сахароснижающих препаратов на васкулогенез оценивалось в нескольких небольших по объему пилотных несравнительных исследованиях. Показано, что метформин повышает количество циркулирующих ЭПК у больных СД2 [83]. Добавление пиоглитазона к метформину способствует увеличению числа ЭПК, снижает их апоптоз, повышает пролиферативную активность и ангиогенный потенциал [84]. Присоединение ингибитора дипептидилпептидазы IV типа ситаглиптина к метформину или секрететагам через 4 недели терапии приводит к повышению количества ЭПК и уровня SDF-1 α

в крови [85]. Эти данные позволяют предполагать, что препараты, снижающие инсулинорезистентность, могут оказывать положительный эффект на количество и функциональные свойства ЭПК.

Установлено, что регулярные физические нагрузки способны увеличивать количество и улучшать ангиогенную функцию циркулирующих ЭПК у больных с атеросклерозом нижних конечностей [86]. По предварительным данным, терапия аторвастатином повышает количество циркулирующих ЭПК у больных СД2 [87]. Комплексное лечение больных СД2 с включением метформина, статинов, аспирина и антагонистов рецепторов ангиотензина II в наибольшей степени способствует увеличению количества ЭПК в крови [88].

Ингибиторы ангиогенеза. Два десятилетия интенсивных исследований роли VEGF в развитии ДР позволили разработать новый подход к лечению, основанный на интраокулярном применении блокаторов данного фактора. На фармацевтический рынок вышли препараты антител к VEGF для интравитреального введения: ранибизумаб (Lucentis), бевацизумаб (Avastin), пегаптаниб (Macugen). Проходит клинические испытания афлиберсепт (VEGF Trap-Eye) [89]. В настоящее время в России зарегистрирован ранибизумаб для лечения диабетического отека макулы и неоваскулярной (влажной) формы возрастной макулярной дегенерации.

Эффективность анти-VEGF препаратов (ранибизумаба, афлиберсепта) в лечении отека макулы при СД доказана в рандомизированных контролируемых исследованиях: RESOLVE, RESTORE, READ-2 и DA VINCI. В исследовании RESOLVE установлено, что терапия ранибизумабом приводит к улучшению остроты зрения и уменьшает отек сетчатки у пациентов с диабетическим макулярным отеком [90]. В исследованиях RESTORE и READ-2 показаны преимущества монотерапии ранибизумабом и ее сочетания с лазерным лечением перед традиционной лазерной терапией [91–93]. Исследование DA VINCI продемонстрировало, что афлиберсепт (VEGF Trap-Eye) в большей степени, чем лазерная фотокоагуляция, восстанавливает остроту зрения и уменьшает толщину сетчатки при отеке макулы [94].

Анти-VEGF терапия рассматривается как перспективный метод лечения пролиферативной ДР и неоваскулярной глаукомы [95]. В пилотных исследованиях установлено, что бевацизумаб может уменьшать интенсивность новообразования сосудов сетчатки и радужки при пролиферативной ДР [96, 97]. Как показали гистологические исследования, введение бевацизумаба уменьшает фенестрацию и усиливает апоптоз эндотелия новообразованных сосудов [98]. Имеются данные, что интраокулярное применение бевацизумаба перед выполнением витрэктомии у больных с пролиферативной ДР снижает риск кровотечений из ретинальных и новообразованных сосудов после оперативного лечения [99].

Предполагают, что средства, блокирующие ангиогенез, смогут найти применение в лечении диабетического поражения почек. В экспериментах показан благоприятный эффект ингибиторов ангиогенеза эндостатина,

тумстатина, ангиостатина, изокумарина (NM-3) и вазогибина на альбуминурию и выраженность структурных проявлений ДН [51, 100–102]. В модели СД2 у мышей линии db/db ингибитор тирозинкиназы рецептора VEGF снижал экскрецию альбумина [103]. Однако селективный блокатор VEGFR-2 в той же модели вызвал повреждение эндотелия и нарастание альбуминурии [50]. Очевидно, чрезмерное подавление VEGF может оказывать неблагоприятное действие на почки. Описаны случаи развития тромботической микроангиопатии в почках у больных с злокачественными опухолями, получающими бевацизумаб. Показано, что экспериментальная «нейтрализация» гена VEGF в подоцитах воспроизводит тромботическую микроангиопатию в клубочках [104]. Небольшая и обычно бессимптомная протеинурия возникает на фоне лечения ингибиторами VEGF у 21–63% пациентов с опухолями [105]. Влияние ингибиторов ангиогенеза на развитие нефропатии у больных СД не изучено.

Терапевтический ангиогенез. Цель терапевтического ангиогенеза – обеспечить реваскуляризацию ишемизированных тканей за счет стимуляции естественных процессов образования и роста сосудов. Ангиогенная терапия включает в себя применение экзогенных факторов роста, стволовых или прогениторных клеток, а также сочетание этих воздействий [3]. В экспериментальных исследованиях обосновано применение факторов роста (VEGF, ангиопоэтинов), мультипотентных стромальных клеток и ЭПК для ускорения заживления язв у животных с СД и ишемией конечностей [106–108]. Установлена возможность введения ангиогенных факторов роста (VEGF165, FGF-1, HIF-1 α) с помощью плазмид или аденовирусов (т. н. «генная терапия») для стимуляции новообразования сосудов в зоне ишемии у пациентов с облитерацией периферических артерий [109]. Показана эффективность стимуляции ангиогенеза у больных с ишемией нижних конечностей с помощью местных внутримышечных инъекций аутологичных мононуклеаров костномозгового происхождения или мононуклеаров, выделенных из периферической крови после стимуляции G-CSF [110].

Мета-анализ 6 рандомизированных контролируемых исследований 2-й фазы, включавших в общей сложности 543 пациента с перемежающейся хромотой, язвой или критической ишемией, показал, что методы генной и клеточной терапии, стимулирующие ангиогенез, улучшают результаты лечения облитерирующих заболеваний нижних конечностей. Клинический эффект (комбинированная конечная точка) включал увеличение дистанции ходьбы, уменьшение болей в покое, заживление трофических язв или сохранение конечности (различия с плацебо: OR=1,437, p=0,033; при критической ишемии: OR=2,2, p=0,046). Побочные эффекты (отек, гипотония, протеинурия) несколько чаще встречались в группах активного лечения (OR=1,81, p=0,045) [111].

Опубликованы первые результаты применения клеточной терапии у больных СД с критической ишемией нижних конечностей. Показано, что местное внутримышечное введение аутологичных мононуклеарных клеток,

выделенных из периферической крови после стимуляции G-CSF, повышает шансы на сохранение конечности [112]. Внутриаартериальное введение аутологичных мононуклеарных клеток костномозгового происхождения больным с поражением дистальных артерий ног способствовало уменьшению симптомов ишемии и ускорению заживления язв. Клиническая динамика коррелировала с выраженностью неоваскулогенеза [113].

Таким образом, применение терапевтического ангиогенеза является перспективным направлением в лечении макроангиопатии нижних конечностей и синдрома диабетической стопы, особенно в ситуациях, когда невозможно выполнить реконструктивное вмешательство на сосудах. Для эффективного применения генной и клеточной терапии необходимо решить вопрос об оптимальных дозах, режимах лечения, предикторах его эффективности, определить безопасность лечения у «проблемной» категории больных с пролиферативной ДР и другими состояниями, ассоциированными с повышенным васкулогенезом.

Заключение

Анализ литературы свидетельствует о сложных изменениях в системе ангиогенеза и васкулогенеза при СД. Активация ангиогенеза в сетчатке глаза является обязательным атрибутом пролиферативной ДР, усиленный ангиогенез в почках характерен для начальных этапов нефропатии. Развитие макрососудистых осложнений СД, напротив, сопровождается подавлением интенсивности ангио- и васкулогенеза.

Причины нарушения формирования сосудов при СД окончательно не ясны. Имеющиеся в настоящее время данные указывают на тесную связь этих изменений с гипергликемией и другими расстройствами метаболизма, свойственными СД. Однако в различных сосудистых бассейнах изменения ангиогенеза и васкулогенеза могут существенно отличаться, что предполагает роль локального микроокружения и местных регуляторов. Механизмы изменений ангиогенеза и васкулогенеза в различных органах при СД требуют дальнейших исследований.

Установление роли нарушений ангиогенеза и васкулогенеза в развитии сосудистых осложнений СД открывает новые перспективы лечения. Ингибиторы ангиогенеза («анти-VEGF терапия») нашли применение в лечении ДР, обсуждается возможность их использования при диабетическом поражении почек. Стимуляция ангиогенеза и васкулогенеза («терапевтический ангиогенез») – перспективное направление лечения макрососудистых осложнений.

В настоящее время многие вопросы, связанные с клиническим применением препаратов, влияющих на ангиогенез и васкулогенез, остаются не решенными. В частности, не определены показания и наиболее эффективные подходы к коррекции нарушений образования сосудов при диабетических ангиопатиях. Открытым остается вопрос о контроле эффективности и без-

опасности применения ингибиторов и стимуляторов ангиогенеза. Не известно влияние ангиогенной и антиангиогенной терапии на клинические исходы осложненных СД, такие как риск слепоты, уремии и ампутаций конечностей. Поиск ответов на эти вопросы – задачи для будущих исследований.

Авторы выражают признательность член-корр. РАМН проф. М.В. Шестаковой за ценные дополнения при рецензировании статьи.

Авторы декларируют отсутствие двойственности (конфликта) интересов, связанных с рукописью.

Список литературы

1. IDF Diabetes Atlas. Fifth edition. International Diabetes Federation, 2011.
2. Kononkov VI, Borodin Yul, Lyubarskiy MS. Limfologiya. Novosibirsk: Izdatel'skiy dom «Manuskript»; 2012. Pp. 205-215, 238-265. [Russian]
3. Poveshchenko AF, Kononkov VI. Mechanisms and Factors of Angiogenesis. Uspekhi fiziol. Nauk. 2010; 41(2):68-89. [Russian]
4. Parfenova EV, Tkachuk VA. Terapevticheskiy angiogenez: dostizheniya, problemy, perspektivy. Kardiologicheskii vestnik. 2007 (2):5-15. [Russian]
5. Schatteman GC, Dunnwald M, Jiao C. Biology of bone marrow-derived endothelial cell precursors. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2007 Jan;292(1):H1-18. Epub 2006 Sep 15.
6. Goligorsky MS, Kuo MC, Patschan D, Verhaar MC. Review article: endothelial progenitor cells in renal disease. Nephrology (Carlton). 2009 Apr;14(3):291-297.
7. Li Calzi S, Neu MB, Shaw LC, Grant MB. Endothelial progenitor dysfunction in the pathogenesis of diabetic retinopathy: treatment concept to correct diabetes-associated deficits. EPMA J. 2010 Mar 1;1(1):88-100.
8. Glaser BM, D'Amore PA, Michels RG, Brunson SK, Fenselau AH, Rice T, Patz A. The demonstration of angiogenic activity from ocular tissues. Preliminary report. Ophthalmology. 1980 May;87(5):440-446.
9. Miller JW, Adamis AP, Shima DT, D'Amore PA, Moulton RS, O'Reilly MS, Folkman J, Dvorak HF, Brown LF, Berse B et al. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor is temporally and spatially correlated with ocular angiogenesis in a primate model. Am. J. Pathol. 1994; 145 (3): 574-584.
10. Pe'er J, Shweiki D, Itin A, Hemo I, Gnessin H, Keshet E. Hypoxia-induced expression of vascular endothelial growth factor by retinal cells is a common factor in neovascularizing ocular diseases. Lab Invest. 1995 Jun;72(6):638-645.
11. Noma H, Funatsu H, Yamashita H, Kitano S, Mishima HK, Hori S. Regulation of angiogenesis in diabetic retinopathy: possible balance between vascular endothelial growth factor and endostatin. Arch Ophthalmol. 2002 Aug;120(8):1075-1080.
12. Duh EJ, Yang HS, Haller JA, De Juan E, Humayun MS, Gehlbach P, Melia M, Pieramici D, Harlan JB, Campochiaro PA, Zack DJ. Vitreous levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor: implications for ocular angiogenesis. Am J Ophthalmol. 2004 Apr;137(4):668-674.
13. Brooks HL Jr, Caballero S Jr, Newell CK, Steinmetz RL, Watson D, Segal MS, Harrison JK, Scott EW, Grant MB. Vitreous levels of vascular endothelial growth factor and stromal-derived factor 1 in patients with diabetic retinopathy and cystoid macular edema before and after intraocular injection of triamcinolone. Arch Ophthalmol. 2004 Dec;122(12):1801-1807.
14. Watanabe D, Suzuma K, Matsui S, Kurimoto M, Kiryu J, Kita M, Suzuma I, Ohashi H, Ojima T, Murakami T, Kobayashi T, Masuda S, Nagao M, Yoshimura N, Takagi H. Erythropoietin as a retinal angiogenic factor in proliferative diabetic retinopathy. N Engl J Med. 2005 Aug 25;353(8):782-792.
15. Watanabe D, Suzuma K, Suzuma I, Ohashi H, Ojima T, Kurimoto M, Murakami T, Kimura T, Takagi H. Vitreous levels of angiopoietin 2 and vascular endothelial growth factor in patients with proliferative diabetic retinopathy. Am J Ophthalmol. 2005 Mar;139(3):476-481.
16. Kuzmin AG, Lipatov DV, Chistyakova TA, Smirnova OM, Arbuzova MI, Ilyin AV, Shestakova MV. Vascular endothelial growth factor in the fluid of the anterior chamber of the eye in patients with diabetic retinopathy, cataract and neovascular glaucoma. Diabetes mellitus. 2010;(3):32-36. [Russian]
17. Witmer AN, Blaauwgeers HG, Weich HA, Alitalo K, Vrensen GF, Schlingemann RO. Altered expression patterns of VEGF receptors in human diabetic retina and in experimental VEGF-induced retinopathy in monkey. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2002 Mar;43(3):849-857.
18. Ozaki H, Seo MS, Ozaki K, Yamada H, Yamada E, Okamoto N, Hofmann F, Wood JM, Campochiaro PA. Blockade of vascular endothelial cell growth factor receptor signaling is sufficient to completely prevent retinal neovascularization. neovascularization. Am. J. Pathol. 2000; 156 (2): 697-707.
19. Willard AL, Herman IM. Vascular complications and diabetes: current therapies and future challenges. J Ophthalmol. 2012;2012:209538. Epub 2012 Jan 9.
20. Butler JM, Guthrie SM, Koc M, Afzal A, Caballero S, Brooks HL, Mames RN, Segal MS, Grant MB, Scott EW. SDF-1 is both necessary and sufficient to promote proliferative retinopathy. J Clin Invest. 2005 Jan;115(1):86-93.
21. Rangasamy S, Srinivasan R, Maestas J, McGuire PG, Das A. A potential role for angiopoietin 2 in the regulation of the blood-retinal barrier in diabetic retinopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011 Jun 1;52(6):3784-3791. Print 2011 May.
22. Feng Y, vom Hagen F, Pfister F, Djokic S, Hoffmann S, Back W, Wagner P, Lin J, Deutsch U, Hammes HP. Impaired pericyte recruitment and abnormal retinal angiogenesis as a result of angiopoietin-2 overexpression. Thromb Haemost. 2007 Jan;97(1):99-108.
23. Hernández C, Simó R. Erythropoietin produced by the retina: its role in physiology and diabetic retinopathy. Endocrine 2012; 41 (2): 220-226.
24. Takagi H, Watanabe D, Suzuma K, Kurimoto M, Suzuma I, Ohashi H, Ojima T, Murakami T. Novel role of erythropoietin in proliferative diabetic retinopathy. Diabetes Res Clin Pract. 2007 Sep;77 Suppl 1:S62-64. Epub 2007 May 3.

25. Kase S, Saito W, Ohgami K, Yoshida K, Furudate N, Saito A, Yokoi M, Kase M, Ohno S. Expression of erythropoietin receptor in human epiretinal membrane of proliferative diabetic retinopathy. *Br. J. Ophthalmol.* 2007; 91 (10): 1376-1378.
26. McVicar C.M., Colhoun L.M., Abrahams J.L, Kitson CL, Hamilton R, Medina RJ, Durga D, Gardiner TA, Rudd PM, Stitt AW. Differential modulation of angiogenesis by erythropoiesis-stimulating agents in a mouse model of ischaemic retinopathy. *PLoS One.* 2010 Jul 29;5(7):e11870.
27. Ogata N, Nishikawa M, Nishimura T, Mitsuma Y, Matsumura M. Unbalanced vitreous levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor in diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol.* 2002 Sep;134(3):348-353.
28. Boehm BO, Lang G, Volpert O, Jehle PM, Kurkhaus A, Rosinger S, Lang GK, Bouck N. Low content of the natural ocular anti-angiogenic agent pigment epithelium-derived factor (PEDF) in aqueous humor predicts progression of diabetic retinopathy. *Diabetologia.* 2003 Mar;46(3):394-400. Epub 2003 Mar 1.
29. Abu El-Asrar AM, Nawaz MI, Kangave D, Siddiquei MM, Ola MS, Opendakker G. Angiogenesis regulatory factors in the vitreous from patients with proliferative diabetic retinopathy. *Acta Diabetol.* 2011 Sep 25.
30. Abu El-Asrar AM, Struyf S, Verbeke H, Van Damme J, Geboes K. Circulating bone-marrow-derived endothelial precursor cells contribute to neovascularization in diabetic epiretinal membranes. *Acta Ophthalmol.* 2011 May;89(3):222-228. doi: 10.1111/j.1755-3768.2009.01700.x.
31. Brunner S, Schernthaner GH, Satler M, Elhenicky M, Hoellerl F, Schmid-Kubista KE, Zeiler F, Binder S, Schernthaner G. Correlation of different circulating endothelial progenitor cells to stages of diabetic retinopathy: first in vivo data. *Invest. Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009 Jan;50(1):392-398. Epub 2008 Aug 21.
32. Lee IG, Chae SL, Kim JC. Involvement of circulating endothelial progenitor cells and vasculogenic factors in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Eye (Lond).* 2006 May;20(5):546-552.
33. Asnagli V, Lattanzio R, Mazzolari G, Pastore MR, Ramoni A, Maestroni A, Ruggieri D, Luzi L, Brancato R, Zerbini G. Increased clonogenic potential of circulating endothelial progenitor cells in patients with type 1 diabetes and proliferative retinopathy. *Diabetologia.* 2006 May;49(5):1109-1111. Epub 2006 Mar 7.
34. Tan K, Lessieur E, Cutler A, Nerone P, Vasanji A, Asosingh K, Erzurum S, Anand-Apte B. Impaired function of circulating CD34(+) CD45(-) cells in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Exp Eye Res.* 2010 Aug;91(2):229-237. Epub 2010 May 21.
35. Caballero S, Sengupta N, Afzal A, Chang KH, Li Calzi S, Guberski DL, Kern TS, Grant MB. Ischemic vascular damage can be repaired by healthy, but not diabetic, endothelial progenitor cells. *Diabetes.* 2007 Apr;56(4):960-967.
36. Osterby R, Nyberg G. New vessel formation in the renal corpuscles in advanced diabetic glomerulopathy. *J Diabet Complications.* 1987 Oct-Dec;1(4):122-127.
37. Min W, Yamanaka N. Three-dimensional analysis of increased vasculature around the glomerular vascular pole in diabetic nephropathy. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1993;423(3):201-207.
38. Stout LC, Whorton EB. Pathogenesis of extra efferent vessel development in diabetic glomeruli. *Hum Pathol.* 2007 Aug;38(8):1167-1177. Epub 2007 May 8.
39. Osterby R, Asplund J, Bangstad HJ, Nyberg G, Rudberg S, Viberti GC, Walker JD. Neovascularization at the vascular pole region in diabetic glomerulopathy. *Nephrol Dial Transplant.* 1999 Feb;14(2):348-352.
40. Osterby R, Tapia J, Nyberg G, Tencer J, Willner J, Rippe B, Torffvit O. Renal structures in type 2 diabetic patients with elevated albumin excretion rate. *APMIS.* 2001 Nov;109(11):751-761.
41. Guo M, Ricardo SD, Deane JA, Shi M, Cullen-McEwen L, Bertram JF. A stereological study of the renal glomerular vasculature in the db/db mouse model of diabetic nephropathy. *J Anat.* 2005 Dec;207(6):813-821.
42. Hohenstein B, Hausknecht B, Boehmer K, Riess R, Brecken RA, Hugo CP. Local VEGF activity but not VEGF expression is tightly regulated during diabetic nephropathy in man. *Kidney Int.* 2006 May;69(9):1654-1661.
43. Nakagawa T, Kosugi T, Haneda M, Rivard CJ, Long DA. Abnormal angiogenesis in diabetic nephropathy. *Diabetes.* 2009 Jul;58(7):1471-1478.
44. Kanasaki Y, Suzuki D, Uehara G, Toyoda M, Katoh T, Sakai H, Watanabe T. Vascular endothelial growth factor gene expression is correlated with glomerular neovascularization in human diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis.* 2005 Feb;45(2):288-294.
45. Veron D, Bertuccio CA, Marlier A, Reidy K, Garcia AM, Jimenez J, Velazquez H, Kashgarian M, Moeckel GW, Tufro A. Podocyte vascular endothelial growth factor (Vegf164) overexpression causes severe nodular glomerulosclerosis in a mouse model of type 1 diabetes. *Diabetologia.* 2011 May;54(5):1227-1241. Epub 2011 Feb 12.
46. Chiarelli F, Spagnoli A, Basciani F, Tumini S, Mezzetti A, Cipollone F, Cuccurullo F, Morgese G, Verrotti A. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in children, adolescents and young adults with type-1 diabetes mellitus: relation to glycaemic control and microvascular complications. *Diabet Med.* 2000 Sep;17(9):650-656.
47. Kim NH, Kim KB, Kim DL, Kim SG, Choi KM, Baik SH, Choi DS, Kang YS, Han SY, Han KH, Ji YH, Cha DR. Plasma and urinary vascular endothelial growth factor and diabetic nephropathy in Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med.* 2004 Jun;21(6):545-551.
48. Бондарь ИА, Климонтов ВВ. Renal excretion of insulin-like growth factor 1 and vascular endothelial growth factor in patients with type 1 diabetes with nephropathy. *Probl. endokrinol.* 2007; 53(6):3-7. [Russian]
49. Cooper ME, Vranes D, Youssef S, Stacker SA, Cox AJ, Rizkalla B, Casley DJ, Bach LA, Kelly DJ, Gilbert RE. Increased renal expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor VEGFR-2 in experimental diabetes. *Diabetes.* 1999 Nov;48(11):2229-2239.
50. Kim HW, Lim JH, Kim MY, Chung S, Shin SJ, Chung HW, Choi BS, Kim YS, Chang YS, Park CW. Long-term blockade of vascular endothelial growth factor receptor-2 aggravates the diabetic renal dysfunction associated with inactivation of the Akt/eNOS-NO axis. *Nephrol Dial Transplant.* 2011 Apr;26(4):1173-1188. Epub 2010 Oct 8.
51. Ichinose K, Maeshima Y, Yamamoto Y, Kinomura M, Hirokoshi K, Kitayama H, Takazawa Y, Sugiyama H, Yamasaki Y, Agata N, Makino H. 2-(8-hydroxy-6-methoxy-1-oxo-1h-2-benzopyran-3-yl) propionic acid, an inhibitor of angio-

- genesis, ameliorates renal alterations in obese type 2 diabetic mice. *Diabetes*. 2006 May;55(5):1232-1242.
52. Dessapt C, Karalliedde J, Hernandez-Fuentes M, Martin PP, Maltese G, Dattani N, Atkar R, Viberti G, Gnudi L. et al. Circulating vascular progenitor cells in patients with type 1 diabetes and microalbuminuria. *Diabetes Care*. 2010 Apr;33(4):875-877. Epub 2010 Jan 12.
 53. Reinhard H, Jacobsen PK, Lajer M, Tarnow L, Astrup AS, Kim WY, Pedersen N, Billestrup N, Mandrup-Poulsen T, Parving HH, Rossing P. Endothelial progenitor cells in long-standing asymptomatic type 1 diabetic patients with or without diabetic nephropathy. *Nephron Clin Pract*. 2011;118(3):c309-314. Epub 2011 Jan 21.
 54. Krenning G, Dankers PY, Drouven JW, Waanders F, Franssen CF, van Luyn MJ, Harmsen MC, Popa ER. Endothelial progenitor cell dysfunction in patients with progressive chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2009 Jun;296(6):F1314-1322. Epub 2009 Apr 1.
 55. Jie KE, Zaikova MA, Bergevoet MW, Westerweel PE, Rastmanesh M, Blankestijn PJ, Boer WH, Braam B, Verhaar MC. Progenitor cells and vascular function are impaired in patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2010 Jun;25(6):1875-1882. Epub 2010 Jan 18.
 56. Mohler ER 3rd, Lifeng Zhang, Medenilla E, Rogers W, French B, Bantly A, Moore JS, Yonghong Huan, Murashima M, Berns JS. Effect of darbepoetin alfa on endothelial progenitor cells and vascular reactivity in chronic kidney disease. *Vasc Med*. 2011 Jun;16(3):183-189.
 57. Parfenova EV, Tkachuk VA. Hyperglycemia impact on angiogenic properties of endothelial and progenitor vascular cells. *Annals Of The Russian Academy Of Medical Sciences*. 2012;(1):38-44.
 58. Akopyan ZhA, Sharonov GV, Kochegura TN, Il'yashenko NF, Belyanko IE, Dimitrova VI, Zotikov AE, Kalinina NI, Parfenova EV. The influence of high glucose concentration on the ability of mesenchymal stromal cells to stimulate blood vessel growth. *Diabetes mellitus*. 2011;(3):32-36.
 59. Biscetti F, Pitocco D, Straface G, Zaccardi F, de Cristofaro R, Rizzo P, Lancellotti S, Arena V, Stigliano E, Musella T, Ghirlanda G, Flex A. Glycaemic variability affects ischaemia-induced angiogenesis in diabetic mice. *Clin Sci (Lond)*. 2011 Dec;121(12):555-564.
 60. Shoji T, Koyama H, Morioka T, Tanaka S, Kizu A, Motoyama K, Mori K, Fukumoto S, Shioi A, Shimogaito N, Takeuchi M, Yamamoto Y, Yonekura H, Yamamoto H, Nishizawa Y. Receptor for advanced glycation end products is involved in impaired angiogenic response in diabetes. *Diabetes*. 2006 Aug;55(8):2245-2255.
 61. Tanii M, Yonemitsu Y, Fujii T, Shikada Y, Kohno R, Onimaru M, Okano S, Inoue M, Hasegawa M, Onohara T, Maehara Y, Sueishi K. Diabetic microangiopathy in ischemic limb is a disease of disturbance of the platelet-derived growth factor-BB/protein kinase C axis but not of impaired expression of angiogenic factors. *Circ Res*. 2006 Jan 6;98(1):55-62. Epub 2005 Nov 23.
 62. Tepper OM, Galiano RD, Capla JM, Kalka C, Gagne PJ, Jacobowitz GR, Levine JP, Gurtner GC. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation*. 2002 Nov 26;106(22):2781-2786.
 63. Fadini GP, Miorin M, Facco M, Bonamico S, Baesso I, Grego F, Menegolo M, de Kreutzenberg SV, Tiengo A, Agostini C, Avogaro A. Circulating endothelial progenitor cells are reduced in peripheral vascular complications of type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol*. 2005 May 3;45(9):1449-1457.
 64. Sibal L, Aldibbiat A, Agarwal SC, Mitchell G, Oates C, Razvi S, Weaver JU, Shaw JA, Home PD. Circulating endothelial progenitor cells, endothelial function, carotid intima-media thickness and circulating markers of endothelial dysfunction in people with type 1 diabetes without macrovascular disease or microalbuminuria. *Diabetologia*. 2009 Aug;52(8):1464-1473. Epub 2009 May 30.
 65. Hamed S, Brenner B, Abassi Z, Aharon A, Daoud D, Roguin A. Hyperglycemia and oxidized-LDL exert a deleterious effect on endothelial progenitor cell migration in type 2 diabetes mellitus. *Thromb Res*. 2010 Sep;126(3):166-174. Epub 2010 Mar 26.
 66. Churdchomjan W, Kheolamai P, Manochantr S, Tap-anadechopone P, Tantrawatpan C, U-Pratya Y, Issaragrisil S. Comparison of endothelial progenitor cell function in type 2 diabetes with good and poor glycemic control. *BMC Endocr Disord*. 2010 Apr 7;10:5.
 67. Ruda MM, Arefieva TI, Sokolova AV, Shestakova MV, Karpov YuA, Parfenova EV. Circulating precursors of endothelial cells in patients with chd and disturbed carbohydrate metabolism. *Diabetes mellitus*. 2010;(1):13-20.
 68. Kang L, Chen Q, Wang L, Gao L, Meng K, Chen J, Ferro A, Xu B. Decreased mobilization of endothelial progenitor cells contributes to impaired neovascularization in diabetes. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2009 Oct;36(10):e47-56. Epub 2009 Jun 16.
 69. Brunner S, Hoellerl F, Schmid-Kubista KE, Zeiler F, Scherthaner G, Binder S, Scherthaner GH. Circulating angiopoietic cells and diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus, with or without macrovascular disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011 Jun 28;52(7):4655-4662. Print 2011.
 70. Fadini GP, Sartore S, Baesso I, Lenzi M, Agostini C, Tiengo A, Avogaro A. Endothelial progenitor cells and the diabetic paradox. *Diabetes Care*. 2006 Mar;29(3):714-716.
 71. Fadini GP, Boscaro E, de Kreutzenberg S, Agostini C, Seeger F, Dimmeler S, Zeiher A, Tiengo A, Avogaro A. Time course and mechanisms of circulating progenitor cell reduction in the natural history of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2010 May;33(5):1097-1102. Epub 2010 Feb 11.
 72. Loomans CJ, van Haperen R, Duijs JM, Verseyden C, de Crom R, Leenen PJ, Drexhage HA, de Boer HC, de Koning EJ, Rabelink TJ, Staal FJ, van Zonneveld AJ. Differentiation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells is shifted into a proinflammatory phenotype by hyperglycemia. *Mol Med*. 2009 May-Jun;15(5-6):152-159. Epub 2009 Mar 11.
 73. Capla JM, Grogan RH, Callaghan MJ, Galiano RD, Tepper OM, Ceradini DJ, Gurtner GC. Diabetes impairs endothelial progenitor cell-mediated blood vessel formation in response to hypoxia. *Plast Reconstr Surg*. 2007 Jan;119(1):59-70.
 74. Shen C, Li Q, Zhang YC, Ma G, Feng Y, Zhu Q, Dai Q, Chen Z, Yao Y, Chen L, Jiang Y, Liu N. Advanced glycation endproducts increase EPC apoptosis and decrease nitric oxide release via MAPK pathways. *Biomed Pharmacother*. 2010 Jan;64(1):35-43. Epub 2009 Sep 3.
 75. Chen Q, Dong L, Wang L, Kang L, Xu B. Advanced gly-

- cation end products impair function of late endothelial progenitor cells through effects on protein kinase Akt and cyclooxygenase-2. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 Apr 3;381(2):192-197. Epub 2009 Feb 14.
76. Jung C, Rafnsson A, Shemyakin A, Böhm F, Pernow J. Different subpopulations of endothelial progenitor cells and circulating apoptotic progenitor cells in patients with vascular disease and diabetes. *Int J Cardiol*. 2010 Sep 3;143(3):368-372. Epub 2009 Apr 26.
 77. Desouza CV, Hamel FG, Bidasee K, O'Connell K. Role of inflammation and insulin resistance in endothelial progenitor cell dysfunction. *Diabetes*. 2011 Apr;60(4):1286-1294. Epub 2011 Feb 23.
 78. Kahn MB, Yuldasheva NY, Cubbon RM, Smith J, Rashid ST, Viswambharan H, Imrie H, Abbas A, Rajwani A, Aziz A, Baliga V, Sukumar P, Gage M, Kearney MT, Wheatcroft SB. Insulin resistance impairs circulating angiogenic progenitor cell function and delays endothelial regeneration. *Diabetes*. 2011 Apr;60(4):1295-1303. Epub 2011 Feb 11.
 79. van Oostrom O, de Kleijn DP, Fledderus JO, Pescatori M, Stubbs A, Tuinenburg A, Lim SK, Verhaar MC. Folic acid supplementation normalizes the endothelial progenitor cell transcriptome of patients with type 1 diabetes: a case-control pilot study. *Cardiovasc Diabetol*. 2009 Aug 25;8:47.
 80. De Falco E, Avitabile D, Totta P, Straino S, Spallotta F, Cencioni C, Torella AR, Rizzi R, Porcelli D, Zacheo A, Di Vito L, Pompilio G, Napolitano M, Melillo G, Capogrossi MC, Pesce M. Altered SDF-1-mediated differentiation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells in diabetes mellitus. *J Cell Mol Med*. 2009 Sep;13(9B):3405-3414.
 81. Fiorina P, Pietramaggiore G, Scherer SS, Jurewicz M, Mathews JC, Vergani A, Thomas G, Orsenigo E, Staudacher C, La Rosa S, Capella C, Carothers A, Zerwes HG, Luzi L, Abdi R, Orgill DP. The mobilization and effect of endogenous bone marrow progenitor cells in diabetic wound healing. *Cell Transplant*. 2010;19(11):1369-1381. Epub 2010 Aug 17.
 82. Albiero M, Menegazzo L, Boscaro E, Agostini C, Avogaro A, Fadini GP. Defective recruitment, survival and proliferation of bone marrow-derived progenitor cells at sites of delayed diabetic wound healing in mice. *Diabetologia*. 2011 Apr;54(4):945-953. Epub 2010 Dec 17.
 83. Liao YF, Chen LL, Zeng TS, Li YM, Fan Yu, Hu LJ, Ling Yue. Number of circulating endothelial progenitor cells as a marker of vascular endothelial function for type 2 diabetes. *Vasc Med*. 2010 Aug;15(4):279-285. Epub 2010 May 28.
 84. Wang CH, Ting MK, Verma S, Kuo LT, Yang NI, Hsieh IC, Wang SY, Hung A, Cherng WJ. Pioglitazone increases the numbers and improves the functional capacity of endothelial progenitor cells in patients with diabetes mellitus. *Am. Heart J*. 2006; 152 (6): 1051.e1-e8.
 85. Fadini GP, Boscaro E, Albiero M, Menegazzo L, Frison V, de Kreutzenberg S, Agostini C, Tiengo A, Avogaro A. The oral dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin increases circulating endothelial progenitor cells in patients with type 2 diabetes: possible role of stromal-derived factor-1alpha. *Diabetes Care*. 2010 Jul;33(7):1607-1609. Epub 2010 Mar 31.
 86. Schlager O, Giurgea A, Schuhfried O, Seidinger D, Hammer A, Gröger M, Fialka-Moser V, Gschwandtner M, Koppensteiner R, Steiner S. Exercise training increases endothelial progenitor cells and decreases asymmetric dimethylarginine in peripheral arterial disease: a randomized controlled trial. *Atherosclerosis*. 2011 Jul;217(1):240-248. Epub 2011 Apr 8.
 87. Jaumdally RJ, Goon PK, Varma C, Blann AD, Lip GY. Effects of atorvastatin on circulating CD34+/CD133+/CD45-progenitor cells and indices of angiogenesis (vascular endothelial growth factor and the angiopoietins 1 and 2) in atherosclerotic vascular disease and diabetes mellitus. *J Intern Med*. 2010 Apr;267(4):385-393. Epub 2009 Jul 16.
 88. Reinhard H, Jacobsen PK, Lajer M, Pedersen N, Bill-estrup N, Mandrup-Poulsen T, Parving HH, Rossing P. Multifactorial treatment increases endothelial progenitor cells in patients with type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2010 Oct;53(10):2129-2133. Epub 2010 Jul 6.
 89. Stewart MW. The expanding role of vascular endothelial growth factor inhibitors in ophthalmology. *Mayo Clin Proc*. 2012 Jan;87(1):77-88.
 90. Massin P, Bandello F, Garweg JG, Hansen LL, Harding SP, Larsen M, Mitchell P, Sharp D, Wolf-Schnurrbusch UE, Gekkieva M, Weichselberger A, Wolf S. Safety and efficacy of ranibizumab in diabetic macular edema (RESOLVE study): a 12-month, randomized, controlled, double-masked, multicenter phase II study. *Diabetes Care*. 2010 Nov;33(11):2399-2405.
 91. Mitchell P, Bandello F, Schmidt-Erfurth U, Lang GE, Massin P, Schlingemann RO, Sutter F, Simader C, Burian G, Gerstner O, Weichselberger A; RESTORE study group. The RESTORE study: ranibizumab monotherapy or combined with laser versus laser monotherapy for diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2011 Apr;118(4):615-625.
 92. Nguyen QD, Shah SM, Heier JS, Do DV, Lim J, Boyer D, Abraham P, Campochiaro PA; READ-2 Study Group. Primary end point (six months) results of the ranibizumab for edema of the macula in diabetes (READ-2) study. *Ophthalmology*. 2009 Nov;116(11):2175-2181.e1. Epub 2009 Aug 22.
 93. Nguyen QD, Shah SM, Khwaja AA, Channa R, Hatf E, Do DV, Boyer D, Heier JS, Abraham P, Thach AB, Lit ES, Foster BS, Kruger E, Dugel P, Chang T, Das A, Ciulla TA, Pollack JS, Lim JI, Elliott D, Campochiaro PA; READ-2 Study Group. Two-year outcomes of the ranibizumab for edema of the macula in diabetes (READ-2) study. *Ophthalmology*. 2010 Nov;117(11):2146-2151. Epub 2010 Sep 19.
 94. Do DV, Schmidt-Erfurth U, Gonzalez VH, Gordon CM, Tolentino M, Berliner AJ, Vitti R, Rückert R, Sandbrink R, Stein D, Yang K, Beckmann K, Heier JS. The DA VINCI study: phase 2 primary results of VEGF trap-eye in patients with diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2011 Sep;118(9):1819-1826. doi: 10.1016/j.ophtha.2011.02.018. Epub 2011 May 5.
 95. Kimoto K, Kubota T. Anti-VEGF Agents for Ocular Angiogenesis and Vascular Permeability. *J Ophthalmol*. 2012;2012:852183. Epub 2011 Nov 3.
 96. Avery RL, Pearlman J, Pieramici DJ, Rabena MD, Castellarin AA, Nasir MA, Giust MJ, Wendel R, Patel A. Intravitreal bevacizumab (Avastin) in the treatment of proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 2006 Oct;113(10):1695.e1-15.
 97. Schmidinger G, Maar N, Bolz M, Scholda C, Schmidt-Erfurth U. Repeated intravitreal bevacizumab (Avastin®)

- treatment of persistent new vessels in proliferative diabetic retinopathy after complete panretinal photocoagulation. *Acta Ophthalmol.* 2011 Feb;89(1):76-81. doi: 10.1111/j.1755-3768.2009.01622.x.
98. Matsuyama K, Ogata N, Matsuoka M, Wada M, Takahashi K, Nishimura T. Plasma levels of vascular endothelial growth factor and pigment epithelium-derived factor before and after intravitreal injection of bevacizumab. *Br J Ophthalmol.* 2010 Sep;94(9):1215-1218. Epub 2010 Jun 10.
 99. Smith JM, Steel DH. Anti-vascular endothelial growth factor for prevention of postoperative vitreous cavity haemorrhage after vitrectomy for proliferative diabetic retinopathy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011 May 11;(5):CD008214.
 100. Yamamoto Y, Maeshima Y, Kitayama H, Kitamura S, Takazawa Y, Sugiyama H, Yamasaki Y, Makino H. Peptide, an inhibitor of angiogenesis, prevents glomerular hypertrophy in the early stage of diabetic nephropathy. *Diabetes.* 2004 Jul;53(7):1831-1840.
 101. Zhang SX, Wang JJ, Lu K, Mott R, Longeras R, Ma JX. Therapeutic potential of angiostatin in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2006 Feb;17(2):475-486. Epub 2006 Jan 4.
 102. Nasu T, Maeshima Y, Kinomura M, Hirokoshi-Kawahara K, Tanabe K, Sugiyama H, Sonoda H, Sato Y, Makino H. Vasohibin-1, a negative feedback regulator of angiogenesis, ameliorates renal alterations in a mouse model of diabetic nephropathy. *Diabetes.* 2009 Oct;58(10):2365-2375. Epub 2009 Jul 8.
 103. Sung SH, Ziyadeh FN, Wang A, Pyagay PE, Kanwar YS, Chen S. Blockade of vascular endothelial growth factor signaling ameliorates diabetic albuminuria in mice. *J Am Soc Nephrol.* 2006 Nov;17(11):3093-3104. Epub 2006 Sep 20.
 104. Eremina V, Jefferson JA, Kowalewska J, Hochster H, Haas M, Weisstuch J, Richardson C, Kopp JB, Kabir MG, Backx PH, Gerber HP, Ferrara N, Barisoni L, Alpers CE, Quaggin SE. VEGF inhibition and renal thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med.* 2008 Mar 13;358(11):1129-1136.
 105. Izzedine H, Massard C, Spano JP, Goldwasser F, Khayat D, Soria JC. VEGF signalling inhibition-induced proteinuria: Mechanisms, significance and management. *Eur J Cancer.* 2010 Jan;46(2):439-448. Epub 2009 Dec 16.
 106. Van Slyke P, Alami J, Martin D, Kuliszewski M, Leong-Poi H, Sefton MV, Dumont D. Acceleration of diabetic wound healing by an angiopoietin peptide mimetic. *Tissue Eng Part A.* 2009 Jun;15(6):1269-1280.
 107. Amin AH, Abd Elmageed ZY, Nair D, Partyka MI, Kadowitz PJ, Belmadani S, Matrougui K. Modified multipotent stromal cells with epidermal growth factor restore vasculogenesis and blood flow in ischemic hind-limb of type II diabetic mice. *Lab Invest.* 2010 Jul;90(7):985-996. Epub 2010 May 3.
 108. Barcelos LS, Duplaa C, Kränkel N, Graiani G, Invernici G, Katare R, Siragusa M, Meloni M, Campesi I, Monica M, Simm A, Campagnolo P, Mangialardi G, Stevanato L, Alessandri G, Emanuelli C, Madeddu P. Human CD133+ progenitor cells promote the healing of diabetic ischemic ulcers by paracrine stimulation of angiogenesis and activation of Wnt signaling. *Circ Res.* 2009 May 8;104(9):1095-1102. Epub 2009 Apr 2.
 109. Gupta R, Tongers J, Losordo DW. Human studies of angiogenic gene therapy. *Circ Res.* 2009 Oct 9;105(8):724-736.
 110. Moazzami K, Majdzadeh R, Nedjat S. Local intramuscular transplantation of autologous mononuclear cells for critical lower limb ischaemia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011 Dec 7;(12):CD008347.
 111. De Haro J, Acin F, Lopez-Quintana A, Florez A, Martinez-Aguilar E, Varela C. Meta-analysis of randomized, controlled clinical trials in angiogenesis: gene and cell therapy in peripheral arterial disease. *Heart Vessels.* 2009 Sep;24(5):321-328. Epub 2009 Sep 27.
 112. Kawamura A, Horie T, Tsuda I, Abe Y, Yamada M, Egawa H, Iida J, Sakata H, Onodera K, Tamaki T, Furui H, Kukita K, Meguro J, Yonekawa M, Tanaka S. Clinical study of therapeutic angiogenesis by autologous peripheral blood stem cell (PBSC) transplantation in 92 patients with critically ischemic limbs. *J Artif Organs.* 2006;9(4):226-233. Epub 2006 Dec 21.
 113. Ruiz-Salmeron R, de la Cuesta-Diaz A, Constantino-Bermejo M, Pérez-Camacho I, Marcos-Sánchez F, Hmadcha A, Soria B. Angiographic demonstration of neoangiogenesis after intra-arterial infusion of autologous bone marrow mononuclear cells in diabetic patients with critical limb ischemia. *Cell Transplant.* 2011;20(10):1629-1639.

Коненков Владимир Иосифович

д.м.н., академик РАМН, директор, ФГБУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск

Климонтов Вадим Валерьевич

д.м.н., в.н.с, ФГБУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск
E-mail: klimontov@mail.ru