

На правах рукописи

Маслацов Николай Анатольевич

**ИССЛЕДОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ
КАЛЬЦИФИКАЦИИ СТАБИЛЬНЫХ И НЕСТАБИЛЬНЫХ
АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК В КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЯХ**

3.1.20. Кардиология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

Научно-исследовательском институте терапии и профилактической медицины – филиале Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН)

Научный руководитель:

чл.-корр. РАН, доктор медицинских наук, профессор

Рагино Юлия Игоревна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, доцент

Кашталап Василий Васильевич

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Сибирского отделения Российской академии наук, заведующий отделом клинической кардиологии

доктор биологических наук, профессор

Метельская Виктория Алексеевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, руководитель лаборатории изучения биохимических маркеров риска хронических неинфекционных заболеваний

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России)

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2024 г. в _____ на заседании диссертационного совета **24.1.239.02** созданного на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» по адресу: 630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, д. 175/1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН (630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, д. 175/1, <https://iimed.ru>)

Автореферат разослан « ____ » _____ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук

С. В. Мустафина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Исследование этиопатогенетических механизмов атеросклероза и его осложнений, в том числе кальцификации атеросклеротических бляшек, является современной фундаментальной задачей медицины. Проблема влияния сосудистой кальцификации в особенности выраженной на формирование нестабильных атером, представляющих собой патогенетический субстрат для атеротромбоза с развитием инфаркта миокарда (ИМ) и острого коронарного синдрома (ОКС) в целом, остаётся дискуссионной до настоящего момента: способствует атерокальциноз или, наоборот, замедляет развитие нестабильной атеросклеротической бляшки. Сложилось общее представление о том, что способствующие развитию коронарных событий нестабильные атеросклеротические бляшки имеют, в отличие от стабильных, несколько ключевых признаков: в первую очередь – это характерная истончённая, зачастую с дефектами и разрывами, фиброзная покрышка; во-вторых, значительное по размеру, в сравнении с самой атеросклеротической бляшкой, липидное ядро; в-третьих, отсутствие очагов плотной кальцификации [Panh L. et al., 2017; Shioi A. et al., 2017]. Тем не менее, в ряде работ было продемонстрировано, что кальцификация бляшек в коронарных артериях является сильным и независимым предиктором формирования нестабильных атером и в целом неблагоприятного сердечно-сосудистого прогноза [O'Donnell C.J. et al., 2011; Stone G.W. et al., 2011; Bowman H. M.A. et al 2012; Borissoff J.I. et al., 2012; Shaw L.J. et al., 2015; de Oliveira-Santos M. et al., 2017; Zhan Y. et al., 2017; Shi X. et al., 2020].

У пациентов с коронарным атеросклерозом интерпретация феномена коронарной кальцификации в зависимости от ультраструктуры кальцинирующего поражения может значительно различаться. Так, на стабильность атеросклеротической бляшки может указывать плотная очаговая кальцификация. И, напротив, на уязвимость атеросклеротических бляшек и высокий риск развития осложнений, связанных с разрывом фиброзной покрышки и атеротромбозом, могут указывать диссеминированные очаги микрокальцификации [Кашталап В.В. и др., 2016].

Кальцификация атеросклеротических бляшек коронарных сосудов не просто коррелирует в зависимости от степени с традиционными факторами риска, но и сама независимо связана с риском возникновения сердечно-сосудистых событий, а её распространённость может достигать 90 % [Davaine J.M. et al., 2016].

Механизмы сосудистой кальцификации представляют собой аналогичные остеогенезу процессы, регулируемые благодаря биомолекулам и соединениям костной ткани, среди которых можно отметить: а) фосфаты и соли кальция, в том числе, в форме гидроксиапатита; б) коллаген I типа, выполняющий не только структурную, но и сигнальную функции, влияя на работу микровезикул и трансформацию ГМК; в) остеогенные факторы, такие как остеопонтин, остеоонектин, остеопротегерин, остеокальцин и другие [Qiao J.H. et al., 2015; Higgins C.L. et al., 2015]. Резорбция очагов кальцификации была выявлена в атеросклеротических бляшках, где также были

идентифицированы остеобластоподобные клетки [Inaba M., Ueda M. 2015; Zhang H. et al., 2015].

Степень разработанности темы исследования

Изучение биомолекул, ассоциированных с процессами кальцификации при атеросклеротических поражениях артерий, является актуальной развивающейся областью научных исследований. На сегодняшний день имеющиеся совершенно противоположные точки зрения многих исследователей относительно влияния кальцификации на нестабильность атеросклеротической бляшки указывают на нерешённость проблемы. Данные об изучении биомолекул кальцификации непосредственно в атеросклеротических очагах коронарных артерий человека практически отсутствуют, а данные об ассоциации биомолекул кальцификации с развитием неблагоприятных сердечно-сосудистых событий крайне малочисленны.

В связи с вышеизложенным, изучение этиопатогенеза сосудистой кальцификации и определение её роли в атерогенезе и формировании нестабильных атеросклеротических бляшек, являющихся патогенетическим субстратом развития ОКС и инфаркта миокарда, становится актуальной современной темой как для исследования атерогенеза в общем, так и для получения новых данных, дополняющих и уточняющих известные механизмы формирования нестабильных атеросклеротических бляшек.

Цель работы

Исследовать у мужчин с коронарным атеросклерозом биомолекулы кальцификации атеросклеротических бляшек (остеопонтин, остеоонектин, остеопротегерин, остеокальцин) в крови и в сосудистой стенке и выявить ассоциации данных биомолекул с развитием неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в пятилетний период после операции коронарного шунтирования (КШ).

Задачи исследования

1. Изучить клинические характеристики мужчин с коронарным атеросклерозом, имеющих нестабильные атеросклеротические бляшки в коронарных артериях.
2. Исследовать биохимические факторы кальцификации (остеопонтин, остеоонектин, остеопротегерин, остеокальцин) и эндотелиальной дисфункции (sVCAM-1, MCP-1, E-селектин) у мужчин с коронарным атеросклерозом в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках коронарных артерий.
3. Исследовать биохимические факторы кальцификации (остеопонтин, остеоонектин, остеопротегерин, остеокальцин) и эндотелиальной дисфункции (sVCAM-1, MCP-1, E-селектин) в крови у мужчин с коронарным атеросклерозом с наличием нестабильных и кальцифицированных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях.
4. Осуществить поиск ассоциаций факторов кальцификации атеросклеротических бляшек (остеопонтин, остеоонектин, остеопротегерин, остеокальцин) с наступлением комбинированной конечной точки: смерть от сердечно-сосудистого заболевания; инфаркт миокарда; инсульт; проведение дополнительной операции (неблагоприятный прогноз) в отдалённый пятилетний период после операции коронарного шунтирования.

Научная новизна работы

Впервые у мужчин с коронарным атеросклерозом исследованы биохимические факторы кальцификации (остеопонтин, остеоонектин, остеопротегерин, остеокальцин) в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках коронарных артерий. Было установлено, что показатели остеоонектина в нестабильных атеросклеротических бляшках коронарных артерий в 1,5 раза ниже, чем в стабильных бляшках. В атеросклеротических бляшках с крупными кальцификатами снижено содержание остеопонтинина (в 4,2 раза) и остеоонектина (в 2,3 раза) при сопоставлении с бляшками без кальцификации. Значения остеокальцина увеличивались с кальцификацией бляшки и достигали наибольших показателей в бляшках с крупными кальцификатами – в 10,7 раз больше, чем в бляшках без кальцификатов и в 1,7 раз больше, чем в бляшках с мелкими кальцификатами. Показано, что шанс формирования нестабильной атеросклеротической бляшки связан со степенью кальцификации очага: вероятность наличия нестабильной бляшки выше в 4,4 раза при наличии в ней мелких кальцификатов (ОШ = 4,413; 95 % ДИ 1,545–12,602) и выше почти в 40 раз – при наличии в ней крупных кальцификатов (ОШ = 39,443; 95 % ДИ 3,564–436,53) по отношению к некальцинированным бляшкам. В атеросклеротических бляшках коронарных артерий относительный риск формирования кальцификатов связан с остеокальцином (ОШ = 1,011; 95 % ДИ 1,004–1,018).

Впервые изучены биохимические факторы кальцификации (остеопонтин, остеоонектин, остеопротегерин, остеокальцин) в крови у мужчин, имевших в коронарных артериях нестабильные и кальцифицированные атеросклеротические бляшки. Выявлены статистически значимые корреляционные связи между показателями в атеросклеротических бляшках и в крови уровней биомолекул sVCAM-1 ($r = 0,180$; $p = 0,038$); MCP-1 ($r = 0,263$; $p = 0,003$), остеопонтинина ($r = -0,192$; $p = 0,031$) и остеокальцина ($r = 0,353$; $p = 0,0001$). Показатели остеоонектина в крови у мужчин, имевших в коронарных артериях нестабильные атеросклеротические бляшки выше ($p = 0,024$), чем у мужчин, не имевших в коронарных артериях нестабильных бляшек. Значения остеокальцина в крови у мужчин, имевших кальцифицированные атеросклеротические бляшки в коронарных артериях, в 1,2 раза выше ($p = 0,033$), чем у мужчин, не имевших в коронарных артериях кальцифицированных атеросклеротических бляшек.

Впервые проведён поиск ассоциаций факторов кальцификации атеросклеротических бляшек (остеопонтин, остеоонектин, остеопротегерин, остеокальцин) с наступлением комбинированной конечной точки: смерть от сердечно-сосудистых заболеваний; инфаркт миокарда; инсульт; проведение дополнительной операции (неблагоприятный прогноз) в отдалённый пятилетний период после операции коронарного шунтирования. Установлено, что у мужчин с коронарным атеросклерозом с неблагоприятным после операции КШ пятилетним прогнозом показатели остеокальцина в крови до операции были выше в 1,2 раза ($p = 0,035$), чем у мужчин с благоприятным отдалённым пятилетним прогнозом. У мужчин с коронарным атеросклерозом после операции КШ отдалённый неблагоприятный пятилетний прогноз прямо ассоциирован с

возрастом (ОШ 1,139; 95 % ДИ 1,006–1,289); ($p = 0,039$), показателями окружности талии (ОШ 1,097; 95 % ДИ 1,004–1,199); ($p = 0,040$) и уровнем остеокальцина в крови (ОШ 1,095; 95 % ДИ 1,002–1,171); ($p = 0,015$).

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты исследования биохимических факторов кальцификации (остеопонтин, остеоонектин, остеопротегерин, остеокальцин) у мужчин с коронарным атеросклерозом в атеросклеротических бляшках коронарных артерий позволили прийти к выводу, что шанс формирования нестабильной бляшки связан со степенью её кальцификации – вероятность развития нестабильной бляшки повышается при наличии в ней кальцификатов, особенно крупных. Относительный риск формирования в атеросклеротических бляшках коронарных артерий кальцификатов прямо ассоциирован с содержанием в них остеокальцина.

Результаты изучения биомаркеров кальцификации (остеопонтин, остеоонектин, остеопротегерин, остеокальцин) в крови у мужчин с коронарным атеросклерозом позволили прийти к выводу, что содержание в крови остеокальцина, во-первых, прямо ассоциировано с его содержанием в атеросклеротических бляшках коронарных артерий и, во-вторых, выше у участников исследования, имевших кальцифицированные атеросклеротические бляшки в коронарных артериях, чем у участников без таковых.

Выявлено, что у мужчин с коронарным атеросклерозом после операции КШ отдаленный неблагоприятный пятилетний прогноз прямо ассоциирован с возрастом, показателем окружности талии и уровнем в крови остеокальцина.

Методология и методы диссертационного исследования

Диссертационное исследование было проведено в несколько этапов, по дизайну являлось исследованием «наблюдательное когортное одноцентровое исследование с проспективным пятилетним наблюдением». 130 мужчин с атеросклерозом коронарных артерий, подтверждённым данными коронарографии, со стабильной стенокардией напряжения приняли участие в исследовании, им была проведена плановая операция КШ. Взятие крови для исследования проводилось перед операцией. В ходе операции КШ у 78 пациентов по кардиохирургическим показаниям была проведена коронарная эндартерэктомия и выполнен забор интимы-медии артерий. Степень кальцификации коронарного русла как до операции КШ, так и интраоперационно не оценивалась. Всего из материала эндартерэктомии, забранного у 78 пациентов, было получено 140 фрагментов-образцов интимы-медии для проведения биохимических и гистологических исследований. В 140 фрагментах-образцах интимы-медии гистологическим методом были определены 89 стабильных и 51 нестабильная атеросклеротическая бляшка. Далее 78 участников исследования поделили на 2 подгруппы: в подгруппу I включены 40 мужчин без нестабильных бляшек, в подгруппу II – 38 мужчин с наличием хотя бы одной нестабильной атеросклеротической бляшки в коронарных артериях. С помощью иммуноферментного анализа оценивали концентрации биомолекул, ассоциированных с кальцификацией (остеопонтин, остеоонектин, остеопротегерин, остеокальцин), в крови и в гомогенатах атеросклеротических бляшек коронарных артерий. Через пять лет после КШ у 92

участников был оценен отдалённый прогноз. Под неблагоприятным прогнозом принято наступление комбинированной конечной точки: смерть от сердечно-сосудистого заболевания; инсульт; фатальный и нефатальный инфаркт миокарда; проведение дополнительной операции (чрескожное коронарное вмешательство, повторное коронарное шунтирование). Для изучения отдалённого прогноза у пациентов, проходивших в пятилетний период лечение и обследование в поликлиниках и стационарах, использовали выписки из медицинской документации – амбулаторных карт и/или историй болезни в том числе и у повторно оперированных пациентов, а также данные при повторных обращениях в поликлинику и/или клинику ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина Минздрава России». Наступление комбинированной конечной точки также фиксировалось методом направленного интервью пациентов по телефону при предоставлении пациентами или их родственниками медицинской документации, в противном случае – пациенты исключались, а их данные не учитывались в проспективной части исследования. Статистический анализ данных, проведённый на заключительном этапе, и построение многофакторной регрессионной модели позволили сформулировать обоснованные выводы и получить статистически значимые данные.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Формирование в коронарных артериях у мужчин нестабильных атеросклеротических бляшек напрямую ассоциировано с наличием в них кальцификатов. У мужчин наличие в атеросклеротических бляшках в коронарных артериях очагов кальцификации напрямую ассоциировано с содержанием в них остеокальцина.

2. Уровень в крови остеокальцина у мужчин с коронарным атеросклерозом напрямую ассоциирован с его содержанием в атеросклеротических бляшках коронарных артерий, а при наличии кальцифицированных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях остеокальцин повышен в крови.

3. Отдаленный неблагоприятный пятилетний прогноз у мужчин с коронарным атеросклерозом после операции КШ прямо ассоциирован с возрастом, окружностью талии и уровнем в крови остеокальцина.

Степень достоверности результатов исследования

Мощность выборки была рассчитана по формуле:

$$N_{\min} = 15,4 * (p * (1-p)) / W^2, \quad (1)$$

где p – ожидаемое значение вероятности случайного события;

W – ширина доверительного интервала для значения вероятности.

Минимальный объём выборки пациентов с коронарным атеросклерозом, которым во время операции КШ была выполнена коронарная эндартерэктомия, по данной формуле составил 60. В основную группу мужчин в исследовании было включено 78 человек.

Достоверность результатов диссертации обеспечена использованием современных лабораторных, функционально-диагностических и клинических методик.

Для проведения статистического анализа был использован пакет программ SPSS Statistics версии 17.0.

Апробация результатов диссертации

Результаты работы были представлены и обсуждены: на Российских национальных конгрессах кардиологов (Екатеринбург, 2019; Онлайн, 2020; Санкт-Петербург, 2021; Казань, 2022); Всероссийских конференциях Национального общества по атеросклерозу (Москва, 2019–2022). Апробация диссертационной работы была проведена 20 июня 2022 г. на межлабораторном семинаре НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН.

Внедрение результатов исследования

Диссертационная работа проведена в рамках: а) бюджетной темы по Государственному заданию № АААА-А17-117112850280-2; б) бюджетной темы при поддержке биоресурсных коллекций по Государственному заданию № 0324-2017-0048; в) Программы научно-исследовательских работ НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН (руководитель программы проф. Рагино Ю. И.) совместно с ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России (руководитель программы проф. Чернявский А. М.), проведение исследования было одобрено этическими комитетами учреждений; г) финансовой поддержки гранта РФФИ № 19-015-00055 «Роль сосудистого кальциноза в стабильности и нестабильности атеросклеротических бляшек» (2019–2021 гг.).

Материалы и выводы диссертации используются в работе клиники НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН, а также в учебном процессе – в «Школах по липидологии» для врачей, в программах клинической ординатуры НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН – терапевтов, кардиологов, липидологов.

Публикации. Опубликовано 5 статей по материалам диссертации, из них 4 статьи опубликованы в центральных российских журналах, рекомендованных перечнем ВАК РФ, 1 статья в журнале реферативной базы данных и системы цитирования Web of Science (Q1).

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа представлена на 124 страницах машинописного текста и содержит 11 таблиц и 20 рисунков. Структура работы включает введение, обзор литературы, главу, посвященную материалам и методам исследования, главу собственных исследований, обсуждение результатов, заключение, выводы, практические рекомендации и список использованной литературы. В списке цитируемых источников присутствует 220 публикаций, включая 34 российских и 186 зарубежных источников.

Личный вклад автора

Автором была разработана проспективная часть исследования, в рамках которой была подготовлена база данных с опорой на протоколы и полученные результаты. Кроме того, был выполнен статистический анализ данных и научное обоснование результатов исследования. Автор лично принимал участие в проведении иммуноферментных исследований крови. Все научные публикации, содержащие

полученные результаты, были написаны и опубликованы совместно с соавторами в журналах, рекомендованных ВАК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн исследования – обсервационное когортное с проспективным пятилетним наблюдением (рисунок 1). Все пациенты заполняли и подписывали форму согласия на обработку персональных данных и информированное согласие на участие в исследовании.

Общая характеристика обследования пациентов

В исследовании приняли участие 130 мужчин в возрасте от 50 до 75 лет, их средний возраст составил $(60,4 \pm 6,3)$ лет, со стабильной стенокардией напряжения, без ОКС, с коронарным атеросклерозом, верифицированным по данным коронароангиографии, которые поступили в клинику ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина Минздрава России» в период с 2016 по 2021 гг. на операцию коронарного шунтирования (КШ).



Рисунок 1 – Дизайн исследования

Критериями включения в исследование являлись: мужской пол; подтверждённый коронароангиографией диагноз ИБС; анамнез перенесенного ИМ или приступов

стабильной стенокардии напряжения, документированных описанием клинической картины и данными инструментальных методов исследования.

Критериями исключения из исследования являлись: женский пол; недавний анамнез ОКС – ИМ или нестабильная стенокардия, возникшие менее 6 месяцев до поступления в клинику; тяжелая, клинически значимая острая сопутствующая патология или в стадии обострения (печеночная недостаточность, дыхательная недостаточность, почечная недостаточность, хронические инфекционно-воспалительные заболевания); анамнестически известные – токсическое поражение тяжелыми металлами, гиперпаратиреоз, активные онкологические заболевания.

В условиях ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина Минздрава России» операция КШ была проведена всем 130 пациентам – участникам исследования. Взятие крови для исследования проводилось перед операцией.

По показаниям у 78 участников, которые составили основную подгруппу, во время операции КШ была выполнена эндартерэктомия из одной или нескольких коронарных артерий. В ходе эндартерэктомии было произведено взятие интимы-меди артерий для дальнейшего исследования. Каждый полученный материал эндартерэктомии был симметрично разделен поперечно и продольно на 3–4 фрагмента. Для выполнения иммуноферментных и гистологических исследований использовали 140 образцов фрагментов интимы-меди из материала эндартерэктомии 78 участников. Оценка кальцификации коронарного русла, в том числе атеросклеротических бляшек, подвергшихся впоследствии эндартерэктомии, до операции КШ и интраоперационно не проводилась.

В патоморфологической лаборатории ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина Минздрава России» было проведено гистологическое исследование полученного биоматериала. После макроскопического описания образцов, включающего характер сужения просвета артерии, протяженности атеросклеротической бляшки, кровоизлияния в структуры атеросклеротической бляшки, тромбы и очаги кальцификации, был выполнен гистологический анализ. Для анализа использовался бинокулярный микроскоп Axiostar Plus. Окраска полученных образцов проводилась стандартным методом гематоксилин-эозином и по Ван Гизону. Наличие нестабильных и стабильных атеросклеротических бляшек выявлялось после гистологического исследования образцов интимы-меди. Нестабильную атеросклеротическую бляшку выявляли, опираясь на данные, представленные в работах Waksman R., исходя из следующих критериев: наличие крупного липидного ядра, занимающего более 40 % общей площади бляшки; инфильтрация Т-лимфоцитами и макрофагами более 25 в поле зрения 0,3 мм, а также – толщина фиброзной покрышки не превышает 65 мкм [213]. В 140 фрагментах образцах интимы-меди были определены 89 стабильных и 51 нестабильная атеросклеротическая бляшка.

В ходе проведенного гистологического исследования фрагментов интимы-меди из 78 было отобрано 40 мужчин, у которых не было выявлено в коронарных артериях нестабильных бляшек, и сформирована первая подгруппа. Во вторую подгруппу вошли

38 мужчин, у которых в коронарном русле была определена хотя бы одна нестабильная бляшка.

Лабораторные методы исследования

В условиях лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН под руководством ведущего научного сотрудника д-ра биол. наук Каштановой Е. В. были проведены биохимические исследования. Методами иммуноферментного анализа (ИФА) на ИФА-анализаторе MultiscanEX (Thermo Labsystem, Финляндия) в крови и в гомогенатах атеросклеротических бляшек коронарных артерий определяли концентрации биомолекул, ассоциированных с кальцификацией: остеопротегерин; остеооптин (тест-системы ELISA Bender MedSystems); остеоонектин; остеокальцин (тест-системы ELISA Immunodiagnostic Systems Ltd). Также определяли концентрации биомолекул, ассоциированных с эндотелиальной дисфункцией, в гомогенатах атеросклеротических бляшек коронарных артерий и в крови: моноцитарно-хемоаттрактантный протеин 1 типа- MCP-1; молекулы адгезии: E-селектин; sVCAM-1 (тест-системы ELISA Bender MedSystems). В гомогенатах также определяли белок по методу Лоури и рассчитывали результаты относительно белка.

Оценка отдалённых результатов после операции коронарного шунтирования

Через 5 лет после операции КШ из 130 участников исследования у 92 пациентов (70,8 %) был изучен отдалённый прогноз. У 38 участников исследования не удалось определить отдалённый пятилетний прогноз по нескольким объективным причинам: с момента операции КШ не прошло пяти лет (набор участников исследования продолжался с 2016 по 2021 гг.); смерть от иных причин, не связанных с сердечно-сосудистой патологией; не получилось установить повторный контакт. Для изучения отдалённого прогноза у пациентов, проходивших в пятилетний период лечение и обследование в поликлиниках и стационарах, использовали выписки из медицинской документации – амбулаторных карт и/или историй болезни, в том числе, и у повторно оперированных пациентов, а также – данные при повторных обращениях в поликлинику и/или клинику ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина Минздрава России». Наступление комбинированной конечной точки также фиксировалось методом направленного интервью пациентов по телефону при предоставлении пациентами или их родственниками медицинской документации, в противном случае пациенты исключались, а их данные не учитывались в проспективной части исследования. Учитывались следующие конечные точки: смерть от сердечно-сосудистых заболеваний; нефатальный инфаркт миокарда; фатальный инфаркт миокарда; проведение дополнительной операции (чрескожное коронарное вмешательство, повторное коронарное шунтирование); инсульт. С учётом прогноза было сформировано 2 подгруппы пациентов – 64 мужчины (69,6 %) с благоприятным отдалённым пятилетним периодом после операции КШ составили 1 подгруппу, 28 мужчин (30,4 %) с неблагоприятным (наступление комбинированной конечной точки) отдалённым пятилетним периодом составили 2 подгруппу.

Статистическая обработка. Данные, полученные в результате исследования, были обработаны при помощи программ SPSS Statistics (версия 17.0). Для оценки характера распределения количественных признаков использовался тест Колмогорова–Смирнова. Сравнение групп с нормальным распределением осуществлялось с использованием t-критерия Стьюдента. В тексте представлены количественные характеристики признаков в виде среднего арифметического значения (M) и стандартного отклонения (SD). Непараметрический U-критерий Mann-Whitney использовался для сравнения независимых переменных в группах при ненормальном распределении признаков. Полученные результаты представлены в виде медианы (Me) с указанием межквартильного размаха – 25-й и 75-й процентиля. В настоящем исследовании была проведена оценка зависимости количественных признаков выборочных данных из совокупностей на основании рангового коэффициента корреляции Спирмена (r_s). Для оценки вероятности наличия кальцифицированных или нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях была применена множественная логистическая регрессия, основанная на уровнях, изучаемых биомолекул кальцификации в крови. Результаты данного анализа, представленные в таблице, были выражены в виде отношения шансов (ОШ) с 95 % доверительным интервалом (ДИ) для ОШ.

Для исследования ассоциаций и различия пропорций при оценке качественных признаков был использован критерий χ^2 Пирсона. Мощность выборки была рассчитана по формуле:

$$N \text{ min} = 15.4 \cdot (p \cdot (1-p)) / W^2, \quad (1)$$

где p – ожидаемое значение вероятности случайного события;

W – ширина доверительного интервала для значения вероятности.

По данной формуле было определено, что минимальное количество пациентов с коронарным атеросклерозом после КШ с коронарной эндартерэктомией составляет 60 человек. В исследование включены 78 мужчин в основной группе.

На всех этапах статистического анализа критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимался менее 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клинические характеристики у мужчин с коронарным атеросклерозом с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях

Исходя из данных таблицы 1, по характеристикам клинического течения заболевания (анамнез перенесённого ИМ, ФК стенокардии напряжения) и факторов риска ССЗ, по распространенности атеросклеротического поражения коронарных артерий (одно- или многососудистое поражение коронарных артерий) участники исследования с коронарным атеросклерозом и без нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях не отличались от пациентов с наличием (хотя бы одной) нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях. Данные опираются

на гистологический анализ образцов интима-медиа, рисунок 2 наглядно демонстрирует данные таблицы 1.

Таблица 1 – Сравнительная клиническая характеристика мужчин с коронарным атеросклерозом с наличием и отсутствием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях

Параметры	I подгруппа пациенты без нестабильных бляшек n = 40	II подгруппа пациенты с нестабильными бляшками n = 38	p
Возраст, лет	59,4 ± 6,6	60,6 ± 6,5	0,511
ИМТ, кг/м ²	28,8 ± 5,1	29,4 ± 4,7	0,391
Избыточный вес (ИМТ 25–29,9 кг/м ²)	11 (27,5 %)	15 (39,5 %)	0,102
Ожирение (ИМТ ≥ 30 кг/м ²)	10 (25 %)	12 (31,6 %)	0,209
Курение	8 (20 %)	6 (15,8 %)	0,431
Гиперхолестеринемия (ОХС ≥ 5,0 ммоль/л)	30 (75 %)	28 (73,7 %)	0,875
Гипертоническая болезнь	38 (95 %)	35 (92,1 %)	0,661
Сахарный диабет 2 типа	10 (25 %)	10 (26,3 %)	0,587
ИМ в анамнезе	28 (70 %)	27 (71 %)	0,782
Стабильная стенокардия напряжения:			
II ФК	10 (25 %)	10 (26,3 %)	0,541
III ФК	30 (75 %)	28 (73,7 %)	0,631
Многососудистое поражение коронарных артерий	35 (87,5 %)	34 (89,5 %)	0,518

Биохимические факторы кальцификации и эндотелиальной дисфункции в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках из коронарных артерий у мужчин с коронарным атеросклерозом

Среди изученных нестабильных атеросклеротических бляшек коронарных артерий, опираясь на результаты гистологического исследование, 80 % бляшек имели очаги кальцификации, стабильные же бляшки – только в 45 % случаев имели в своей структуре кальцификаты (таблица 2).

При исследовании биомолекул эндотелиальной дисфункции значимые различия между стабильными и нестабильными бляшками были получены для sVCAM-1 и E-селектина (таблица 3).

Таблица 2 – Характеристика атеросклеротических бляшек по наличию кальцификатов

Наличие кальцификатов	Стабильная бляшка n (%)	Нестабильная бляшка n (%)
Общее количество	89 (100 %)	51 (100 %)
Нет	49 (55,1 %)	10 (19,6 %)
Мелкие и пылевидные	36 (40,4 %)	31 (60,8 %)
Крупные	4 (4,5 %)	10 (19,6 %)

Таблица 3 – Биохимические маркеры эндотелиальной дисфункции в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках (Ме [25 %; 75 %])

Показатели	Стабильная бляшка (n = 89)	Нестабильная бляшка (n = 51)	p
МСР-1, (пг/мг белка)	79,0 [35,4; 169,5]	85,4 [35,5; 174,1]	0,904
sVCAM-1, (нг/мг белка)	122,9 [45,9; 254,4]	66,4 [18,5; 161,3]	0,014
Е-селектин, (нг/мг белка)	5,4 [1,8; 14,9]	2,0 [1,1; 3,8]	0,0001

При анализе показателей кальцификации в стабильных и нестабильных бляшках, значимое различие было получено только для остеоонектина, уровень которого был в 1,5 раза выше в стабильных бляшках (таблица 4).

При оценке маркеров эндотелиальной дисфункции в очагах с разной степенью кальцификации выявлено снижение уровня sVCAM-1 и Е-селектина в очагах с крупными кальцификатами. Значимое снижение этих показателей было по отношению как к участкам без кальцификатов, так и к участкам с мелкими кальцификатами (таблица 5).

Таблица 4 – Маркеры кальцификации в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках (Ме [25 %; 75 %])

Показатели	Стабильная бляшка (n = 89)	Нестабильная бляшка (n = 51)	p
Остеопротегерин, (пг/мг белка)	110,7 [43,0; 235,9]	89,9 [34,4; 249,4]	0,491
Остеопонтин, (нг/мг белка)	3,3 [1,4; 8,1]	1,7 [0,7; 7,6]	0,122
Остеокальцин, (нг/мг белка)	16,9 [2,3; 112,9]	14,0 [3,7; 100,5]	0,691
Остеонектин, мкг/мг белка	2,4 [1,4; 4,4]	1,6 [1,1; 2,9]	0,024

Таблица 5 – Маркеры эндотелиальной дисфункции в гомогенатах интимы-медии коронарных артерий исходя из гистологической характеристики степени кальцификации (Me [25 %; 75 %])

Показатели	1. Без кальцификатов (n=59)	2. Мелкие и пылевидные кальцификаты (n=67)	3. Крупные кальцификаты (n=14)	p
МСР-1, (пг/мг белка)	80,2 [35,0; 147,8]	77,5 [37,2; 174,1]	148,2 [29,0; 179,3]	(1-2) 0,069 (1-3) 0,762 (2-3) 0,441
sVCAM-1, (нг/мг белка)	115,0 [44,6; 239,2]	110,9 [34,3; 229,5]	30,3 [8,1; 52,3]	(1-2) 0,074 (1-3) 0,005 (2-3) 0,01
Е-селектин, (нг/мг белка)	4,9 [2,1; 13,0]	3,1 [1,1; 7,9]	0,9 [0,3; 2,1]	(1-2) 0,016 (1-3) 0,002 (2-3) 0,048

Значения остеокальцина увеличивались с кальцификацией бляшки и достигали наибольших показателей в бляшках с крупными кальцификатами – в 10,7 раз больше, чем в бляшках без кальцификатов и в 1,7 раз больше ($p = 0,025$), чем в бляшках с мелкими кальцификатами (таблица 6).

Анализ корреляционных связей между биомолекулами эндотелиальной дисфункции и биомолекулами кальцификации в атеросклеротических очагах представлен в таблице 7.

Таблица 6 – Маркеры кальцификации в атеросклеротических бляшках коронарных артерий в зависимости от гистологической оценки степени кальцификации (Me [25 %; 75 %])

Показатели	1. Без кальцификатов (n = 59)	2. Мелкие и пылевидные кальцификаты (n = 67)	3. Крупные кальцификаты (n = 14)	p
Остеопротегерин, пг/мг белка	122,4 [43,8; 194,7]	115,1 [32,3; 264,0]	66,7 [40,4; 118,5]	(1-2) 0,063 (1-3) 0,762 (2-3) 0,441
Остеопонтин, нг/мг белка	4,6 [1,8; 10,2]	2,3 [0,9; 7,3]	1,1 [0,3; 3,5]	(1-2) 0,056 (1-3) 0,012 (2-3) 0,236
Остеокальцин, нг/мг белка	5,6 [1,2; 54,5]	34,3 [7,8; 148,1]	60,1 [3,0; 156,0]	(1-2) 0,001 (1-3) 0,545 (2-3) 0,025

Показатели	1. Без кальцификатов (n = 59)	2. Мелкие и пылевидные кальцификаты (n = 67)	3. Крупные кальцификаты (n = 14)	p
Остеонектин, мкг/мг белка	2,3 [1,1; 4,9]	2,0 [1,3; 3,8]	0,98 [0,4; 2,1]	(1-2) 0,088 (1-3) 0,016 (2-3) 0,023

Таблица 7 – Корреляционные связи между маркерами эндотелиальной дисфункции и кальцификации в атеросклеротических бляшках коронарных артерий

Показатели	МСР-1, пг/мг белка	sVCAM, нг/мг белка	Е-селектин, нг/мг белка
Остеопротегерин, (пг/мг белка)	r = 0,489 p = 0,0001	r = 0,223 p = 0,008	r = 0,125 p = 0,157
Остеопонтин, (нг/мг белка)	r = 0,523 p = 0,0001	r = 0,388 p = 0,0001	r = 0,312 p = 0,0001
Остеокальцин, (нг/мг белка)	r = 0,290 p = 0,001	r = 0,329 p = 0,0001	r = 0,097 p = 0,274
Остеонектин, (мкг/мг белка)	r = 0,421 p = 0,0001	r = 0,669 p = 0,0001	r = 0,520 p = 0,0001

Для уточнения влияния факторов эндотелиальной дисфункции на маркеры кальцификации был проведён множественный линейный регрессионный анализ. Было проанализировано несколько моделей, где в качестве зависимой переменной включали один из факторов кальцификации (остеонектин, остеопонтин, остеокальцин и остеопротегерин), в качестве независимых выступали изучаемые маркеры эндотелиальной дисфункции (МСР-1, sVCAM-1 и Е-селектин). Было выявлено, что остеокальцин связан с sVCAM-1 ($B = 0,01$; $p = 0,0001$) и Е-селектином ($B = 0,055$; $p = 0,001$) ($R^2 = 0,596$; $p = 0,0001$). Уровень остеопонтин ассоциирован с sVCAM ($B = 0,013$; $p = 0,043$) ($R^2 = 0,296$; $p = 0,0001$); остеокальцин связан с молекулами адгезии сосудистого эндотелия ($B = 0,85$; $p = 0,001$); ($R^2 = 0,184$; $p = 0,0001$); уровень остеопротегерина также зависит от sVCAM-1 ($B = 0,249$; $p = 0,038$); ($R^2 = 0,084$; $p = 0,014$). Проведенный далее пошаговый анализ подтвердил полученные результаты.

Проведенный мультивариантный логистический регрессионный анализ с построением мультивариантных моделей, где в качестве зависимой переменной было прогрессирование атеросклеротического поражения до нестабильной бляшки (стабильная/нестабильная), показал, что шанс формирования нестабильной бляшки связан со снижением в ней уровня Е-селектина (ОШ = 0,924; 95 % ДИ 0,854–0,999), ($p = 0,047$) и со степенью кальцификации очага: вероятность наличия нестабильной бляшки выше в 4,4 раза при наличии в ней мелких кальцификатов (ОШ = 4,413; 95 % ДИ 1,545–12,602), ($p = 0,006$) и выше почти в 40 раз – при наличии в ней крупных

кальцификатов (ОШ = 39,443; 95 % ДИ 3,564–436,53), ($p = 0,003$) по отношению к бляшкам без кальцификации.

При проведении мультивариантного логистического анализа, где в качестве зависимой переменной было взято наличие кальцификации атеросклеротического очага (нет/есть кальцификация), относительный риск формирования кальцификатов в атеросклеротических бляшках коронарных артерий был связан с остеокальцином (ОШ = 1,011; 95 % ДИ 1,004–1,018), ($p = 0,001$).

Биохимические факторы кальцификации и эндотелиальной дисфункции в крови у мужчин с коронарным атеросклерозом

Необходимо рассматривать системные, а не только местные патофизиологические аспекты для изучения механизмов прогрессирования атерогенеза, ведущих к уязвимости бляшки. Поэтому крайне актуальными являются исследования, проводимые параллельно в сосудах и в крови.

При изучении ассоциаций содержания биомолекул кальцификации и дисфункции эндотелия между атеросклеротическими бляшками и кровью были выявлены статистически значимые корреляционные связи для sVCAM-1 ($r = 0,180$; $p = 0,038$), MCP-1 ($r = 0,263$; $p = 0,003$), остеопонтин ($r = -0,192$; $p = 0,031$) и остеокальцин ($r = 0,353$; $p = 0,0001$). Полученный результат позволяет предположить возможность использования этих биомолекул, особенно остеокальцина, в качестве потенциального биомаркера оценки состояния сосудистой стенки по анализу крови.

Для определения в крови возможных значимых биомаркеров, указывающих на имеющиеся нестабильные бляшки в коронарном русле, 78 участников исследования поделили на 2 подгруппы: в подгруппу I включены 40 мужчин без нестабильных бляшек, в подгруппу II – 38 мужчин с наличием хотя бы одной нестабильной атеросклеротической бляшки в коронарных артериях. В соответствии с результатами из таблицы 8, из всех исследованных в работе биохимических маркеров, различия между двумя подгруппами были получены лишь для остеокальцина, содержание которого в крови у мужчин, имевших нестабильные бляшки в коронарном русле, было несколько выше.

Таблица 8 – Биохимические маркеры кальцификации и эндотелиальной дисфункции в крови мужчин с коронарным атеросклерозом в зависимости от типа бляшки в коронарной артерии (Me [25 %; 75 %])

Показатели	I подгруппа (только стабильные бляшки в коронарных артериях) n = 40	II группа (есть нестабильная бляшка в коронарной артерии) n = 38	p
Остеопротегерин, (пг/мл)	60,5 [36,5; 79,9]	49,0 [43,5; 60,5]	0,154
Остеопонтин, (нг/мл)	28,2 [18,1; 42,1]	27,5 [17,1; 38,0]	0,432
Остеокальцин, (нг/мл)	12,0 [8,3; 16,5]	14,6 [7,8; 17,9]	0,089
Остеонектин, (мкг/мл)	8,9 [8,0; 10,9]	9,2 [7,5; 10,4]	0,024
MCP-1, (пг/мл)	404,6 [283,9; 530,9]	547,4 [353,9; 625,4]	0,093

Показатели	I подгруппа (только стабильные бляшки в коронарных артериях) n = 40	II группа (есть нестабильная бляшка в коронарной артерии) n = 38	p
sVCAM-1, (нг/мл)	838,8 [669,5; 1023,1]	809,2 [655,6; 935,8]	0,264
E-селектин, (нг/мл)	47,7 [33,3; 60,2]	54,5 [38,2; 62,1]	0,116

Показатели биохимических маркеров кальцификации и эндотелиальной дисфункции в крови мужчин с коронарным атеросклерозом в зависимости от выявления очагов кальцификации в бляшках продемонстрированы в таблице 9.

Также для определения в крови возможных значимых биомаркеров, указывающих на имеющиеся очаги кальцификации в бляшках в коронарном русле, 78 участников основной подгруппы поделили на отдельные подгруппы – в подгруппу III включены мужчины, у которых не выявили очагов кальцификации в исследуемых бляшках, в подгруппу IV – мужчины с выявленными очагами кальцификации в атеросклеротических бляшках коронарных артериях. Согласно данным таблицы 9, из всех изученных нами биохимических показателей разница между двумя подгруппами была выявлена только для остеокальцина, содержание в крови которого было в 1,2 раза выше у мужчин, имеющих кальцифицированные бляшки в коронарных артериях. Эти данные свидетельствует о возможности использования остеокальцина в качестве потенциального биомаркера оценки наличия кальцифицированных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях, используя анализ крови.

Таблица 9 – Биохимические маркеры кальцификации и эндотелиальной дисфункции в крови мужчин с коронарным атеросклерозом в зависимости от выявления очагов кальцификации в бляшках (Me [25 %; 75 %])

Показатели	III подгруппа (нет кальцифицированных бляшек) n = 30	IV подгруппа (есть кальцифицированные бляшки) n = 48	p
Остеопротегерин, (пг/мл)	59,4 [33,9; 78,9]	52,0 [41,7; 78,4]	0,075
Остеопонтин, (нг/мл)	8,7 [7,2; 10,8]	9,2 [8,0; 10,4]	0,125
Остеокальцин, (нг/мл)	11,8 [8,1; 14,6]	14,1 [9,1; 14,1]	0,033
Остеонектин, (мкг/мл)	8,7 [7,2; 10,8]	9,2 [8,0; 10,4]	0,092
MCP-1, (пг/мл)	421,1 [294,7; 563,8]	467,7 [398,9; 622,8]	0,324
sVCAM-1, (нг/мл)	843,5 [695,7; 1003,6]	838,8 [669,5; 1023,1]	0,069
E-селектин, (нг/мл)	41,8 [33,5; 60,2]	53,7 [38,9; 62,1]	0,223

Поиск ассоциаций факторов кальцификации бляшек с развитием неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в пятилетний отдаленный период после операции коронарного шунтирования

Через 5 лет после КШ из 130 участников исследования у 92 пациентов (70,8 %) был изучен отдалённый прогноз. Учитывались следующие конечные точки: смерть от сердечно-сосудистого заболевания; нефатальный инфаркт миокарда; фатальный инфаркт миокарда; проведение дополнительной операции (чрескожное коронарное вмешательство, повторное коронарное шунтирование); инсульт. В течение 5 лет у 5 мужчин (5,4 %) была зафиксирована сердечно-сосудистая смерть (включая один случай фатального инфаркта миокарда), у 6 мужчин (6,5 %) был нефатальный инфаркт миокарда, у 5 мужчин (5,4 %) был инсульт, у 12 мужчин (13,0 %) была проведена дополнительная операция.

С учётом прогноза было сформировано 2 подгруппы пациентов: 64 мужчины (69,6 %) с благоприятным пятилетним периодом после операции КШ составили 1-ю подгруппу и 28 мужчин (30,4 %) с неблагоприятным (наступление комбинированной конечной точки) отдаленным пятилетним периодом составили 2-ю подгруппу.

Был проведен поиск ассоциаций неблагоприятного пятилетнего прогноза после КШ и полученными показателями биомолекул кальцификации (остеопонтин, остеокальцин, остеопротегерин, остеокальцин), оцененными в крови до КШ. В таблице 10 продемонстрированы данные сравнительного межгруппового анализа. Было выявлено, что у мужчин, имевших неблагоприятный пятилетний прогноз, показатели остеокальцина в крови до КШ были в 1,2 раза выше, чем у мужчин с благоприятным пятилетним прогнозом.

Таблица 10 – Сравнение концентрации в крови биомолекул кальцификации между подгруппами мужчин с разным отдаленным прогнозом после КШ (Ме [25; 75])

Показатели	Неблагоприятный прогноз n=28	Благоприятный прогноз n=64	p
Остеопротегерин, пг/мл	51,4 [33,5; 79,3]	52,3 [34,2; 77,3]	0,077
Остеокальцин, нг/мл	14,0 [9,0; 21,8]	11,8 [7,7; 15,1]	0,035
Остеопонтин, нг/мл	20,2 [17,8; 49,8]	28,9 [16,0; 38,0]	0,646
Остеонектин, мкг/мл	7,4 [9,2; 10,2]	8,8 [7,9; 10,9]	0,431
sVCAM-1, нг/мл	788,7 [627,4; 1058,6]	841,2 [697,0; 1038,1]	0,097
E-селектин, нг/мл	49,9 [33,6; 62,1]	47,6 [33,2; 60,0]	0,423
MCP-1, пг/мл	443,5 [249,5; 537,3]	456,6 [322,1; 588,8]	0,546

Далее был выполнен многофакторный регрессионный анализ – «благоприятный/неблагоприятный прогноз» был использован в качестве зависимой переменной. Параметры клинической характеристики пациентов (возраст, ИМТ, окружность талии, избыточный вес, ожирение, курение, уровни в крови холестерина,

триглицеридов, глюкозы, анамнез гипертонической болезни, сахарного диабета 2 типа, ИМ в анамнезе, ФК класс стенокардии напряжения, количество пораженных атеросклерозом коронарных артерий, данные о ССЗ у родственников и др.) в разных сочетаниях, а также показатели биомолекул кальцификации и эндотелиальной дисфункции были использованы в модели в качестве независимых переменных. В таблице 11 представлены только выявленные статистически значимые влияния признаков на развитие неблагоприятного отдаленного периода после операции КШ.

Таблица 11 – Результаты многофакторного регрессионного анализа ассоциации клинических и биохимических показателей с риском неблагоприятного прогноза развития коронарного атеросклероза после операции КШ

Показатели	ОШ	95 % ДИ	p
Возраст	1,139	1,006-1,289	0,039
ОТ	1,097	1,004-1,199	0,040
ТГ крови	0,981	0,963-0,999	0,044
Остеокальцин крови	1,095	1,002-1,171	0,015

Отдаленный неблагоприятный пятилетний прогноз у мужчин с коронарным атеросклерозом после операции КШ прямо ассоциирован с возрастом, показателями окружности талии и уровнем остеокальцина в крови. Из 28 участников с неблагоприятным прогнозом у 20 была проведена эндартерэктомия из коронарной/-ых артерий, 14 из них (70 %) имели хотя бы одну нестабильную атеросклеротическую бляшку в коронарном русле.

По нашим данным более кальцифицированными оказались нестабильные атеросклеротические бляшки, являющиеся причиной неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. По данным мультивариантной логистической регрессии риск развития нестабильной бляшки был связан со степенью кальцификации.

Проведённый нами корреляционный анализ показал связь факторов эндотелиальной дисфункции с маркерами кальцификации. Наибольшее влияние на кальцификацию оказывал sVCAM-1, прежде всего, через остеоонектин, который регулирует образование кристаллов гидроксиапатита, отражает степень дифференцировки ГМК и способствует кальцификации.

В диссертационном исследовании у 20 из 28 мужчин с коронарным атеросклерозом и неблагоприятным прогнозом в ходе операции КШ была выполнена эндартерэктомия. В полученных образцах интима-медиа у 14 пациентов (70%) была выявлена хотя бы одна нестабильная атеросклеротическая бляшка в коронарных артериях. В итоге факт наличия нестабильной/ых бляшек в коронарных артериях чаще приводил к неблагоприятным сердечно-сосудистым событиям. По данным диссертационного исследования у мужчин с коронарным атеросклерозом после операции КШ отдалённый неблагоприятный пятилетний прогноз был напрямую ассоциирован с возрастом и окружностью талии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведённого исследования в группе из 130 мужчин в возрасте 50–75 лет с коронарографически верифицированным коронарным атеросклерозом мы изучили клинические характеристики участников исследования, биохимические факторы кальцификации (ОПГ, ОПН, ОН, ОК) и эндотелиальной дисфункции (Е-селектин, MCP-1, sVCAM-1) в крови, а также изучили эти показатели в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках в исследуемой группе. Также был выполнен поиск ассоциаций факторов кальцификации бляшек с наступлением комбинированной конечной точки (смерть от сердечно-сосудистого заболевания, инфаркт миокарда, инсульт, проведение дополнительной операции) в отдалённый пятилетний период после операции КШ.

В ходе исследования было выявлено, что в нестабильных атеросклеротических бляшках коронарных артерий уровень остеоонектина в 1,5 раза ниже, чем в стабильных бляшках. В атеросклеротических бляшках с крупными кальцификатами снижено содержание остеооптина (в 4,2 раза) и остеоонектина (в 2,3 раза), чем в бляшках без кальцификации. Уровень остеокальцина повышался при кальцификации бляшки и наиболее высоким был в бляшках с крупными кальцификатами – выше в 10,7 раз, чем в бляшках без кальцификатов и в 1,7 раз выше, чем в бляшках с мелкими кальцификатами. Было выявлено, что шанс формирования нестабильной атеросклеротической бляшки связан со степенью кальцификации очага – вероятность наличия нестабильной бляшки выше в 4,4 раза при наличии в ней мелких кальцификатов (ОШ = 4,413; 95 % ДИ 1,545–12,602) и выше почти в 40 раз – при наличии в ней крупных кальцификатов (ОШ = 39,443; 95 % ДИ 3,564–436,53) по отношению к бляшкам без кальцификации. С остеокальцином связан относительный риск формирования кальцификатов в атеросклеротических бляшках коронарных артерий (ОШ = 1,011; 95 % ДИ 1,004–1,018).

Выявлены статистически значимые корреляционные связи между показателями в атеросклеротических бляшках и в крови уровней биомолекул sVCAM-1 ($r = 0,180$; $p = 0,038$), MCP-1 ($r = 0,263$; $p = 0,003$), остеооптина ($r = -0,192$; $p = 0,031$) и остеокальцина ($r = 0,353$; $p = 0,0001$). Значения остеоонектина в крови у мужчин, имевших в коронарных артериях нестабильные атеросклеротические бляшки выше ($p = 0,024$), чем у мужчин, не имевших в коронарных артериях нестабильных бляшек. Значения остеокальцина в крови у мужчин, имевших кальцифицированные атеросклеротические бляшки в коронарных артериях, в 1,2 раза выше ($p = 0,033$), чем у мужчин, не имевших в коронарных артериях кальцифицированных атеросклеротических бляшек.

Установлено, что у мужчин с коронарным атеросклерозом с неблагоприятным после операции КШ пятилетним прогнозом показатели остеокальцина в крови до операции были выше в 1,2 раза ($p = 0,035$), чем у мужчин с благоприятным отдалённым пятилетним прогнозом. У мужчин с коронарным атеросклерозом после операции КШ отдалённый неблагоприятный пятилетний прогноз прямо ассоциирован с возрастом (ОШ 1,139; 95 % ДИ 1,006–1,289); ($p = 0,039$), показателями окружности талии

(ОШ 1,097; 95 % ДИ 1,004–1,199); ($p = 0,040$) и уровнем остеокальцина в крови (ОШ 1,095; 95 % ДИ 1,002–1,171); ($p = 0,015$).

Ввиду того, что исследование было проведено на небольшой выборке пациентов, в особенности для сравнения биомаркеров в крови, то полученные результаты в дальнейшем могут быть использованы в более крупных исследованиях.

ВЫВОДЫ

1. Мужчины с коронарным атеросклерозом и с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях не отличались от пациентов без нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях по характеристикам факторов риска ССЗ, клинического течения заболевания (ФК стенокардии напряжения, наличие ИМ в анамнезе), а также распространённости атеросклеротического поражения коронарных артерий (поражение двух и более коронарных артерий).

2. У мужчин с коронарным атеросклерозом в нестабильных атеросклеротических бляшках коронарных артерий содержание остеоонектина было в 1,5 раза ниже ($p = 0,024$), чем в стабильных бляшках. В атеросклеротических бляшках с крупными кальцификатами было снижено содержание sVCAM-1 и E-селектина, а также остеоонтина – в 4,2 раза ($p = 0,012$) и остеокальцина – в 2,3 раза ($p = 0,016$), чем в бляшках без кальцификации. Уровень остеокальцина повышался при кальцификации бляшки и наиболее высоким был в бляшках с крупными кальцификатами – выше в 10,7 раз, чем в бляшках без кальцификатов и в 1,7 раз выше ($p = 0,025$), чем в бляшках с мелкими кальцификатами.

3. Шанс формирования нестабильной бляшки связан со снижением в ней уровня E-селектина (ОШ = 0,924; 95 % ДИ 0,854–0,999); ($p = 0,047$) и со степенью кальцификации очага: вероятность наличия нестабильной бляшки выше в 4,4 раза при наличии в ней мелких кальцификатов (ОШ = 4,413; 95 % ДИ 1,545–12,602); ($p = 0,006$). В атеросклеротических бляшках коронарных артерий относительный риск формирования кальцификатов связан с остеокальцином (ОШ = 1,011; 95 % ДИ 1,004–1,018); ($p = 0,001$).

4. У мужчин с коронарным атеросклерозом выявлены статистически значимые корреляционные связи между показателями в атеросклеротических бляшках и в крови уровней биомолекул sVCAM-1 ($r = 0,180$; $p = 0,038$), MCP-1 ($r = 0,263$; $p = 0,003$), остеоонтина ($r = -0,192$; $p = 0,031$) и остеокальцина ($r = 0,353$; $p = 0,0001$). Значения остеоонектина в крови у мужчин, имевших в коронарных артериях нестабильные атеросклеротические бляшки выше ($p = 0,024$), чем у мужчин, не имевших в коронарных артериях нестабильных бляшек. Значения остеокальцина в крови у мужчин, имевших кальцифицированные атеросклеротические бляшки в коронарных артериях, в 1,2 раза выше ($p = 0,033$), чем у мужчин, не имевших в коронарных артериях кальцифицированных атеросклеротических бляшек.

5. У мужчин с коронарным атеросклерозом и с неблагоприятным после операции КШ отдалённым пятилетним прогнозом до операции уровень остеокальцина в крови был выше в 1,2 раза ($p = 0,035$), чем у мужчин, у которых был благоприятный

пятилетний прогноз. У мужчин с коронарным атеросклерозом после операции КШ отдаленный неблагоприятный пятилетний прогноз прямо ассоциирован с возрастом (ОШ 1,139; 95 % ДИ 1,006–1,289); ($p = 0,039$), окружностью талии (ОШ 1,097; 95 % ДИ 1,004–1,199); ($p = 0,040$) и уровнем в крови остеокальцина (ОШ 1,095; 95 % ДИ 1,002–1,171); ($p = 0,015$).

6. У 70 % (14 из 20) мужчин с коронарным атеросклерозом, имевших неблагоприятный отдаленный пятилетний прогноз после операции КШ, в образцах интимы-медии эндартерэктомии была выявлена по крайней мере одна нестабильная атеросклеротическая бляшка.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РЕКОМЕНДАЦИЯ

Мужчинам с атеросклерозом коронарных артерий после операции КШ для предупреждения развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в пятилетний период рекомендуется контролировать окружность талии и содержание в крови остеокальцина.

СПИСОК СТАТЕЙ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Маслацов Н.А., Рагино Ю.И. Биохимические маркеры кальцификации атеросклеротических бляшек. // Атеросклероз, 2019, Т. 15, № 4: 78-84. DOI: 10.15372/ATER20190408 (РИНЦ)
2. Рагино Ю.И., Каштанова Е.В., Мурашов И.С., Волков А.М., Кургузов А.В., Садовский Е.В., Маслацов Н.А., Щербакова Л.В., Чернявский А.М., Полонская Я.В. Исследование биохимических факторов кальцификации стабильных и нестабильных бляшек в коронарных артериях человека. Кардиология. 2020; 60(2): 83-88. <https://doi.org/10.18087/cardio.2020.2.n775> (РИНЦ, Scopus, Web of Science)
3. Polonskaya Ya.V., Kashtanova E.V., Murashov I.S., Kurguzov A.V., Sadovski E.V., Maslatsov N.A., Stakhneva E.M., Chernyavskii A.M. and Ragino Yu.I. The Influence of Calcification Factors and Endothelial-Dysfunction Factors on the Development of Unstable Atherosclerotic Plaques // Diagnostics 2020, 10(12), 1074; <https://doi.org/10.3390/diagnostics10121074> (Web of Science Q1)
4. Маслацов Н.А., Рагино Ю.И. Биомаркеры кальцификации, их связь с заболеваниями сердечно-сосудистой системы и значение в клинической практике. // Атеросклероз, 2021, Т. 17, № 2: 12-21. DOI 10.52727/2078-256X-2021-17-2-72-82 (РИНЦ)
5. Стахнёва Е. М., Каштанова Е. В., Кургузов А. В., Маслацов Н. А., Полонская Я. В., Мурашов И. С., Чернявский А. М., Рагино Ю. И. Маркеры кальцификации и отдаленные результаты развития коронарного атеросклероза после коронарного шунтирования. // Российский кардиологический журнал. 2021; 26(8): 9-13. doi:10.15829/1560-4071-2021-4450 (РИНЦ, Scopus)

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

КА	коронарный атеросклероз
КШ	коронарное шунтирование
ОКС	острый коронарный синдром
ССС	сердечно-сосудистые события
ТГ	триглицериды
ФК	функциональный класс
ХБП	хроническая болезнь почек
ХСН	хроническая сердечная недостаточность
ЧКВ	чрескожное коронарное вмешательство
МСР	моноцитарно-хемоаттрактантный протеин
VCAM	сосудистые молекулы клеточной адгезии