

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ТЕРАПИИ И
ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ – ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

На правах рукописи

Стрюкова Евгения Витальевна

**ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ И ФАКТОРЫ
ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ СО СТАБИЛЬНЫМИ И
НЕСТАБИЛЬНЫМИ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИМИ БЛЯШКАМИ**

14.01.05 - Кардиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Доктор медицинских наук, профессор
Максимов Владимир Николаевич
Научный консультант:
Доктор биологических наук,
Каштанова Елена Владимировна

Новосибирск – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1 Роль нарушения функции эндотелия в развитии атеросклеротического очага.....	13
1.2 Показатели эндотелиальной дисфункции.....	16
1.2.1 Асимметричный диметиларгинин.....	16
1.2.2 Эндотелин-1.....	18
1.2.3 Адгезивные молекулы.....	20
1.2.4 Липопротеин (а).....	21
1.2.5 Гомоцистеин.....	23
1.3 Показатели воспаления.....	24
1.3.1 Моноцитарный хемотаксический протеин.....	24
1.3.2 Интерлейкин-6.....	27
1.3.3 Интерлейкин-8.....	30
1.3.4 Интерлейкин-1-β.....	32
1.3.5 С-реактивный протеин.....	32
1.3.6 Фактор некроза опухоли-α.....	34
1.4 Показатели гемостаза.....	35
1.4.1 Антитромбин III.....	35
1.4.2 Ингибитор активатора плазминогена-1.....	36
1.4.3 Ингибитор пути тканевого фактора.....	38
1.4.4 Фактор свертывания крови VII (конвертин).....	39
1.4.5 Фактор свертывания XII (фактор Хагемана, фактор контакта).....	41
1.4.6 Протромбин (фактор свертывания II).....	43
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	46
2.1 Общая характеристика и распределение по группам.....	46
2.2 Материал для исследования.....	51
2.3 Биохимические методы исследования.....	51

2.4 Генетические методы исследования.....	52
2.5 Анализ распределения изучаемых показателей.....	53
2.6 Статистическая обработка результатов.....	55
2.7 Клиническая характеристика групп пациентов.....	56
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	61
3.1 Показатели эндотелиальной дисфункции и воспаления.....	61
3.2 Показатели факторов гемостаза.....	62
3.3 Ассоциации факторов эндотелиальной дисфункции с маркерами воспаления и с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях.....	64
3.4 Ассоциации факторов гемостаза с маркерами воспаления и с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях.....	66
3.5 Мультивариантный логистический регрессионный анализ относительного риска наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек, связанный с фактором XII.....	68
3.6 Анализ однонуклеотидных полиморфизмов.....	71
3.7 Логистический регрессионный анализ относительного риска наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек, связанный с однонуклеотидными полиморфизмами.....	77
ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ.....	78
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	85
ВЫВОДЫ.....	87
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	89
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	90
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	93
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.....	119

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Распространенность атеросклеротических повреждений сосудов и смертность от сердечно-сосудистых осложнений остаются высокими в России. Пусковым механизмом к клиническим проявлениям атеросклероза является нарушение целостности эндотелия на участке изъязвления/деструкции покрышки нестабильной атеросклеротической бляшки, последующее тромбообразование и окклюзия артерии, ишемия и некроз миокарда [1; 2].

Примерно 60 % инфарктов миокарда вызваны разрывом бляшки [3]. Нестабильные атеросклеротические бляшки, имеющие уязвимую, нестабильную структуру, являются наиболее частой причиной острого коронарного синдрома (ОКС) [4].

Известно, что на начальном этапе развития атеросклеротической бляшки важную роль играют эндотелиальная дисфункция и окислительные изменения, в то время как на стадии развития нестабильной бляшки ярко выражена активность воспалительных и деструктивных процессов [5; 6; 7]. Дисфункция и деструкция эндотелиоцитов приводит к повышенной секреции ими адгезивных молекул, хемоаттрактантов, к высвобождению в кровь эндотелина-1, фактора Виллебранда, снижению синтеза и секреции оксида азота (NO). В то же время известно, что нарушения системы гемостаза сопровождают практически все этапы развития атеросклеротического очага. Компоненты системы гемостаза не только участвуют в тромбировании пораженных участков сосудов, но и могут играть важную роль в процессе формирования и прогрессирования атеросклеротических стенозов [8; 9].

В настоящее время известно, что помимо различных факторов, имеющих большое значение в развитии атеросклеротического очага: повышенных концентраций в крови общего холестерина, маркеров воспаления и эндотелиальной дисфункции, курения, ожирения, сахарного диабета 2 типа, генетические факторы также способствуют развитию атеросклероза [10; 11; 12].

Исследования с помощью современных высокотехнологичных методов молекулярно-генетического анализа, дающие возможность выявить влияние некоторых полиморфизмов генов эндотелиальной дисфункции и гемостаза на прогрессирование атеросклеротического процесса, становятся все более актуальными. Это особенно важно для молодых пациентов, у которых традиционные факторы риска выражены слабо.

Среди маркеров нарушения эндотелиальной функции, воспаления и гемостаза изменение концентраций моноцитарного хемотаксического протеина 1 (MCP-1), интерлейкина-6 (IL-6), ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1), фактора VII, фактора II, по данным литературы, ассоциированы с атеросклеротическими явлениями. Полиморфизмы генов, кодирующих эти белки, могут влиять на их структуру, концентрацию или функцию и тем самым приводить к усугублению эндотелиальной дисфункции и более тяжелому течению атеросклероза.

Вышеизложенное позволяет считать актуальным изучение биохимических маркеров эндотелиальной дисфункции и гемостаза с целью поиска ассоциаций их с коронарным атеросклерозом и наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях, а также изучение некоторых полиморфизмов генов в группах пациентов со стабильными и нестабильными атеросклеротическими бляшками в коронарных артериях и концентрацию белков, кодируемых этими генами, в плазме крови.

Степень разработанности темы

Работ, изучающих связь маркеров эндотелиальной дисфункции с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях, как в зарубежной, так и в отечественной литературе недостаточно. Имеются данные о том, что уровень асимметричного диметиларгинина (ADMA) значительно повышается у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) [13; 14] и может являться независимым предиктором степени коронарного атеросклероза и функциональной значимости ИБС [47]. Показано, что одним из важнейших

показателей эндотелиальной дисфункции у пациентов с нестабильной стенокардией является повышенный уровень эндотелина-1 в крови. Данный маркер может выступать в качестве независимого маркера, как риска сердечно-сосудистых исходов у пациентов со стабильной ИБС [16], так и прогноза течения заболевания у пациентов с нестабильной стенокардией (НС) [17].

Чрезмерная экспрессия на поверхности эндотелиальных клеток молекул адгезии сосудистых клеток (VCAM, ICAM) может являться прогностическим фактором для развития ИБС [56]. В литературе имеется достаточно широкий спектр исследований о том, что гомоцистеин в плазме в диапазоне 15–25 мкмоль/л коррелирует с ишемической болезнью сердца [75], инсультом [76], стенозом периферических артерий [77], венозным тромбозом [78] и дефицитом фолиевой кислоты [79; 80].

Имеются данные о том, что MCP-1 играет важную роль в патогенезе атеросклероза, и значительные доказательства подтверждают, что моноциты и макрофаги, содержащие MCP, влияют на рост других типов клеток в атеросклеротическом очаге [18]. Ряд исследований указывает на значительную связь между полиморфизмом гена *CCL2* 2518A > G и развитием ИБС [91; 20]. Большое количество работ показывает ассоциации полиморфизмов гена *IL6* (в том числе 174C > G) с развитием и прогрессированием ишемической болезни сердца [21; 22; 23; 24]. Однако в литературе не встречаются данные о связи полиморфизмов rs1024611 гена *CCL2* и rs1800795 гена *F7* именно с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек.

В отношении факторов гемостаза имеются данные о положительной и независимой связи между активностью фактора свертывания VII и сердечно-сосудистыми событиями [25]. Мета-анализы, включающие исследования полиморфизма R353Q гена *F7*, показывают противоречивые результаты. Мо X. et al. [183] и Shanker J. et al. выявили связь полиморфизма R353Q гена *F7* с риском сердечно-сосудистых заболеваний [184]. В других работах: Huang H. et al [27**Ошибка! Источник ссылки не найден.**], Cheraghi S. et al. [185] не выявили подобной связи.

А исследование Pegoraro R. J., Ranjith N., Rom L. H

показало, что полиморфизм R353Q гена *F7* может иметь даже протективную роль для сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [186].

Показано, что фактор Хагемана является биомаркером атеросклеротического повреждения сосудов [26]. В отношении связи между полиморфизмов генов факторов свертывания крови VII, XII и ИБС в литературе имеются противоречивые данные [27; 28].

По результатам систематического обзора данных литературы 2018 года сообщается, что уровни PAI-1 плазмы могут в перспективе использоваться в качестве маркера основных неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [29]. Мета-анализ, проведенный Zhang H. et al. показывает, что полиморфизм 4G/5G гена *SERPINE1* (*PAI1*) ассоциирован с ССЗ [164].

Также уровни протромбина (фактора II) и комплекса тромбин-антитромбин повышаются пропорционально тяжести течения атеросклеротического процесса, и в некоторых исследованиях прогнозировали сердечно-сосудистые события [193; 194]. В исследовании V. E. A Gerdes et al. выявлено, что среди лиц с установленным атеросклерозом толщина интимы-медии больше у носителей мутации 20210 G>A [198]. Также была выявлена связь мутации 20210 G>A с ранним ишемическим инсультом у молодых мужчин [199], с инфарктом миокарда [200]. В литературе не встречаются данные о связи полиморфизмов rs1799889 гена *SERPINE1*, rs1799963 гена *F2* и rs6046 гена *F7* именно с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек.

Цель исследования

Определить наиболее значимые биохимические маркёры нарушения функции эндотелия, нарушений гемостаза и некоторые полиморфизмы генов, кодирующих эти белки у пациентов с наличием стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях.

Задачи исследования

1. Изучить биохимические маркеры нарушения функции эндотелия (эндотелин-1, моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1 типа, адгезивные молекулы sVCAM-1, асимметричный диметиларгинин, гомоцистеин, ингибитор активатора плазминогена 1 типа) и их ассоциации с факторами свертывания крови, воспаления, с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях у мужчин с коронарным атеросклерозом.

2. Изучить биохимические показатели факторов свертывания крови (фактор II, фактор VII, фактор XII, антитромбин III) и их ассоциации с биомаркерами эндотелиальной дисфункции, воспаления (фактор некроза опухоли альфа, интерлейкин-1-бета, интерлейкин-6, интерлейкин-8, С-реактивный белок, липопротеин (а)), с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях у мужчин с коронарным атеросклерозом.

3. Изучить частоты аллелей и генотипов однонуклеотидных полиморфизмов *CCL2* (rs1024611, 2518A>G), *SERPINE1* (rs1799889, -675insG, 4G/5G), *IL6* (rs1800795, 174C>G), *F2* (rs1799963, G20210A), *F7* (rs6046, R353Q) и концентрацию белков, кодируемых этими генами, в плазме крови в группах пациентов со стабильными и нестабильными атеросклеротическими бляшками в коронарных артериях.

Научная новизна

Поведено исследование биохимических маркеров нарушения функции эндотелия и биохимических показателей факторов свертывания крови с целью выявления их ассоциаций с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях у мужчин с коронарным атеросклерозом.

Показано, что у мужчин с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях из показателей, характеризующих нарушение функции эндотелия, значительно повышен уровень MCP-1 ($p = 0.19$), а из показателей, отражающих нарушения свертывающей системы в плазме крови повышен уровень фактора XII (фактора Хагемана) ($p = 0.017$) в сравнении с

мужчинами, у которых, согласно гистологическому заключению при анализе материалов образцов интима/медии коронарных артерий (КА), в них не было нестабильных бляшек.

Установлено, что отношение шансов наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек увеличивается с повышением уровня в крови фактора XII (ОШ = 1.008); 95 % ДИ 1.000 – 1.017; ($p = 0.048$).

Исследованы полиморфизмы генов *CCL2* (rs1024611, 2518A>G), *IL6* (rs1800795), *SERPINE1* (rs1799889, -675insG, 4G/5G), *F2* (rs1799963, G20210A), *F7* (rs6046, R353Q), с целью поиска их ассоциаций с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях у мужчин с коронарным атеросклерозом, с концентрацией белков, кодируемых этими генами, в плазме крови. Впервые показано, что отношение шансов наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек выше у пациентов с генотипом 4G4G полиморфизма rs1799889 гена *SERPINE1* и с генотипом GG полиморфизма rs6046 гена *F7* (ОШ = 4.667); 95 % ДИ 1.159 – 18.783; ($p = 0.030$) и (ОШ = 4.032); 95% ДИ 1.488 – 10.989; ($p = 0.004$) соответственно.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты изучения содержания маркеров нарушения функции эндотелия и гемостаза позволили прийти к выводу, что в группах мужчин с коронарным атеросклерозом со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях имеются отличия по уровням в крови показателей, характеризующих нарушение функции эндотелия и гемостаза, таких как MCP-1, фактор XII.

Также пациенты со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях имеют различия в частотах генотипов полиморфизмов генов, кодирующих определенные белки крови, отвечающие за функцию эндотелия и процесс свертывания крови, таких как rs1799889 гена *SERPINE1* и rs6046 гена *F7*.

Обнаружение указанных изменений позволит выявлять лица с повышенным риском развития острого коронарного синдрома, а также с более тяжелым течением ишемической болезни сердца.

Положения, выносимые на защиту

1. У мужчин с коронарным атеросклерозом из исследованных показателей крови (эндотелин 1, моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1 типа, адгезивные молекулы sVCAM-1, ассиметричный диметиларгинин, гомоцистеин, ингибитор активатора плазминогена 1 типа), характеризующих нарушение функции эндотелия, только повышенный уровень в крови моноцитарного хемоаттрактантного протеина 1 типа ассоциируется с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных сосудах.

2. У мужчин с коронарным атеросклерозом из изученных показателей (фактор II, фактор VII, фактор XII, антитромбин III), отражающих нарушения свертывающей системы крови относительный шанс наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек увеличивается с повышением уровня в крови фактора XII.

3. При наличии генотипов 4G4G rs1799889 гена *SERPINE1* и GG rs6046 гена *F7* увеличивается шанс наличия нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях у мужчин с верифицированным коронарным атеросклерозом.

Степень достоверности и апробации результатов

Материалы, представленные в диссертации, основаны на обследовании 94 пациентов (с коронароангиографически верифицированным атеросклерозом), представленная выборка репрезентативна для оценки всех изучаемых вариантов патологии.

Мощность выборки рассчитывалась при помощи формулы

$$N_{min} = 15.4 * (p * (1-p)) / W^2. \quad (1)$$

где p – ожидаемое значение вероятности случайного события;

W – ширина доверительного интервала для значения вероятности.

По этой формуле минимальный объем выборки пациентов составил 80 человек.

Оборудование, на котором выполнялись исследования, проходило регулярную поверку в соответствии с «ГОСТ Р 8.563-96 Государственная система обеспечения единства измерений». Методики выполнения измерений с вынесением соответствующего заключения метрологической службы, что подтверждается наличием сертификатов. Используются современные методические подходы для выполнения биохимических исследований – клинико-биохимических (Сертификаты Федерального контроля качества) и фундаментальных, а также проведена статистическая обработка результатов.

Публикации результатов исследования

По материалам диссертации опубликовано 15 научных работ, из них 6 статей (4 в центральных российских журналах, рекомендованных Перечнем ВАК Российской Федерации и 4 статьи в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Web of Science и/или Scopus)).

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 121 странице машинописного текста, иллюстрирована таблицами и рисунками. Работа состоит из введения, трех глав (обзор литературы, материал и методы исследования, результаты и обсуждения), заключения, содержит выводы, практические рекомендации и указатель литературы, включающий 10 ссылок на отечественные и 225 ссылок на зарубежные источники.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в разработке научной концепции и дизайна исследования, постановке его цели и задач. Автором совместно с сотрудниками лаборатории клинических биохимических и

гормональных исследований терапевтических заболеваний выполнены все биохимические исследования; совместно с сотрудниками лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний проведены все генетические исследования; создана база данных; проанализированы и интерпретированы полученные результаты. В соавторстве написаны и опубликованы печатные работы в журналах, рекомендованных Перечнем ВАК, в которых отражены научные результаты по теме диссертации.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Роль нарушения функции эндотелия в развитии атеросклеротического очага

Сосудистый эндотелий является высокоспециализированным метаболически активным монослоем клеток, выстилающих всю систему кровообращения – от сердца до мельчайших капилляров, и играет важную роль практически во всех основных биологических сосудистых функциях [30; 31]. Эндотелий не только обеспечивает неадгезивный и высокоселективный физический барьер для контроля проницаемости сосудов, он также выделяет большое количество вазоактивных веществ для регуляции тонуса сосудов и ремоделирования стенки сосуда. Сердечно-сосудистые факторы риска могут способствовать нарушению функции эндотелия с помощью различных сложных механизмов и приводить к неблагоприятным физиологическим изменениям сосудов, таким как изменения вазомоторного тонуса, тромботические нарушения, пролиферация и миграция клеток гладких мышц, а также адгезия и миграция лейкоцитов.

Эндотелиальная функция является интегрированным показателем всех атерогенных и атеропротективных факторов, присутствующих у человека и, таким образом, прогнозирует сердечно-сосудистые события независимо от традиционных факторов риска. Кроме того, функция эндотелия может быть обратимой на каждом этапе атеросклероза, а также играет ключевую роль на всех этапах, от начала до атеротромботического осложнения.

К повреждению эндотелиальных клеток могут приводить различные факторы, включающие физические и биохимические. Среди них окислительный стресс является одним из наиболее важных факторов, который вызывает эндотелиальную дисфункцию.

Эндотелиальные клетки постоянно подвергаются воздействию активных форм кислорода и стремятся поддерживать гомеостаз с антитромботическими,

противовоспалительными и антипролиферативными свойствами. Эндотелиальная дисфункция приводит к компенсаторным реакциям, которые изменяют нормальные гомеостатические свойства эндотелия, приводя к нарушению или потере его нормальной функции, таким как нарушение эндотелийзависимой вазодилатации, эндотелиальной дисфункции, из-за дисбаланса между высвобождением вазоконстрикторных и вазодилататорных веществ из эндотелия [32].

Процесс атеросклероза начинается в раннем возрасте, а эндотелиальная дисфункция способствует атерогенезу на каждой фазе атеросклероза. Самые ранние атеросклеротические изменения происходят в эндотелии до образования морфологических бляшек, включая повышенную проницаемость эндотелия для липопротеинов и других компонентов плазмы, а также образование специфических молекул адгезии на поверхности эндотелия, которые отвечают за адгезию, миграцию и накопление моноцитов и Т-клеток [33]. Эти молекулы адгезии включают молекулы адгезии сосудистых клеток 1 типа, молекулы внутриклеточной адгезии 1 типа, Е-селектин и Р-селектин. Липопротеиновые частицы связываются с протеогликаном в интиме. Частицы липопротеина, связанные с протеогликаном, обладают повышенной восприимчивостью к окислительным или другим химическим модификациям. Впоследствии, в ответ на окисленный холестерин липопротеинов низкой плотности, эндотелиальные клетки сосудов и клетки гладких мышц выделяют хемотаксический белок моноцитов 1 типа и колониестимулирующий фактор макрофагов, которые способствуют хемотаксису моноцитов, адгезии и дифференцировке в макрофаги. Эти макрофаги поглощают и накапливают окисленные липиды. Липидные пятна, в основном, состоят из нагруженных липидами моноцитов и макрофагов (пенистых клеток) вместе с Т-лимфоцитами [34]. Таким образом, эндотелиальная дисфункция играет ключевую роль как в инициации, так и в развитии атеросклеротических бляшек.

Патологические признаки наиболее распространенного типа уязвимых бляшек включают в себя тонкую фиброзную покрывку, большой липидный пул

внутри бляшки и повышенную инфильтрацию макрофагами покрышки и апоптоз, что приводит к росту некротического ядра [35]. Эндотелиальная дисфункция также играет важную роль во всех этих особенностях [36]. Недавние клинические исследования пациентов с заболеваниями коронарных артерий показали, что дисфункция коронарного эндотелия была связана с характеристиками нестабильных бляшек, включая повышенное накопление липидов и формирование некротического ядра, по сравнению с пациентами с нормальной функцией эндотелия [37; 38]. Основным механизмом коронарного тромбоза является разрыв защитной фиброзной покрышки бляшки. Против ударных сил, действующих на покрышку бляшки, институциональные формы коллагена, такие как коллагены типа I и типа III, обеспечивают большую часть биомеханической устойчивости к разрушению [39]. Провоспалительные цитокины, в частности γ -интерферон, индуцируют экспрессию ферментов, способных расщеплять компоненты внеклеточного матрикса артерий [40]. В частности, матричные металлопротеиназы могут разрушать фибриллы коллагена, которые придают прочность фиброзной покрышке [36]. Нарушение функции эндотелия связано с усилением воспалительного ответа, тромбогенностью и усилением локальной экспрессии матриксных металлопротеиназ [33; 41]. Другой механизм коронарного тромбоза включает поверхностную эрозию интимы [42]. Хотя основные молекулярные механизмы поверхностной эрозии остаются неясными, апоптоз эндотелиальных клеток может способствовать десквамации эндотелиальных клеток в областях поверхностной эрозии [43]. Таким образом, нарушение эндотелиальной функции инициирует каскад событий, приводящий к последовательному развитию атеросклеротических очагов – атерогенезу, что, в свою очередь, в конечном итоге, может приводить к сердечно-сосудистым событиям.

И, в связи с тем, что данный вопрос и на сегодняшний день не теряет своей актуальности, в данной работе рассматриваются некоторые важные маркеры эндотелиальной дисфункции и гемостаза, а также гены, ответственные за их

регуляцию, и некоторые основные полиморфизмы данных генов, связанные с развитием атеросклероза.

1.2 Показатели эндотелиальной дисфункции

1.2.1 Асимметричный диметиларгинин

Одним из информативных маркеров эндотелиальной дисфункции является ADMA. В регуляции эндотелия важную роль играет оксид азота. Синтез NO катализируется семейством NO-синтаз (NOS), которые используют L-аргинин (Arg) в качестве субстрата для получения NO. Асимметричный диметиларгинин является эндогенным ингибитором эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) за счет конкурентного связывания с L-аргинином, что приводит к снижению образования NO. NO имеет множество функций, но его действие, как преобладающего релаксирующего фактора эндотелия, является наиболее важным для поддержания сосудистого гомеостаза. Хотя ADMA частично и выделяется почками, основным путем его метаболизма является его утилизация ферментом диметиларгинин диметиламиногидролазой (DDAH). Подавление DDAH ведет к накоплению ADMA и, следовательно, к подавлению NO-контролируемой дилатации сосудов.

Согласно исследованию CARDIAC (Coronary Artery Risk Determination Investigating the Influence of ADMA Concentration), у пациентов с ишемической болезнью сердца ($n = 816$) определялся более высокий средний уровень ADMA в сравнении с контрольными группами, сходными по полу и возрасту (0.91 и 0.70 ммоль/л; $p < 0.0001$) [44].

По результатам исследований, проведенных F. Schulze et al. [44], ADMA является независимым фактором риска ИБС. ADMA значительно повышался у пациентов с ИБС, в сравнении с контрольной группой, коррелировал с индексом массы тела (ИМТ), уровнем в крови креатинина, триглицеридов [13].

Также интересно, что в проспективных исследованиях китайских ученых высокий уровень ADMA в крови являлся независимым предиктором последующих сердечно-сосудистых событий (внезапной сердечной смерти, инфаркта миокарда, повторной реваскуляризации сосуда) [45].

В исследовании Notsu Y. et al, было выявлено, что более низкое соотношение Arg/ADMA независимо коррелировало с толщиной интима-медиа (ТИМ), в то время как ТИМ не коррелировалось только с Arg или ADMA. Кроме того, соотношение Arg/ADMA было связано с ТИМ независимо от возраста, пола, ИМТ и наличия гипертонии. Исследователи заключили, что дисбаланс аргинина и ADMA независимо участвует в прогрессировании атеросклероза и соотношение Arg/ADMA может быть чувствительным маркером атеросклероза [46].

В работе F. Mangiacapra et al, уровни ADMA в сыворотке были независимыми предикторами аномального фракционного резерва кровотока (FFR) после корректировки на балл экстенда (отношение шансов (ОШ) 7.35; доверительный интервал 95 % 1.05 – 56.76; (p = 0.046)) и было заключено, что уровни ADMA в сыворотке являются независимыми предикторами степени коронарного атеросклероза и функциональной значимости ИБС [47].

Существуют два гена *DDAH*: *DDAH-1* и *DDAH-2*, а также различные их полиморфизмы, встречающиеся в популяции с различной частотой. Исследования показывают, что возможны различные функциональные варианты гена *DDAH* и при дальнейшем изучении будут обнаружены новые функциональные полиморфизмы генов, кодирующих фермент *DDAH* и вариации в активности экспрессии фермента *DDAH*, которые могут влиять на риск сердечно-сосудистых событий.

В исследовании Kuopio Ischemic Heart Disease Risk Factor Study (KIHD) были обнаружены различные полиморфизмы гена *DDAH*: один полиморфизм гена *DDAH-2* и шесть полиморфизмов гена *DDAH-1*. Однако выявленные полиморфизмы генов встречались очень редко в исследуемой популяции. Был проведен статистический анализ для одного из полиморфизмов *DDAH-1*, обнаруженного у 13 мужчин только в гетерозиготном состоянии. Случаи

сердечно-сосудистых заболеваний у данной группы были в 50 раз выше, чем у носителей [48].

В исследованиях выявлены определенные однонуклеотидные полиморфизмы и гаплотипы гена *DDAH*, ассоциированные с повышением уровня ADMA. Наиболее значимые из них: в гене *DDAH-1* – rs669173 ($p = 2.96 \times 10^{-7}$), rs7521189 ($p = 6.40 \times 10^{-7}$), rs2474123 ($p = 0.00082$) и rs13373844 ($p = 0.00027$), в гене *DDAH-2* – rs3131383 ($p = 0.0029$) и гаплотип TGCCCAGGAG [49].

1.2.2 Эндотелин-1

Эндотелин-1 (ЭТ) – это мощный долгодействующий сосудосуживающий пептид, состоящий из 21 аминокислоты; впервые был определен в эндотелиальных клетках аорты у свиньи. Анализ человеческого генома показал, что ЭТ относится к семейству ЭТ, включающему 3 изопептида: ЭТ-1, ЭТ-2 и ЭТ-3. Тканевое распределение экспрессии трех генов ЭТ отличается друг от друга. У человека самое большое количество ЭТ-1 обнаружено во многих органах, таких как мозг, почки, легкие, матка и плацента, так же как и в клетках эндотелия сосудов; матричная рибонуклеиновая кислота (РНК) ЭТ-2 больше всего обнаружена в мозговом слое почек, а затем в тощей кишке; матричная РНК ЭТ-3 сконцентрирована в тощей кишке, надпочечнике, затем в головном мозге, поджелудочной железе, мозговом слое почек. Доказано, что ЭТ-1, в дополнение к мощным вазоконстрикторной и прессорной функциям, имеет множество других биологических эффектов, включая роль нейропептида в центральной нервной системе (ЦНС). Функции ЭТ-2 и ЭТ-3 (кроме вазоконстрикторной) еще недостаточно изучены. Считается, что эндотелины реализуют свои биологические эффекты посредством связывания со специфическими рецепторами на мембранах клеток-мишеней [50]. Например, ЭТ-1, продуцируемый эндотелиальными клетками, связывается с ЭТ-А рецепторами, сопряженными с G-белком (имеющимся в большом количестве на мембранах гладкомышечных клеток сосудов), что приводит к повышению внутриклеточного кальция и, таким

образом, повышает тонус гладкомышечных клеток сосудов. Выделение ЭТ-1 индуцируют гипоксия, ишемия и механическое раздражение [51; 52; 53].

Когортное исследование Zhou B. Y. et al. предполагает, что ЭТ-1 является независимым маркером риска сердечно-сосудистых исходов у пациентов со стабильной ИБС [16].

Ген *ЭТ* кодирует полипептид-предшественник ЭТ (препроэндотелин [PPEТ]), так называемый «большой ЭТ». Большой ЭТ – это пептид, состоящий из 38 аминокислот. Ген *PPEТ-1* содержит 5 экзонов.

Исследования T. Arinami et al. (1991) показали, что три гена ЭТ локализируются в разных локусах генома: ген *EDN1* находится на 6p23-p24, ген *EDN2* – на 1p34.1 и ген *EDN3* – на 20q13.2-q13.3 [50].

Определены два наиболее значимых однонуклеотидных полиморфизма гена *EDN1*, ответственных за повышение артериального давления: Lys198Asn и 3A/4A(134delA). В исследованиях выявлено значительное повышение ЭТ-1 у пациентов с генотипом 3A/4A. У пациентов – носителей полиморфизма Lys198Asn, не было выявлено значительного повышения ЭТ-1 по сравнению с неносителями, однако, считается, что полиморфизм данного гена в ассоциации с другими факторами, такими как ожирение, может быть вовлечен в другие механизмы повышения артериального давления [54].

Было проведено много исследований по внедрению антагониста рецепторов А/В эндотелина в клиническую практику. Эти антагонисты помогают эффективно снижать артериальное давление при резистентной к лечению гипертонии и уменьшить протеинурию в дополнение к стандартной терапии у пациентов с хронической болезнью почек (ХБП). Недавно опубликовано исследование диабетической нефропатии с атрасентаном SONAR (Study Of Diabetic Nephropathy With Atrasentan), где исследователи продемонстрировали значительное снижение прогрессирования ХБП с атрасентаном по сравнению с плацебо у пациентов с диабетической нефропатией. Кроме того, антагонисты эндотелина являются первой линией терапии для лечения легочной артериальной гипертензии. Все эти

заболевания тесно связаны с развившимся атеросклерозом и поэтому эти данные расширяют наши знания о взаимодействии эндотелина и атеросклероза [55].

1.2.3 Адгезивные молекулы

В последнее время приобретает большое значение иммуновоспалительный аспект атеросклероза, в который вовлекаются прежде всего моноциты, Т- и В-лимфоциты. Наиболее ранний этап воспаления – «прилипание» моноцитов/макрофагов к активированным клеткам эндотелия вследствие чрезмерной экспрессии на их поверхности молекул адгезии сосудистых клеток (VCAM, ICAM). ICAM и VCAM (интегрины, молекулы межклеточной адгезии) специфически и прочно связываются с моноцитами и лимфоцитами крови, являются основой последующей миграции этих клеток под влиянием специфических факторов (продуцируемый эндотелием хемокин – фактор некроза опухоли альфа (TNF- α)) в субэндотелиальное пространство [13].

В исследовании Masseau I., Bowles D. K. предоставлены прямые доказательства того, что экспрессия VCAM-1 в сонной артерии является прогностическим для наличия ИБС у крупных животных (свиней). Экспрессия белка VCAM-1 является неоднородной как локально по окружности сонной артерии, так и регионально по всей поверхности сонной артерии. Дальнейшие исследования необходимы, чтобы определить, можно ли экстраполировать данные результаты на пациентов с ИБС у людей, но это исследование поддерживает идею разработки маркеров VCAM-1 в качестве неинвазивных диагностических инструментов для мониторинга прогрессирования периферического и коронарного атеросклероза [56].

В некоторых исследованиях предпринята попытка создания моноклональных антител против VCAM, которые бы могли стать перспективными средствами антиатеросклеротической терапии. Например, в исследовании Park J. G. et al. показано, что антитело против VCAM-1 ослабляет

атеросклероз у мышей с дефицитом ApoE, улучшает стабильность бляшек, а также ингибирует адгезию воспалительных клеток. [57]

В литературе описаны гены, отвечающие за экспрессию основных молекул адгезии и их часто встречающиеся полиморфизмы:

- адгезивная молекула ICAM-1, ген *ICAM1*, локализация гена *19p13*, часто встречающиеся полиморфизмы: G241R, E469K;
- адгезивная молекула ICAM-2, ген *ICAM2*, локализация гена *17q23-25*;
- адгезивная молекула ICAM-3, ген *ICAM3*, локализация гена *19p13*;
- адгезивная молекула VCAM-1, ген *VCAM1*, локализация гена *1p31-32*;
- адгезивная молекула PECAM-1, ген *PECAM1*, локализация гена *17q23*, часто встречающийся полиморфизм V125L [58, 59].

Исследования, изучающие взаимосвязь между полиморфизмами генов, кодирующих различные молекулы адгезии, и концентрациями этих молекул в крови, встречаются очень редко [60].

В исследовании Hong Jiang показано, что полиморфизм K469E гена *ICAM-1* вовлечен в процесс коронарного атеросклероза. В группе, состоящей из 349 человек с коронарным атеросклерозом и 179 пациентов, перенесших инфаркт миокарда, выявлено, что пациенты с аллелем T (ТС и ТТ) имеют значительно повышенный риск коронарного атеросклероза и инфаркта миокарда, при этом ассоциации с другими факторами риска (включая курение и гиперхолестеринемию) выявлено не было. Таким образом, полиморфизм K469E можно считать независимым фактором риска данных заболеваний [61].

Эти данные были подтверждены в мета-анализе 2014 г., в который вошло 18 исследований с общим количеством 3546 пациентов с атеросклерозом и 3852 пациента в группе контроля [62].

1.2.4 Липопротеин (а)

Липопротеин (а) (LP(a)) – это макромолекулярный комплекс липопротеина низкой плотности (ЛПНП) и белка аполипопротеина (а), являющийся

индикатором значительно повышенного риска раннего атеросклероза и связанных с ним заболеваний (ишемической болезни сердца, инсульта и заболеваний периферических сосудов).

LP(a) – один из наиболее известных генетических маркеров риска атеросклероза. Ранние исследования типа «случай-контроль» выявили значительное повышение LP(a), связанное с заболеваниями сердечно-сосудистой системы. LP(a), содержащий ЛПНП, легко проникает в субэндотелиальное пространство, где связывается с компонентами внеклеточного матрикса и затем индуцирует хемотаксис макрофагов и пролиферацию гладкомышечных клеток (ГМК) [63].

Аполипопротеин А-1 (АПОА-1) представляет собой полипептид, содержащий 245 аминокислотных остатков. АПОА-1 человека составляет около 70 % общей массы белка в липопротеинах высокой плотности (ЛПВП), участвует в обратном транспорте холестерина (ХС) из периферических тканей в печень и является активатором фермента лецитинхолестеринацилтрансферазы (ЛХАТ), участвующем в реакции этерификации ХС.

Ген, кодирующий АПОА-1, локализован на хромосоме 11 (q23.1–q23.2). Полиморфный вариант А-75G гена АПОА-1 (*APOA1*) обусловлен нуклеотидной заменой А на G в 75-й позиции. В исследовании Р. Д. Каюмовой и соавт. выявлено значительное повышение частоты генотипа А-75G в группе лиц, имеющих показатели общего ХС выше нормы [64].

В европейских рекомендациях по дислипидемиям 2019 липопротеин (а) вошел в структуру диагностических мероприятий, как реклассификатор шкалы SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation) при неуточненном риске. Повышение уровня LP(a) является основой для определения пациента в группу более высокого сердечно-сосудистого риска и показанием к терапии статинами (хотя на сегодня и доказано, что статины не влияют отдельно на уровни LP(a) в крови) [65].

ЛПНП-рецептор является одним из важнейших регуляторных элементов обмена частиц ЛПНП. ЛПНП-рецептор (LDLR) – белок, опосредующий

эндоцитоз частиц ЛПНП, обогащенных ХС. ЛПНП-рецептор представляет собой мембранный белок, специфически распознающий апоВ-100 и апоЕ. Ген ЛПНП-рецептора локализуется на 19-й хромосоме человека в позиции p13.2-p13.1 [66; 67].

Исследование LURIC (Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study), включающее 3313 пациентов с установленной ИБС, было проведено для оценки LP(a) и 2-х однонуклеотидных полиморфизмов (rs10455872 и rs3798220) у данной группы пациентов. Медиана наблюдения составила 9 лет. Повышенная тяжесть ишемической болезни сердца была связана с высокими концентрациями липопротеина (а) в плазме крови либо с наличием полиморфизма гена LP(a) [68].

1.2.5 Гомоцистеин

Гомоцистеин, сульфгидрилсодержащая аминокислота, является промежуточным продуктом в нормальном биосинтезе аминокислот метионина и цистеина. Это аминокислота, полученная в результате деметилирования пищевого метионина, который содержится в животном белке [69]. Он присутствует в плазме в четырех различных формах: около 1 % циркулирует в виде свободного тиола, 70–80 % остается дисульфидно-связанным с белками плазмы, главным образом с альбумином, и 20–30 % объединяется с самим собой, образуя гомоцистеин димер или с другими тиолами [70].

Гомоцистеин может опосредованно влиять на сердечно-сосудистые заболевания с помощью нескольких различных механизмов, таких как его неблагоприятное воздействие на эндотелий сосудов и гладкомышечные клетки, приводящие к изменениям в структуре и функции артерий [71]. Некоторые из предполагаемых механизмов этих эффектов включают увеличение пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, эндотелиальную дисфункцию, окислительное повреждение, увеличение синтеза коллагена и ухудшение эластичности артериальной стенки [71]. Изучение влияния гомоцистеина на экспрессию С-реактивного белка и гладкомышечные клетки выявили, что гомоцистеин

значительно индуцирует экспрессию мРНК и гладкомышечных клетках как *in vitro*, так и *in vivo* [72].

Гипергомоцистеинемия определяется как патологическое состояние, характеризующееся повышением уровня гомоцистеина в плазме (нормальные уровни гомоцистеина находятся в диапазоне от 4 до 12.3 мкмоль/л) [73]. В 1969 году, когда у детей с гомоцистеинурией наблюдалась высокая восприимчивость к преждевременной смерти из-за тяжелого атеросклероза и тромботических окклюзий, McCully et al. [74] предложили понятие гипергомоцистеинемии как независимого сердечно-сосудистого фактора риска.

С тех пор постоянно появляются доказательства того, что повышенный уровень гомоцистеина в плазме в диапазоне 15–25 мкмоль/л коррелирует с ишемической болезнью сердца [75], инсультом [76], стенозом периферических артерий [77], венозным тромбозом [78] и дефицитом фолиевой кислоты [79; 80].

Большое проспективное когортное исследование (3056 пациентов, проходивших коронарную ангиографию) также продемонстрировало, что высокий уровень гомоцистеина в плазме был связан со степенью распространенности коронарного атеросклероза в Италии. Кроме того, несколько интервенционных исследований показали, что добавки фолиевой кислоты у пациентов с бессимптомной гипергомоцистеинемией могут улучшить эндотелий-зависимую дилатацию [81; 82; 83].

1.3 Показатели воспаления

1.3.1 Моноцитарный хемотаксический протеин

Моноцитарный хемотаксический протеин (MCP-1), в настоящее время также обозначается CCL2, принадлежит к семейству хемотаксических цитокинов. MCP-1 действует как мощный агонист моноцитов, Т-клеток памяти и базофилов [84].

Моноцитарный хемотаксический белок-1 (MCP-1) является членом семейства малых индуцибельных генов (SIG). Было показано, что он играет роль в хемотаксисе моноцитов к местам повреждения и инфекции. MCP-1 экспрессируется, в основном, воспалительными клетками и эндотелиальными клетками. Уровень экспрессии повышается после провоспалительных стимулов и повреждения тканей, которые связаны с атеросклеротическим поражением. Атеросклероз – это прогрессирующее заболевание, начинающееся с накопления липидов, липопротеинов и иммунных клеток в стенке артерии. Сообщалось, что MCP-1 играет важную роль в патогенезе атеросклероза, и значительные доказательства подтверждают, что моноциты, содержащие MCP и макрофаги влияют на рост других типов клеток в атеросклеротическом очаге [18].

По данным Fuchs S., уровни MCP-1 в сыворотке у пациентов с ишемической болезнью сердца коррелируют с тяжестью атеросклеротического поражения и составом бляшек коронарных артерий [85].

В исследовании Piemonti L. et al. у лиц среднего возраста (61 ± 12 лет) с избыточной массой тела и ожирением, MCP-1 был независимо связан со смертностью от ССЗ. Дальнейшие исследования необходимы для установления его роли в качестве суррогатного биомаркера и потенциальной терапевтической мишени [86].

Фармакологическое воздействие на MCP-1 привело к разработке селективных антагонистов MCP-1/CCL2, которые в настоящее время вступили в фазу I/II клинических испытаний для лечения воспалительных заболеваний, атеросклероза и рака. Считается, что плеiotропное неселективное ингибирование MCP-1/CCL2 действующими фармакологическими агентами способствует их противовоспалительным и антиатеросклеротическим эффектам. MCP-1 играет критическую роль в регуляции хемотаксиса как в отношении здоровья, так и в отношении заболеваний, с растущим интересом к его фармакологическому ингибированию. Однако терапевтическая эффективность и безопасность выбора целью фармакотерапии MCP-1/CCL2 все еще находится в процессе изучения [87].

Во время анализа группы гибридов соматических клеток, ген MСР-1, обозначенный *CCL2*, был локализован в 17-й хромосоме человека. Гибридизация *In situ* подтвердила это и дополнительно локализовала ген -17q11.2-q21.1 [88].

Было продемонстрировано, что однонуклеотидный полиморфизм гена *CCL2* 2518A>G (rs1024611) в области промотора может модулировать уровни экспрессии MСР-1 [89; 90]. *CCL2* 2518 Аллель G по сравнению с аллелем -2518 А связан с увеличением производства как транскрипта MСР-1, так и белка.

Частота встречаемости аллелей А/Г 2518 у Европейцев 0.71/0.29, у Афроамериканцев 0.78/0.22, у Азиатов 0.53/0.47, у Мексиканцев 0.53/0.47 соответственно. Частота генотипов MСР-1 -2518 /-2076:

- AA/AA – Европейцы 0.31, Афроамериканцы 0.56, Азиаты 0.25, Мексиканцы 0.24;
- AA/AT – Европейцы 0.14, Афроамериканцы 0.06, Азиаты 0.06, Мексиканцы 0;
- AA/TT – Европейцы 0.04, Афроамериканцы 0, Азиаты 0, Мексиканцы 0;
- AG/AA – Европейцы 0.35, Афроамериканцы 0.33, Азиаты 0.44, Мексиканцы 0.53;
- AG/AT – Европейцы 0.08, Афроамериканцы 0, Азиаты 0, Мексиканцы 0.06;
- GG/AA – Европейцы 0.07, Афроамериканцы 0.06, Азиаты 0.25, Мексиканцы 0.18.

Интересно, что люди, имеющие -2518/-2076 генотипов GG/AT, GG/TT и GA/TT не были выявлены в ходе данного исследования [89].

В исследовании Riadh Jemaа et al. пациенты с инфарктом миокарда имели значительно более высокую частоту генотипов (AG + GG) по сравнению с контрольной группой [42.9 % против 35.8 %; (95 % ДИ), 1.34 (1.00 – 1.79); (p = 0.04)]. В группе пациентов с инфарктом миокарда (ИМ) выявлена достоверно более высокая частота аллеля G по сравнению с контрольной группой [0.242 против 0.195; (95 % ДИ), 1.31 (1.02 – 1.68); (p = 0.03)]. Связь между полиморфизмом – 2518G/A гена *CCL2* и инфаркта миокарда не была значительной после корректировки других хорошо известных факторов риска [91].

Также результаты исследования Lin H. L. et al. указывают на значительную связь между полиморфизмом гена *CCL2*-2518 и восприимчивость к ИБС.

Генотипы GG (ОШ = 1.629); (ДИ 95 % = 1.003 – 2.644) или лица, по крайней мере, с одним аллелем G (ОШ = 1.511); (ДИ 95 % = 1.006 – 2.270) имели более высокий риск ИБС по сравнению с генотипами AA. Аллель G в *CCL2*-2518 может способствовать более высокой распространенности мерцательной аритмии у пациентов с ИБС (ОШ = 4.254); ($p < 0.05$). В заключение, полиморфизмы генов *CCL2*-2518G и *CCL2*-64I представляют собой важные факторы при определении восприимчивости к ИБС, и вклад *CCL2*-2518G может быть обусловлен влиянием на фибрилляцию предсердий у пациентов с ИБС [20].

Мета-анализ 2015 года подтверждает, что -2518 A/G полиморфизм гена *CCL2* ассоциирован с ИБС, а также с аллель G может быть генетическим фактором риска ИБС. Общая частота аллелей G в контрольной группе значительно различается в разных этнических группах (0.43 в Азиатской; 0.27 в неазиатской соответственно), что указывает на то, что распределение генотипа было значительно связано с этнической принадлежностью [92].

Также мета-анализ Pan J. показал, что полиморфизм *CCL2* A2518G (генотипы (AG + GG)) является фактором риска развития ИБС. Далее для подтверждения результатов мета-анализа по-прежнему необходимы масштабные и хорошо продуманные исследования [93].

1.3.2 Интерлейкин-6

Интерлейкин-6 (IL-6) является основным провоспалительным цитокином, производится различными типами клеток, включая активированные моноциты, макрофаги, эндотелиальные клетки, адипоциты и Th2-клетки. Производство IL-6 инициируется инфекциями, а повышенные уровни обнаруживаются при хронических воспалительных состояниях, которые связаны с повышенным риском ССЗ. IL-6 усиливает воспалительный каскад, стимулируя печеночный синтез реактивов острой фазы, таких как С-реактивный белок (СРБ) и фибриноген, и является также прокоагулянтным цитокином [94].

IL-6 имеет множество других функций, включая активацию эндотелиальных клеток, активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, стимуляцию лимфоцитов пролиферации, дифференцировку и окисление липопротеинов [95].

Благодаря этим различным эффектам IL-6 может играть центральную роль в инициации и прогрессировании атеросклеротических бляшек [96]. IL-6 более последовательно коррелирует с сердечно-сосудистыми заболеваниями, чем с острофазовыми белками, такими как фибриноген и СРБ [97; 98].

Ассоциации между IL-6 и наличием бляшки [98], размером бляшки, нестабильной бляшкой, включая участки пониженной плотности и изъязвление [98; 99; 100], а также стенозом сонной артерии [101; 102], были задокументированы в более ранних исследованиях.

IL-6 также был связан с прогрессированием стеноза сонной артерии [103] и ИБС [104] в группах высокого риска.

В исследованиях The Tromsø Study, IL-6 является независимым предиктором прогрессирования бляшек. Предполагается, что он может быть маркером прогрессирующего атеросклероза в общей популяции, и, что его центральная роль в сердечно-сосудистых заболеваниях может быть связана с содействием росту атеросклеротической бляшки [105].

Ген интерлейкина-6 (*IL6*) локализован на 7p21 хромосоме. Данный ген кодирует белок интерлейкин-6, являющийся одним из наиболее активных цитокинов, участвующих в реализации иммунного ответа и воспалительной реакции. Интерлейкин-6 может действовать как про- и противовоспалительный цитокин в зависимости от ситуации. Основное его действие связано с участием в качестве кофактора при дифференцировке и созревании В-лимфоцитов, экспрессии рецептора интерлейкина-6, пролиферации Т-лимфоцитов. Рядом ученых выявлены ассоциации полиморфизмов данного гена с различными сердечно-сосудистыми заболеваниями [106].

Большое количество работ посвящено изучению ассоциаций полиморфизмов гена *IL6* с развитием и прогрессированием ишемической болезни

сердца. Так, при исследованиях, проводимых среди лиц азиатской популяции, было установлено, что полиморфизмы 174G/C, C572G, rs8034928 и rs11556218 гена *IL6* статистически значимо связаны с повышенным риском ИБС [21; 22; 23; 24].

Мексиканские ученые Frago J. M. et al. в 2015 г. выявили ассоциацию полиморфизмов rs1800796 и rs2079827 гена *IL6* с развитием рестенозов коронарных артерий у мексиканских пациентов [107].

В отношении европейской популяции было доказано, что гомозиготный генотип Т/Т полиморфизма С(-260)Т гена *IL6* выделялся чаще при первом клиническом проявлении коронарной болезни сердца [108].

В Германии ученые во главе с Dietel V. et al. в 2013 г. доказали ассоциативную связь полиморфизмов *IL6* с атеросклеротическим поражением сосудов [109].

В Пакистане исследователи Satti H. S. et al. пришли к выводу, что уровень ИЛ-6 был повышен у пациентов с ишемической болезнью сердца (в сравнении со здоровыми), а также, что -174 полиморфизм гена *IL6* чаще встречается в группе пациентов с ИБС. Более того, циркулирующие ИЛ-6 и СРБ были значительно выше у генотипа СС [110].

Также исследование Wypasek E. et al. показывает, что наличие -174С аллеля определяет повышенный уровень ИЛ-6 и СРБ в постоперационном периоде у пациентов, перенесших операцию коронарного шунтирования [111].

Большой мета-анализ, включающий 19 работ (9417 пациентов с ИБС и 15982 пациента в группе контроля) показал, что у пациентов с аллелем -174С, в отличие от -174G, на 4 % выше риск развития ИБС. Также данное исследование является убедительным доказательством связи повышения ИЛ-6 с развитием ИБС [112].

В России же исследования данного вопроса единичны. Благодатских К. А. и соавт. в 2001 г. выявили повышенную экспрессию ИЛ-6 у носителей генотипа GG полиморфного маркера G(-174)C гена *IL6*, что может приводить к большей

интенсивности воспалительного процесса и последующему неблагоприятному течению ИБС [113].

1.3.3 Интерлейкин-8

Интерлейкин-8 (IL-8) активно секретируется во внеклеточном пространстве в результате различных клеточных стимулов. Это маленький белок, активная форма которого содержит всего 72 аминокислоты [114]. Основными клеточными источниками IL-8 обычно являются моноциты и макрофаги. IL-8 несет основную ответственность за рекрутирование моноцитов и нейтрофилов, основных клеток острого воспалительного ответа. Клеточный рекрутинг происходит посредством развития хемотаксического градиента, который заставляет воспалительную клетку двигаться в область повышенной концентрации хемокинов [115]. В естественных условиях хемотаксический градиент может быть создан путем связывания IL-8 с белками базальной мембраны. Этот градиент помогает привести клетки к месту воспаления, а также удерживает их, как только они прибыли. В дополнение к рекрутированию, IL-8 служит для активации моноцитов и нейтрофилов [114; 115].

Много исследований направлено на изучение того, является ли IL-8 предиктором краткосрочного или долгосрочного исхода у пациентов с ИБС. Inoue T. et al. оценивали сывороточные уровни 10 цитокинов как потенциальных маркеров отдаленного исхода при ангиографически идентифицированных стабильных ИБС. Авторы пришли к выводу, что IL-8 был единственным цитокином, который предсказывал сердечно-сосудистые события, делая это независимо от других девяти цитокинов и высокочувствительного С-реактивного белка [116]. Elmas E. et al. продемонстрировали более высокие уровни сыворотки тканевого ингибитора матричной металлопротеиназы (TIMP-1) и IL-8 у пациентов с фибрилляцией желудочков, осложняющих инфаркт миокарда, предполагая, что пациенты, склонные к фибрилляции желудочков во время инфаркта миокарда, находятся в повышенном провоспалительном состоянии по сравнению с

пациентами без нее [117]. Panichi V. et al. оценивали влияние сывороточного IL-8 на исход пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности (ТПН). Авторы продемонстрировали, что IL-8 является мощным независимым прогностическим фактором сердечно-сосудистой и общей смертности у пациентов с ТПН [118]. Наконец, в крупнейшем исследовании «случай-контроль», оценивающем прогностическую ценность IL-8 у пациентов с ИБС, Herder C. et al. продемонстрировали, что исходные концентрации IL-8 были значительно выше при ИБС, чем у пациентов без ИБС. Однако корректировка на дальнейшие сердечно-сосудистые и иммунологические факторы риска ослабила наблюдаемую связь, и авторы пришли к выводу, что системные уровни IL-8 предшествуют ИБС, но не представляют собой независимый фактор риска [119].

Также IL-8 был оценен как маркер атеросклероза у пациентов с высоким риском без прямых признаков ИБС. В этой области Kim C S. et al. продемонстрировали, что циркулирующие уровни MCP-1 и IL-8 связаны с такими параметрами, как ожирение, индекс массы тела, окружность талии, С-реактивный белок, IL-6, индекс инсулинорезистентности (НОМА-IR) и липопротеин высокой плотности. Эти данные свидетельствуют о том, что циркулирующий MCP-1 и/или IL-8 может быть потенциальным маркером, связывающим ожирение с метаболическими осложнениями, такими как атеросклероз и диабет [120]. Аналогично, в первичной профилактике Trøseid M. et al. сообщили, что физические упражнения значительно снижали уровни MCP-1 и IL-8, демонстрируя снижение уровня сывороточного IL-8 у пациентов с метаболическим синдромом, подвергшихся программе физических упражнений, по сравнению с исходными уровнями и уровнями контрольной группы, не занимающейся физическими упражнениями. Авторы пришли к выводу, что защитный эффект от физических упражнений может быть частично обусловлен подавлением воспалительного процесса [121]. Помимо физических упражнений, статины, по-видимому, способны влиять на связанное с атеросклерозом увеличение выработки IL-8. В этом отношении Rezaie-Majd A. et al.

продемонстрировали, что симвастатин проявляет противовоспалительные свойства, подавляя выработку IL-8 эндотелием и лейкоцитами [122; 123].

1.3.4 Интерлейкин-1-β

Интерлейкин-1β (IL-1β) действует на многие типы клеток и органов, включая те, которые участвуют в атерогенезе, такие как сосудистые эндотелиальные и гладкомышечные клетки и макрофаги. IL-1β стимулирует выброс цитокинов и хемокинов [124].

IL-1β участвует в прогрессировании атеросклероза, в том числе, в локальном образовании атеросклеротической бляшки, воспалительной реакции сосудистой стенки, образовании нестабильной бляшки и разрыве уязвимой покрышки бляшки [125]. IL-1β участвует в поствоспалительной реакции инфаркта миокарда, усиливает экспрессию матриксной металлопротеиназы и участвует в патологическом ремоделировании миокарда [126]. Многие исследования показывают, что IL-1β участвует в возникновении и развитии сердечной недостаточности, в воспалительной реакции в процессе сердечной недостаточности, оказывает прямое токсическое воздействие на сердечную мышцу, способствует апоптозу клеток сердечной мышцы и участвует в ремоделировании миокарда левого желудочка [127; 128; 129].

1.3.5 С-реактивный протеин

С-реактивный протеин/белок (СРП/СРБ) является белком острой фазы и неспецифическим маркером воспаления, вырабатываемым, преимущественно, в гепатоцитах в виде пентамера из идентичных субъединиц в ответ на несколько цитокинов [130]. Интерлейкин IL-6 – один из наиболее мощных стимуляторов выработки СРБ, высвобождается из активированных лейкоцитов в ответ на инфекцию или травму, и из клеток гладких мышц сосудов в ответ на атеросклероз. СРБ непосредственно связывает атерогенный окисленный

холестерин липопротеинов низкой плотности и присутствует в липидных бляшках [131].

Возможная роль СРБ в атерогенезе очень сложна, так как СРБ оказывает проатерогенные эффекты на многие клетки, вовлеченные в атеросклероз [132]. СРБ может способствовать адгезии моноцитов и трансмиграции в стенку сосуда – критический ранний этап в атеросклеротическом процессе [133]. Кроме того, поляризация макрофагов, катализируемая СРБ, является провоспалительным триггером при отложении бляшек, приводящим к инфильтрации макрофагов, как в жировую ткань, так и в атеросклеротические поражения [134].

Помимо его роли в запуске иммунитета при отложении бляшек, исследования *in vitro* также показали связь между СРБ, ингибированием эндотелиальной синтазы оксида азота и нарушением вазореактивности [135]. Изоформа СРБ, мономерный СРБ стимулируется активацией тромбоцитов и обладает собственными протромботическими и воспалительными свойствами [136]. Мономерный СРБ также был обнаружен в бляшках, особенно в областях моноцит-опосредованной воспалительной активности и в липидных микродоменах эндотелиальных клеток [136].

Связь вчСРБ с риском сердечно-сосудистых заболеваний была описана во многих исследованиях [137]. Исследование с множественными факторами риска (MRFIT) было первым из многих первичных профилактических, проспективных эпидемиологических исследований, которые показали сильную связь между уровнями вчСРБ и смертностью от ИБС у мужчин среднего возраста высокого риска [138]. Аналогичная связь между повышением уровня вчСРБ и последующей частотой возникновения ИМ и инсульта была обнаружена при анализе, по-видимому, здоровых мужчин [139].

Стандартные анализы вчСРБ подходят для исследования в условиях активной инфекции, повреждения ткани или острого воспаления, которые, как известно, вызывают заметное повышение. Однако в хронических условиях вариабельность стандартных анализов вчСРБ остается примерно такой же постоянной, как систолическое артериальное давление (САД) и общий

холестерин в годовом исчислении [140]. Оценка риска сердечно-сосудистых заболеваний требует более чувствительного анализа, вчСРБ, который может точно определить очень низкие уровни CRP у здоровых людей или анализа вчСРБ в комплексе с другими маркерами и предикторами атеросклероза.

1.3.6 Фактор некроза опухоли- α

Фактор некроза опухоли- α (TNF- α) является одним из наиболее типичных провоспалительных цитокинов, обладающих как полезными, так и разрушающими свойствами для центральной нервной системы [141; 142].

TNF- α играет важную роль как в атерогенезе, так и в сосудистой дисфункции. Ингибирование TNF- α уменьшает атеросклеротическое поражение [143]. TNF- α был обнаружен в атеросклеротических поражениях на всех стадиях атеросклероза человека, и было обнаружено, что он связан с атеросклерозом на мышинной модели [144]. Лектиноподобный окисленный рецептор ЛПНП-1 (LOX-1) является важным медиатором атерогенеза. TNF- α -индуцированное увеличение экспрессии LOX-1 было продемонстрировано в различных типах клеток, включая эндотелиальные клетки, макрофаги, клетки гладких мышц сосудов и т. д. [145; 146; 147].

TNF- α также участвует в патогенезе ряда сердечно-сосудистых заболеваний, включая атеросклероз, инфаркт миокарда, сердечную недостаточность, миокардит и отторжение сердечного аллотрансплантата, и ответы эндотелиальных клеток сосудов на фактор некроза опухоли могут лежать в основе патологии сосудов во многих из этих состояний. Тем не менее, клинические испытания не показали клинической пользы блокады TNF при застойной сердечной недостаточности. Однако пациенты с хроническими воспалительными состояниями, такими как ревматоидный артрит, имеют повышенную частоту сердечно-сосудистых заболеваний. Воспалительные медиаторы, включая TNF, вовлечены в этот повышенный сердечно-сосудистый

риск, и есть некоторые доказательства того, что терапия против TNF уменьшает этот риск у пациентов с ревматоидным артритом [148].

1.4 Показатели гемостаза

1.4.1 Антитромбин III

Антитромбин III (АТ III) – поливалентный ингибитор сериновых протеиназ (тромбин, факторы Ха, IXa, XIa, XIIIa и калликреин) каскадно-ферментной системы свертывания крови и фибринолиза. При умеренном снижении АТ III (55–70 % от нормы) тромбообразование наблюдается редко, но существенно возрастает риск развития тромбов и инфарктов при наличии предрасполагающих факторов – гиперлипидемии, ожирения, диабета, сердечной недостаточности и др.

Здоровый эндотелий предотвращает активацию каскада коагуляции за счет экспрессии тромбомодулина (активирует белок C) и гепаринсульфата (индуцирует антитромбин III), которые снижают выработку тромбина (основной индуктор фибрина и мощный активатор тромбоцитов) [149].

В исследовании S. C. Vock et al. показано, что ген антитромбина III находится на хромосоме 1q23-1q25 [150]. В настоящее время описано более 80 мутаций гена *SERPINC1*, ответственного за дефицит АТ III в организме.

В исследовании китайской популяции определены три основные мутации гена *SERPINC1*: с.883G>A (p.Val295Met), с.881G>T (p.Arg294Leu), с.880C>T (p.Arg294Cys). Показано, что при их наличии существенно повышается риск тромбозов. При этом носители данных мутаций имели нормальный уровень антитромбина и его функциональной активности, однако, значительно повышенный эндогенный тромбиновый потенциал [151].

1.4.2 Ингибитор активатора плазминогена-1

Активатор плазминогена урокиназного типа – одна из сериновых протеаз, ответственных за превращение профермента плазминогена в плазмин, и, таким образом, играет важнейшую роль в миграции клеток и перестройке ткани [152; 153].

Система урокиназного активатора плазминогена/рецептора урокиназного активатора плазминогена (u-PA_R) играет ключевую роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. Уровень урокиназного активатора плазминогена в крови повышен у пациентов с нестабильной стенокардией, а система урокиназы связана с признаками нестабильности атеросклеротической бляшки [154]. Определение уровней свободного урокиназного активатора плазминогена и связанного с рецептором в сегментах коронарных и аортальных сосудов с различными степенями атеросклеротического поражения показало, что содержание u-PA_R неуклонно повышается с увеличением тяжести атеросклероза [155].

Ген *PLAUR*, также известный как *u-PA_R* или *CD87*, локализован на длинном плече 19-й хромосомы 19q13.2 [156]. Известны два однонуклеотидных полиморфизма в промоторной области гена: 465A>G (rs344781) и 118G>A (rs4251805) [157].

Также важным фактором в активации эндогенного фибринолиза является ингибитор активатора плазминогена (PAI-1), который угнетает как тканевой активатор плазминогена (t-PA), так и урокиназный активатор плазминогена (uPA). Ингибитор активатора плазминогена 1 (PAI-1) – это гликопротеин длиной 52 кДа, который принадлежит к семейству ингибиторов сериновых протеаз и является многогранным протеолитическим фактором. Являясь главным ингибитором тканевого активатора плазминогена, PAI-1 представляет собой важнейший регуляторный протеин фибринолиза. Нарушения фибринолиза, связанные с повышенной активностью PAI-1 ассоциированы с повышенным риском сердечно-сосудистых событий. Повышенная экспрессия PAI-1 также может способствовать образованию «слабых» бляшек с тонкой фиброзной покрышкой путем

ингибирования рецептора u-PA и интегрин-зависимой адгезии, и миграции клеток.

Исследования, выполненные на артериях субъектов с атеросклерозом, подтвердили значительно более высокий уровень мРНК PAI-1 в сосудах с сильно выраженным атеросклерозом по сравнению с субъектами, имеющими нормальные или слабо пораженные артерии [158].

Более того, хорошо известно, что при ишемической болезни сердца наблюдается снижение фибринолитической способности (с повышением концентрации PAI-1 в плазме) [159; 160]. Однако точная роль, которую играет PAI-1, до сих пор неизвестна, поскольку часто определяется третьими факторами, потенциально объясняющими связь фибринолиза с атеросклеротическим заболеванием (например, сахарный диабет, гипертония, ожирение, дислипидемия) [161].

Ген *SERPINE1* находится на хромосоме 7 (q21.3-q22), охватывает 12.3 кб и содержит 9 экзонов и 8 интронов. [162].

Полиморфизм 4G/5G гена *SERPINE1* находится в промоторной области. Наиболее часто исследуемый вариант гена *SERPINE1* – это делеция гуанина в нуклеотидной позиции -675, связанная с сайтом начала транскрипции (rs1799889). *SERPINE1*-675 4G аллель имеет более высокую транскрипционную активность, чем аллель *PAI-1* -675 5G и гомозигота -675 4G ассоциирована с более высоким уровнем PAI-1 в плазме [163].

Некоторые исследования показывают ассоциации между полиморфизмом и риском ССЗ. Однако результаты до сих пор остаются неоднозначными. Мета-анализ, проведенный Zhang H. et al. показывает, что полиморфизм *SERPINE1* 4G/5G ассоциирован с ССЗ, однако авторы отмечают необходимость дальнейших исследований [164].

В исследовании Abboud N. et al. риск инфаркта миокарда был выше у носителей 4G and -844A, связан с повышенным уровнем PAI-1 и пониженным уровнем tPA [165].

Свидетельства ассоциации полиморфизма *SERPINE1*-675 (4G/5G) и перфузии миокарда было показано в исследовании Satra M. et al., предполагается, что процессы в коронарных артериях и прогноз пациентов может также определяться генетическими факторами [166].

Nikolopoulos G. K. et al. доказали, что активность PAI-1 определяет важные сердечно-сосудистые факторы, такие как уровень холестерина и триглицеридов. В этом может заключаться этиологическая связь между алеллем PAI-1 и развитием инфаркта миокарда [167].

В заключение, мета-анализ Liang Z. et al подтверждает, что полиморфизм *SERPINE1* 4G/5G может вносить вклад в индивидуальную переносимость сердечно-сосудистых событий. Касательно сердечно-сосудистых событий с многофакторной этиологией, необходимы дальнейшие исследования для определения генетико-генетических взаимодействий и взаимодействий генов и окружающей среды полиморфизма *SERPINE1* 4G/5G и сердечно-сосудистых событий [168].

1.4.3 Ингибитор пути тканевого фактора

Ингибитор тканевого пути свертывания крови (ингибитор тканевого фактора, Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI)) – липопротеин-ассоциированный полипептид. Синтезируется эндотелиальными клетками и мегакариоцитами и находится в крови и тромбоцитах. Образует комплекс с Ха, который ингибирует комплекс ТФ-VIIIa, т. е. подавляет начальный этап гемокоагуляции – образование протромбиназы. На поверхности эндотелиоцитов TFPI связан с протеогликанами и мобилизуется под влиянием гепарина. Наряду с тромбомодулином, протеинами С и S, антитромбином и гепарином, TFPI относится к естественным антикоагулянтам и является маркером функциональной активности эндотелия.

В исследовании Ohyama MESA (Мультиэтническое исследование атеросклероза) установили, что повышение TFPI независимо связано с уменьшением проходимости и растяжимости аорты (по данным магнитно-резонансной

томографии (МРТ)), вне связи с возрастом и с сердечно-сосудистыми факторами риска, включая артериальное давление [169].

Ген *TFPI* находится на 2-й хромосоме 2q31-q32.1. Подобный ген, названный *TFPI2*, находится на хромосоме 7q22 [170, 171]. Описаны основные полиморфизмы промоторного и кодирующего участков гена *TFPI* [172; 173; 174], и некоторые из них отвечают за общее содержание TFPI в крови.

Китайскими учеными исследованы шесть однонуклеотидных полиморфизмов гена *TFPI2* (rs3763473, rs59805398, rs59999573, rs59740167, rs34489123 и rs4517). Полиморфизмы rs59999573, rs59740167 и rs34489123 находятся в неравновесном сцеплении и составляют восемь гаплотипов: Har1 [AAA], Har2 [AAG], Har3 [GGA], Har4 [GGG], Har5 [AGA], Har6 [AGG], Har7 [GAA] и Har8 [GAG]. Выявлено, что пациенты-носители rs59805398 CC генотипа, rs34489123 AA генотипа, Har3 (GGA), Har5 (AGA), Har6 (AGG), Har7 (GAA) и Har8 (GAG) имеют более высокий риск развития коронарного атеросклероза [175].

1.4.4 Фактор свертывания крови VII (конвертин)

Повреждение сосудов, вызванное деструкцией эндотелия, стимулирует выброс тканевого фактора и, соответственно, его связывание с циркулирующим фактором VII, который обладает к нему высокой афинностью и специфичностью [25; 176; 177]. Фактор VII затем быстро превращается в фактор VIIa, связывает фактор X, что приводит к его превращению в фактор Xa. Все это впоследствии приводит к активации тромбина и формированию тромба. Таким образом, активация внешнего пути свертывания крови играет важнейшую роль в эндотелиальной дисфункции и развитии атеросклероза [178].

Проспективные эпидемиологические исследования, например The Northwick Park Heart Study, сообщают о позитивной и независимой связи между активностью фактора свертывания VII и сердечно-сосудистыми событиями [176]. Существуют некоторые клинические исследования, рассматривающие роль

комплекса тканевой фактор – фактор VIIa в прогрессировании атеросклероза. Уровень данного комплекса прямо пропорционально связан с повышенной толщиной интимы-медии каротидных сосудов как у молодых здоровых взрослых, так и у пациентов с заболеваниями периферических артерий [179; 180].

В исследовании S. Ben-Hadj-Khalifa изучалась взаимосвязь атеросклероза коронарных артерий и фактора VII у народа Туниса. В исследовании выявлено протективное действие против тромбоза и атеросклероза коронарных артерий полиморфизмов R353Q и аллеля H7, а также взаимосвязь гаплотипа H6H6 с атеросклерозом коронарных артерий [181].

Ген F7, отвечающий за фактор свертывания крови VII, находится на хромосоме 13q34 [182].

Активация внешнего пути свертывания играет ключевую роль в гемостазе и, посредством фактора VII, способствует развитию тромботических событий. Высокий уровень фактора VII может непропорционально запускать каскад коагуляции в момент разрыва бляшки, что, по-видимому, может объяснить различную ассоциацию с фатальными и нефатальными событиями. Существует небольшое количество сообщений о повышенном риске ССЗ при увеличении активности фактора VII. И уже сейчас некоторые исследования показывают, что определенные полиморфизмы гена *F7* непосредственно связаны с повышением фактора VIIc, VIIa и антигена фактора VII. Полиморфизм R353Q ассоциирован со снижением фактора VII на 20–25 %. (Полиморфизм R353Q – единичная нуклеотидная замена в аминокислотной последовательности 353 *F7*).

Мета-анализ – мощный инструмент для обобщения результатов различных исследований посредством более точной оценки этих результатов. Однако недавние мета-анализы, включающие исследования полиморфизма R353Q гена *F7*, показывают противоречивые результаты. Mo X. et al. в одном из последних мета-анализов показывают, что полиморфизм R353Q гена *F7* имеет тренд ассоциации с ССЗ в азиатской популяции [183].

В отношении индийской популяции, Shanker J. et al. выявили влияние полиморфизма R353Q гена *F7* на уровень FVII в плазме и развития риска сердечно-сосудистых заболеваний [184].

В другом же мета-анализе, проведенном Huang H. et al., не обнаружено связи полиморфизма R353Q гена *F7* с повышением риска развития инфаркта миокарда. Однако авторы отмечают, что необходимы дальнейшие исследования для подтверждения данного факта [27].

Cheraghi S. et al. также не выявили ассоциаций между полиморфизмом R353Q гена *F7* и прогрессированием сердечно-сосудистых заболеваний в индийской популяции [185].

Еще одно исследование Pegoraro R. J., Ranjith N., Rom L. индийской популяции показало, что полиморфизм R353Q гена *F7* может иметь даже протективную роль посредством ассоциации с повышенным уровнем ЛПВП и сниженным уровнем ЛПНП соответственно [186].

1.4.5 Фактор свертывания XII (Фактор Хагемана, фактор контакта)

Фактор свертывания XII (FXII) – это проэнзим сериновой протеазы, фактора XIIa. Фактор XII превращается в фактор XIIa в процессе аутоактивации, индуцируемой контактом с заряженными поверхностями. Фактор XII является одним из ключевых веществ в процессе образования фибрина, но при этом, при его недостатке повышенной кровоточивости не наблюдается [26]. Предполагается, что фактор XII является биомаркером атеросклеротического повреждения сосудов [187].

Несмотря на то, что основная функция FXII, по-видимому, связана с активацией внутреннего пути свертывания и системы калликреин-кинин, все больше фактов свидетельствует о том, что FXII также может непосредственно регулировать клеточные ответы. В связи с этим было обнаружено, что FXII/FXIIa индуцирует экспрессию медиаторов воспаления, способствует пролиферации клеток и усиливает миграцию нейтрофилов и фибробластов легких [188]. Также

FXII играет важную роль в формировании атеросклеротического поражения, действуя в качестве сильного индуктора провоспалительных цитокинов в антигенпрезентирующих клетках у мышей [189].

Система, управляемая FXII, способствует возникновению различных тромботических и воспалительных заболеваний, угрожающих жизни. Генетическая и фармакологическая блокировка FXII препятствует развитию сердечно-сосудистых заболеваний, венозной тромбоэмболии, образованию отеков и экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита. Важно отметить, ингибирование FXII не связано с повышенной тенденцией к кровотечению. Таким образом, выбор целью для терапии FXII представляется перспективной и безопасной стратегией терапевтического лечения пациентов с тромботическими и воспалительными заболеваниями, требующей дальнейших исследований [190].

Ген, отвечающий за регуляцию фактора свертывания XII, находится на 5q33-qter [191].

В литературе имеются противоречивые данные о роли полиморфизма С46Т гена *F12* в развитии атеросклероза и в сердечно-сосудистом риске. Имеется ряд исследований, где была доказана ассоциация полиморфизма С46Т с сердечно-сосудистым риском.

Однако в исследовании J. Bach et al. такой связи не было выявлено. Таким образом, пока невозможно однозначно оценить вклад полиморфизма С46Т гена *F12* в развитие атеросклероза [28].

1.4.6 Протромбин (Фактор свертывания II)

Протромбин (Фактор II) является предшественником тромбина, он выступает как прокоагулянт с помощью активации и производства фибрина и факторов Va, VIIIa и XIIIa и, впоследствии, как антикоагулянт, активируя протеин С. Мутация гена протромбина ассоциирована с повышенным содержанием протромбина, что является генетически детерминированной особенностью, повышающей риск тромбоза [192].

Образование тромбина при активации протромбина сопровождается выделением фрагментов расщепления (1 + 2) (F1 + 2), и впоследствии образующийся тромбин инактивируется антитромбином посредством образования комплекса тромбин-антитромбин. Следовательно, вместе с уровнями (F1 + 2), комплекс тромбин-антитромбин и D-димер обычно оцениваются как маркеры (продолжающегося) образования тромбина. В целом, уровни этих маркеров в плазме повышены по отношению к степени атеросклероза, и в некоторых исследованиях прогнозировали сердечно-сосудистые события [193; 194].

В исследовании Nenekeh L. уровни фрагмента протромбина (1 + 2) также были связаны с толщиной интимы в общей сонной артерии у пациентов с перенесенным инфарктом миокарда в анамнезе [195].

Ген протромбина (*F2*) находится на коротком плече 11-й хромосомы 11p11.2 [196]. Для данного гена наиболее значимой мутацией является 20210 G>A, носители которой имеют повышенный уровень протромбина в плазме крови [197].

В исследовании V. E. A. Gerdes et al. выявлено, что среди лиц с установленным атеросклерозом толщина интимы-медии больше у носителей мутации 20210 G>A [197]. Также была выявлена связь мутации 20210 G>A с ранним ишемическим инсультом у молодых мужчин [199]. В популяции Туниса также выявлена значимая независимая ассоциация мутации 20210 G>A с развитием инфаркта миокарда [200].

Большое количество исследований демонстрирует ассоциации между *G20210A* мутацией *F2* и венозной тромбоэмболией. Недавно одно из исследований продемонстрировало значительное влияние полиморфизма гена *F2* на перфузию в миокарде [166].

Так же в исследовании Rosendaal F. R. et al. мутация *G20210A* гена *F2* может играть роль в артериальном тромбозе, особенно у молодых людей [201].

Franco R. F. et al. предположили еще в 1999 году, что мутация *F2 G20210A* это генетический риск развития инфаркта миокарда. В дополнение, в

исследовании была показана ассоциация данной мутации с повышенной выработкой тромбина, что может внести большой вклад в понимание роли последнего в развитии венозных и артериальных тромбозов [202].

В исследовании в Египте El-Fattah A. A. A. et al. обнаружили статистически достоверную ассоциацию между полиморфизмом G20210A гена *F2* и инфарктом миокарда. Более того, при наличии полиморфизм протромбина G20210A риск инфаркта миокарда был возраст-ассоциированным. Более значимая ассоциация была обнаружена в субпопуляции моложе 55 лет. Таким образом, полиморфизм G20210A гена *F2* может являться фактором риска инфаркта миокарда [203].

И наконец, в большом мета-анализе, включавшем 30 исследований случай-контроль (14 у детей и 16 взрослых) было доказано, что полиморфизм G20210 A гена *F2* был ассоциирован с ишемическим инсультом, как у детей, так и у взрослых пациентов [204].

Все вышперечисленное доказывает связь полиморфизма G20210A с развитием тромбоза, как неотъемлемой составляющей эндотелиальной дисфункции развития атеросклеротического очага. И так же очевидна необходимость в его дальнейшем изучении.

Таким образом, существует огромное количество маркеров эндотелиальной дисфункции, которые связаны с развитием атеротромботических событий. Работы по поиску маркеров нестабильности атеросклеротических бляшек малочисленны. В связи с чем изучение маркеров нарушения эндотелиальной функции и гемостаза представляет научный интерес.

Полиморфизмы генов, ответственные за регуляцию маркеров нарушения эндотелиальной функции и гемостаза, могут иметь существенное влияние на развитие атеросклероза, а вследствие этого – инфаркта миокарда, инсульта и других сердечно-сосудистых событий, что описано выше.

Однако ассоциации этих полиморфизмов с развитием атеросклероза, по данным литературы, представляются недостаточно изученными и требуют дальнейших исследований. В литературе не встречаются работы по ассоциациям полиморфизмов генов с различными типами бляшек по данным гистологического

исследования. В связи с чем, дальнейшие исследования генетических факторов являются необходимыми.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общая характеристика и распределение по группам

Исследование проведено в рамках Программы совместных научно-исследовательских работ НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН и ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина» Минздрава России. Все пациенты заполняли форму Информированного согласия на участие в исследовании и обработку персональных данных. Проведение исследования было одобрено Этическими комитетами обоих учреждений. Исследование было выполнено в рамках бюджетной темы по Государственному заданию № 0324-2018-0002, бюджетной темы по поддержке биоресурсных коллекций по Государственному заданию № 0324-2017-0048 и при финансовой поддержке Гранта РФФИ № 19-015-00055а.

В исследование были включены 94 мужчины 40–71 лет с коронароангиографически верифицированным коронарным атеросклерозом, без ОКС со стабильной стенокардией напряжения II–IV функционального класса (ФК), поступившие в Клинику ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина» Минздрава России на операцию коронарного шунтирования, которым в ходе операции по интраоперационным показаниям была проведена эндартериэктомия из коронарной(-ых) артерии(-й). Материал эндартериэктомии, содержащий интиму/медиа артерии был поперечно разделен на фрагменты, содержащие атеросклеротические бляшки, для проведения гистологических исследований. Гистологический анализ фрагментов интимы/медии коронарных артерий после стандартной окраски гематоксилин-эозином и Ван Гизон проводился на бинокулярном микроскопе Axiostar Plus (C. Zeiss) с цифровым фото выходом.

Стабильные и нестабильные атеросклеротические бляшки дифференцировались согласно критериям Waksman. Стабильная бляшка характеризуется толстой покрышкой, гомогенным липидным ядром, отсутствием воспалительных изменений, а нестабильная – тонкой покрышкой (толщина менее 65 мкм) или участком истонченной покрышки с очаговой деструкцией эндотелия,

воспалительной клеточной инфильтрацией (более 25 клеток в поле зрения длиной 0,3 мм), рыхлым липидным ядром (более 40 % объема бляшки) с участками некроза [2] (Рисунок 1–4).

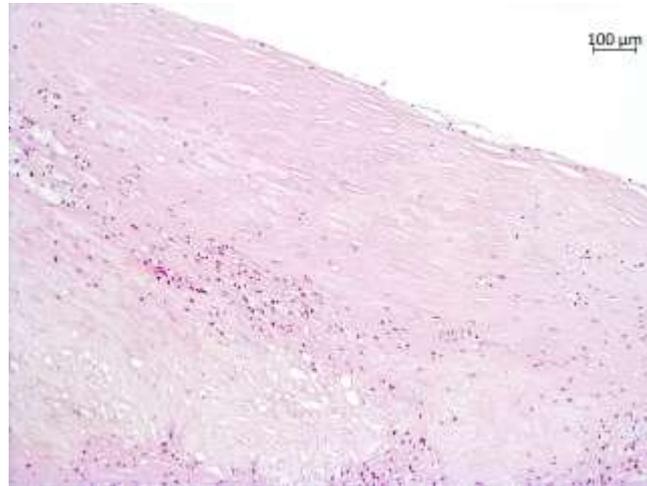


Рисунок 1 – Стабильная фиброзная бляшка с началом атероматоза. Ув. 100.

Окраска гематоксилин-эозином

Сохраняет целостность толстой фиброзной покрывки и эндотелиальной выстилки. В дистальных от просвета слоях наблюдается очаговая пенноклеточная инфильтрация и небольшое ядро из кристаллов холестерина, внеклеточных липидов, пенных клеток.

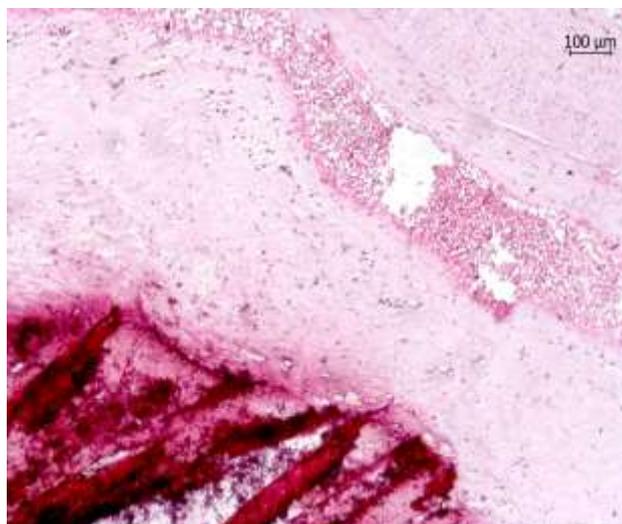


Рисунок 2 – Стабильная фиброзная бляшка с кальцификацией. Ув. 100. Окраска гематоксилин-эозином

Субокклюзирующая просвет стабильная фиброзная бляшка, сохраняющая целостность фиброзной покрышки и эндотелиальной выстилки. Просвет заполнен сохранившими свою целостность эритроцитами. В дистальных от просвета слоях наблюдаются крупноглыбчатые кальцификаты.

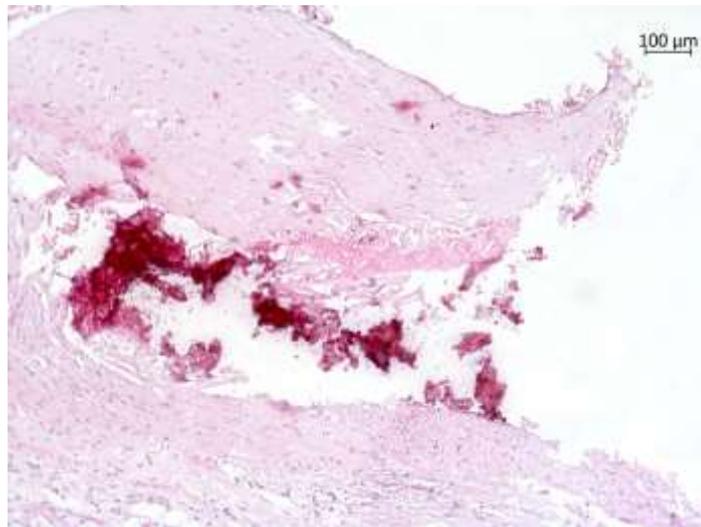


Рисунок 3 – Нестабильная атеросклеротическая бляшка, дистрофически-некротический тип. Ув. 100. Окраска гематоксилин-эозином

Бляшка представлена участками крупноглыбчатой кальцификации и толстой фиброзной покрышкой с разрывами в области плеча.

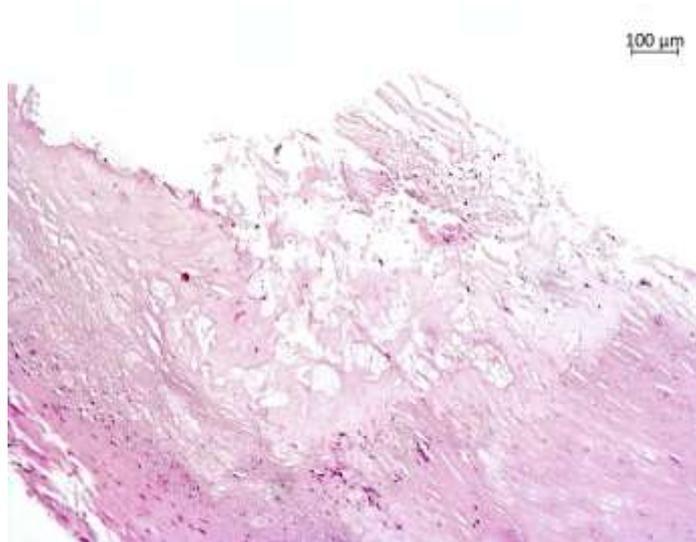


Рисунок 4 – Нестабильная атеросклеротическая бляшка, липидный тип. Ув. 100.

Окраска гематоксилин-эозином

Бляшка представлена крупным атероматозным ядром из аморфных масс, кристаллов холестерина и внеклеточных липидов. Покрышка с распространенной деструкцией и разрывами.

Согласно гистологическому заключению, у 39 мужчин (41 %) атеросклеротические бляшки коронарных артерий (КА) были только стабильные, а у 55 мужчин (59 %) были нестабильные бляшки в КА. По этому критерию все обследованные пациенты были разделены нами на 2 группы.

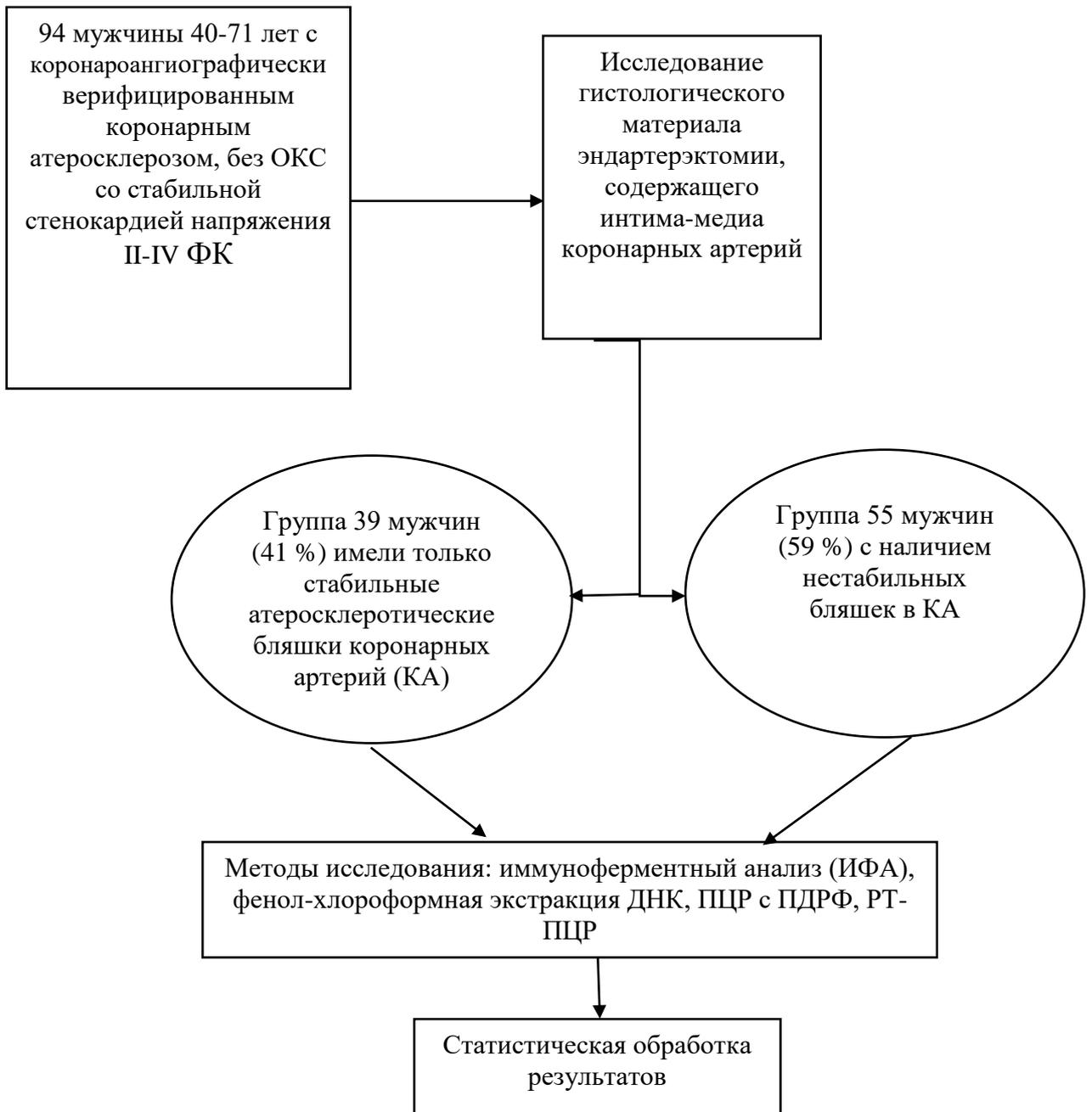


Рисунок 5 – Дизайн исследования

Критериями исключения пациентов из исследования были ИМ давностью менее 6 месяцев, острые воспалительные заболевания, обострение хронических воспалительных заболеваний, активные заболевания печени, почечная недостаточность, онкологические заболевания.

2.2 Материал для исследования

Для проведения биохимических и генетических исследований у всех пациентов до операции коронарного шунтирования однократно утром натощак проводился забор крови из вены. Для проведения биохимических исследований получали плазму и сыворотку.

2.3 Биохимические методы исследования

Исследование биохимических показателей проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием стандартных тест систем ELISAs на анализаторе Multiscan EX (Финляндия)

В сыворотке крови определяли факторы эндотелиальной дисфункции: гомоцистеин (Axis-Shield), моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1 типа – MCP-1 (Bender Medsystems), эндотелин 1 (Biomedica), липопротеин (a), LP(a) (AssayPro), ассиметричный диметиларгинин – ADMA (Immundiagnostik), ингибитор активатора плазминогена 1 типа – PAI-1 (Technoclone), адгезивные молекулы sVCAM-1 (Bender Medsystems). В плазме крови определяли следующие факторы свертывания крови: фактор II, фактор VII, фактор XII, антитромбин III (тест-системы AssayPro). В сыворотке крови определяли воспалительные биомаркеры: фактор некроза опухоли альфа (TNF- α), интерлейкины: IL-1 -бета, IL-6, IL-8 (Bender Medsystems), С-реактивный белок, СРБ (Biomedica).

На момент написания работы отсутствуют общепринятые референсные лабораторные значения для некоторых показателей. Анализ результатов по уровням известных биомаркеров крови проводился нами с ориентиром на разные литературные источники. Для оценки других значений мы ориентировались на результаты законченных немногочисленных исследований в Европе или в США, при этом, учитывая весьма предварительный характер этих значений. Тем не менее, ориентиром уровней в крови стали: MCP-1 \geq 51.5 пг/мл (по данным исследования EPIC-Norfolk, UK) [205]; гомоцистеина \geq 12.0 мкМ/л [206];

эндотелина-1 ≥ 0.31 Пм/л [207]; липопротеина (а) ≥ 180 мг/дл (более 430 нмоль/л) [65]; ADMA ≥ 1.115 ммоль/л [208]; PAI-1 ≥ 100 нг/мл (тест система ELISAs kit); sVCAM-1 ≥ 1148.0 нг/мл [209]; фактор II ≥ 100 мкг/мл; фактор VII ≥ 500 нг/мл; антитромбин III ≥ 200 мкг/мл [210]; фактор XII ≥ 28 мкг/мл (тест система ELISAs kit).

2.4 Генетические методы исследования

ДНК выделена методом фенол-хлороформной экстракции из венозной крови пациентов. Генотипирование проведено методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов.

Для генотипирования по rs1799963 (*F2*), rs6046 (*F7*) использовались наборы производителя ДНК-технология для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

Для генотипирования по rs1024611 (полиморфизм промотора гена *CCL2*) использовали прямой праймер 5'-cagcatcactcatagaatcc-3' и обратный праймер 5'-agtatctggaatgcaggctc-3'. Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: Трис-НСI (рН 9.0) 75 мМ, (NH₄)₂SO₄ 20 мМ, Tween-20 0.01 %, 3.0 мМ MgCl₂, по 2.0 мкл каждого праймера, 0.2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единицу Taq-полимеразы, вода до объема 25 мкл. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95^oС 30 секунд, отжиг праймеров 63^oС 30 секунд и элонгацию 72^oС 30 секунд. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы Pvu II (ООО СибЭнзим, Россия). Размер продукта амплификации 476 п.н. После проведения рестрикции при генотипе AA детектировался продукт 476 п.н., при GG генотипе – продукты 305 п.н. и 171 п.н., при гетерозиготном генотипе AG все перечисленные продукты: 476 п.н., 305 п.н., 171 п.н.

Для генотипирования по rs1799889 (*SERPINE1*) использовали прямой праймер 5'-cacagagagagtctggccacgt-3' и обратный праймер 5'-ссаасагаггактктггткт-

3'. Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: Трис-НСI (рН 9.0) 75 мМ, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 20 мМ, Tween-20 0.01 %, 2.5 мМ MgCl_2 , по 1.0 мкл каждого праймера, 0.2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 0.4 единицы Taq-полимеразы, вода до объема 25 мкл. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 35 циклов, включающих денатурацию 95°C 30 секунд, отжиг праймеров 55°C 30 секунд и элонгацию 72°C 30 секунд. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы Bsc 4 I (ООО СибЭнзим, Россия). Размер продукта амплификации 98 п.н. После проведения рестрикции при наличии аллеля 4G детектировался продукт 98 п.н., при наличии аллеля 5G – продукты 77 п.н. и 22 п.н.

Для генотипирования по rs1800795 (*IL6*) использовали прямой праймер 5'-agcctgttaatctggctactgaaaa -3' и обратный праймер 5'-tgtgcaatgtgacgtcctttagaat -3'. Смесь для ПЦР объемом 14 мкл включала: Трис-НСI (рН 9.0) 75 мМ, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 20 мМ, Tween-20 0.01 %, 2.0 мМ MgCl_2 , по 1.0 мкл каждого праймера, 0.2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица Taq-полимеразы, вода до объема 14 мкл. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 30 циклов, включающих денатурацию 95°C 30 секунд, отжиг праймеров 57°C 30 секунд и элонгацию 72°C 30 секунд. Рестрикцию проводили с 20 единицами активности рестриктазы Hinf I (ООО СибЭнзим, Россия). Размер продукта амплификации 137 п.н. После проведения рестрикции при генотипе CC детектировались продукты 137 п.н. и 130 п.н., при генотипе GG детектировался продукт 110 п.н., при гетерозиготном генотипе CG все перечисленные продукты: 137 п.н., 130 п.н., 110 п.н.

2.5 Анализ распределения изучаемых показателей

В рамках настоящего исследования были выполнены анализ распределения изучаемых показателей: MCP-1, эндотелин 1, гомоцистеин, ADMA, PAI-1, sVCAM-1, фактор II, фактор VII, фактор XII, антитромбин III. Далее представлены гистограммы распределения изучаемых показателей.

Средний уровень МСР-1 составил 575.46 пг/мл, стандартное отклонение 4778.59; медиана и квартили – 487.43 [354.57; 633.68]. Распределение показателя МСР-1 по данным теста Колмогорова-Смирнова оказалось отличным от нормального ($p < 0.01$).

Средний уровень эндотелина-1 составил 1.04 фмоль/мл, стандартное отклонение 2.35; медиана и квартили – 0.51 [0.25; 0.83]. Распределение показателя эндотелин-1 по данным теста Колмогорова-Смирнова оказалось отличным от нормального ($p < 0.01$).

Средний уровень гомоцистеина составил 18.25 мкМ/л, стандартное отклонение 6.80; медиана и квартили – 17.07 [13.39; 22.64]. Распределение показателя гомоцистеин по данным теста Колмогорова-Смирнова оказалось нормальным ($p = 0.574$).

Средний уровень ADMA составил 1.38 мкМ/л, стандартное отклонение 0.36; медиана и квартили – 1.39 [1.23; 1.59]. Распределение показателя ADMA по данным теста Колмогорова-Смирнова оказалось нормальным ($p = 0.414$).

Средний уровень PAI-1 составил 396.92 нг/мл, стандартное отклонение 104.81; медиана и квартили – 397.36 [330.41; 468.92]. Распределение показателя PAI-1 по данным теста Колмогорова-Смирнова оказалось нормальным ($p = 0.962$).

Средний уровень sVCAM-1 составил 911.92 нг/мл, стандартное отклонение 559.75; медиана и квартили – 831.42 [643.22; 1034.76]. Распределение показателя sVCAM-1 по данным теста Колмогорова-Смирнова оказалось отличным от нормального ($p = 0.003$).

Средний уровень фактора II составил 257.17 мкг/мл, стандартное отклонение 62.39; медиана и квартили – 247.45 [207.59; 303.42]. Распределение показателя фактора II по данным теста Колмогорова-Смирнова оказалось нормальным ($p = 0.251$).

Средний уровень фактора VII составил 493.15 нг/мл, стандартное отклонение 594.20; медиана и квартили – 285.67 [212.82; 442.76]. Распределение показателя фактора VII по данным теста Колмогорова-Смирнова оказалось отличным от нормального ($p < 0.01$).

Средний уровень фактора XII составил 102.83 мкг/мл, стандартное отклонение 57.26; медиана и квартили – 94.00 [48.67; 151.58]. Распределение показателя фактора XII по данным теста Колмогорова-Смирнова оказалось нормальным ($p = 0.218$).

Средний уровень антитромбина III составил 603.72 мкг/мл, стандартное отклонение 210.68; медиана и квартили – 592.61 [426.33; 759.37]. Распределение показателя антитромбин III по данным теста Колмогорова-Смирнова оказалось нормальным ($p = 0.589$).

2.6 Статистическая обработка результатов

Полученные результаты статистически обработаны с помощью пакета программ SPSS 16.0, определены частоты генотипов и аллелей изучаемых однонуклеотидных полиморфизмов в группе у мужчин со стабильными и нестабильными бляшками и контрольных группах. Сравнение групп по частотам генотипов и аллелей выполнялось с помощью таблиц сопряженности с использованием критерия хи-квадрат по Пирсону. В случае четырёхпольных таблиц применяли точный двусторонний критерий Фишера с поправкой Йетса на непрерывность. В качестве уровня значимости использовали ($p < 0.05$).

Нормальность распределения биохимических параметров проверяли с использованием теста Колмогорова-Смирнова (в связи с тем, что количество наблюдений больше 60).

При нормальном распределении расчеты производились с использованием Т-критерия Стьюдента для независимых выборок. В случае отклонения от нормального распределения использовали тест Крускалла-Уоллиса и тест Манна-Уитни. В случае номинальной и порядковой шкалы данных использовались таблицы сопряженности и тест хи-квадрат по Пирсону с поправкой на правдоподобие. В качестве уровня значимости также использовали ($p < 0.05$).

2.7 Клиническая характеристика групп пациентов

На основании медицинской документации и анамнеза для всех пациентов были проанализированы жалобы и клиническая картина заболевания на момент осмотра (перед операцией). Сравнительное исследование клинико-анамнестических характеристик представлено в таблице 1.

Согласно таблице 1, статистически значимых различий в клинических характеристиках двух групп мужчин выявлено не было (с наличием только стабильных и с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек).

Группы сопоставимы по возрасту.

Так же учитывался уровень артериального давления (систолического и диастолического) во время объективного осмотра перед оперативным лечением – среднее при трехкратном измерении с интервалом в 10 минут. При этом в 1-й группе (только со стабильными бляшками) гипертоническая болезнь установлена у 77.8 %, а во 2-й (с наличием нестабильных бляшек в коронарных артериях) у 71.4 %. Все пациенты с гипертонической болезнью получали терапию, на которой были достигнуты целевые цифры АД до поступления на оперативное лечение. У остальных мужчин на момент госпитализации гипертоническая болезнь не была верифицирована.

Инфаркт миокарда в анамнезе в 1-й группе имели 71.4 % мужчин, в то время как во 2-й группе – 76.4 %. Стенокардия напряжения II ФК и более встречалась у всех пациентов.

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) наблюдалась практически у всех пациентов в подавляющем большинстве случаев не выше II функционального класса по NYHA. Для описания выраженности симптомов ХСН использовали деление по функциональным классам, согласно критериям, предложенным Нью-Йоркской ассоциацией кардиологов (NYHA). В группе мужчин с нестабильными бляшками число лиц с ХСН I ФК 42.6 %, II ФК – 53.7 %, III ФК – 1.85 %, IV ФК – 1.85 %, что достоверно не отличалось от группы

пациентов без нестабильных бляшек, где число лиц с ХСН I ФК составило 36.6 %, II ФК – 63.4 %.

Сахарный диабет 2 типа в анамнезе встречался у 11.9 % в 1-й группе и у 27.3 % во 2-й. Сахароснижающую терапию получали не все пациенты с сахарным диабетом, данный параметр не учитывался.

Подавляющее большинство пациентов в группах имели избыточную массу тела/ожирение: в 1-й группе 88.9 % (46.3 % для избыточной массы тела и 42.6 % – ожирение 1-й и 2-й степени), во 2-й группе 82.9 % (34.1 % для избыточной массы тела и 48.8 % – ожирение 1-й и 2-й степени). Ожирение, как известно [211], является независимым фактором риска гиперлипидемии, ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда.

При опросе выявлялись также курящие пациенты (курение также является независимым фактором риска гиперлипидемии, ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда), которых в 1-й группе было 12.7 %, а во 2-й 26.2 %.

Гиперлипидемия также учитывалась, при этом в 1-й группе гиперлипидемия в анамнезе была у 65.5 % мужчин, а во 2-й у 76.2 %. Независимо от наличия гиперлипидемии в анамнезе все пациенты по показанию ИБС получали статины в максимально переносимых дозировках (Аторвастатин и Розувастатин).

У всех пациентов были выявлены гемодинамически значимые стенозы в коронарных артериях (гемодинамически значимыми являются стенозы более 70 % для всех коронарных артерий, за исключением левой основной коронарной артерии, где стеноз более 50 % считается значимым) [212].

Таблица 1 – Клинико-anamнестические данные пациентов

Параметр	Группа 1 (с наличием нестабильных бляшек) (n = 55)	Группа 2 (пациенты без нестабильных бляшек) (n = 42)	p
Возраст, лет	59.71 ± 8.69	60.82 ± 7.01	0.398
Систолическое АД	135.68 ± 15.0	141.05 ± 16.44	0.108
Диастолическое АД	82.74 ± 9.75	86.22 ± 9.51	0.92
Пульс	71.24 ± 7.07	67.98 ± 6.11	0.28
ИМ в анамнезе	76.4 % (42)	71.4 % (30)	0.582
Стенокардия напряжения в анамнезе:	100 %	100 %	0.403
I ФК	0	0	
II ФК	12.7 % (7)	14.3 % (6)	
III ФК	78.2 % (43)	69.0 % (29)	
IV ФК	9.1 % (5)	16.7 % (7)	
Гипертоническая болезнь:	77.8 %	71.4 %	0.384
ГБ III ст.	77.8 % (42)	71.4 % (30)	
Хроническая сердечная недостаточность:	100 %	97.6 %	0.439
ХСН I ФК	42.6 % (23)	36.6 % (15)	
ХСН II ФК	53.7 % (29)	63.4 % (26)	
ХСН III ФК	1.85 % (1)	0	
ХСН IV ФК	1.85 % (1)	0	
СД 2 типа в анамнезе	27.3 % (15)	11.9 % (5)	0.064
Избыточный вес (ИМТ 25–29,9 кг/м ²)	46.3 % (25)	34.1 % (14)	0.440
Ожирение (ИМТ ≥ 30 кг/м ²)	42.6 % (23)	48.8 % (20)	0.764
Ожирение, 1 степень 30–34.9	82.6 % (19)	78.9 % (15)	
Ожирение, 2 степень 35–39.9	17.4 % (4)	21.1 % (4)	
Ожирение, 3 степень ≥ 40	0	0	
Курение	12.7 % (7)	26.2 % (11)	0.077
Гиперлипидемия в анамнезе	65.5 % (36)	76.2 % (32)	0.252

Предложенная шкала SCCT grading scale для оценки степени тяжести стеноза оценивает степень стеноза просветного диаметра: 0 % – отсутствие видимого стеноза; 1–24 % – минимальный стеноз; 25–49 % – легкий стеноз; 50–69 % – умеренный стеноз; 70–99 % – тяжелый стеноз; 100 % – окклюзия [213].

Также был проведен анализ различий генотипов *CCL2* (rs1024611), *SERPINE1* (rs1799889), *F2* (rs1799963), *F7* (rs6046), *IL6* (rs1800795) в зависимости от наличия ожирения, инфаркта миокарда в анамнезе, наличия повышенного артериального давления.

Различий в генотипах у пациентов с ожирением и без него выявлено не было, в то время как были выявлены отличия в генотипах *SERPINE1* (rs1799889) в группах пациентов с наличием инфаркта миокарда и без него: в группе с наличием инфаркта миокарда реже встречался генотип 5G4G (ОШ 0.250; 95 % ДИ 0.100–0.625; ($p = 0.002$)) (таблица 2.)

Таблица 2 – Частоты генотипов и аллелей однонуклеотидных полиморфизмов генов *SERPINE1* (rs1799889) в группах с инфарктом миокарда и без него

Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип /аллель	Группа с наличием инфаркта миокарда в анамнезе		Группа без инфаркта миокарда в анамнезе		p
		n (53)	%	n (30)	%	
<i>SERPINE1</i> (rs1799889)	5G5G	12	22.6	4	13.3	p = 0,302
	5G4G	19	35.8	19	63.3	p = 0.002 (ОШ 0.250, 95 % ДИ 0.100–0.625)
	4G4G	22	41.5	7	23.3	p = 0.095
	5G	40.6		45.0		p = 0.115
	4G	59.4		55.0		p = 0.115

А также были выявлены различия в группах с наличием повышения артериального давления (АД) более 140/90 мм рт ст. и в группе со средним АД менее 140/90 мм рт ст. в генотипе *SERPINE1* (rs1799889) (таблица 3.)

Таблица 3 – Частоты генотипов и аллелей однонуклеотидных полиморфизмов генов *SERPINE1* (rs1799889) в группах с гипертонической болезнью и без нее

Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип/ аллель	Группа с наличием АД более 140/90 мм рт ст.		Группа с АД менее 140/90 мм рт ст.		P
		n (43)	%	n (40)	%	
<i>SERPINE1</i> (rs1799889)	5G5G	10	23.3	6	15.0	p = 0.247
	5G4G	13	30.2	25	62.5	p = 0.003 (ОШ 0.260, 95 % ДИ 0.104–0.648)
	4G4G	20	46.5	9	22.5	p = 0.022 (ОШ 2.995, 95 % ДИ 1.154–7.775)
	5G	38.4		46.3		p = 0.304
	4G	61.6		53.8		p = 0.304

При этом в группе с повышенным АД реже встречался генотип 5G4G (ОШ 0.260; 95 % ДИ 0.104 – 0.648), (p = 0.003) и чаще – генотип 4G4G (ОШ 2.995; 95 % ДИ 1.154 – 7.775); (p = 0.022), чем в группе нормального АД.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Показатели эндотелиальной дисфункции и воспаления

В рамках данной работы был проведен анализ уровня биохимических факторов эндотелиальной дисфункции и воспаления (гомоцистеина, эндотелина 1, ADMA, PAI-1, MCP-1, sVCAM-1) в группах мужчин со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях.

У мужчин с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях, уровень в крови MCP-1 был выше в 1.45 раз ($p = 0.19$), 622.80 [443.30; 868.05] vs 429.69 [343.07; 611.41]) (рисунок 6) в сравнении с мужчинами, у которых, согласно гистологическому заключению при анализе материалов образцов интима/меди КА, в коронарных артериях не было нестабильных бляшек.

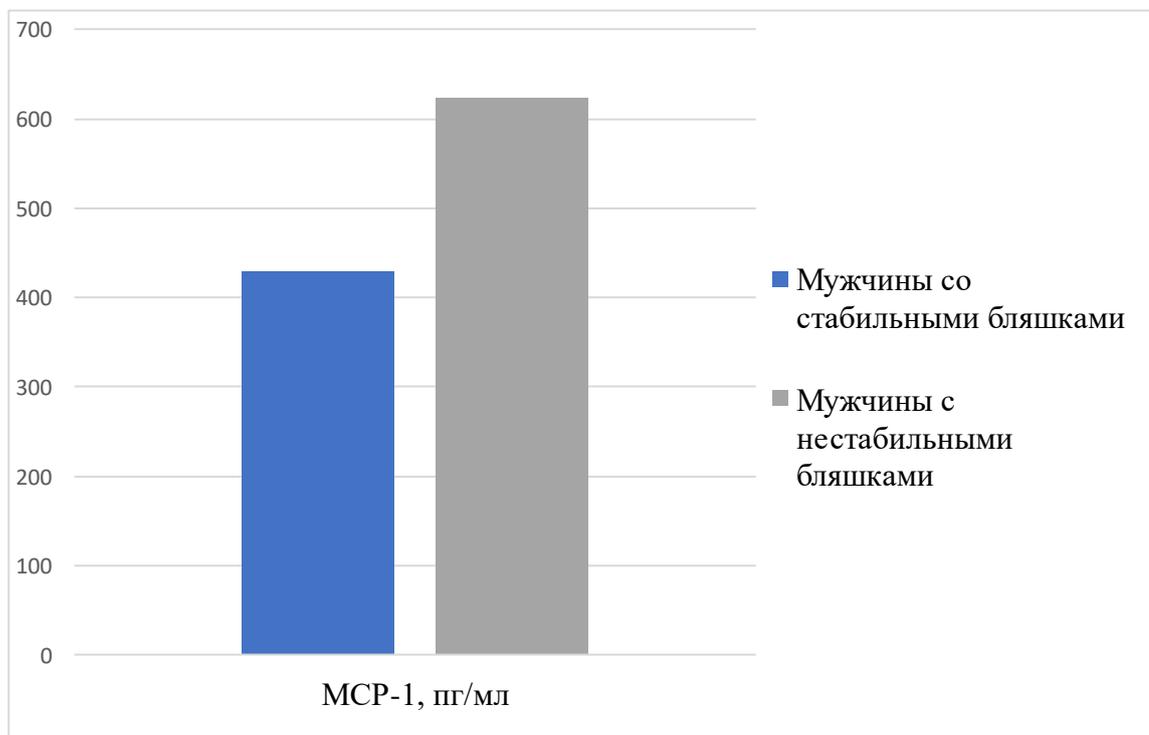


Рисунок 6 – Уровень MCP-1 у мужчин с коронарным атеросклерозом

По уровню в крови других изученных нами факторов эндотелиальной дисфункции различий между двумя группами пациентов выявлено не было (таблица 4–5).

Таблица 4 – Факторы нарушения функции эндотелия у мужчин с коронарным атеросклерозом Me [Q25, Q75]

Факторы эндотелиальной дисфункции в крови	Мужчины (n = 39) со стабильными бляшками в коронарных артериях	Мужчины (n = 55) с нестабильными бляшками в коронарных артериях	P
Эндотелин-1, пМ/л	0.53 [0.33; 0.78]	0.46 [0.22; 0.84]	0.520
sVCAM-1, нг/мл	838.82 [735.82; 1121.71]	825.65 [555.66; 1020.47]	0.144

Таблица 5 – Факторы нарушения функции эндотелия у мужчин с коронарным атеросклерозом (M ± σ)

Факторы эндотелиальной дисфункции в крови	Мужчины (n=39) со стабильными бляшками в коронарных артериях	Мужчины (n=55) с нестабильными бляшками в коронарных артериях	P
Гомоцистеин, мкМ/л	18.07 ± 5.47	18.35 ± 7.58	0.864
ADMA, мкМ/л	1.38 ± 0.36	1.38 ± 0.37	0.959
РАI-1, нг/мл	395.5 ± 116.3	398.0 ± 96.2	0.914

Таким образом, среди факторов эндотелиальной дисфункции получены различия по уровню MCP-1 между пациентами со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях.

3.2 Показатели факторов гемостаза

Также в рамках диссертационной работы был проведен анализ уровней некоторых факторов свертывания крови (фактор II, антитромбин III, фактор VII, фактор XII) в группах мужчин со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях.

У мужчин с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях уровни в плазме крови фактора XII (фактора Хагемана) был в 1.3 раз выше ($p = 0.017$), (85.7 ± 57.7) vs (114.7 ± 54.4) в сравнении с мужчинами, у которых, согласно гистологическому заключению при анализе материалов образцов интима/меди КА, в коронарных артериях не было нестабильных бляшек (рисунок 7).

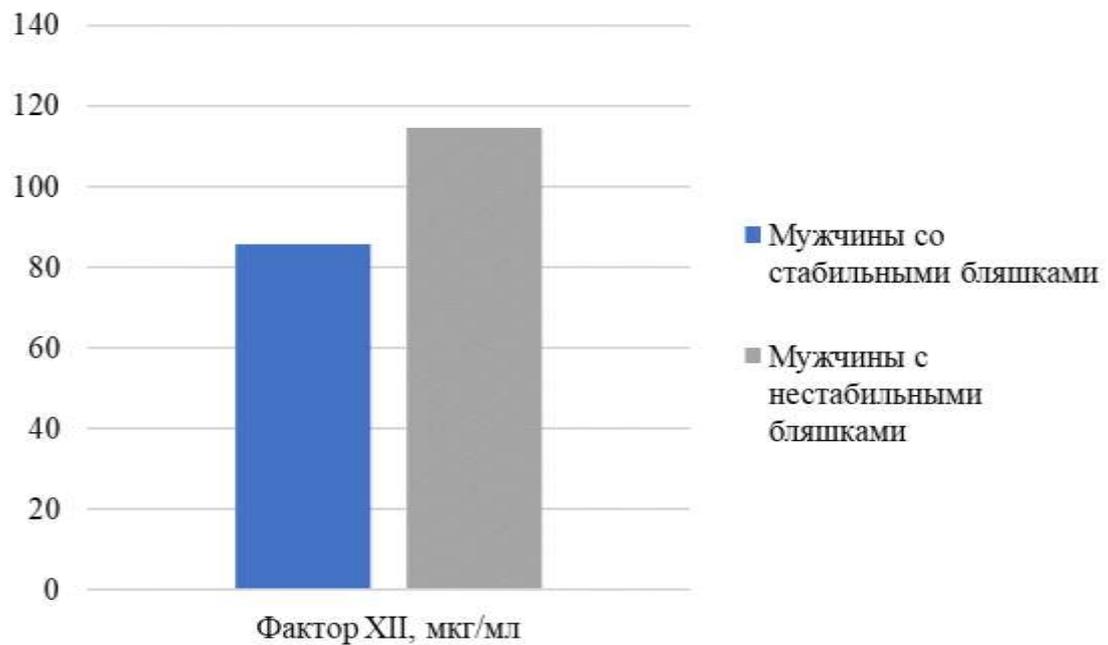


Рисунок 7 – Уровень фактора XII у мужчин с коронарным атеросклерозом

По уровню в плазме крови фактора II, фактора VII и антитромбина III различий между двумя группами мужчин не было (таблица 6–7).

Таблица 6 – Факторы гемостаза у мужчин с коронарным атеросклерозом Me [Q25, Q75]

Факторы свертывания крови	Мужчины (n = 38) со стабильными бляшками в коронарных артериях	Мужчины (n = 55) с нестабильными бляшками в коронарных артериях	P
Фактор VII, нг/мл	305.94 [235.59; 465.46]	259.76 [175.11; 407.66]	0.165

Таблица 7 – Факторы гемостаза у мужчин с коронарным атеросклерозом ($M \pm \sigma$)

Факторы свертывания крови	Мужчины (n = 38) со стабильными бляшками в коронарных артериях	Мужчины (n = 55) с нестабильными бляшками в коронарных артериях	P
Фактор II, мкг/мл	250.5 ± 58.9	261.5 ± 65.5	0.418
Антитромбин III, мкг/мл	611.4 ± 185.9	598.4 ± 227.7	0.763

Таким образом, среди факторов гемостаза получены различия по уровню фактора XII между пациентами со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях.

3.3 Ассоциации факторов эндотелиальной дисфункции с маркерами воспаления и с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях

Проведенные ранее в нашей лаборатории исследования изменения уровней воспалительных маркеров в сыворотке крови у пациентов с коронарным атеросклерозом, показали достоверную разницу некоторых показателей в группах пациентов с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек и пациентов с наличием стабильных бляшек. Поэтому на следующем этапе статистической обработки результатов мы провели корреляционный анализ исследуемых факторов эндотелиальной дисфункции, воспаления, факторов свертывания в крови с учетом непараметрического распределения признаков (таблица 8).

Таблица 8 – Корреляционные связи факторов эндотелиальной дисфункции (ЭД) с факторами гемостаза, факторами воспаления и показателями нестабильности атеросклеротических бляшек в коронарных артериях (r Спирмена)

Факторы ЭД Факторы гемостаза и воспаления	Гомоцистеин	МСР-1	Эндотелин-1	ADMA	PAI-1	sVCAM-1
Фактор II	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05
Фактор VII	p > 0.05	0.242*	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05
Фактор XII	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05
Антитромбин III	p > 0.05	0.406**	p > 0.05	p > 0.05	0.325**	p > 0.05
IL-6	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05
IL-8	p > 0.05	0.260*	p > 0.05	0.371**	p > 0.05	-0.228*
СРБ	p > 0.05	0.229*	0.381**	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05
TNF- α	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	-0.377**	p > 0.05	p > 0.05
IL-1 β	p > 0.05	-0.477**	p > 0.05	p > 0.05	-0.444**	p > 0.05
Наличие нестабильных бляшек в КА	p > 0.05	0.247*	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05

Примечание: КА – коронарные артерии; * – при (p < 0.05); ** – при (p < 0.01).

Были выявлены некоторые корреляционные связи показателей, характеризующих нарушения функции эндотелия с маркерами воспаления и факторами гемостаза. Наибольшее число корреляционных связей выявлено между уровнем в крови МСР-1 и концентрациями фактора VII, антитромбина III, IL-8, СРБ, IL-1 β (отрицательная связь) и наличием у мужчин нестабильных атеросклеротических бляшек в КА. Обнаружены также корреляции между эндотелином-1 и СРБ, между ADMA и IL-8 и TNF- α (отрицательная связь), между PAI-1 и антитромбином III и IL-1 β (отрицательная связь), между sVCAM-1 и IL-8 (отрицательная связь). Показано, что с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях коррелирует только МСР-1.

Все исследуемые нами факторы эндотелиальной дисфункции были включены в Модель логистического регрессионного анализа в качестве независимых переменных, а наличие нестабильных бляшек в КА – в качестве зависимой переменной (таблица 9).

Таблица 9 – Логистический регрессионный анализ относительного риска наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек, связанного с факторами эндотелиальной дисфункции

Факторы ЭД	Exp(B)	95.0 % C.I. для Exp(B)		P
		нижний	верхний	
Гомоцистеин	1.006	0.934	1.084	0.871
МСР-1	1.002	1.000	1.004	0.131
Эндотелин-1	1.135	0.875	1.472	0.339
ADMA	0.962	0.224	4.125	0.959
РАI-1	1.000	0.996	1.004	0.911
sVCAM-1	0.999	0.999	1.000	0.189

Результаты показали, что относительный риск наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек не связан напрямую ни с одним из исследуемых факторов.

3.4 Ассоциации факторов гемостаза с маркерами воспаления и с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях

Нами был проведен корреляционный анализ исследуемых факторов гемостаза с маркерами воспаления, факторами эндотелиальной дисфункции и наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях с учетом непараметрического распределения признаков (таблица 10)

Таблица 10 – Корреляционные связи факторов гемостаза с факторами эндотелиальной дисфункции (ЭД), факторами воспаления и показателями нестабильности атеросклеротических бляшек в коронарных артериях (г Спирмена)

Факторы гемостаза Факторы ЭД и воспаления	Фактор II	Фактор VII	Фактор XII	Антитромбин III
Эндотелин 1	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$
МСР1,	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$
sVCAM-1	$p > 0.05$	0.347*	$p > 0.05$	$p > 0.05$
LP(a)	-0.821*	0.812*	$p > 0.05$	$p > 0.05$
ADMA	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$
Гомоцистеин	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$
IL-6	0.235*	$p > 0.05$	$p > 0.05$	-0.355**
IL-8	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$
СРБ	$p > 0.05$	$p > 0.05$	0.274*	$p > 0.05$
Наличие нестабильных бляшек в КА	0.239*	$p > 0.05$	0.250*	$p > 0.05$
Примечание: КА – коронарные артерии; * – при ($p < 0.05$); ** – при ($p < 0.01$).				

Выявлены корреляции уровня в крови фактора II (протромбина) с концентрациями LP(a) (отрицательная сильная связь) и IL-6 (положительная слабая связь); положительные корреляции фактора VII с LP(a) (положительная сильная связь) и с sVCAM-1; слабая корреляция фактора Хагемана с СРБ и отрицательная корреляция антитромбина III с IL-6. Кроме того, уровни в крови факторов свертывания крови II и XII положительно слабо коррелировали с наличием у мужчин нестабильных атеросклеротических бляшек в КА.

На следующем этапе статистической обработки все исследуемые нами факторы свертывания крови были включены в Модель логистического регрессионного анализа (таблица 11).

Таблица 11 – Логистический регрессионный анализ относительного риска наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек, связанного с факторами гемостаза

Факторы гемостаза	Exp(B)	95.0 % C.I. для Exp(B)		P
		нижний	верхний	
Фактор II	1.003	0.996	1.010	0.418
Фактор VII	1.000	1.000	1.001	0.314
Фактор XII	1.009	1.002	1.017	0.018
Антитромбин III	1.000	0.998	1.002	0.768

Результаты показали, что относительный риск наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек связан только с повышенным уровнем в крови фактора XII (ОШ = 1.009); 95 % ДИ 1.002 – 1.017; ($p = 0.018$).

3.5 Мультивариантный логистический регрессионный анализ относительного риска наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек, связанный с фактором XII

Получив результаты о том, что повышенный уровень фактора XII связан с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях, мы включили уровень фактора XII в многофакторный регрессионный анализ с учетом других сердечно-сосудистых факторов риска (таблица 12).

В Модель 1 был включен возраст и уровень фактора XII, по данным логистического регрессионного анализа риск наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек связан с повышенным уровнем в крови фактора XII независимо от возраста (ОШ = 1.009); 95 % ДИ 1.002 – 1.017; ($p = 0.018$).

В Модель 2 была включена категориальная переменная – наличие гипертонической болезни и уровень фактора XII, по данным логистического

регрессионного анализа риск наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек связан с повышенным уровнем в крови фактора XII независимо от наличия гипертонической болезни (ОШ = 1.011); 95 % ДИ 1.003 – 1.020; ($p = 0.010$).

В Модель 3 был включен индекс массы тела и уровень фактора XII, по данным логистического регрессионного анализа риск наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек связан с повышенным уровнем в крови фактора XII независимо от индекса массы тела (ОШ = 1.011); 95 % ДИ 1.003 – 1.020; ($p = 0.008$).

Таблица 12 – Мультивариантный логистический регрессионный анализ относительного риска наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек, связанный с фактором ХП

Показатели		Модель 1	Модель 2	Модель 3	Модель 4	Модель 5
ОШ (95 % ДИ)	Фактор ХП, мкг/мл	1.009 (1.002–1.017) (p = 0.018)	1.011 (1.003–1.020) (p = 0.010)	1.011 (1.003–1.020) (p = 0.008)	1.008 (1.000–1.017) (p = 0.050)	1.012 (1.003–1.022) (p = 0.013)
	Возраст	0.981 (0.933–1.032) (p = 0.459)	—	—	—	0.990 (0.937–1.046) (p = 0.722)
	Наличие гипертонической болезни	—	1.411 (0.574–3.470) (p = 0.454)	—	—	1.628 (0.637–4.160) (p = 0.309)
	ИМТ, кг/м ²	—	—	1.092 (0.982–1.216) (p = 0.105)	—	1.057 (0.933–1.198) (p = 0.382)
	Курение	—	—	—	1.715 (0.526–5.593) (p = 0.212)	1.591 (0.427–5.925) (p = 0.489)

В Модель 4 была включена категориальная переменная – наличие курения в настоящий момент и в анамнезе, и уровень фактора XII, по данным логистического регрессионного анализа риск наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек связан с повышенным уровнем в крови фактора XII независимо от статуса курения (ОШ = 1.008); 95 % ДИ 1.000 – 1.017; ($p = 0.050$).

В Модель 5 были включены все вышеперечисленные факторы (статус курения, индекс массы тела, наличие гипертонической болезни, возраст) и уровень фактора XII, по данным логистического регрессионного анализа риск наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек связан с повышенным уровнем в крови фактора XII независимо от других сердечно-сосудистых факторов риска (ОШ = 1.012); 95 % ДИ 1.003 – 1.022; ($p = 0.013$).

3.6 Анализ однонуклеотидных полиморфизмов

Нами было проведено выделение ДНК и генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов *CCL2* (rs1024611, 2518A>G), *SERPINE1* (rs1799889 однонуклеотидный полиморфизм-675insG (4G / 5G) в промоторе гена), *IL6* (rs1800795, 174C>G), *F2* (rs1799963, G20210A), *F7* (rs6046, R353Q) в группах мужчин со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях.

Выявлены статистически значимые различия между группами со стабильными и нестабильными бляшками по частотам аллелей и генотипов полиморфизма rs6046 гена *F7*, аллель G vs A ($p = 0.015$). У пациентов со стабильными бляшками в коронарных артериях аллель A встречается в 2.9 раз чаще (95 % ДИ 1.198 – 7.163); ($p = 0.015$), чем у мужчин с нестабильными бляшками. Отношение шансов обнаружить носительство генотипа GA в 4.7 раза больше среди пациентов со стабильными бляшками в коронарных артериях, по сравнению с пациентами с нестабильными бляшками (95% ДИ 0.008 – 0.597); ($p = 0.002$), в то время как шанс обнаружить генотип GG в 4 раза выше в группе

пациентов с нестабильными бляшками (95 % ДИ 1.488 – 10.989); ($p = 0.004$) (таблица 13).

Таблица 13 – Частоты генотипов и аллелей однонуклеотидного полиморфизма гена *F7* (rs6046) в группах мужчин со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях

Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип/ аллель	Группа со стабильными бляшками		Группа с нестабильными бляшками		P
		n	%	n	%	
<i>F7</i> (rs6046)	GG	23	62,2	53	86,9	p = 0.004 (ОШ 0.248, 95 % ДИ 0.091-0.672)
	GA	14	37,8	7	11,5	p = 0.002 (ОШ 4.696, 95 % ДИ 1.676-13.156)
	AA	0	0	1	1,6	p = 0.434
	G	81		92,6		p = 0.015 (ОШ 0.341, 95 % ДИ 0.140-0.835)
	A	19		7,4		p = 0.015 (ОШ 2.930, 95 % ДИ 1.198-7.163)

Также получены статистически значимые различия между группами со стабильными и нестабильными бляшками по частотам генотипов полиморфизма rs1799889 гена *SERPINE1*. При этом по частотам аллелей 4G и 5G достоверной разницы не получено ($p = 0.058$). Отношение шансов обнаружить носительство генотипа 5G4G в 2.47 раза больше среди пациентов со стабильными бляшками в коронарных артериях, по сравнению с пациентами с нестабильными бляшками (95 % ДИ 1.081 – 5.621); ($p = 0.030$). Тогда как носительство генотипа 4G4G в 5,85

раз реже встречается в группе мужчин со стабильными бляшками (95 % ДИ 0.047 – 0.623); ($p = 0.004$) (таблица 14).

Таблица 14 – Частоты генотипов и аллелей однонуклеотидного полиморфизма гена *SERPINE1* (rs1799889) в группах мужчин со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях

Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип/ аллель	Группа со стабильными бляшками		Группа с нестабильными бляшками		P
		n	%	n	%	
<i>SERPINE1</i> (rs1799889)	5G5G	14	35.9	20	32.8	$p = 0.749$
	5G4G	22	56.4	21	34.4	$p = 0.030$ (ОШ 2.465, 95 % ДИ 1.081-5.621)
	4G4G	3	7.7	20	32.8	$p = 0.004$ (ОШ 0.171, 95 % ДИ 0.047-0.623)
	5G	64.1		50		$p = 0.058$
	4G	35.9		50		$p = 0.058$

В группе со стабильными бляшками не найдено носителей редкого аллеля А полиморфизма rs1799963 гена *F2*. Не выявлено статистически значимых различий между группами по частотам генотипов и аллелей полиморфизма rs1799963 гена *F2* (таблица 15).

Таблица 15 – Частоты генотипов и аллелей однонуклеотидного полиморфизмов *F2* (rs1799963) в группах мужчин со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях

Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип/ аллель	Группа со стабильными бляшками		Группа с нестабильными бляшками		P
		n	%	n	%	
<i>F2</i> (rs1799963)	GA	0	0	1	1.6	p = 0.434
	GG	37	100	60	98.4	p = 0.434
	G	100		99		p = 0.435
	A	0		1		p = 0.435

Не выявлено статистически значимых различий между группами по частотам генотипов и аллелей полиморфизма гена *CCL2* (rs 1024611) (таблица 16).

Таблица 16 – Частоты генотипов и аллелей однонуклеотидного полиморфизма гена *CCL2* (rs 1024611) в группах мужчин со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях

Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип/ аллель	Группа со стабильными бляшками		Группа с нестабильными бляшками		P
		n	%	n	%	
<i>CCL2</i> (rs1024611)	AA	17	45.9	27	46.6	p = 0.954
	AG	18	48.6	28	48.3	p = 0.972
	GG	2	5.4	3	5.2	p = 0.960
	A	70.3		70.7		p = 0.951
	G	29.7		29.3		p = 0.951

Не выявлено статистически значимых различий между группами по частотам генотипов и аллелей однонуклеотидных полиморфизмов *IL6* (rs1800795) (таблица 17).

Таблица 17 – Частоты генотипов и аллелей однонуклеотидного полиморфизма гена *IL6* (rs1800795) в группах мужчин со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях

Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип/ аллель	Группа со стабильными бляшками		Группа с нестабильными бляшками		P
		n	%	n	%	
<i>IL6</i> (rs1800795)	CC	8	21.1	13	22	p = 0.976
	CG	17	44.7	27	45.8	p = 0.921
	GG	13	34.2	19	32.2	p = 0.837
	C	43.4		44.9		p = 0,838
	G	56.6		55.1		p = 0.838

Была проведена оценка уровней биохимических показателей (фактора XII, PAI-1, MCP-1, IL-6) в зависимости от генотипов в общей группе и в группах мужчин со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях. Статистически значимой разницы между уровнями биохимических показателей в группах с разными генотипами получено не было (таблица 18).

Таблица 18 – Уровни биохимических факторов в крови в зависимости от генотипа у мужчин со стабильными и нестабильными бляшками

Биохимический маркер	Генотип	Общая группа	Группа со стабильными бляшками	Группа с нестабильными бляшками	P
		Медиана	Медиана	Медиана	
Фактор VII нг/мл	GA	279.28 [172.41; 530.95]	297.30 [226.83; 595.26]	216.09 [133.92; 873.08]	p = 0.368
	GG	284.92 [218.35; 430.75]	302.93 [234.38; 423.23]	284.54 [209.32; 459.78]	p = 0.587
РАI-1 нг/мл	5G5G	397.14 [322.07; 528.08]	447.945 [265.38; 545.48]	382.65 [327.89; 1600.46]	p = 0.586
	5G4G	387.37 [349.45; 445.16]	391.21 [350.60; 450.70]	383.53 [348.74; 432.70]	p = 0.778
	4G4G	412.73 [317.68; 468.48]	330.41 [327.778]	399.99 [304.95; 568.58]	p = 0.555
MCP-1 пг/мл	AA	487.43 [352.55; 620.38]	404.21 [343.07; 611.41]	563.86 [370.24; 626.90]	p = 0.302
	AG	514.61 [352.82; 711.81]	429.69 [343.48; 629.81]	557.066 [361.83; 836.10]	p = 0.347
	GG	470.46 [401.25; 983.78]	821.73 [497.62]	415.27 [387.23]	p = 0.333
IL-6 пг/мл	CC	5.00 [1.40; 16.99]	1.87 [1.27; 16.99]	5.88 [1.77; 18.06]	p = 0.646
	CG	4.34 [1.47; 15.00]	8.25 [1.84; 20.6]	4.34 [1.27; 12.88]	p = 0.309
	GG	8.63 [2.65; 21.85]	10.38 [2.92; 34.98]	8.50 [1.55; 16.00]	p = 0.628

3.7 Логистический регрессионный анализ относительного риска наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек, связанный с однонуклеотидными полиморфизмами

На заключительном этапе полиморфизмы генов *F7* и *SERPINE1* были включены в логистический регрессионный анализ отношения шансов наличия нестабильной атеросклеротической бляшки в коронарных артериях (таблица 19).

Таблица 19 – Логистический регрессионный анализ отношения шансов наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек, связанного с полиморфизмами генов гемостаза и эндотелиальной дисфункции

Полиморфизмы	Exp(B)	95.0 % C.I. для Exp(B)		P
		нижний	верхний	
<i>F7</i> , GG	4.696	1.676	13.156	0.003
<i>SERPINE1</i> , 4G4G	4.667	1.159	18.783	0.030

Таким образом, шанс наличия нестабильных атеросклеротических бляшек в 4.696 раз выше у пациентов с носительством генотипа GG, по отношению к пациентам с носительством других генотипов гена *F7*.

Также шанс наличия нестабильной атеросклеротической бляшки в 4.667 раз выше у пациентов с носительством генотипа 4G4G, по отношению к пациентам с носительством других генотипов гена *SERPINE1*.

ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами результаты относительно МСР-1, не противоречат данным других исследований. Так, в исследовании Cho K. Y. et al. было выявлено, что у пациентов с инфарктом миокарда в нестабильных атеросклеротических бляшках повышено содержание МСР-1 и IL-6 [214]. Hoogeveen R. C. et al. заключили, что повышенный уровень в крови МСР-1 связан не только с риском развития атеросклероза, но и с риском развития инфаркта миокарда [215].

МСР-1, экспрессирующийся макрофагами в ответ на воздействие на них таких цитокинов как TNF- α , IL-1 -бета и IL-6, является моноцит- и Т-лимфоцит-специфическим хемоаттрактантом. Исследование содержания МСР-1 на разных стадиях формирования атеросклеротического очага показало его постепенное нарастание от неизменной ткани интимы до нестабильной бляшки [1]. Deo R. et al. считают, что повышенный уровень МСР-1 в атеросклеротических бляшках, в том числе с кальцинозом, ассоциирован с нестабильностью бляшек [216].

Ma Y. et al. заключили, что повышенные уровни в крови МСР-1 и металлопротеиназы 9 типа являются ключевыми для определения, с высокой долей вероятности, наличия у пациентов с атеросклерозом нестабильных бляшек [217].

В модели логистического регрессионного анализа не было показано, что шанс наличия нестабильной атеросклеротической бляшки увеличивается с увеличением МСР-1, однако данные пограничны, что может быть объяснено малой мощностью выборки.

В связи с этим, полученные нами результаты о корреляции уровня в крови МСР-1 с наличием у мужчин с коронарным атеросклерозом гистологически верифицированных нестабильных бляшек в коронарных артериях, не противоречат данным литературы, и свидетельствуют о том, что повышенный уровень в крови МСР-1 может быть новым потенциальным биомаркером, отражающим наличие тенденции к нестабильности атеросклеротических бляшек в коронарных артериях.

Результаты корреляционного анализа исследуемых факторов эндотелиальной дисфункции и биомаркеров атеросклероза в крови с учетом непараметрического распределения признаков (см. таблицу 8) выявили наибольшее число корреляционных связей между уровнем в крови MCP-1 и концентрациями фактора VII, антитромбина III, IL-8, CRP, IL-1 β (отрицательная связь), и наличием у мужчин нестабильных атеросклеротических бляшек в КА. Обнаружены также корреляции между эндотелином-1 и CRP, между ADMA и IL-8 и TNF- α (отрицательная связь), между PAI-1 и антитромбином III и IL-1 β (отрицательная связь), между sVCAM-1 и IL-8 (отрицательная связь).

Эти результаты отражают полученные данные о том, что повышенное содержание TNF- α , IL-1 β и sVCAM-1, в том числе в крови, характерно не для нестабильных атеросклеротических бляшек в КА, а для стабильных [1; 5; 9].

Фактор XII

На первом этапе нашего исследования мы выявили повышение уровней фактора XII у пациентов с нестабильными бляшками. Полученные результаты не противоречат данным других исследований, посвященных изучению фактора свертывания XII при атеросклерозе. Renne T. и et al. считают, что фактор Хагемана – один из ключевых факторов в образовании фибрина – является биомаркером атеросклеротического повреждения сосудов [26].

Результаты корреляционного анализа исследуемых факторов гемостаза и биомаркеров атеросклероза в крови с учетом непараметрического распределения признаков, представленные в таблице 10, выявили корреляции уровня в крови фактора II (протромбина) с концентрациями LP(a) (отрицательная сильная связь) и IL-6 (положительная слабая связь); положительные корреляции фактора VII с LP(a) (положительная сильная связь) и с sVCAM-1; слабая корреляция фактора Хагемана с CRP и отрицательная корреляция антитромбина III с IL-6. Кроме того, уровни в крови факторов свертывания крови II и XII положительно слабо коррелировали с наличием у мужчин нестабильных атеросклеротических бляшек в КА.

Сочетание воспалительного процесса с нарушениями гемокоагуляции характерно для атерогенеза. Известно, что фактор Хагемана участвует в двух важнейших биологических процессах – гемокоагуляции и образовании кининов – активных медиаторов воспаления, поэтому он является связующим звеном между процессами воспаления и свертывания крови [190; 218]. Поэтому выявленная нами корреляция между фактором Хагемана и воспалительным маркером СРБ вполне объяснима. Выявленную нами корреляцию протромбина с воспалительным маркером IL-6 также можно объяснить, поскольку фактор Хагемана активирует и протромбин посредством активации плазменного предшественника тромбопластина. Кроме того, полученные нами результаты подтверждают данные Miller G. J. et al., которые также выявили корреляционные связи СРБ с несколькими маркерами активации свертывания крови, причем наибольшую – именно с фактором XII [219].

Результаты логистического регрессионного анализа показали, что шанс наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек связан с повышенным уровнем в крови фактора XII, независимо от других изучаемых традиционных сердечно-сосудистых факторов риска. Фактор XII активирует внутренний путь коагуляции, который начинается с появления отрицательно заряженных поверхностей на поверхности эндотелия, что можно наблюдать при дестабилизации бляшки. Это может объяснить выявленные связи между фактором Хагемана и относительным риском наличия уязвимых атеросклеротических бляшек в коронарных артериях. Kuijpers M. J. et al., изучавшие накопление фактора XIIa на наружной поверхности тромбов посредством их иммунологической окраски, считают, что фактор XII регулирует патологический процесс тромбообразования на поверхности осложненных разрывом атеросклеротических бляшек [220].

В связи с этим, полученные нами результаты, во-первых, о корреляциях уровня в плазме крови фактора XII с наличием у мужчин с коронарным атеросклерозом гистологически верифицированных нестабильных бляшек в коронарных артериях и, во-вторых, о связи повышенного уровня в крови фактора

XII с повышением шанса наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек, не только не противоречат данным литературы, но и свидетельствуют о том, что повышенный уровень в крови фактора Хагемана может быть новым биомаркером вероятности наличия нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях.

F7

Повреждение сосудов, вызванное деструкцией эндотелия, стимулирует выброс тканевого фактора и, соответственно, его связывание с циркулирующим фактором VII, который обладает к нему высокой афинностью и специфичностью [221]. Фактор VII затем быстро превращается в фактор VIIa, связывает фактор X, что приводит к его превращению в фактор Xa. Все это впоследствии приводит к активации тромбина и формированию тромба. Таким образом, активация внешнего пути свертывания крови играет важнейшую роль в эндотелиальной дисфункции и развитии атеросклероза [222; 223].

Когортные исследования, например, исследование N. Martinelli, сообщают о том, что плазменная концентрация FVIIa-тканевого фактора является маркером риска общей и сердечно-сосудистой смертности у пациентов с клинически стабильной ИБС [224]. Существуют некоторые клинические исследования, рассматривающие роль комплекса тканевой фактор – фактор VIIa в прогрессировании атеросклероза. Уровень данного комплекса прямо пропорционально связан с повышенной толщиной интимы-медии каротидных сосудов, как у молодых здоровых взрослых, так и у пациентов с заболеваниями периферических артерий [180].

Ген, отвечающий за фактор свертывания крови VII, находится на хромосоме 13q34 [225]. Сообщалось о противоречивой связи между полиморфизмами гена *F7* и ИБС в различных популяциях [27]. Rs6046 гена *F7* был связан с распространенностью ишемического инсульта в популяционном эпидемиологическом генетическом исследовании Olson N. et al. [226]. Однако в некоторых исследованиях сообщается о снижении риска ИБС при наличии

редкого аллеля, например, мета-анализ Mo E. et al., включавший 9151 случай ИБС и 14 099 человек в контрольной группе [183].

В теории фактор VII способствуют развитию атеросклероза через образование тромбина и фибрина. Развитие коагуляции в стенке сосуда может привести к продукции тромбина и активации тромбоцитов, что приводит к высвобождению различных цитокинов и пролиферации гладкомышечных клеток в стенке сосуда. Таким образом, у лиц с более низким уровнем FVIIc может быть меньше шансов на развитие ИБС, при этом в проспективном обсервационном когортном исследовании N. A. Zakai, включавшем американских мужчин и женщин старше 65 лет для оценки факторов риска ССЗ, редкий аллель был ассоциирован со сниженными уровнями фактора VII в крови [227; 228].

В исследовании Vairova T. A. et al., где исследовались российские подростки в возрасте 15.7 лет с гипертонической болезнью и контрольная группа, обладатели аллеля G имели значительно более высокую активность фактора свертывания крови, чем обладатели аллеля A [229]. Таким образом, редкий аллель связан со снижением уровня фактора VII в крови у различных групп пациентов различного возраста.

Следовательно, полиморфизм *F7* может быть ассоциирован со снижением риска сердечно-сосудистых событий сам по себе, при этом, по нашим данным, у пациентов только со стабильными бляшками аллель A встречался чаще, что также может свидетельствовать о снижении риска наличия нестабильной бляшки в коронарных артериях.

Также в данном исследовании выявлено, что отношение шансов обнаружить носительство генотипа GA в 4.7 раза больше среди пациентов со стабильными бляшками в коронарных артериях по сравнению с пациентами с нестабильными бляшками, в то время как шанс обнаружить генотип GG в 4 раза ниже в группе пациентов со стабильными бляшками. У пациентов со стабильными бляшками в коронарных артериях аллель A встречается в 2.9 раз чаще.

По данным логистического регрессионного анализа, шанс наличия нестабильной атеросклеротической бляшки в 4.696 раз выше у пациентов с носительством генотипа GG, по отношению к пациентам с носительством генотипа (GA + AA) гена *F7*.

Это не противоречит данным о том, что аллель А полиморфизма rs6046 гена *F7* является условно «протективным» в отношении развития нестабильной атеросклеротической бляшки.

SERPINE1

Система урокиназного активатора плазминогена/рецептора урокиназного активатора плазминогена (u-PA) играет ключевую роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. Уровень урокиназного активатора плазминогена в крови повышен у пациентов с нестабильной стенокардией, а система урокиназы связана с признаками нестабильности атеросклеротической бляшки [230].

Также важным фактором в активации эндогенного фибринолиза является ингибитор активатора плазминогена (PAI-1), который угнетает как тканевой активатор плазминогена (t-PA), так и урокиназный активатор плазминогена (uPA). Высокая активность PAI-1 вызывает снижение активации плазминогена и, как следствие, ухудшение фибринолиза, таким образом, увеличивая риск тромботических событий, таких как сердечно-сосудистые и цереброваскулярные заболевания, потеря беременности и преэклампсия [231]. У многих исследователей отмечено, что PAI-1 находится в избытке в атеросклеротических бляшках у людей [100].

Ген *SERPINE1* находится на хромосоме 7q22 [232]. При этом редкий аллель 4G связан с большей экспрессией PAI-1, что было показано в исследованиях Ding J. et al., включавших мужчин и женщин в возрасте от 70 до 79 лет (белых и афроамериканцев) [233], а также было подтверждено в обзоре Tsantes A. E. et al. [234]. В мета-анализе Nikolopoulos, основанном на 53 исследованиях, показано, что аллель 4G полиморфизма rs1799889 гена *SERPINE1* связан с повышенным риском инфаркта миокарда посредством изменения уровня PAI-1 плазмы. Важно

отметить, что в данном исследовании во всех моделях носители аллеля 4G имели более высокую активность PAI-1. Это является значительным доказательством того, что активность PAI-1 действительно находится на причинном пути между полиморфизмом PAI-1 4G/5G и возникновением атеротромботических событий. [167]. Также в мета-анализе Liu 2018 года, включавшем 99 исследований, полиморфизм rs1799889 был в значительной степени связан с риском инфаркта миокарда и ишемическим инсультом. Кроме того, полиморфизм rs1799889 значительно коррелировал с риском атеросклероза как у азиатской популяции, так и у европейцев [235].

В нашем исследовании выявлено различие между группами со стабильными и нестабильными бляшками по частотам генотипов rs1799889 гена *SERPINE1*, при этом отношение шансов обнаружить носительство генотипа 5G4G в 2.47 раза больше среди пациентов со стабильными бляшками в коронарных артериях по сравнению с пациентами с нестабильными бляшками. Тогда как носительство генотипа 4G4G в 5,85 раз реже встречается в группе мужчин со стабильными бляшками, что не противоречит данным других исследователей.

По данным логистического регрессионного анализа шанс наличия нестабильной атеросклеротической бляшки в 4.667 раз выше у пациентов с носительством генотипа 4G4G по отношению к пациентам с носительством генотипов 5G5G+4G5G гена *SERPINE1*.

Не было выявлено разницы между уровнями PAI-1 в крови в группах с разными генотипами, однако в тест системах ELISAs верхняя граница диапазона нормальных значений определена как 100 нг/мл. По нашим данным большая часть значений PAI-1 была выше данной границы, вероятнее всего, в связи с наличием у всех пациентов ИБС, поэтому разницы в уровнях PAI-1 получено не было.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на значительные успехи в диагностике и лечении ИБС, смертность от атеротромботических событий остается высокой, в связи с чем, в последних исследованиях предпринимаются попытки выделить биохимические маркеры не только обладающие предсказательной ценностью в отношении наличия ИБС, но и в отношении тяжести ее течения (наличия нестабильности атеросклеротических бляшек).

В результате проведенного исследования было показано, что в группах пациентов с наличием стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях имеются отличия по уровню биохимических маркеров, отражающих нарушения функции эндотелия и гемостаза. МСР-1, фактора XII (фактора Хагемана) выше у мужчин с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях, шанс наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек увеличивается с повышением в крови уровня фактора XII.

Так же выявлены различия между группами со стабильными и нестабильными бляшками по частотам генотипов полиморфизмов генов, кодирующих белки, которые отвечают за нарушение эндотелиальной функции и патологические изменения системы гемостаза. Так генотип 4G4G rs1799889 гена *SERPINE1* и GG rs6046 гена *F7* увеличивают шанс наличия нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях у мужчин с коронарным атеросклерозом.

В исследовании было проведено разделение пациентов на группы согласно гистологическим критериям. Ранее исследований данных маркеров и полиморфизмов, разделенных по критерию нестабильности атеросклеротических бляшек, не проводилось.

Однако исследование является пилотным и ограничено выборкой в 94 человека, что накладывает отпечаток на интерпретацию полученных данных.

Тем не менее, эти данные могут быть использованы в более масштабных работах, а также дать направление будущим исследованиям.

ВЫВОДЫ

1. У мужчин с коронарным атеросклерозом с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях уровень в крови МСР-1 выше в 1.45 раз по сравнению с мужчинами со стабильными бляшками в коронарных артериях (622.80 [443.30; 868.05] и 429.69 [343.07; 611.41] соответственно, ($p = 0.19$)).

2. У мужчин с коронарным атеросклерозом с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях уровень в крови фактора XII (фактора Хагемана) в 1.3 раз выше по сравнению с мужчинами со стабильными бляшками в коронарных артериях (85.7 ± 57.7) и (114.7 ± 54.4) соответственно, ($p = 0.017$). Шанс наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек увеличивается с повышением в крови уровня фактора XII независимо от других сердечно-сосудистых факторов риска (ОШ = 1.009); 95 % ДИ 1.002 – 1.017; ($p = 0.018$)).

3. Аллель А гена *F7* встречается в 2.9 раз чаще у пациентов со стабильными бляшками в коронарных артериях по сравнению с мужчинами с нестабильными бляшками в коронарных артериях (ОШ 2.930, 95 % ДИ 1.198 – 7.163, ($p = 0.015$)). Носительство генотипа GA в 4.7 раза больше среди пациентов со стабильными бляшками в коронарных артериях по сравнению с мужчинами с нестабильными бляшками в коронарных артериях (95 % ДИ 0.008 – 0.597; ($p = 0.002$)), в то время как шанс обнаружить генотип GG в 4 раза выше в группе пациентов с нестабильными бляшками (95 % ДИ 1.488 – 10.989; ($p = 0.004$)). Шанс наличия нестабильной атеросклеротической бляшки в 4.696 раз выше у пациентов с носительством генотипа GG, по отношению к пациентам с носительством 2-х других генотипов гена *F7* (ОШ = 4.696); 95 % ДИ 1.676 – 13.156; ($p = 0.003$)).

4. Отношение шансов обнаружить носительство генотипа 5G4G в 2.47 раза больше среди пациентов со стабильными бляшками в коронарных артериях, по сравнению с пациентами с нестабильными бляшками (95 % ДИ 1.081 – 5.621; ($p = 0.030$)). Тогда как носительство генотипа 4G4G в 5.85 раз реже встречается в

группе мужчин со стабильными бляшками (95 % ДИ 0.047 – 0.623; (p = 0.004)). Шанс наличия нестабильной атеросклеротической бляшки в 4.667 раз выше у пациентов с носительством генотипа 4G4G, по отношению к пациентам с носительством 2-х других генотипов гена *SERPINE1* (ОШ = 4.667); 95 % ДИ 1.159 – 18.783; (p = 0.030).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У мужчин с коронарным атеросклерозом может быть рекомендовано исследование крови на концентрацию фактора XII, поскольку увеличение его содержания в крови ассоциировано с повышением шанса наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек. У мужчин с коронарным атеросклерозом может быть рекомендовано исследование крови на концентрацию MCP-1, так как повышение его концентрации ассоциировано с наличием в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек.

2. В рамках комплексного обследования пациентов для выявления групп риска развития атеросклероза и сердечно-сосудистых событий может быть рекомендовано определение полиморфизмов rs1799889 гена *SERPINE1* и rs6046 гена *F7*. Обнаружение носительства «генотипов риска» позволит на ранних этапах проводить оценку и стратификацию риска.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД	артериальное давление
АТ III	Антитромбин III
ВАК	Высшая аттестационная комиссия
ГБ	гипертоническая болезнь
ГМК	гладкомышечная клетка
ДИ	доверительный интервал
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ИБС	ишемическая болезнь сердца
ИМ	инфаркт миокарда
ИМТ	индекс массы тела
ИФА	иммуноферментный анализ
КА	коронарные артерии
КШ	коронарного шунтирования
ЛПВП	липопротеины высокой плотности
ЛПНП	липопротеины низкой плотности
ЛХАТ	лецитинхолестеринацилтрансфераза
МРТ	магнитно-резонансная томография
НС	нестабильная стенокардия
ОКС	острый коронарный синдром
ОНП	однонуклеотидный полиморфизм
ОШ	отношение шансов
ПЦР	полимеразная цепная реакция
РАН	Российская академия наук
РНК	рибонуклеиновая кислота
РФФИ	Российский фонд фундаментальных исследований
САД	систолическое артериальное давление
СД	сахарный диабет
СРБ	С-реактивный белок

ССЗ	сердечно-сосудистые заболевания
ТИМ	толщина интима-медиа
ТПН	терминальная почечная недостаточность
ТФ	тканевой фактор
ФК	функциональный класс
ХБП	хроническая болезнь почек
ХС	холестерин
ХСН	хроническая сердечная недостаточность
ЦНС	центральная нервная система
ЭД	эндотелиальная дисфункция
ЭТ	эндотелин
ADMA	ассиметричный диметиларгинин
Arg	L-аргинин
АПОА-1	аполипопротеин А-1
АПОС3	аполипопротеин С3
CCR-2 С-С	хемокиновый рецептор 2 типа
CI	доверительный интервал
CRP	С-реактивный белок
DDAH	диметиларгинин диметиламиногидролаза
EAS	Европейское общество по изучению атеросклероза
ELISA	твердофазный иммуноферментный анализ
ESC	Европейское кардиологическое общество
FFR	фракционный резерв кровотока
FII	фактор II
FVII	фактор VII
FXII	фактор XII
НОМА-IR	индекс инсулинорезистентности
ICAM	молекула межклеточной адгезии 1
IL	интерлейкин
KIND	Kuopio Ischemic Heart Disease Risk Factor Study

LDL	липопротеин низкой плотности
LDLR	Рецептор липопротеина низкой плотности
LOX	Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor
LP(a)	липопротеин (a)
LURIC	Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study
MCP-1	моноцитарный хемотаксический протеин 1
MESA	Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis
MRFIT	The Multiple Risk Factor Intervention Trial
NO	оксид азота
NOS	синтаза оксида азота
NYHA	New York Heart Association
OR	отношение шансов
PAI-1	ингибитор активатора плазминогена-1
u-PAR	рецептор активатора плазминогена урокиназного типа
PECAM	молекула адгезии тромбоцит-эндотелиальных клеток
PLAUR	Plasminogen Activator, Urokinase Receptor
SCCT	Society of Cardiovascular Computed Tomography
SCORE	Systematic Coronary Risk Evaluation
SIG	малые индуцибельные гены
SONAR	Study Of Diabetic Nephropathy With Atrasentan
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TFPI	ингибитор пути тканевого фактора
TGF	трансформирующий фактор роста
TIMP	тканевый ингибитор матричной металлопротеиназы
TNF- α	фактор некроза опухоли
VCAM	васкулярная молекула клеточной адгезии-1
VF	фибрилляция желудочков

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Факторы и механизмы нестабильности атеросклеротической бляшки / Ю. И. Рагино, А. М. Чернявский, А. М. Волков, М. И. Воевода. – Новосибирск : Наука, 2008. – 88 с.
2. Handbook of the vulnerable plaque / R. Waksman, P. W. Serruys, J. Schaar. – 2 ed. – London : CRC Press, 2007. – P. 1–48.
3. Casscells, W. Vulnerable atherosclerotic plaque: a multifocal disease / W. Casscells, M. Naghavi, J. T. Willerson. – DOI: 10.1161/01.CIR.0000069329.70061.68. – Text : electronic // Circulation. – 2003. – Vol. 107, N 16. – P. 2072-2075. – URL : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12719287/> (date of access: 14.11.2020).
4. Atherothrombosis and high-risk plaque: part I: evolving concepts / V. Fuster, P. R. Moreno, Z. A. Fayad [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2005. – Vol. 46, N 6. – P. 937-954.
5. Окислительные и эндотелиально-дисфункциональные биомаркеры нестабильности атеросклеротических бляшек. Исследования сосудистой стенки и крови / Ю. И. Рагино, А. М. Чернявский, Я. В. Полонская [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 153, № 3. – С. 308–312.
6. Pathology of the vulnerable plaque / R. Virmani, A. P. Burke, A. Farb, F. D. Kolodgie // J. Am. Coll. Cardiol. – 2006. – Vol. 47, (Suppl. 8). – P. 13–18.
7. Advances in mechanisms, imaging and management of the unstable plaque / G. Niccoli, G. Liuzzo, R. A. Montone, F. Crea // Atherosclerosis. – 2014. – Vol. 233, N 2. – P. 467–477.
8. Fishbein, M. C. The vulnerable and unstable atherosclerotic plaque / M. C. Fishbein // Am. J. Cardiovasc. Pathol. – 2010. – Vol. 19, N 1. – P. 6–11.
9. Факторы и механизмы развития коронарного атеросклероза / Ю. И. Рагино, А. М. Чернявский, А. М. Волков [и др.]. – Новосибирск : Наука, 2011. – 186 с.

10. The impact of vascular endothelial growth factor+ 405 C/G polymorphism on long-term outcome and severity of coronary artery disease / N. S. Kalayi, Ziaree S., Boroumand M. A. [et al.]. – DOI: 10.1002/jcla. 22066. – Text : electronic // J. Clin. Lab. Anal. – 2017. – Vol. 31, N 4. – P. e22066. – URL : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27704620/> (date of access: 14.11.2020).
11. Genomic prediction of coronary heart disease / G. Abraham, A. S. Havulinna, O. G. Bhalala [et al.] // Eur. Heart J. – 2016. – Vol. 37, N 43. – P. 3267–3278.
12. Complement receptor 1 gene polymorphisms are associated with cardiovascular risk / M. A. Vries de, S. Trompet, S. P. Mooijaart [et al.] // Atherosclerosis. – 2017. – Vol. 257. – P. 16–21.
13. Современные лабораторные маркеры в определении прогноза при остром коронарном синдроме и мониторинге терапии / Л. Б. Гайковая, Г. А. Кухарчик, Н. Н. Нестерова [и др.] // Вестник аритмологии. – 2009. – № 58. – С. 52–59.
14. Levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA), an endogenous nitric oxide synthase inhibitor, and risk of coronary artery disease: A meta-analysis based on 4713 participants / C. Xuan, Q.-W. Tian, H. Li [et al.] // Eur. J. Prev. Cardiol. – 2016. – Vol. 23, N 5. – P. 502–510.
15. Relationship of asymmetric dimethylarginine (ADMA) with extent and functional severity of coronary atherosclerosis / F. Mangiacapra, M. Conte, C. Demartini [et al.] // Int. J. Cardiol. – 2016. – Vol. 220. – P. 629–633.
16. Plasma big endothelin-1 levels at admission and future cardiovascular outcomes: a cohort study in patients with stable coronary artery disease / B. Y. Zhou, Y. L. Guo, N.-Q. Wu [et al.] // Int. J. Cardiol. – 2017. – Vol. 230. – P. 76–79.
17. Прогностическая роль эндотелина-1 и возможности его коррекции у больных с нестабильной стенокардией / И. А. Либов, М. В. Киселев, В. Ю. Смирнова [и др.] // РМЖ. – 2008. – Т. 16, № 4. – С. 211–216.
18. Lin, J. Impact of MCP-1 in atherosclerosis / J. Lin, V. Kakkar, X. Lu // Curr. Pharm. Des. – 2014. – Vol. 20, N 28. – P. 4580–4588.

19. Association between the- 2518G/A polymorphism in the monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) gene and myocardial infarction in Tunisian patients / R. Jemaa, H. Rojbani, A. Kallel [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2008. – Vol. 390, N 1–2. – P. 122–125.
20. Impact of MCP-1 and CCR-2 gene polymorphisms on coronary artery disease susceptibility / H. L. Lin, Y. S. Hsieh, W. L. Chiang [et al.] // *Mol. Biol. Rep.* – 2012. – Vol. 39, N 9. – P. 9023–9030.
21. IL-6-174G/C and IL-6-572C/G polymorphisms are associated with increased risk of coronary artery disease / L. Li, E. Li, L. H. Zhang [et al.] // *Genet. Mol. Res.* – 2015. – Vol. 14, N 3. – P. 8451–8457.
22. Interleukin-6 C-572G gene polymorphism and coronary artery disease in Asian: a meta-analysis of 2511 subjects / Y. Y. Li, C.-W. Zhou, J. Xu [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2015. – Vol. 8, N 6. – P. 8995.
23. Association between interleukin 6 and interleukin 16 gene polymorphisms and coronary heart disease risk in a Chinese population / Z. Tong, Q. Li, J. Zhang [et al.] // *J. Int. Med. Res.* – 2013. – Vol. 41, N 4. – P. 1049–1056.
24. Association of two variants in the interleukin-6 receptor gene and premature coronary heart disease in a Chinese Han population / Z. Chen, Q. Qian, C. Tang [et al.] // *Mol. Biol. Rep.* – 2013. – Vol. 40, N 2. – P. 1021–1026.
25. Tissue factor binding of activated factor VII triggers smooth muscle cell proliferation via extracellular signal-regulated kinase activation / P. Cirillo, G. Cali, P. Golino [et al.] // *Circulation.* – 2004. – Vol. 109, N 23. – P. 2911–2916.
26. In vivo roles of factor XII / T. Renne, A. H. Schmaier, K. F. Nickel [et al.] // *Blood.* – 2012. – Vol. 120, N 22. – P. 4296–4303.
27. Polymorphism of R353Q (rs6046) in factor VII and the risk of myocardial infarction: A systematic review and meta-analysis / H. Huang, W. Long, W. Zhao [et al.] // *Medicine.* – 2018. – Vol. 97, N 39. – P. 12566.
28. Coagulation factor XII (FXII) activity, activated FXII, distribution of FXII C46T gene polymorphism and coronary risk / J. Bach, G. Endler, B. R. Winkelmann [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2008. – Vol. 6, N 2. – P. 291–296.

29. Association between plasminogen activator inhibitor-1 and cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis / R. G. Jung, P. Motazedian, F. D. Ramirez [et al.] // *Thromb. J.* – 2018. – Vol. 16, N 1. – P. 12.
30. Novel functional risk factors for the prediction of cardiovascular events in vulnerable patients following acute coronary syndrome / M. K. Reriani, A. J. Flammer, A. Jama [et al.] // *Circ. J.* – 2012. – Vol. 76, N 4. – P. 78–783.
31. Bonetti, P. O. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk / P. O. Bonetti, L. O. Lerman, A. Lerman // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2003. – Vol. 23, N 2. – P. 168–175.
32. Chiu, J. J. Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives / J. J. Chiu, S. Chien // *Physiol. Rev.* – 2011. – Vol. 91. – P. 327–387.
33. Ross, R. Atherosclerosis-an inflammatory disease / R. Ross // *N. Engl. J. Med.* – 1999. – Vol. 340. – P. 115–126.
34. Liao, J. K. Endothelium and acute coronary syndromes / J. K. Liao // *Clin. Chem.* – 1998. – Vol. 44. – P. 1799–1808.
35. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma / F. D. Kolodgie, H. K. Gold, A. P. Burke [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – Vol. 349. – P. 2316–2325.
36. Libby, P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes / P. Libby // *Circulation.* – 2001. – Vol. 104. – P. 365–372.
37. Coronary endothelial dysfunction in patients with early coronary artery disease is associated with the increase in intravascular lipid core plaque / B. J. Choi, A. Prasad, R. Gulati [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2013. – Vol. 34, N 27. – P. 2047–2054.
38. Segmental coronary endothelial dysfunction in patients with minimal atherosclerosis is associated with necrotic core plaques / S. Lavi, J. H. Bae, C. S. Rihal [et al.] // *Heart.* – 2009. – Vol. 95. – P. 1525–1530.
39. Newby, A. C. Metalloproteinases and vulnerable atherosclerotic plaques / A. C. Newby // *Trends Cardiovasc. Med.* – 2007. – Vol. 17. – P. 253–258.

40. Libby, P. The molecular mechanisms of the thrombotic complications of atherosclerosis / P. Libby // *J. Intern. Med.* – 2008. – Vol. 263. – P. 517–527.
41. Inflammatory cytokines and oxidized low density lipoproteins increase endothelial cell expression of membrane type 1-matrix metalloproteinase / T. B. Rajavashisth, J. K. Liao, Z. S. Galis [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1999. – Vol. 274. – P. 11924–11929.
42. Coronary plaque erosion without rupture into a lipid core. A frequent cause of coronary thrombosis in sudden coronary death / A. Farb, A. P. Burke, A. L. Tang [et al.] // *Circulation.* – 1996. – Vol. 93. – P. 1354–1363.
43. Desquamation of human coronary artery endothelium by human mast cell proteases: implications for plaque erosion / M. I. Mäyränpää, H. M. Heikkilä, K. A. Lindstedt [et al.] // *Coron. Artery Dis.* – 2006. – Vol. 17, N 7. – P. 611–621.
44. Asymmetric dimethylarginine is an independent risk factor for coronary heart disease: Results from the multicenter Coronary Artery Risk Determination investigating the Influence of ADMA Concentration (CARDIAC) study / F. Schulze, H. Lenzen, C. Hanefeld [et al.] // *Am. Heart J.* – 2006. – Vol. 152, N 3. – P. 493–496.
45. Plasma levels of asymmetrical dimethylarginine and adverse cardiovascular events after percutaneous coronary intervention / T. M. Lu, Y. A. Ding, S. J. Lin [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2003. – Vol. 24. – P. 1912–1919.
46. Plasma arginine/ADMA ratio as a sensitive risk marker for atherosclerosis: Shimane CoHRE study / Y. Notsu S. Yano, H. Shibata [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2015. – Vol. 239, N 1. – P. 61–66.
47. Relationship of asymmetric dimethylarginine (ADMA) with extent and functional severity of coronary atherosclerosis / F. Mangiacapra, M. Conte, C. Demartini [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2016. – Vol. 220. – P. 629–633.
48. Valkonen, V. P. DDAH gene and cardiovascular risk / V. P. Valkonen, T. P. Tuomainen, R. Laaksonen // *Vasc. Med.* – 2005. – Vol. 10, N 2 (suppl.). – P. S45–S48.
49. Sequence variation in DDAH1 and DDAH2 genes is strongly and additively associated with serum ADMA concentrations in individuals with type 2

diabetes / S. Abhary, K. P. Burdon, A. Kuot [et al.] // *PLoS One*. – 2010. – Vol. 5, N 3. – P. 9462.

50. Chromosomal assignments of the human endothelin family genes: the endothelin-1 gene (EDN1) to 6p23-p24, the endothelin-2 gene (EDN2) to 1p34, and the endothelin-3 gene (EDN3) to 20q13. 2-q13. 3 / T. Arinami, M. Ishikawa, A. Inoue [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 1991. – Vol. 48, N 5. – P. 990.

51. Müller, M. M. Markers of endothelial dysfunction / M. M. Müller, A. Griesmacher // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2000. – Vol. 38, N 2. – P. 77–85.

52. Simonson, M. S. Cellular signaling by endothelin peptides: pathways to the nucleus / M. S. Simonson, Y. Wang, M. J. Dunn // *J. Am. Soc. Nephrology*. – 1992. – Vol. 2, N 10. – P. S116.

53. Cytokines, nitrite/nitrate, soluble tumor necrosis factor receptors, and procalcitonin concentrations: comparisons in patients with septic shock, cardiogenic shock, and bacterial pneumonia / I. Werra De, C. Jaccard, S. B. Corradin [et al.] // *Crit. Care Med.* – 1997. – Vol. 25, N 4. – P. 607–613.

54. Evaluation of the Lys198Asn and-134delA genetic polymorphisms of the endothelin-1 gene / C. Tanaka, K. Kamide, S. Takiuchi [et al.] // *Hypertens. Res.* – 2004. – Vol. 27, N 5. – P. 367–371.

55. Sutton, G. Developments in the Role of Endothelin-1 in Atherosclerosis: A Potential Therapeutic Target? / G. Sutton, D. Pugh, N. Dhaun // *Am. J. Hypertens.* – 2019. – Vol. 32, N 9. – P. 813–815.

56. Masseau, I. Carotid endothelial c-1 is an early marker of carotid atherosclerosis and predicts coronary artery disease in swine / I. Masseau, D. K. Bowles // *Am. J. Biomed. Sci.* – 2015. – Vol. 8, N 11. – P. 789.

57. Evaluation of VCAM-1 antibodies as therapeutic agent for atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice / J. G. Park, S. Y. Ryu, I.-H. Jung [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2013. – Vol. 226, N 2. – P. 356–363.

58. Patterns of single-nucleotide polymorphisms in candidate genes for blood-pressure homeostasis / M. K. Halushka, J. B. Fan, K. Bentley [et al.] // *Nat. Genet.* – 1999. – Vol. 22, N 3. – P. 239–247.

59. Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes / M. Cargill, D. Altshuler, J. Ireland [et al.] // *Nat. Genet.* – 1999. – Vol. 22, N 3. – P. 231–238.
60. Blankenberg, S. Adhesion molecules and atherosclerosis / S. Blankenberg, S. Barbaux, L. Tiret // *Atherosclerosis.* – 2003. – Vol. 170, N 2. – P. 191–203.
61. C/T polymorphism of the intercellular adhesion molecule-1 gene (exon 6, codon 469). A risk factor for coronary heart disease and myocardial infarction / H. Jiang, R. M. Klein, D. Niederacher [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2002. – Vol. 84, N 2. – P. 171–177.
62. Li, D. The ICAM-1 K469E polymorphism is associated with the risk of coronary artery disease: a meta-analysis / D. Li, C. Qu, P. Dong // *Coron. Artery Dis.* – 2014. – Vol. 25, N 8. – P. 665–670.
63. Lipoprotein (a): gene genie / P. N. Durrington, J. D. Schofield, T. Siahmansur, H. Soran // *Curr. Opin. Lipid.* – 2014. – Vol. 25, N 4. – P. 289–296.
64. Изучение вклада генов аполипопротеина С-3 (АПОС-3) и аполипопротеина А-1 (АПОА-1) в состояние липидного профиля сыворотки крови человека / Р. Д. Каюмова, Л. Р. Каюмова, Е. В. Воробьёва, В. Ю. Горбунова // *Известия Самарского научного центра РАН.* – 2011. – Т. 13, № 5 (3). – С. 245–247.
65. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS) // *Eur. Heart J.* – 2020. – Vol. 41, N 1. – P. 111–188.
66. Human genes involved in cholesterol metabolism: chromosomal mapping of the loci for the low density lipoprotein receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase with cDNA probes / V. Lindgren, K. L. Luskey, D. W. Russell, U. Francke // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 1985. – Vol. 82, N 24. – P. 8567–8571.
67. Francke, U. Assignment of the human gene for the low density lipoprotein receptor to chromosome 19: synteny of a receptor, a ligand, and a genetic disease / U. Francke, M. S. Brown, J. L. Goldstein // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 1984. – Vol. 81, N 9. – P. 2826–2830.

68. Relations between lipoprotein (a) concentrations, LPA genetic variants, and the risk of mortality in patients with established coronary heart disease: a molecular and genetic association study / S. Zewinger, V. Tragante, M. E. Kleber [et al.] // *Lancet Diab. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 5, N 7. – P. 534–543.
69. Venes, D. *Taber's cyclopedic medical dictionary* / D. Venes. – Davis : FA Davis, 2017. – 1089 p.
70. Hankey, G. J. Homocysteine and vascular disease / G. J. Hankey, J. W. Eikelboom // *Lancet.* – 1999. – Vol. 354, N 9176. – P. 407–413.
71. Association between serum homocysteine and arterial stiffness in elderly: a community-based study / S. Zhang, B. Wang, J. Wang [et al.] // *J. Geriatr. Cardiol.* – 2014. – Vol. 11, N 1. – P. 32.
72. Homocysteine induces the expression of C-reactive protein via NMDAR-ROS-MAPK-NF- κ B signal pathway in rat vascular smooth muscle cells / X. Pang, J. Liu, J. Zhao [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2014. – Vol. 236, N 1. – P. 73–81.
73. The MTHFR 677T allele may influence the severity and biochemical risk factors of Alzheimer's disease in an Egyptian population / N. A. Elhawary, D. Hewedi, A. Arab [et al.] // *Dis. Markers.* – 2013. – Vol. 35, N 5. – P. 439–446.
74. McCully, K. S. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis / K. S. McCully // *Am. J. Pathol.* – 1969. – Vol. 56, N 1. – P. 111.
75. Serum total homocysteine and coronary heart disease / E. Arnesen, H. Refsum, K. H. Børnaa [et al.] // *Int. J. Epidemiol.* – 1995. – Vol. 24, N 4. – P. 704–709.
76. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis / Homocysteine Studies Collaboration // *JAMA.* – 2002. – Vol. 288, N 16. – P. 2015–2022.
77. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: the European Concerted Action Project / I. M. Graham, L. E. Daly, H. M. Refsum [et al.] // *JAMA.* – 1997. – Vol. 277, N 22. – P. 1775–1781.

78. Hyperhomocysteinemia and venous thrombosis: a meta-analysis / M. Heijer Den, F. R. Rosendaal, H. J. Blom [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 1998. – Vol. 80, N 12. – P. 874–877.
79. Cheng, Z. J. Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction / Z. J. Cheng, X. Yang, H. Wang // *Curr. Hypertens. Rev.* – 2009. – Vol. 5, N 2. – P. 158–165.
80. Lai, W. K. C. Homocysteine-induced endothelial dysfunction / W. K. C. Lai, M. Y. Kan // *Ann. Nutr. Metab.* – 2015. – Vol. 67, N 1. – P. 1–12.
81. Folic acid improves arterial endothelial function in adults with hyperhomocysteinemia / K. S. Woo, P. Chook, Y. I. Lolin [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 1999. – Vol. 34, N 7. – P. 2002–2006.
82. McDowell, W. Oral folate enhances endothelial function in hyperhomocysteinaemic subjects / W. McDowell // *Eur. J. Clin. Invest.* – 1999. – Vol. 29, N 8. – P. 659–662.
83. The effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid on flow-mediated vasodilation in patients with coronary artery disease: a meta-analysis of randomized controlled trials / Y. Liu, T. Tian, H. Zhang [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2014. – Vol. 235, N 1. – P. 31–35.
84. Charo, I. F. Chemokines in the pathogenesis of vascular disease / I. F. Charo, M. B. Taubman // *Circ. Res.* – 2004. – Vol. 95, N 9. – P. 858–866.
85. Intracoronary monocyte chemoattractant protein 1 and vascular endothelial growth factor levels are associated with necrotic core, calcium and fibrous tissue atherosclerotic plaque components: an intracoronary ultrasound radiofrequency study / S. Fuchs, I. Lavi, O. Tzang [et al.] // *Cardiology.* – 2012. – Vol. 123, N 2. – P. 125–132.
86. Association between plasma monocyte chemoattractant protein-1 concentration and cardiovascular disease mortality in middle-aged diabetic and nondiabetic individuals / L. Piemonti G. Calori, G. Lattuada [et al.] // *Diabetes Care.* – 2009. – Vol. 32, N 11. – P. 2105–2110.

87. The regulation and importance of monocyte chemoattractant protein-1 / V. Bianconi A. Sahebka, S. L. Atkin, M. Pirro // *Curr. Opin. Hematol.* – 2018. – Vol. 25, N 1. – P. 44–51.]
88. Localization of monocyte chemotactic protein-1 gene (SCYA2) to human chromosome 17q11. 2–q21. 1 / M. Mehrabian, R. S. Sparkes, T. Mohandas [et al.] // *Genomics.* – 1991. – Vol. 9, N 1. – P. 200–203.
89. Rovin, B. H. A novel polymorphism in the MCP-1 gene regulatory region that influences MCP-1 expression / B. H. Rovin, L. Lu, R. Saxena // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1999. – Vol. 259, N 2. – P. 344–348.
90. MCP-1 in Alzheimer's disease patients: A-2518G polymorphism and serum levels / C. Fenoglio, D. Galimberti, C. Lovati [et al.] // *Neurobiol. Aging.* – 2004. – Vol. 25, N 9. – P. 1169–1173.
91. Association between the- 2518G/A polymorphism in the monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) gene and myocardial infarction in Tunisian patients / R. Jemaa H. Rojbani, A. Kallel [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2008. – Vol. 390, N 1–2. – P. 122–125.
92. The associations between the MCP-1– 2518 A/G polymorphism and ischemic heart disease and ischemic stroke: a meta-analysis of 28 research studies involving 21,524 individuals / G. Cai, B. Zhang, W. Weng [et al.] // *Mol. Biol. Rep.* – 2015. – Vol. 42, N 5. – P. 997–1012.
93. Pan, J. Association between MCP-1 A2518G polymorphism and coronary artery disease risk: evidence from 21 case-control studies / J. Pan, C. Gao // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2016. – Vol. 9, N 7. – P. 14087–14095.
94. Kerr, R. Interleukin 6 and haemostasis / R. Kerr, D. Stirling, C. A. Ludlam // *Br. J. Haematol.* – 2001. – Vol. 115, N 1. – P. 3–12.
95. How much is too much? Interleukin-6 and its signalling in atherosclerosis / H. Schuett, M. Luchtefeld, C. Grothusen [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2009. – Vol. 102, N 08. – P. 215–222.
96. Hartman, J. Inflammation and atherosclerosis: a review of the role of interleukin-6 in the development of atherosclerosis and the potential for targeted drug

therapy / J. Hartman, W. H. Frishman // *Cardiol. Rev.* – 2014. – Vol. 22, N 3. – P. 147–151.

97. Ridker, P. M. From C-reactive protein to interleukin-6 to interleukin-1: moving upstream to identify novel targets for atheroprotection / P. M. Ridker // *Circ. Res.* – 2016. – Vol. 118, N 1. – P. 145–156.

98. Inflammatory markers in patients with internal carotid artery stenosis / P. Puz, S. Stojkovic, A. Piechota-Polanczyk [et al.] // *Arch. Med. Sci. (AMS)*. – 2013. – Vol. 9, N 2. – P. 254.

99. Inflammatory biomarkers in atherosclerosis: pentraxin 3 can become a novel marker of plaque vulnerability / A. Shindo, H. Tanemura, K. Yata [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, N 6. – P. E100045.

100. Predictors of change in carotid atherosclerotic plaque inflammation and burden as measured by 18-FDG-PET and MRI, respectively, in the dal-PLAQUE study / V. Mani, M. Woodward, D. Samber [et al.] // *Int. J. Cardiovasc. Imaging*. – 2014. – Vol. 30, N 3. – P. 571–582.

101. Serum interleukin-6 is elevated in symptomatic carotid bifurcation disease / M. Koutouzis, L. S. Rallidis, G. Peros [et al.] // *Acta Neurol. Scand.* – 2009. – Vol. 119, N 2. – P. 119–125.

102. Association of multiple inflammatory markers with carotid intimal medial thickness and stenosis (from the Framingham Heart Study) / A. H. Thakore, C.-Y. Guo, M. G. Larson [et al.] // *Am. J. Cardiol.* – 2007. – Vol. 99, N 11. – P. 1598–1602.

103. Puz, P. Repeated measurements of serum concentrations of TNF-alpha, interleukin-6 and interleukin-10 in the evaluation of internal carotid artery stenosis progression / P. Puz, A. Lasek-Bal // *Atherosclerosis*. – 2017. – Vol. 263. – P. 97–103.

104. Association of interleukin-6 with the progression of carotid atherosclerosis: a 9-year follow-up study / S. Okazaki, M. Sakaguchi, K. Miwa [et al.] // *Stroke*. – 2014. – Vol. 45, N 10. – P. 2924–2929.

105. Interleukin-6 is an independent predictor of progressive atherosclerosis in the carotid artery: The Tromsø Study / A. Eltoft, K. A. Arntzen, T. Wilsgaard [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2018. – Vol. 271. – P. 1–8

106. Роль гена интерлейкина-6 в развитии идиопатического синдрома слабости синусового узла / С. Ю. Никулина, А. В. Мариловцева, А. А. Чернова [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2016. – № 10. – С. 32–36.

107. The T29C (rs1800470) polymorphism of the transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) gene is associated with restenosis after coronary stenting in Mexican patients / J. M. Fragoso, J. Zuñiga-Ramos, M. Arellano-González [et al.] // Exp. Mol. Pathol. – 2015. – Vol. 98, N 1. – P. 13–17.

108. Role of the CD14 C(-260)T promoter polymorphism in determining the first clinical manifestation of coronary artery disease / V. Rizzello, G. Liuzzo, E. Trabetti [et al.] // J. Cardiovasc. Med. – 2010. – Vol. 11, N 1. – P. 20–25.

109. Decreased numbers of regulatory T cells are associated with human atherosclerotic lesion vulnerability and inversely correlate with infiltrated mature dendritic cells / B. Dietel, I. Cicha, C. J. Voskens [et al.] // Atherosclerosis. – 2013. – Vol. 230, N 1. – P. 92–99.

110. Satti, H. S. Association of interleukin-6 gene promoter polymorphism with coronary artery disease in Pakistani families / H. S. Satti, S. Hussain, Q. Javed. – DOI: 10.1155/2013/538365. – Text : electronic // Sci. World J. – 2013. – Vol. 2013. – URL : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24363620/> (date of access: 19.11.2020).

111. The increased plasma C-reactive protein and interleukin-6 levels in patients undergoing coronary artery bypass grafting surgery are associated with the interleukin-6-174G>C gene polymorphism / E. Wypasek, A. Undas, M. Sniezek-Maciejewska [et al.] // Ann. Clin. Biochem. – 2010. – Vol. 47, N 4. – P. 343–349.

112. Association of interleukin-6 circulating levels with coronary artery disease: a meta-analysis implementing mendelian randomization approach / W. Niu, Y. Liu, Y. Qi [et al.] // Int. J. Cardiol. – 2012. – Vol. 157, N 2. – P. 243–252.

113. Благодатских, К. А. Изучение ассоциации полиморфных маркеров генов CRP, IL6, IL10, TNF И LTA с развитием неблагоприятного исхода у больных, перенёсших острый коронарный синдром : специальность 03.01.03 «Молекулярная биология» : дис. ... канд. мед. наук / Благодатских Константин

Александрович; Гос. науч.-исслед. ин-т генетики и селекции промышленных микроорганизмов, 2011. – 129 с.

114. Waugh, D. J. J. The interleukin-8 pathway in cancer / D. J. J. Waugh, C. Wilson // *Clin. Cancer Res.* – 2008. – Vol. 14, N 21. – P. 6735–6741.

115. Endothelial interleukin-8: a novel inhibitor of leukocyte-endothelial interactions / M. A. Gimbrone, M. S. Obin, A. F. Brock [et al.] // *Science.* – 1989. – Vol. 246, N 4937. – P. 1601–1603.

116. Interleukin-8 as an independent predictor of long-term clinical outcome in patients with coronary artery disease / T. Inoue, H. Komoda, M. Nonaka [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2008. – Vol. 124, N 3. – P. 319–325.

117. High plasma levels of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) and interleukin-8 (IL-8) characterize patients prone to ventricular fibrillation complicating myocardial infarction / E. Elmas, S. Lang, C. E. Dempfle [et al.] // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2007. – Vol. 45, N 10. – P. 1360–1365.

118. Interleukin-8 is a powerful prognostic predictor of all-cause and cardiovascular mortality in dialytic patients / V. Panichi, D. Taccola, G. M. Rizza [et al.] // *Nephron Clin. Pract.* – 2006. – Vol. 102, N 2. – P. c51–c58.

119. Chemokines and incident coronary heart disease: results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study, 1984–2002 / C. Herder, J. Baumert, B. Thorand [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2006. – Vol. 26, N 9. – P. 2147–2152.

120. Circulating levels of MCP-1 and IL-8 are elevated in human obese subjects and associated with obesity-related parameters / C. S. Kim, H.-S. Park, T. Kawada [et al.] // *Int. J. Obes.* – 2006. – Vol. 30, N 9. – P. 1347–1355.

121. Exercise reduces plasma levels of the chemokines MCP-1 and IL-8 in subjects with the metabolic syndrome / M. Trøseid, K. T Lappégård, T. Claudi [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2004. – Vol. 25, N 4. – P. 349–355.

122. Simvastatin reduces expression of cytokines interleukin-6, interleukin-8, and monocyte chemoattractant protein-1 in circulating monocytes from

hypercholesterolemic patients / A. Rezaie-Majd, T. Maca, R. A. Bucek [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2002. – Vol. 22, N 7. – P. 1194–1199.

123. Interleukin 8 and cardiovascular disease / S. Apostolakis, K. Vogiatzi, V. Amanatidou, D. A. Spandidos // *Cardiovasc. Res.* – 2009. – Vol. 84, N 3. – P. 353–360.

124. Libby, P. Interleukin-1 beta as a target for atherosclerosis therapy: biological basis of CANTOS and beyond / P. Libby // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2017. – Vol. 70, N 18. – P. 2278–2289.

125. *Vibrio vulnificus* VvpE stimulates IL-1 β production by the hypomethylation of the IL-1 β promoter and NF- κ B activation via lipid raft-dependent ANXA2 recruitment and reactive oxygen species signaling in intestinal epithelial cells / S. J. Lee, Y. H. Jung, E. J. Song [et al.] // *J. Immunol.* – 2015. – Vol. 195, N 5. – P. 2282–2293.

126. The use of an IL-1 receptor antagonist peptide to control inflammation in the treatment of corneal limbal epithelial stem cell deficiency / E. Fok, S. R. Sandeman, A. L. Guildford, Y. H. Martin. – DOI: 10.1155/2015/516318. – Text : electronic // *BioMed Res. Int.* – 2015. – Vol. 2015. – URL : <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/516318/> (date of access: 19.11.2020).

127. Shen, Y. Pathways involved in interleukin-1beta-mediated murine cardiomyocyte apoptosis / Y. Shen, J. Qin, P. Bu // *Tex. Heart. Inst. J.* – 2015. – Vol. 42. – P. 109–116.

128. Isoda, K. The effect of interleukin-1 receptor antagonist on arteries and cholesterol metabolism / K. Isoda, F. Ohsuzu // *J. Arterioscler. Thromb.* – 2006. – Vol. 13, N 1. – P. 21–30.

129. Anakinra, a recombinant human interleukin-1 receptor antagonist, inhibits apoptosis in experimental acute myocardial infarction / A. Abbate, F. N. Salloum, E. Vecile [et al.] // *Circulation.* – 2008. – Vol. 117. – P. 2670–2683.

130. Deficiency of the long pentraxin PTX3 promotes vascular inflammation and atherosclerosis / G. D. Norata, P. Marchesi, V. V.K. Pulakazhi [et al.] // *Circulation.* – 2009. – Vol. 120. – P. 699–708.

131. Libby, P. Inflammation in atherosclerosis / P. Libby // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2012. – Vol. 32, N 9. – P. 2045–2051.
132. Coronary C-reactive protein distribution: its relation to development of atherosclerosis / Y. X. Zhang, W. J. Cliff, G. I. Schoefl, G. Higgins // *Atherosclerosis.* – 1999. – Vol. 145, N 2. – P. 375–379.
133. Diversity of denizens of the atherosclerotic plaque: not all monocytes are created equal / Libby P., M. Nahrendorf, M. J. Pittet, F. K. Swirski. – 2008. – Vol. 117, N 25. – P. 3168–3170.
134. Kones, R. Primary prevention of coronary heart disease: integration of new data, evolving views, revised goals, and role of rosuvastatin in management. A comprehensive survey / R. Kones // *Drug Des. Devel. Ther.* – 2011. – Vol. 5. – P. 325.
135. Adeno-associated virus-mediated human C-reactive protein gene delivery causes endothelial dysfunction and hypertension in rats / H. Guan, P. Wang, R. Hui [et al.] // *Clin. Chem.* – 2009. – Vol. 55, N 2. – P. 274–284.
136. Dissociation of pentameric to monomeric C-reactive protein on activated platelets localizes inflammation to atherosclerotic plaques / S. U. Eisenhardt, J. Habersberger, A. Murphy [et al.] // *Circ. Res.* – 2009. – Vol. 105, N 2. – P. 128–137.
137. The use of high-sensitivity assays for C-reactive protein in clinical practice / K. Musunuru, B. G. Kral, R. S. Blumenthal, [et al.] // *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* – 2008. – Vol. 5, N 10. – P. 621–635.
138. MRFIT Research Group et al. Relation of C-reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT nested case-control study // *Am. J. Epidemiol.* – 1996. – Vol. 144, N 6. – P. 537–547.
139. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men / P. M. Ridker, M. Cushman, M. J. Stampfer [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 1997. – Vol. 336, N 14. – P. 973–979.
140. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease / J. Danesh, J. G. Wheeler, G. M. Hirschfield [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2004. – Vol. 350, N 14. – P. 1387–1397.

141. Confirmation of an association between the TNF (– 308) promoter polymorphism and stroke risk in children with sickle cell anemia / C. Hoppe, W. Klitz, K. D'Harlingue [et al.] // *Stroke*. – 2007. – Vol. 38, N 8. – P. 2241–2244.
142. Association between tumor necrosis factor- α gene polymorphism and Sasang constitution in cerebral infarction / J. Y. Um, J.-H. Lee, J.-C. Joo [et al.] // *Am. J. Chin. Med.* – 2005. – Vol. 33, N 04. – P. 547–557.
143. Inhibition of tumor necrosis factor- α reduces atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice / L. Branen, L. Hovgaard, M. Nitulescu [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2004. – Vol. 24, N 11. – P. 2137–2142.
144. Disruption of tumor necrosis factor- α gene diminishes the development of atherosclerosis in ApoE-deficient mice / H. Ohta, H. Wada, T. Niwa [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2005. – Vol. 180, N 1. – P. 11–17.
145. PPAR γ ligands inhibit TNF- α -induced LOX-1 expression in cultured endothelial cells / Y. Chiba, T. Ogita, K. Ando, T. Fujita // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2001. – Vol. 286, N 3. – P. 541–546.
146. Liang, M. Up-regulation of LOX-1 expression by TNF- α promotes trans-endothelial migration of MDA-MB-231 breast cancer cells / M. Liang, P. Zhang, J. Fu // *Cancer Lett.* – 2007. – Vol. 258, N 1. – P. 31–37.
147. Mulberry leaf aqueous fractions inhibit TNF- α -induced nuclear factor κ B (NF- κ B) activation and lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) expression in vascular endothelial cells / Y. Shibata, N. Kume, H. Arai [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2007. – Vol. 193, N 1. – P. 20–27.
148. Wolfe, F. Heart failure in rheumatoid arthritis: rates, predictors, and the effect of anti-tumor necrosis factor therapy / F. Wolfe, K. Michaud // *Am. J. Med.* – 2004. – Vol. 116, N 5. – P. 305–311.
149. Thrombomodulin domains attenuate atherosclerosis by inhibiting thrombin-induced endothelial cell activation / H. J. Wei, Y.-H. Li, G.-Y. Shi [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2011. – Vol. 92, N 2. – P. 317–327.

150. Assignment of the human antithrombin III structural gene to chromosome 1q23–25 / S. C. Bock, J. F. Harris, I. Balazs, J. M. Trent // *Cytogenet. Genome Res.* – 1985. – Vol. 39, N 1. – P. 67–69.
151. Predominant mutations in a hotspot of SERPINC1 associated with venous thromboembolism in the Chinese population: a case-control study / L. Tang, W. Zeng, Q. Y. Wang [et al.] // *Lancet.* – 2016. – Vol. 388. – P. S39.
152. Fuhrman, B. The urokinase system in the pathogenesis of atherosclerosis / B. Fuhrman // *Atherosclerosis.* – 2012. – Vol. 222, N 1. – P. 8–14.
153. The structure of the urokinase-type plasminogen activator receptor gene / J. R. Casey, J. G. Petranka, J. Kottra [et al.] // *Blood.* – 1994. – Vol. 84, N 4. – P. 1151–1156.
154. Association between plasmin activation system and intravascular ultrasound signs of plaque instability in patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction / M. Gyöngyösi, D. Glogar, F. Weidinger [et al.] // *Am. Heart J.* – 2004. – Vol. 147, N 1. – P. 158–164.
155. Overexpression of urokinase receptor and cell surface urokinase-type plasminogen activator in the human vessel wall with different types of atherosclerotic lesions / M. B. Steins, T. Padro, C. Schwaenen [et al.] // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* – 2004. – Vol. 15, N 5. P. 383–391.
156. Ragno, P. The urokinase receptor: a ligand or a receptor? Story of a sociable molecule / P. Ragno // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2006. – Vol. 63, N 9. – P. 1028–1037.
157. The prognostic value of the suPARnostic® ELISA in HIV-1 infected individuals is not affected by uPAR promoter polymorphisms / U. Schneider, R. L. Nielsen, C. Pedersen, J. Eugen-Olsen // *BMC Infect. Dis.* – 2007. – Vol. 7, N 1. – P. 134.
158. Increased type 1 plasminogen activator inhibitor gene expression in atherosclerotic human arteries / J. Schneiderman, M. S. Sawdey, M. R. Keeton [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 1992. – Vol. 89, N №. 15. – P. 6998–7002.

159. Fibrinolytic activity, clotting factors, and long-term incidence of ischaemic heart disease in the Northwick Park Heart Study / T. W. Meade, V. Ruddock, Y. Stirling [et al.] // *Lancet*. – 1993. – Vol. 342, N 8879. – P. 1076–1079.
160. Fibrinolysis: the key to new pathogenetic mechanisms / E. Zorio, Gilabert-Estellés J., España F [et al.] // *Curr. Med. Chem.* – 2008. – Vol. 15, N 9. – P. 923–929.
161. Cesari, M. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1): a key factor linking fibrinolysis and age-related subclinical and clinical conditions / M. Cesari, M. Pahor, R. A. Incalzi // *Cardiovasc. Therapeutics*. – 2010. – Vol. 28, N 5. – P. e72-e91.
162. Plasminogen activator inhibitor type 1 gene is located at region q21. 3-q22 of chromosome 7 and genetically linked with cystic fibrosis / K. W. Klinger, R. Winqvist, A. Riccio [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 1987. – Vol. 84, N 23. – P. 8548–8552.
163. Genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-1 locus is associated with altered levels of plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity / S. Dawson, A. Hamsten, B. Wiman [et al.] // *Arterioscler. Thromb.* – 1991. – Vol. 11, N 1. – P. 183–190.
164. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism is associated with coronary artery disease risk: a meta-analysis / H. Zhang, P. Dong, X. Yang [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2014. – Vol. 7, N 10. – P. 3777.
165. Association of PAI-1 4G/5G and-844G/A gene polymorphisms and changes in PAI-1/tissue plasminogen activator levels in myocardial infarction: a case-control study / N. Abboud, L. Ghazouani, S. Saidi [et al.] // *Genet. Test. Mol. Biomark.* – 2010. – Vol. 14, N 1. – P. 23–27.
166. Sequence variations in the FII, FV, F13A1, FGB and PAI-1 genes are associated with differences in myocardial perfusion / M. Satra, M. Samara, G. Wozniak [et al.] // *Pharmacogenomics*. – 2011. – Vol. 12, N 2. – P. 195–203.
167. Nikolopoulos G. K. et al. The association between plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) levels, PAI-1 4G/5G polymorphism, and myocardial infarction: a Mendelian randomization meta-analysis // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2014. – Vol. 52, N 7. – P. 937–950.

168. PAI-1 4G/5G polymorphism and coronary artery disease risk: a meta-analysis / Z. Liang, W. Jiang, M. Ouyang, K. Yang // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2015. – Vol. 8, N 2. – P. 2097.
169. Ohyama, Y. Relationship between tissue factor pathway inhibitor and aortic stiffness assessed by MRI: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) / Y. Ohyama // *J. Cardiovasc. Magn. Reson.* – 2016. – Vol. 18, N 1. – P. 353.
170. Structure of the human lipoprotein-associated coagulation inhibitor gene. Intro/exon gene organization and localization of the gene to chromosome 2 / T. J. Girard, R. Eddy, R. L. Wesselschmidt [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1991. – Vol. 266, N 8. – P. 5036–5041.
171. A first mutation in the human tissue factor pathway inhibitor gene encoding [P151L] TFPI / K. Kleesiek, M. Schmidt, C. Götting [et al.] // *J. Am. Soc. Hematol.* – 1998. – Vol. 92, N 10. – P. 3976–3977.
172. C-399T polymorphism in the promoter region of human tissue factor pathway inhibitor (TFPI) gene does not change the plasma TFPI antigen level and does not cause venous thrombosis / T. Miyata, T. Sakata, K. Kumeda [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 1998. – Vol. 80, N 08. – P. 345–346.
173. Polymorphisms of the tissue factor pathway inhibitor (TFPI) gene in patients with acute coronary syndromes and in healthy subjects: impact of the V264M substitution on plasma levels of TFPI / D. Moatti, P. Seknadji, C. Galand [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1999. – Vol. 19, N 4. – P. 862–869.
174. Functional characterization of polymorphisms in the human TFPI gene / G. Skretting, B. Stavik, N. E. Landvik [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2010. – Vol. 397, N 1. – P. 106–111.
175. Tissue Factor Pathway Inhibitor-2 Gene Polymorphisms Associate With Coronary Atherosclerosis in Chinese Population / J. Yu, R. L. Liu, X. P. Luo [et al.] // *Medicine.* – 2015. – Vol. 94, N 42. – P. 25–29.
176. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study / T. W. Meade, S. Mellows, M. Brozovic [et al.] // *Lancet.* – 1986. – Vol. 328, N 8506. – P. 533–537.

177. Rao, L. V. Activation of factor VII bound to tissue factor: a key early step in the tissue factor pathway of blood coagulation / L. V. Rao, S. I. Rapaport // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 1988. – Vol. 85, N 18. – P. 6687–6691.

178. Relevance of tissue factor in cardiovascular disease / B. Jude, C. Zawadzki, S. Susen, D. Corseaux // *Arch. Mal. Coeur Vaiss.* – 2005. – Vol. 98. – N 6. – P. 667–671.

179. Relation between hemostatic variables and increase of common carotid intima-media thickness in patients with peripheral arterial disease / M. Cortellaro, D. Baldassarre, E. Cofrancesco [et al.] // *Stroke.* – 1996. – Vol. 27, N 3. – P. 450–454.

180. An association between clotting factor VII and carotid intima-media thickness: the CARDIA study / D. Green, N. Foiles, C. Chan [et al.] // *Stroke.* – 2010. – Vol. 41, N 7. – P. 1417–1422.

181. Contribution of coagulation factor VII R353Q, 323P0/10 and HVR4 polymorphisms to coronary artery disease in Tunisians / S. Ben-Hadj-Khalifa, B. Lakhal, T. Mahjoub, W. Y. Almawi // *J. Thromb. Thrombol.* – 2013. – Vol. 35, N 2. – P. 243–249.

182. Nucleotide sequence of the gene coding for human factor VII, a vitamin K-dependent protein participating in blood coagulation / P. J. O'Hara, F. J. Grant, B. A. Haldeman [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 1987. – Vol. 84, N 15. – P. 5158–5162.

183. Association between polymorphisms in the coagulation factor VII gene and coronary heart disease risk in different ethnicities: a meta-analysis / X. Mo, Y. Hao, X. Yang [et al.] // *BMC Med. Genet.* – 2011. – Vol. 12, N 1. – P. 107.

184. Genotype-phenotype relationship of F7 R353Q polymorphism and plasma factor VII coagulant activity in Asian Indian families predisposed to coronary artery disease / J. Shanker, G. Perumal, A. Maitra [et al.] // *J. Genet.* – 2009. – Vol. 88, N 3. – P. 291–297.

185. Association between R353Q polymorphism for coagulative factor VII and severity of coronary artery disease in Iranian population / S. Cheraghi, S. Shajiee, M. A. Boroumand [et al.] // *Cardiol. J.* – 2013. – Vol. 20, N 5. – P. 533–538.

186. Pegoraro, R. J. Coagulation gene polymorphisms as risk factors for myocardial infarction in young Indian Asians: cardiovascular topic / R. J. Pegoraro, N. Ranjith, L. Rom // *Cardiovasc. J. S. Afr.* – 2005. – Vol. 16, N 3. – P. 152–157.
187. Risk of coronary heart disease and activation of factor XII in middle-aged men / G. J. Miller, M. P. Esnouf, A. I. Burgess [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1997. – Vol. 17, N 10. – P. 2103–2106.
188. Factor XII in coagulation, inflammation and beyond / M. Didiasova, L. Wujak, L. Schaefer, M. Wygrecka // *Cell. Signal.* – 2018. – Vol. 51. – P. 257–265.
189. Coagulation factor XII induces pro-inflammatory cytokine responses in macrophages and promotes atherosclerosis in mice / S. Vorlova, M. Koch, H. D. Manthey [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2017. – Vol. 26, N 01. – P. 176–187.
190. Factor XII as a therapeutic target in thromboembolic and inflammatory diseases / K. F. Nickel, A. T. Long, T. A. Fuchs [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2017. – Vol. 37, N 1. – P. 13–20.
191. Structural gene encoding human factor XII is located at 5q33-qter / N. J. Royle, M. Nigli, D. Cool [et al.] // *Somat. Cell Mol. Genet.* – 1988. – Vol. 14, N 2. – P. 217–221.
192. Endothelial nitric oxide synthase T-786C mutation, prothrombin gene mutation (G-20210-A) and protein S deficiency could lead to myocardial infarction in a very young male adult / M. Klincheva, E. A. Vilarova, T. Angjusheva [et al.] // *Maced. J. Me. Sci.* – 2016. – Vol. 4, N 1. – P. 142.
193. Coronary atherosclerosis and cardiovascular mortality in hemophilia / C. J. Foley, L. Nichols, K. Jeong [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2010. – Vol. 8, N 1. – P. 208–211.
194. Loeffen, R. The impact of blood coagulability on atherosclerosis and cardiovascular disease / R. Loeffen, H. M. H. Spronk, T. H. Cate // *J. Thromb. Haemost.* – 2012. – Vol. 10, N 7. – P. 1207–1216.
195. Henareh, L. Prothrombin fragment 1+ 2 is associated with intima media thickness of the carotid artery in patients with myocardial infarction / L. Henareh, T. Jogestrand, S. Agewall // *Thromb. Res.* – 2009. – Vol. 124, N 5. – P. 526–530.

196. Human genes encoding prothrombin and ceruloplasmin map to 11p11–q12 and 3q21–24, respectively / N. J. Royle, D. M. Irwin, M. L. Koschinsky [et al.] // *Somat. Cell Mol. Genet.* – 1987. – Vol. 13, N 3. – P. 285–292.
197. Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant / F. R. Rosendaal, C. J. Doggen, A. Zivelin [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 1998. – Vol. 79, N 04. – P. 706–708.
198. Arterial wall thickness and the risk of recurrent ischemic events in carriers of the prothrombin G20210A mutation with clinical manifestations of atherosclerosis / V. E. A. Gerdes, H. Cate, E. Groot de [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2002. – Vol. 163, N 1. – P. 135–140.
199. Prothrombin G20210A mutation is associated with young-onset stroke the genetics of early-onset stroke study and meta-analysis / B. Jiang, K. A. Ryan, A. Hamedani [et al.] // *Stroke.* – 2014. – Vol. 45, N 4. – P. 961–967.
200. Association between the G20210A polymorphism of prothrombin gene and myocardial infarction in Tunisian population / A. Kallel, M. H. Sbaï, Y. Sédiri [et al.] // *Biochem. Genet.* – 2016. – Vol. 54, N 5. – P. 653–664.
201. A common prothrombin variant (20210 G to A) increases the risk of myocardial infarction in young women / F. R. Rosendaal, D. S. Siscovick, S. M. Schwartz [et al.] // *Blood. J. Am. Soc. Hematology.* – 1997. – Vol. 90, N 5. – P. 1747–1750.
202. The 20210 G→A mutation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene and the risk for arterial thrombotic disease / R. F. Franco, M. D. Trip, H. Cate ten [et al.] // *Br. J. Haematol.* – 1999. – Vol. 104, N 1. – P. 50–54.
203. Association of genetic variants of hemostatic genes with myocardial infarction in Egyptian patients / A. A. A. El-Fattah, N. A. Hamid Sadik, H. Sedrak [et al.] // *Gene.* – 2018. – Vol. 641. – P. 212–219.
204. Association between the 20210g> a prothrombin gene polymorphism and arterial ischemic stroke in children and young adults—two meta-analyses of 3586 cases and 6440 control subjects in total / B. Sarecka-Hujar, I. Kopyta, M. Skrzypek, J. Sordyl [et al.] // *Pediatr. Neurol.* – 2017. – Vol. 69. – P. 93–101.

205. Circulating monocyte chemoattractant protein-1 and risk of stroke: meta-analysis of population-based studies involving 17 180 individuals / M. K. Georgakis, R. Malik, H. Björkbacka [et al.] // *Circ. Res.* – 2019. – Vol. 125, N 8. – P. 773–782.
206. Maron, B. A. The treatment of hyperhomocysteinemia / B. A. Maron, J. Loscalzo // *Annu. Rev. Med.* – 2009. – Vol. 60. – P. 39–54.
207. Jankowich, M. Endothelin-1 levels and cardiovascular events / M. Jankowich, G. Choudhary // *Trends Cardiovasc. Med.* – 2020. – Vol. 30, N 1. – P. 1–8.
208. Relationship of baseline plasma ADMA levels to cardiovascular outcomes at 2 years in men with acute coronary syndrome referred for coronary angiography / E. Cavusoglu, C. Ruwende, V. Chopra [et al.] // *Coron. Artery Dis.* – 2009. – Vol. 20, N 2. – P. 112–117.
209. Serum soluble adhesion molecules (sICAM-1, sVCAM-1 and sE-selectin) in healthy school aged children and adults / C. Andrys, O. Pozler, J. Krejsek [et al.] // *Acta Medica (Hradec Kralove)*. – 2000. – Vol. 43, N 3. – P. 103–106.
210. Butenas, S. «Normal» Thrombin Generation: Presented in part at the XVIth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, June 6-12, 1997, Florence, Italy (abstr PS-1653), at the 15th International Congress on Thrombosis, October 16-21, 1998, Antalya, Turkey (abstr 234), and at the 40th Annual Meeting of the American Society of Hematology, December 4-8, 1998, Miami Beach, FL (abstr 151) / S. Butenas, C. Veer van't, K. G. Mann // *Blood. J. Am. Soc. Hematology.* – 1999. – Vol. 94, N 7. – P. 2169–2178.
211. Feingold, K. R. Obesity and dyslipidemia / K. R. Feingold, C. Grunfeld. – DOI: 10.1007/978-1-4419-7994-0_37. – Text : electronic // *Heart Diseases in Children.* – 2011. – P. 427–434. – URL: [https://link.springer.com/chapter/10.1007 %2F978-1-4419-7994-0_37](https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-1-4419-7994-0_37) / (date of access: 19.11.2020).
212. Miller, S. W. Cardiac imaging: the requisites / S. W. Miller, L. M. Boxt, S. Abbara. – 3rd ed. – Elsevier Health Sciences, 2009. – 456 p.

213. Coronary Artery Disease-Reporting and Data System (CAD-RADS): an expert consensus document of SCCT, ACR and NASCI: endorsed by the ACC / R. C. Cury, S. Abbara, S. Achenbach [et al.] // *JACC Cardiovasc. Imaging*. – 2016. – Vol. 9, N 9. – P. 1099–1113.

214. The phenotype of infiltrating macrophages influences arteriosclerotic plaque vulnerability in the carotid artery / K. Y. Cho, H. Miyoshi, S. Kuroda [et al.] // *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* – 2013. – Vol. 22, N 7. – P. 910–918.

215. Plasma MCP-1 level and risk for peripheral arterial disease and incident coronary heart disease: Atherosclerosis Risk in Communities study / R. C. Hoogeveen, A. Morrison, E. Boerwinkle [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2005. – Vol. 183, N 2. – P. 301–307.

216. Association among plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1, traditional cardiovascular risk factors, and subclinical atherosclerosis / R. Deo, A. Khera, D. K. McGuire [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2004. – Vol. 44, N 9. – P. 1812–1818.

217. Using plasma matrix metalloproteinase-9 and monocyte chemoattractant protein-1 to predict future cardiovascular events in subjects with carotid atherosclerosis / Y. Ma, A. Yabluchanskiy, M. E. Hall, M. L. Lindsey // *Atherosclerosis*. – 2014. – Vol. 232, N 1. – P. 231–233.

218. Factor XII: a novel target for safe prevention of thrombosis and inflammation / E. Kenne [et al.] // *J. Intern. Med.* – 2015. – Vol. 278, N6. – P. 571–585.

219. Relationship between markers of activated coagulation, their correlation with inflammation, and association with coronary heart disease (NPHSII) / G. J. Miller, H. A. Ireland, J. A. Cooper [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2008. – Vol. 6, N 2. – P. 259–267.

220. Factor XII regulates the pathological process of thrombus formation on ruptured plaques / M. J. E. Kuijpers, P. E. J. Meijden van der, M. A. H. Feijge [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2014. – Vol. 34, N 8. – P. 1674–1680.

221. Bochenek, M. L. Endothelial cell senescence and thrombosis: ageing clots / M. L. Bochenek, E. Schütz, K. Schäfer // *Thromb. Res.* – 2016. – Vol. 147. – P. 36–45.

222. Tissue factor pathway inhibitor in atherosclerosis / H. Q. Yuan, I.-M. Hao, Z. Ren [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2019. – Vol. 491. – P. 97–102.

223. Cimmino, G. Role of tissue factor in the coagulation network / G. Cimmino, G. Ciccarelli, P. Golino // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2015. – Vol. 41, N 7. – P. 708–717.

224. Activated factor VII-antithrombin complex predicts mortality in patients with stable coronary artery disease: a cohort study / N. Martinelli, D. Girelli, M. Baroni [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2016. – Vol. 14, N 4. – P. 655–666.

225. F7 coagulation factor VII [Homo sapiens (human)] : URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2155> // National Center for Biotechnological Information, NCBI = Национальный центр биотехнологической информации США : [сайт]. – URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (дата обращения : 20.11.2020). – Текст : электронный.

226. Associations of activated coagulation factor VII and factor VII a-antithrombin levels with genome-wide polymorphisms and cardiovascular disease risk / N. C. Olson, L. M. Ruffield, L. A. Lange [et al.]. – DOI: 10.1111 / *jth.* 13899. – Text : electronic // *J. Thromb. Haemost.* – 2018. – Vol. 16, N 1. – P. 19–30. – URL : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29112333/> (date of access: 19.11.2020).

227. Association of coagulation-related and inflammation-related genes and factor VIIc levels with stroke: the Cardiovascular Health Study / N. A. Zakai, L. Lange, W. T. Longstreth Jr [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2011. – Vol. 9, N 2. – P. 267–274.

228. Haplotype and genotype effects of the F7 gene on circulating factor VII, coagulation activation markers and incident coronary heart disease in UK men / G. Ken-Dror, F. Drenos, S. E. Humphries [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2010. – Vol. 8, N 11. – P. 2394–2403.

229. Polymorphism (353) R > Q of gene of blood clotting factor VII and plasma hemostasis / T. A. Bairova, M. V. Gommellya, V. V. Dolgich [et al.] // *Rus. J. Gene.* – 2016. – Vol. 52, N 2. – P. 214–219.

230. Increased urokinase-type plasminogen activator receptor expression on circulating monocytes is correlated with clinical instability and long-term adverse

cardiac events in patients with coronary artery disease / Y. Zhang, W. Chen, L.-F. Chen [et al.] // *Cardiology*. – 2016. – Vol. 135, N 2. – P. 98–107.

231. A novel polymorphism in the PAI-1 gene promoter enhances gene expression. A novel pro-thrombotic risk factor? / R. Liguori, S. Quaranta, R. Fiore Di [et al.] // *Thromb. Res.* – 2014. – Vol. 134, N 6. – P. 1229–1233.

232. SERPINE1 serpin family E member 1 [Homo sapiens (human)] : URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5274> // National Center for Biotechnological Information, NCBI = Национальный центр биотехнологической информации США : [сайт]. – URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (дата обращения : 10.12.2020). – Текст : электронный.

233. Plasminogen activator inhibitor type 1 gene polymorphisms and haplotypes are associated with plasma plasminogen activator inhibitor type 1 levels but not with myocardial infarction or stroke / J. Ding, B. J. Nicklas, M. D. Fallin [et al.] // *Am. Heart J.* – 2006. – Vol. 152, N 6. – P. 1109–1115.

234. The effect of the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism on the thrombotic risk / A. E. Tsantes, G. K. Nikolopoulos, P. G. Bagos [et al.] // *Thromb. Res.* – 2008. – Vol. 122, N 6. – P. 736–742.

235. The roles of PAI-1 gene polymorphisms in atherosclerotic diseases: a systematic review and meta-analysis involving 149,908 subjects / Y. Liu, J. Cheng, X. Guo [et al.]. – DOI: 10.1016/j. gene. 2018. 06. 040. – Text : electronic // *Gene*. – 2018. – Vol. 673. – P. 167–173. – URL : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29908999/> (date of access: 19.11.2020).

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1.	Рисунок 1 – Стабильная фиброзная бляшка с началом атероматоза. Ув. 100. Окраска гематоксилин-эозином.....	47
2.	Рисунок 2 – Стабильная фиброзная бляшка с кальцификацией. Ув. 100. Окраска гематоксилин-эозином.....	47
3.	Рисунок 3 – Нестабильная атеросклеротическая бляшка, дистрофически-некротический тип. Ув. 100. Окраска гематоксилин-эозином.....	48
4.	Рисунок 4 – Нестабильная атеросклеротическая бляшка, липидный тип. Ув. 100. Окраска гематоксилин-эозином.....	49
5.	Рисунок 5 – Дизайн исследования.....	50
6.	Рисунок 6 – Уровень MCP-1 у мужчин с коронарным атеросклерозом	61
7.	Рисунок 7 – Уровень фактора XII у мужчин с коронарным атеросклерозом.....	63
8.	Таблица 1 – Клинико-anamнестические данные пациентов.....	58
9.	Таблица 2 – Частоты генотипов и аллелей однонуклеотидных полиморфизмов генов <i>SERPINE1</i> (rs1799889) в группах с инфарктом миокарда и без него.....	59
10.	Таблица 3 – Частоты генотипов и аллелей однонуклеотидных полиморфизмов генов <i>SERPINE1</i> (rs1799889) в группах с гипертонической болезнью и без нее.....	60
11.	Таблица 4 – Факторы нарушения функции эндотелия у мужчин с коронарным атеросклерозом Me [Q25, Q75].....	62
12.	Таблица 5 – Факторы нарушения функции эндотелия у мужчин с коронарным атеросклерозом (M±□).....	62
13.	Таблица 6 – Факторы гемостаза у мужчин с коронарным атеросклерозом Me [Q25, Q75].....	63
14.	Таблица 7 – Факторы гемостаза у мужчин с коронарным	

	атеросклерозом ($M \pm \square$).....	64
15.	Таблица 8 – Корреляционные связи факторов эндотелиальной дисфункции (ЭД) с факторами гемостаза, факторами воспаления и показателями нестабильности атеросклеротических бляшек в коронарных артериях (r Спирмена).....	65
16.	Таблица 9 – Логистический регрессионный анализ относительного риска наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек, связанного с факторами эндотелиальной дисфункции.....	66
17.	Таблица 10 – Корреляционные связи факторов гемостаза с факторами эндотелиальной дисфункции (ЭД), факторами воспаления и показателями нестабильности атеросклеротических бляшек в коронарных артериях (r Спирмена).....	67
18.	Таблица 11 – Логистический регрессионный анализ относительного риска наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек, связанного с факторами гемостаза.....	68
19.	Таблица 12 – Многофакторный логистический регрессионный анализ относительного риска наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек, связанный с фактором ХП.....	70
20.	Таблица 13 – Частоты генотипов и аллелей однонуклеотидного полиморфизма гена <i>F7</i> (rs6046) в группах мужчин со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях.....	72
21.	Таблица 14 – Частоты генотипов и аллелей однонуклеотидного полиморфизма гена <i>SERPINE1</i> (rs1799889) в группах мужчин со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях.....	73
22.	Таблица 15 – Частоты генотипов и аллелей однонуклеотидного полиморфизмов <i>F2</i> (rs1799963) в группах мужчин со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях.....	74

23. Таблица 16 – Частоты генотипов и аллелей однонуклеотидного полиморфизма гена *CCL2* (rs 1024611) в группах мужчин со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях..... 74
24. Таблица 17 – Частоты генотипов и аллелей однонуклеотидного полиморфизма гена *IL6* (rs1800795) в группах мужчин со стабильными и нестабильными бляшками в коронарных артериях..... 75
25. Таблица 18 – Уровни биохимических факторов в крови в зависимости от генотипа у мужчин со стабильными и нестабильными бляшками..... 76
26. Таблица 19 – Логистический регрессионный анализ отношения шансов наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек, связанного с полиморфизмами генов гемостаза и эндотелиальной дисфункции..... 77