

**Maria Skrzypkowska**  
**Aktywność komórek progenitorowych śródbłonka w nadciśnieniu tętniczym**

**Streszczenie**

Komórki śródbłonka naczyniowego odpowiadają za regulację ciśnienia krwi, przebieg odpowiedzi immunologicznej, powstawanie nowych naczyń krwionośnych czy przebudowę już istniejących. Zmiany w funkcjonowaniu śródbłonka naczyniowego wiążą się z patofizjologią wielu chorób, zarówno jako układ podlegający uszkodzeniu, jak i czynnik zaangażowany w powstawanie zmian. Jedną z najistotniejszych cech układu naczyniowego jest zdolność do przystosowywania struktury do nowych potrzeb i bodźców, u której podstaw leżą modyfikacje aktywności komórek śródbłonka.

W 1997 Asahara et al. opisali izolowaną z krwi populację o fenotypie CD34+VEGFR11+, jako zdolną do różnicowania się w dojrzałe komórki śródbłonka - populację tę określono mianem komórek progenitorowych śródbłonka - EPC (z ang. endothelial progenitor cells). Dalsze testy wykazały, że komórki te biorą udział w regeneracji uszkodzonego endotelium i tworzeniu nowych naczyń. Uznaje się, że głównym źródłem komórek EPC jest szpik kostny.

Niska liczba krążących komórek progenitorowych śródbłonka opisywana jest jako nowy czynnik ryzyka wystąpienia i progresji chorób układu sercowo-naczyniowego - u osób charakteryzujących się niewielką populacją owych komórek procesy neowaskularyzacji i regeneracji śródbłonka przebiegają mniej efektywnie.

Najczęściej badanymi fenotypami komórek EPC są CD34+VEGFR11+ i CD34+VEGFR11+CD133+, jednak istnieją prace wskazujące, że obecność innych czynników, takich jak: receptor dla czynnika komórek macierzystych - c-Kit, receptor dla czynnika pochodzenia stromalnego - CXCR4 czy w końcu produkcja tlenu azotu, świadczą o przynależności komórek do populacji EPC i mają kluczowe znaczenie dla funkcjonowania tych populacji.

Przyjmuje się, że czynniki ryzyka rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego, zwłaszcza w przypadku współwystępowania większej ich liczby, zmniejszają populację lub wywierają inny, negatywny wpływ na funkcję progenitorów.

Nadciśnienie tętnicze jest chorobą układu krążenia, charakteryzującą się podwyższonymi wartościami ciśnienia krwi, powyżej 139 mmHg dla ciśnienia skurczowego lub/i 89 mmHg dla ciśnienia rozkurczowego. Najczęstsze powikłania towarzyszące tej chorobie to: udar, choroba niedokrwienna serca czy przewlekła choroba nerek, które wynikają z uszkodzenia naczyń. Samo nadciśnienie jest najistotniejszym czynnikiem ryzyka przedwczesnego zgonu.

Można domniemywać, że w chorobie tej występuje upośledzenie funkcji progenitorów śródbłonka, jako że dla nadciśnienia tętniczego charakterystyczna jest dysfunkcja dojrzałych komórek endotelialnych. Spekuluje się, że dysfunkcja tej populacji czy spadek gęstości naczyń włosowatych i małych tętniczek, obserwowane u osób z nadciśnieniem, może być wynikiem wyczerpania puli komórek EPC.

Dlatego też celem niniejszej pracy było zbadanie, czy rozwinięcie nadciśnienia tętniczego oddziałuje na komórki progenitorowe populacji CD34+ i CD34+VEGFR11+. Ponadto, celem rozprawy było określenie, jaki wpływ na profil komórek progenitorowych populacji CD34+ i CD34+VEGFR11+ ma długotrwała terapia nadciśnienia tętniczego oraz jakie znaczenie dla profilu komórek progenitorowych mają wybrane czynniki. W pracy starano się również odpowiedzieć

na pytanie, czy skuteczność leczenia nadciśnienia tętniczego pozwala na normalizację liczby i cech komórek CD34+ i CD34+VEGFR11+.

Projekt badawczy obejmował 69 osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym, którzy byli pacjentami: 7 Szpitala Marynarki Wojennej w Gdańsku, Niepublicznego Zakładu Opieki Zdrowotnej "Medicus" oraz Zakładu Diagnostyki Chorób Serca, II Katedry Kardiologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. U 19 osób zdiagnozowano nadciśnienie tętnicze w momencie włączenia do projektu, zaś pozostałych 50 pacjentów poddanych było wieloletniej terapii przeciwnadciśnieniowej. Grupę kontrolną stanowiło 38 zdrowych ochotników, w porównywalnym wieku, zgłaszających się do poradni lekarza rodzinnego, u których nie rozpoznano chorób układu sercowo-naczyniowego. Materiał do badań stanowiła krew żylna.

Cześć doświadczalna obejmowała analizę cytometryczną komórek pełnej krwi z wykorzystaniem markerów powierzchniowych: CD34, VEGFR11, CD133, c-Kit, CXCR4 oraz analizę produkcji tlenu azotu, dzięki wykorzystaniu specyficznego barwnika fluorescencyjnego. Komórki analizowano, jako populacje CD34+ oraz CD34+VEGFR11+ różniące się obecnością/brakiem pozostałych czynników. Testy immunoenzymatyczne pozwoliły na określenie stężenia angiotensyny II i sICAM-1 w surowicy krwi pacjentów oraz kontroli.

Uzyskane wyniki wskazują m.in., że:

- wystąpienie nadciśnienia tętniczego wiąże się ze wzrostem liczby komórek progenitorowych populacji CD34+, CD34+NO+ oraz komórek CD34+ pozbawionych ekspresji glikoproteiny CD133

- u pacjentów z nowo rozpoznanym nadciśnieniem obserwuje się wzrost wielkości populacji CD34+VEGFR11+c-Kit+(NO)+, a więc podatnych na mobilizację komórek progenitorowych linii śródbłonkowej, zdolnych do produkcji tlenu azotu

- u pacjentów ze świeżo wykrytą chorobą zwiększa się także populacja o fenotypie CD34+VEGFR2+CXCR4+NO+, a więc komórki prekursorowe, wyposażone w receptor chemokinowy, umożliwiający ich migrację do miejsca uszkodzenia/przebudowy naczyń

- Liczne korelacje pomiędzy badanymi komórkami a poziomem angiotensyny II wskazują, że peptyd ten pozostaje w związku z wartościami populacji komórek CD34+ i CD34+VEGFR2+ w przypadku nowo rozwiniętego nadciśnienia tętniczego.

W przypadku pacjentów z wieloletnim, leczonym nadciśnieniem tętniczym obserwuje się:

- przywrócenie wielkości populacji komórkowych, m.in. CD34+ i CD34+CD133- do wartości obserwowanych u osób zdrowych

- wzrastający poziom markera uszkodzenia śródbłonka, sICAM-1, we krwi chorych leczonych z powodu nadciśnienia tętniczego, koreluje ze spadkiem licznych populacji komórek progenitorowych CD34+ i CD34+VEGFR2+, poniżej wartości charakterystycznych dla osób zdrowych.

- Długotrwała politerapia nadciśnienia tętniczego prowadzi do ujawnienia, zmian charakterystycznych dla wieku - wraz z wiekiem spada liczba komórek CD34+VEGFR2+ wykazujących koekspresję markerów CD133 oraz c-Kit oraz ich produkującej tlenek azotu subpopulacji.

- Wzrastające ryzyko wystąpienia innych chorób układu sercowo-naczyniowego u chorych z nadciśnieniem tętniczym, wiąże się ze spadkiem liczby komórek CD34+VEGFR2+CD133+, CD34+VEGFR2+c-Kit+ oraz subpopulacji zdolnych do produkcji tlenu azotu.

- Nieskuteczne leczenie nadciśnienia tętniczego wiąże się ze spadkiem populacji komórek CD34+VEGFR2+ oraz CD34+VEGFR2+CD133+ oraz drastycznym zmniejszeniem, praktycznie do poziomu uniemożliwiającego oznaczenie, komórek CD34+VEGFR2+c-Kit+ i CD34+VEGFR2+CXCR4-.

Pozwala to wnioskować, że wystąpienie nadciśnienia tętniczego wiąże się z wyrzutem do krwi mobilizowanych komórek progenitorowych linii śródbłonkowej, zdolnych do produkcji tlenu azotu i migracji do miejsc uszkodzenia/przebudowy, a jednym z czynników warunkujących zachodzące zmiany w świeżo rozpoznanym nadciśnieniu tętniczym wydaje się być angiotensyna II. Długotrwała terapia nadciśnienia tętniczego prowadzi do przywrócenia prawidłowej liczby komórek CD34+ i CD34+CD133 oraz ujawnia niedobory komórek progenitorowych, takich jak CD34+VEGFR2+CD133+, CD34+VEGFR2+c-Kit+ oraz ich produkujących tlenek azotu subpopulacji. Wydaje się więc, że terapia nie niweluje narastającego uszkodzenia śródbłonka. Niezależnym czynnikiem, związanym ze wzrostem zagrożenia niedoborem komórek progenitorowych śródbłonka, jest pogarszający się stan kliniczny pacjentów. Nieskuteczna terapia nie tylko nie obniża ciśnienia tętniczego do wartości pożądanych, ale także wiąże się z drastycznym niedoborem populacji progenitorów komórek śródbłonka, takich jak CD34+VEGFR2+c-Kit+ oraz CD34+VEGFR2+CXCR4-, co może utrudniać regenerację śródbłonka.

Skuteczna terapia nadciśnienia tętniczego nie regeneruje w sposób pełny komórek zdolnych do odtwarzania śródbłonka naczyniowego, zaś nieskuteczna terapia wiąże się z drastycznym niedoborem populacji progenitorów.