

## НАУЧНЫЕ ДОКЛАДЫ

## ФАКТОРЫ И МЕХАНИЗМЫ КОРОНАРНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА И ЕГО ОСЛОЖНЕНИЙ

Ю.И. Рагино

д-р мед. наук, проф., зав. лабораторией клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний ФГБУ «НИИ терапии» СО РАМН  
Справка к докладу на заседании Президиума СО РАМН 25 января 2012 года

Доклад посвящен проблеме изучения этиопатогенетической роли воспалительно-деструктивного процесса в развитии коронарного атеросклероза (КА) и его осложнения — острого коронарного синдрома (ОКС) в Сибири и обсуждению новых возможностей в диагностике заболевания. Проблема актуальна из-за высокой распространенности ишемической болезни сердца (ИБС), инфаркта миокарда (ИМ) и их лидирующей позиции в структуре смертности населения в России.

Пусковым механизмом тромбообразования на поверхности атеросклеротического очага, приводящего к окклюзии артерии, ишемии, некрозу и клиническим проявлениям ОКС, является нарушение целостности эндотелия на участке изъязвления/деструкции покрышки нестабильной/уязвимой бляшки «со склонностью к изъязвлению», разрыву [Gidron Y., 2002; Shah P., 2005, 2006; Holschermann H., 2006]. Формирование нестабильной бляшки, имеющей тонкую покрышку/участок истонченной покрышки с очаговой деструкцией эндотелия, воспалительную клеточную инфильтрацию, липидное ядро с участками некроза [Heistad D., 2003; Waksman R., 2004; Schaag J., 2004], является одной из стадий развития атеросклеротического очага «неизменная интима→липидное пятно→ стабильная молодая бляшка→ стабильная фиброзная бляшка↔ нестабильная бляшка» [Puddu G., 2005; Virmani R., 2006].

Современные взгляды на механизмы формирования нестабильной атеросклеротической бляшки не однозначны. Установлено, что важную роль в дестабилизации бляшки играет воспаление, поскольку показана значительная инфильтрация нестабильных бляшек макрофагами (МФ) и Т-лимфоцитами (Т-ЛФ) [Libby P., 2002; Шлычкова Т.П., 2005]. Кроме того, при ОКС в крови обнаружены повышенные уровни воспалительных цитокинов интерлейкина-1-бета (ИЛ-1-β), ИЛ-6, фактора некроза опухоли аль-

фа (ФНО-α) [Libby P., 2002; Shah P., 2006], выявлены их ассоциации с КА и его прогрессией [Puddu G., 2005; Holschermann H., 2006; Virmani R., 2006]. МФ продуцируют и активные ферменты — матриксные металлопротеиназы (ММП) [Hayden M., 2000; Daskalopoulou S., 2007], повышенный уровень которых обнаружен в крови при ОКС [Katsuda S., 2003; Newby A., 2005]. ММП вызывают деградацию внеклеточного матрикса, фибриллярного коллагена, адгезивных молекул, протеогликанов. Связанные с воспалением окислительные изменения также играют значимую роль в развитии нестабильной бляшки. Продукция МФ активных кислородных метаболитов (АКМ) стимулирует синтез и активацию ММП [Carbone G., 2003; Puddu G., 2005].

Несмотря на проводимые исследования остаются не ясными вопросы относительно механизмов дестабилизации бляшки, особенностей взаимосвязи факторов воспаления, окисления и деструкции, индуцирующих этот процесс. Поэтому актуально изучение воспалительных цитокинов, окисленных биомолекул и ММП как маркеров активности воспалительно-деструктивного процесса на разных этапах развития атеросклеротического очага до нестабильной бляшки и в разных типах нестабильных бляшек коронарных артерий.

Большинство ученых считает центральными звеньями атерогенеза дислипидотеинемии, воспаление, окисление и эндотелиальную дисфункцию [Эксперты ВНОК, 2009; Steinberg D., 2009; Tabet F., 2009]. Результаты Фрамингамского исследования показали, что гиперхолестеринемия и повышенный уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) играют важную роль в развитии ИБС [Anderson K., 1987; Fruchart J., 2003]. Также выявлены независимые ассоциации гипертриглицеридемии и сниженного уровня холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) с КА [NCEP, 2001; Воевода М.И. и др., 2005]. Однако высо-

кую распространенность ИБС в Сибири недостаточно однозначно объяснять с позиций главной роли лишь выраженных нарушений липидного обмена. Актуальным представляется исследование и других этиопатогенетических звеньев атерогенеза. В последние годы активно изучается большой перечень воспалительных биомаркеров крови при ИБС и КА: высокочувствительный С-реактивный протеин (СРП), ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-1- $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ММП-3 и ММП-9 [Voekholdt S., 2004; Armstrong E., 2006; Koenig W., 2006; Adachi T., 2007; Sukhija R., 2007; White A., 2007; Empana J., 2008]. Одной из целей исследований является определение критических уровней в крови биомаркеров воспаления, ассоциированных с повышенным риском ИБС и ОКС, поэтому актуальной является оценка и характеристика уровней воспалительно-деструктивных биомаркеров у мужчин с КА в Сибири, учитывающая климатогеографические особенности, тип питания.

Большое внимание уделяется изучению роли костно-мозговых стволовых клеток в развитии стенозирующего КА и кальциноза [Messika-Zeitoun D., 2007; Bhakta M., 2009]. Предполагается, что проникновение циркулирующих в крови стволовых клеток гемопоэтической и стромальной линий дифференцировки в интиму происходит в местах развития бляшек [Soboleva E., 2005; Gabbasov Z., 2007]. Стромальные стволовые клетки имеют на поверхности остеонектин (ОН), усиленно экспрессирующийся в атеромах при их кальцификации. Высокое содержание в крови ОН-положительных клеток отражает наличие воспаления в сосудистой стенке [Gadeau A., 2001; Trion A., 2004; Gossel M., 2008].

Повышенный уровень фибриногена (ФН) является маркером КА, ассоциируется с его осложнениями и смертностью [Koukkunen H., 2001; Parago J., 2004]. Окисленный фибриноген (окФН) потенцирует активацию факторов свертывания крови, агрегацию тромбоцитов, повышенную секрецию МФ цитокинов, что приводит к тромбогенным нарушениям гемостаза [Асейчев А.В., 2002; Ройтман Е.В., 2004; Belisario M.A., 2007], поэтому актуально изучение взаимосвязи окФН с нарушениями гемостаза, функции эндотелиоцитов и с активностью окислительных процессов при КА, ОКС и ИМ.

К настоящему моменту работ, объектом биохимического исследования в которых одновременно бы являлись кровь и артериальная стенка при КА, не проводилось, поэтому крайне актуально изучение воспалительно-деструктивных, окислительно-антиоксидантных, липидных и эндотелиально-дисфункциональных биомолекул в атеросклеротических бляшках коронарных

артерий и в крови у мужчин с КА для поиска ассоциаций между показателями в сосудистой стенке и в крови и определения в крови значимых биомаркеров нестабильности атеросклеротических очагов и в целом биомаркеров КА.

По данной проблеме в лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований НИИ терапии СО РАМН, в том числе в рамках Программы совместных НИР НИИ терапии СО РАМН и ФГУ ННИИПК им. Е.Н. Мещалкина Минздравсоцразвития России, выполнена серия работ. В докладе суммированы многолетние результаты этиопатогенетического изучения КА у 102 мужчин с коронароангиографически (КАГ) документированным КА без ОКС – жителей Западно-Сибирского региона (города Новосибирск, Омск, Барнаул, Красноярск, Кемерово, Тюмень), изучения осложнения КА у 210 мужчин с ОКС (нестабильная стенокардия (НС) и острый ИМ) и изучения факторов риска и биомаркеров КА у 1119 мужчин популяционной выборки г. Новосибирска.

**Исследование крови при КА без ОКС.** Изучены окислительная и структурная модификации ЛПНП, оценена их связь с выраженностью атеросклеротического процесса в коронарных артериях. У мужчин с КА повышен уровень мелких плотных частиц ЛПНП (мЛПНП) и значительно окислены их липидные и апопротеиновые компоненты. Изменения субфракционного профиля ЛПНП в сторону преобладания мЛПНП являются более значимыми, чем атерогенные изменения липидного профиля крови. Атерогенные структурная и окислительная модификации ЛПНП взаимосвязаны. Выявленная прямая тенденция к повышению окислительных изменений ЛПНП сопряжена с увеличением выраженности/ распространенности КА.

Изучены липидные (общий ХС, триглицериды (ТГ), ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, липопротеин (а) (ЛП (а)) и нелипидные (СРП, гомоцистеин (ГЦ), ИЛ-1- $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- $\alpha$ , ММП-3 и ММП-9) биомаркеры атеросклероза в крови у мужчин с КАГ документированным КА. Из изученного спектра биомаркеров, основываясь на ориентирах значений (пограничных, критических, риска развития) законченных международных исследований, в крови у более чем 70 % мужчин повышены уровни общего ХС, ХС ЛПНП, СРП, ГЦ, ИЛ-6, ИЛ-8 и, особенно, ММП-9, повышенного у 100 % мужчин.

У мужчин с КА без ОКС выявлены зависимости изменений уровней воспалительно-деструктивных биомаркеров нестабильности атеросклеротических бляшек от разной степени выраженности и распространенности КА. Наи-

более высокие уровни СРП и ММП-3 обнаружены у мужчин с атеросклеротическим поражением всех трех магистральных коронарных артерий, преимущественно их средних и дистальных сегментов, а также при преобладании слабовыраженных стенозов (<50 %) просвета коронарных артерий в области бляшек.

Прямым способом биоманнитного сепарирования белков с магнитными микросферами исследовано содержание в крови маркера стволовых клеток с остеогенной потенцией ОН у мужчин с КА. Определены повышенная концентрация ОН в крови у мужчин со стенозирующим КА и кальцинозом коронарных артерий и ее значимые независимые ассоциации с биомаркерами КА (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ХС ЛПВП) и наличием стенозирующего КА и кальциноза коронарных артерий. Результаты свидетельствуют, что ОН может быть одним из новых биомаркеров стенозирующего КА и кальциноза.

**Исследование сосудистой стенки при КА без ОКС.** Определены значимые патогенетические факторы формирования атеросклеротического очага. Материалом исследования была интима/медиа коронарных артерий, забранная при эндартериэктомии в ходе операции коронарного шунтирования у мужчин с выраженным КА без ОКС. Фрагменты интимы/медии гистологически детерминированы на неизмененную ткань интимы, липидные пятна, бляшки стабильные молодые, бляшки стабильные фиброзные, бляшки нестабильные, в том числе липидного, воспалительно-эрозивного и дистрофически-некротического типов. В гомогенатах фрагментов интимы/медии определены концентрации комплекса хемоаттрактантов, воспалительных, деструктивных и окислительно-антиоксидантных биомаркеров.

В липидных пятнах и молодых стабильных атеромах коронарных артерий – ранних стадий развития атеросклеротических очагов – повышены концентрации ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1- $\beta$ , ММП-3, тканевого и урокиназного активаторов плазминогена, межклеточных (sICAM-1) и эндотелиоцитарных (sVCAM-1) молекул адгезии, окисленно-модифицированных протеинов, и снижена активность тканевого ингибитора металлопротеиназ 1-го типа (ТИМП-1). Напротив, в нестабильных/уязвимых бляшках повышены концентрации ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-2, ИЛ-18, СРП, моноцитарного хемотаксического протеина (MCP-1), эндотелиально-моноцитарного активирующего полипептида (EMAP-II), ММП-7, ММП-9, эндотелина-1 (ЭТ-1), продуктов процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также снижена активность параоксоназы-1 (PON-1). Повышенная воспалительно-деструктивная и окислительная активности являются характер-

ными не только для воспалительно-эрозивного, но и для липидного типа нестабильности атеросклеротических очагов. В нестабильных бляшках дистрофически-некротического типа зафиксирована только повышенная деструктивная активность без признаков ингибирования. Данные мультивариантного в модели GLM и регрессионного анализов свидетельствуют о значимом влиянии повышенной воспалительной активности в стимуляции деструктивных процессов в атеросклеротическом очаге и формировании нестабильной уязвимой бляшки. Результаты указывают на доминирующую позицию повышенной активности воспалительно-деструктивного процесса в сосудистой стенке в формировании последовательных стадий развития атеросклеротического очага – от липидного пятна до нестабильной бляшки.

В целом, в результате инфильтрации покрышки атеросклеротической бляшки МФ и Т-ЛФ увеличивается продукция в ней воспалительных цитокинов, ингибирующих пролиферацию гладкомышечных клеток (ГМК) и синтез ими коллагена, индуцирующих апоптоз ГМК и протеолитическую активность МФ. В результате МФ и ГМК начинают секретировать протеолитические ММП, разрушающие коллагены и эластин покрышки бляшки, что приводит к ее истончению, изъязвлению, тромбозу и соответствующим клиническим проявлениям ОКС.

**Исследование связи показателей сосудистой стенки и крови при КА без ОКС.** Изучены уровни воспалительно-деструктивных, окислительно-антиоксидантных, липидных и эндотелиально-дисфункциональных биомаркеров в атеросклеротических бляшках коронарных артерий и в крови при КА без ОКС для поиска ассоциаций между показателями в сосудистой стенке и в крови и определения значимых биомаркеров нестабильности бляшек.

У мужчин с преобладанием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях уровни в крови СРП, ИЛ-8, ИЛ-6 и лиганда рецептора CD40 (sCD40L), окисленных апополипротеинов ЛПНП и Лп(а) выше, а sVCAM, ТИМП-1, метаболитов NO, sVCAM и резистентность ЛПНП к окислению ниже в сравнении с мужчинами, у которых в коронарных артериях преобладают стабильные бляшки. Из указанных биомаркеров в крови СРП, ИЛ-6, ИЛ-8, метаболиты NO, окисленные протеины и sVCAM коррелируют с нестабильностью атеросклеротических бляшек в коронарных артериях. Между показателями в сосудистой стенке и в крови из изученного спектра биомаркеров выявлены значимые корреляционные связи только для СРП и показателей процесса ПОЛ.

**Исследования крови при КА с ОКС.** Выявлено влияние окФН на показатели сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. При остром ИМ наряду с повышенными окислительными изменениями липидов и протеинов плазмы наблюдается значительная окислительная модификация ФН, не связанная и не зависящая от концентрации ФН. окФН потенцирует протромбогенные изменения сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза, в том числе ускорение лейкоцитарно-тромбоцитарной агрегации (ЛТА). Выявленные при ИБС и остром ИМ признаки нарушения системы гемостаза тромботического и гиперкоагуляционного характера (ускоренная ЛТА, повышенный уровень продуктов деградации фибрина и сниженная активность фибринолиза), признаки эндотелиальной дисфункции (снижение метаболизма NO и повышение фактора Виллебранда) зависимо ассоциированы с окФН. Повышенный уровень окФН может быть одним из маркеров окислительного стресса, имеющего место при ИБС и ИМ.

Из воспалительных биомаркеров ИМ наиболее повышенными в крови являются концентрации ИЛ-6, ИЛ-8 и СРП, особенно в первые сутки ИМ, со снижением этих показателей к 30-м суткам. Наиболее значимым биомаркером ОКС является СРП. Результаты исследования окислительных биомаркеров при ОКС свидетельствуют о более выраженной окислительной модификации ЛНП в крови и о нарушении равновесия в системе «прооксиданты–антиоксиданты» в ЛНП, т. е. о большем атерогенном потенциале ЛНП при ИС и ИМ.

**Поиск возможности лабораторной диагностики КА.** С целью разработки лабораторно-биохимической диагностической линейки КА изучены липидно-липопротеиновые биомаркеры (общий ХС, ТГ, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП, аполипопротеины В и А1 (апоВ, апоА1)), углеводные биомаркеры (глюкоза плазмы, базальный инсулин), СРП и биомаркеры окисления (исходный уровень продуктов ПОЛ в ЛПНП, резистентность ЛПНП к окислению, окислительная модификация апоЛПНП и содержание липофильных антиоксидантов в ЛПНП) у мужчин жителей Западной Сибири с КАГ верифицированным КА и ИБС и у мужчин популяционной выборки жителей г. Новосибирска. Выявлены значимые ассоциации КА и ИБС с такими биомаркерами, как уровни в крови ХС ЛПВП, ТГ, апоВ, апоА1, базального инсулина, СРП, исходный уровень продуктов ПОЛ в ЛПНП и резистентность ЛПНП к окислению.

**Закключение.** В целом, полученные результаты указывают на ключевую роль воспалительно-деструктивного процесса в развитии КА и его осложнений в Сибири. Определены ключевые

факторы и механизмы формирования нестабильной атеросклеротической бляшки. Повышенная активность воспалительно-деструктивного процесса в сосудистой стенке является доминирующей в закономерностях формирования последовательных стадий развития атеросклеротической бляшки – от липидного пятна до нестабильной. Определены ключевые окислительные и воспалительные биомаркеры формирования начальных и конечных стадий развития атеромы. Повышенная воспалительно-деструктивная активность в атеросклеротических очагах ассоциирована с окислительными модификациями некоторых липидов и протеинов. Воспалительно-деструктивные изменения преобладают в формировании разных типов нестабильных атером – липидного, воспалительно-эрозивного и дистрофически-некротического. Определены региональные для Сибири ориентиры уровней воспалительно-деструктивных, окислительно-антиоксидантных, коагуляционных и эндотелиально-дисфункциональных биомаркеров крови, проведена их оценка в сравнении с имеющимися в мире и в России условными нормативами. Обнаружены значимые независимые ассоциации повышенных концентраций некоторых из изучаемого спектра биомаркеров с КАГ верифицированным КА с ОКС и без него. В прикладном аспекте полученные результаты являются основой для разработки и совершенствования лабораторно-биохимической диагностической линейки КА и определяют важное направление дальнейших крупномасштабных исследований, в том числе на неселективных выборках.

Исследования были поддержаны 2 грантами Президента РФ, 4 грантами РФФИ, грантами Администрации НСО и Мэрии г. Новосибирска (докладчик – руководитель проектов), а также грантом в рамках ФЦП (Гос. контракт № 14.740.11.0174, ответственный исполнитель). В рамках исследований получены 3 патента РФ на изобретение, свидетельство на товарный знак «АтероПанель». Результаты исследования представлены за период 2007–2011 г. в 23 статьях в журналах Перечня ВАК (цитирование в период 2007–2011 гг. в РИНЦ – 84, в SCOPUS – 9, в Google Scholar – 36), в 2 монографиях и в 14 докладах, в том числе всероссийских (Национальные конгрессы кардиологов, г. Москва, 2007–2010 гг., Конференция Национального общества по атеросклерозу, г. Москва, 2010 г. – приглашенный устный доклад) и зарубежных (Конгрессы Европейского общества по атеросклерозу EAS-2005 – Прага, EAS-2007 – Хельсинки, EAS-2010 – Гамбург – приглашенный устный доклад, EAS-2011 – Гетеборг; Конгресс Международного общества по атеросклерозу ISA-2006 – Рим).