

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ АССОЦИАЦИИ FAS-ОПОСРЕДОВАННОГО АПОПТОЗА
У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМИ И ХРОНИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ
ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА****А.С. Яковлева, О.А. Миролюбова***ГБОУ ВПО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России
163000, г. Архангельск, просп. Троицкий, 51*

Дана оценка активности Fas-опосредованного апоптоза и ее взаимосвязи с классическими факторами риска у пациентов с острыми и хроническими формами ишемической болезни сердца (ИБС). Исследовано 126 пациентов с ИБС, из них 84 пациента в госпитальном периоде инфаркта миокарда (ИМ) (1-я группа) и 42 пациента со стабильным течением ИБС (2-я группа). Контрольная группа представлена 77 добровольцами без ИБС и метаболического синдрома (МС). Методом иммуноферментного анализа определены сывороточные уровни активатора апоптоза sFasL и его ингибитора sFas. Использовалась программа SPSS для Windows 19.0. Классические профили риска пациентов 1-й и 2-й групп не имели существенных различий, при этом во 2-й группе более высокими были уровни как sFas ($37,8 \pm 24,4$ vs. $22,1 \pm 9,3$ нг/мл; $p = 0,021$), так и sFasL ($86,2 \pm 24,5$ vs. $63,8 \pm 22,7$ пг/мл; $p < 0,001$) и превышали таковые у добровольцев. На всей выборке пациентов обнаружены корреляции концентрации sFas и возраста ($\rho_S = 0,330$; $p = 0,001$), sFas и уровней креатинфосфокиназы ($\rho = -0,591$; $p < 0,001$) и МВ-КФК ($\rho = -0,484$; $p < 0,001$). С уровнем sFasL коррелировал уровень ХС ЛПВП ($\rho_S = 0,329$; $p = 0,017$), более высокий уровень sFasL был у пациентов с артериальной гипертензией ($79,8 \pm 31,2$ vs. $60,1 \pm 24,1$ пг/мл; $p < 0,001$). Внутри 1-й группы отношение sFas/sFasL при полнокомпонентном МС было ниже, чем при наличии трех его компонентов ($204,7 \pm 43,8$ vs. $464,4 \pm 196,4$; $p = 0,024$), а уровень sFasL был выше при сахарном диабете/гипергликемии натощак. В той же группе предиктором сывороточных уровней sFasL являлось число пораженных коронарных артерий (КА) ($\beta = 0,28$; $p = 0,016$): $F(2,65) = 496$, $p = 0,001$. Пациенты с ИМ в анамнезе отличались более высоким уровнем sFasL: $85,6 \pm 25,4$ vs. $73,3 \pm 31,4$ пг/мл ($p = 0,001$). Концентрации sFasL ($\rho_S = -0,362$, $p < 0,001$) и sFas/sFasL ($\rho_S = -0,341$; $p = 0,007$) коррелировали с продолжительностью постинфарктного периода. Показано, что пациенты с ИБС имели более высокие уровни sFas и sFasL по сравнению с добровольцами без ИБС и МС. Активность Fas-опосредованного апоптоза была ассоциирована с МС, перенесенным ИМ и тяжестью поражения КА, это подтверждает его роль в развитии ИБС. Концентрации sFas и sFasL зависели от продолжительности постинфарктного периода, что может иметь значение при профилактике повторных коронарных событий.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, факторы риска, Fas-опосредованный апоптоз.

Атеросклероз – причина развития «болезней цивилизации». С каждым годом появляется все больше сведений о его этиопатогенезе, однако многие грани проблемы остаются неосвещенными. Ишемическая болезнь сердца (ИБС) и, в частности, ее острая форма – инфаркт миокарда (ИМ) занимают первое место среди причин смертности населения европейских стран

[1]. ИМ имеет тенденцию к «омоложению», но классические факторы риска развития ИБС остаются значимыми для любой возрастной категории. Существует ряд проверенных временем методик количественной оценки сердечно-сосудистого риска (шкалы SCORE, Framingham и пр.), однако все они имеют недостатки и ограничения в применении. Зачастую наблюдается

Яковлева Анна Сергеевна – канд. мед. наук, ассистент кафедры факультетской терапии с курсом эндокринологии, e-mail: nauka@nsmu.ru

Миролюбова Ольга Александровна – д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой факультетской терапии с курсом эндокринологии

© Яковлева А.С., Миролюбова О.А., 2013

гиподиагностика, при которой пациент может быть неверно отнесен к группе риска [2, 3].

Ведется активный поиск новых факторов риска, которые могут иметь дополнительное стратификационное значение. Так, изучаются сывороточные биомаркеры, отражающие степень эндотелиальной дисфункции, дестабилизацию атеросклеротической бляшки, выраженность метаболического синдрома [4–6].

Исследователи уделяют особое внимание процессам программированной клеточной гибели и одному из ее путей – Fas-опосредованному апоптозу, роль которого в развитии ИБС на сегодняшний день не вызывает сомнений.

Fas-система относится к семейству фактора некроза опухоли- α . Процесс «клеточного суицида» начинается после взаимодействия специфических Fas-рецептора и Fas-лиганда. Образование иммунного комплекса сопровождается отсоединением растворимых Fas-рецептора (sFas) и Fas-лиганда (sFasL). Роль этих биомаркеров апоптоза на молекулярном уровне различна: если sFasL выступает в качестве активатора апоптоза, то sFas, напротив, обладает антиапоптотической активностью. Сывороточные уровни sFas и sFasL способны отражать активность программированной клеточной гибели [7].

Дисфункция Fas-опосредованного апоптоза характерна для ряда аутоиммунных и онкологических заболеваний, а также имеет место при старении организма [8].

В популяции кардиомиоцитов взрослого человека апоптоз не играет физиологической роли [9]. Медиаторы Fas-системы задействованы в развитии ИБС и ее осложнений [10, 11]. Показано, что апоптоз кардиомиоцитов может происходить под воздействием гипоксии при ишемическом или реперфузионном повреждении миокарда, а также имеет место при перерастяжении стенок левого желудочка (ЛЖ), например, при кардиомиопатии и постинфарктном ремоделировании сердечной мышцы [12, 13].

Начало исследованиям роли Fas-опосредованной клеточной гибели в развитии атеросклероза было положено в конце XX столетия и практически сразу же доказано значение данного процесса в развитии острого коронарного синдрома. Так, у больных нестабильной стенокардией и ИМ обнаружены повышенные уровни sFasL, которые имеют тенденцию к повторному повышению после применения реперфузионных методов [14–16]. В 2008 г. получены данные о повышенном содержании sFas у пациентов с нестабильной стенокардией по сравнению со здоровыми добровольцами [17], что свидетельствует о недостаточной изученности проблемы. В 2011 г. доказана связь дисфункции Fas-систе-

мы с развитием рестеноза в коронарных стенках [18]. Исследования процессов программированной клеточной гибели при ИБС продолжаются.

Есть сведения о взаимосвязях сывороточных уровней биомаркеров апоптоза с компонентами метаболического синдрома (МС). В частности, концентрация sFasL снижена у пациентов с дислипидемией и наличием инсулинорезистентности периферических тканей [19].

Таким образом, изучение Fas-системы, биомаркеры которой ассоциированы с классическими факторами риска развития ИБС и подвержены влиянию современных методов лечения [14–16, 18], остается актуальной научной проблемой. Противоречивые сведения о ее активности, а также отсутствие крупных сравнительных исследований при различных формах ИБС диктуют необходимость дальнейшего поиска. Важной для практической медицины является и оценка дополнительного предикторного значения активности Fas-опосредованной программированной клеточной гибели при ИБС.

Поэтому целью настоящей работы явилось исследование активности Fas-опосредованной программированной клеточной гибели и оценка ее взаимосвязей с классическими факторами риска у пациентов с острыми и хроническими формами ИБС.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 203 человека: 126 пациентов с ИБС и 77 добровольцев без ИБС и полнокомпонентного МС (48,1 % женщин и 51,9 % мужчин, средний возраст $33,5 \pm 11,5$ года). Выборка больных ИБС представлена двумя группами: 1-я группа – 84 пациента в госпитальном периоде ИМ, включенных в исследование на 10–14-е сутки от начала заболевания (средний возраст $56,2 \pm 12,1$ года, 16,7 % женщин и 83,3 % мужчин), 2-я группа – 42 пациента со стабильным течением ИБС без острого коронарного синдрома в течение предыдущих шести месяцев (средний возраст $53,3 \pm 8,8$ года, 16,7 % женщин и 83,3 % мужчин). Для 7 пациентов 1-й группы (8,3 %) настоящий ИМ оказался повторным (вторым). Во 2-й группе зафиксирован 31 случай (73,8 %) перенесенного ранее ИМ. К критериям исключения из исследования относились: тяжелая сердечная недостаточность IIБ – III стадии по Стражеско–Василенко, неконтролируемые нарушения сердечного ритма, верифицированные аутоиммунные и онкологические заболевания, коагулопатии, декомпенсированные болезни печени и почек (ХБП III – V стадии).

Таблица 1

Распространенность классических факторов риска в 1-й и 2-й группах пациентов с ИБС ($n = 126$)

Факторы риска	Абдоминальное ожирение	АГ	СД / гипергликемия*	Атерогенная дислипидемия	Курение	Отягощенная наследственность	Стресс	Гиподинамия
1-я группа ($n = 84$)	30 (35,7 %)	68 (81,0 %)	28 (33,3 %)	66 (78,6 %)	46 (56,0 %)	27 (32,1 %)	20 (23,8 %)	75 (89,3 %)
2-я группа ($n = 42$)	18 (42,9 %)	38 (90,5 %)	16 (38,1 %)	23 (54,9 %)	22 (52,4 %)	26 (61,9 %)	24 (57,1 %)	38 (90,5 %)
Pearson χ^2	0,89	1,58	9,26	3,72	0,104	9,85	13,69	75,38
p	0,346	0,209	0,055	0,054	0,747	0,002	< 0,001	0,984
Всего	48 (38,1 %)	106 (84,1 %)	44 (34,9 %)	89 (70,6 %)	68 (54,0 %)	53 (42,1 %)	44 (34,9 %)	113 (89,7 %)

* СД в 1-й группе – 7 случаев (8,3 %), во 2-й группе – 3 случая (7,1 %).

Оценивалось наличие классических факторов риска: артериальной гипертензии (АГ), ожирения, атерогенной дислипидемии, сахарного диабета (СД), отягощенной наследственности, курения, хронического психосоциального стресса, малоподвижного образа жизни. Диагностика МС проводилась на основании рекомендаций Американской ассоциации сердца и Международной диабетической федерации с поправками от 2009 г. [20]. МС расценивался как полнокомпонентный при наличии пяти признаков: абдоминальное ожирение, АГ, гипергликемия или СД, гипертриглицеридемия, снижение уровня холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП).

В группе добровольцев зафиксировано 11 случаев табакокурения (14,3 %), 24 случая отягощенной по ИБС наследственности (31,2 %), 7 человек (9,1 %) испытывали хронический психосоциальный стресс, 3 человека (3,9 %) страдали АГ, в 8 случаях (10,4 %) была диагностирована гипергликемия натощак.

Распространенность классических факторов риска в 1-й и 2-й группах пациентов с ИБС представлена в табл. 1.

Полнокомпонентный МС имел место у 9 пациентов (10,7 %) 1-й группы и 17 пациентов (40,5 %) 2-й группы (Pearson $\chi^2 = 15,14$; $p < 0,001$).

Лабораторное и инструментальное исследование выполнялось в ГБУЗ Архангельской области «Первая городская клиническая больница им. Е.Е. Волосевич». Цельная кровь подвергалась общему анализу на гематологическом анализаторе SP-1000i фирмы F. Hoffman-La Roche Ltd. (Швейцария) с расчетом абсолютного и относительного числа лимфоцитов. Биохимический анализ сыворотки крови выполнялся по стандартной методике на аппарате «Cobas

Integra 400» фирмы F. Hoffman-La Roche Ltd. (Швейцария): определялись уровни глюкозы, креатинфосфокиназы (КФК) и ее МВ-фракции (МВ-КФК), липидов: общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), ХС ЛПВП, ХС липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП).

В сыворотке крови всех исследуемых лиц однократно методом иммуноферментного анализа (ИФА) определялись сывороточные уровни биомаркеров апоптоза sFasL и sFas. ИФА выполнялся на автоматическом анализаторе ANTHOS LABTEC INSTRUMENTS 2020 с использованием коммерческих наборов антител (Bender MedSystem GmbH, Австрия) на базе иммунологической лаборатории ГБОУ ВПО СГМУ (г. Архангельск) Минздрава России.

Трансторакальная эхокардиоскопия (ЭХО-КС) выполнялась в одно-, двух- и четырехкамерном режиме на аппарате GE Vivid i (Израиль, 2007) кардиологическим датчиком с частотой 1,7–3,4 МГц по стандартным методикам с использованием импульсного и непрерывно-волнового доплеровского режимов. Фракция изгнания левого желудочка (ФИ ЛЖ) оценивалась по Teicholc. Масса миокарда ЛЖ (ММЛЖ) рассчитывалась по формуле Penn Convention (R.V. Devereux и N. Reichek), индекс ММЛЖ (иММЛЖ) – по двум формулам: относительно площади поверхности тела и относительно роста (м)^{2,7}.

Характеристики пациентов, страдающих ИБС, представлены в табл. 2.

Многoproекционная коронарная ангиография (КАГ) выполнялась на ангиоскопическом комплексе Allura Xper FD20 фирмы Philips. В 1-й и 2-й группах пациентов, страдающих ИБС, преобладало многососудистое поражение: 2 КА – 13 (15,5 %) и 6 (14,3 %) случаев, 3 КА – 35 (41,7 %) и 25 (59,5 %) случаев соответствен-

Таблица 2

Лабораторно-инструментальные характеристики пациентов с ИБС 1-й и 2-й групп (n = 126)

Показатель	1-я группа (n = 84)	2-я группа (n = 42)	p*
Лимфоциты, %	21,7±9,6	28,4±9,1	0,010
Глюкоза, ммоль/л	6,4±1,8	5,4±1,4	0,008
ОХС, ммоль/л	4,8±1,3	5,3±1,1	0,391
ТГ, ммоль/л	1,8±1,0	2,3±1,7	0,223
ХС ЛПВП, ммоль/л	0,9±0,2	1,1±0,2	0,018
ХС ЛПНП, ммоль/л	3,1±1,1	3,5±1,2	0,969
ТГ/ ХС ЛПВП	2,5±1,6	2,1±1,7	0,039
ФИ	0,56±0,09	0,58±0,07	0,139
КДРЛЖ, см	5,6±0,7	5,4±0,7	0,144
КДРЛП, см	3,9±0,4	4,0±0,4	0,931
ТЗС, см	1,0±0,1	1,1±0,2	0,612
ТМЖП, см	0,9±0,2	1,1±0,1	0,001
иММЛЖ, г/м ²	132,1±38,0	151,8±39,8	0,348
иММЛЖ, г/м ^{2,7}	60,9±22,3	70,7±18,2	0,025

Примечание. *U-тест Манна–Уитни; КДРЛЖ – конечно-диастолический размер ЛЖ; КДРЛП – КДР левого предсердия, ТЗС – толщина задней стенки ЛП; ТМЖП – толщина межжелудочковой перегородки.

но, однако группы значимо не отличались между собой (Pearson $\chi^2=7,37$; $p = 0,117$).

Статистический анализ. Для проверки вариационных рядов на нормальность распределения применялся тест Шапиро–Уилка. Количественные данные представлены как среднее арифметическое (M) \pm стандартное отклонение (SD) при правильном распределении. Достоверность различий определяли по парному и непарному t -критерию Стьюдента и критериям непарметрической статистики: χ^2 – для порядковых и качественных переменных, Манна–Уитни – для двух независимых выборок. При множественном сравнении использован однофакторный дисперсионный анализ ANOVA (с процедурой Post Hoc парных сравнений с поправкой Бонферрони), а также непарметрический тест Крускала–Уоллиса при сравнении нескольких независимых групп. Проводился корреляционный анализ с определением коэффициента ранговой корреляции Спирмена (ρ_S) и линейный регрессионный анализ. Статистическая значимость присваивалась при значении $p < 0,05$. Для математической обработки результатов использовалась программа биомедицинской статистики SPSS для Windows (версия 19).

РЕЗУЛЬТАТЫ

При анализе сывороточных уровней биомаркеров апоптоза выявлены значимые различия

концентраций как sFas, так и sFasL между 1-й и 2-й группами пациентов с ИБС, а также между 2-й группой пациентов и контрольной группой добровольцев (рис. 1, 2).

Отношение концентраций sFas / sFasL значимо не отличалось в изучаемых группах. Независимо от групповой принадлежности исследуемых лиц обнаружена прямая корреляционная зависимость между возрастом и концентрацией sFas ($\rho_S = 0,330$; $p = 0,001$), а также возрастом и отношением sFas / sFasL ($\rho_S = 0,323$, $p = 0,001$).

У всех пациентов в группе с ИБС обнаружены взаимосвязи между признаками МС: индексом массы тела (ИМТ) и уровнем ТГ ($\rho_S = 0,336$; $p = 0,001$), ИМТ и отношением ТГ / ХС ЛПВП ($\rho_S = 0,338$; $p = 0,001$). Концентрация ХС ЛПВП коррелировала с уровнями КФК ($\rho = -0,333$; $p = 0,001$) и МВ-КФК ($\rho = -0,335$, $p = 0,001$).

Кроме того, обнаружены корреляции концентраций КФК и sFas ($\rho = -0,591$; $p < 0,001$), КФК и sFas / sFasL ($\rho = -0,410$; $p = 0,001$), МВ-КФК и sFas ($\rho = -0,484$; $p < 0,001$). Уровень sFas коррелировал с ТМЖП ($\rho_S = 0,357$; $p = 0,002$). У пациентов с ИБС при КДРЛЖ $\geq 5,5$ см имели место более низкие уровни sFas, чем при КДРЛЖ $< 5,5$ см: $25,0 \pm 15,6$ против $37,0 \pm 23,7$ нг/мл, $t(71) = 6,26$, $p = 0,015$ (среднее различие $-11,97$, 95 % ДИ от $-21,30$ до $-2,64$).

Уровни биомаркеров апоптоза имели взаимосвязи с компонентами МС на всей выборке пациентов с ИБС. В частности, концентрация активатора программированной клеточной гибели

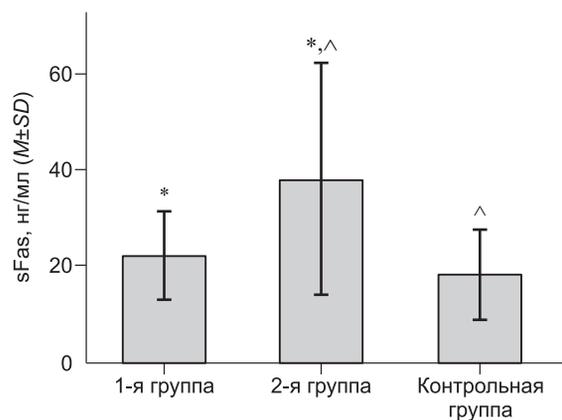


Рис. 1. Сывороточные уровни sFas у пациентов, страдающих ИБС (n = 126), и добровольцев (n = 77).

Тест Крускала–Уоллиса: $\chi^2(2, n = 102) = 11,99$, $p = 0,002$; U-тест Манна–Уитни: * $22,1 \pm 9,3$ нг/мл в 1-й группе против $37,8 \pm 24,4$ нг/мл во 2-й группе, $U = 496$, $z = -2,31$, $p = 0,021$; ^ $37,8 \pm 24,4$ нг/мл во 2-й группе против $17,9 \pm 9,3$ нг/мл в контрольной группе, $U = 294$, $z = -3,08$, $p < 0,001$

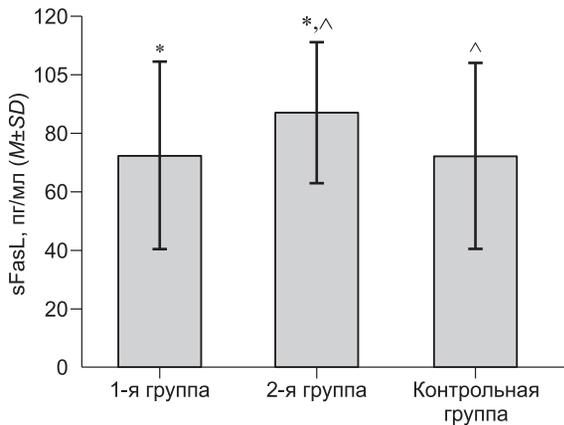


Рис. 2. Сывороточные уровни sFasL у пациентов, страдающих ИБС ($n = 126$), и здоровых лиц ($n = 77$).

Тест Крускала–Уоллиса: $\chi^2(2, n = 190) = 20,70, p < 0,001$; U-тест Манна–Уитни: * $63,8 \pm 22,7$ пг/мл в 1-й группе против $86,2 \pm 24,5$ пг/мл во 2-й группе, $U = 938, z = -4,21, p < 0,001$; ^ $86,2 \pm 24,5$ пг/мл во 2-й группе против $58,4 \pm 25,8$ пг/мл в контрольной группе, $U = 741, z = -3,98, p < 0,001$.

ли sFasL была ассоциирована с маркером дислипидемии – уровнем ХС ЛПВП (рис. 3). Более высокий уровень sFasL имел место у пациентов, страдающих АГ (рис. 4).

Углубленное изучение пациентов в госпитальном периоде ИМ ($n = 84$) показало различие средних уровней ингибитора апоптоза sFas в группах курящих и некурящих лиц: $23,4 \pm 9,7$ против $18,4 \pm 9,0$ нг/мл соответственно (U-тест Манна–Уитни: $U = 287, z = -2,11, p = 0,035$).

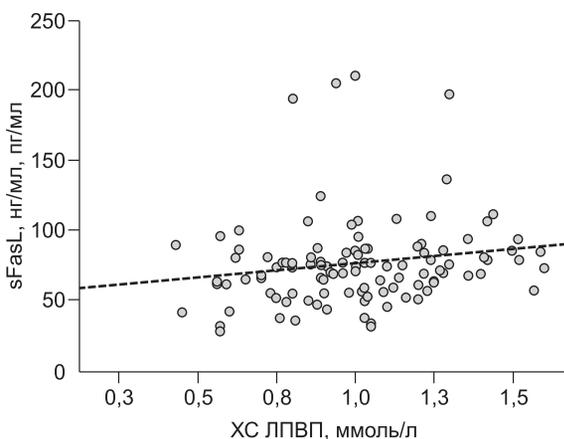


Рис. 3. Корреляционная зависимость сывороточных уровней sFasL и ХС ЛПВП у пациентов с ИБС ($n = 126$). $\rho S = 0,329, p = 0,017$

В этой же группе исследования обнаружены различия отношения концентраций sFas / sFasL в зависимости от количества компонентов МС. Отношение sFas / sFasL при наличии пяти компонентов было ниже, чем при наличии трех компонентов МС: $204,7 \pm 43,8$ против $464,4 \pm 196,4$ (U-тест Манна–Уитни: $U = 4,0, z = -2,26, p = 0,024$).

В то же время уровень активатора апоптоза sFasL был выше при наличии СД / гипергликемии натощак: $70,4 \pm 21,8$ против $57,1 \pm 21,6$ пг/мл у пациентов без нарушений углеводного обмена (U-тест Манна–Уитни: $U = 192, z = -2,04, p = 0,041$). Интересным представляется факт выявленной регрессионной зависимости отношения sFas / sFasL от наличия СД / гипергликемии натощак у пациентов 1-й группы. Принудительное включение в ранг предикторов ИМТ и нарушение углеводного обмена продемонстрировало предсказуемую значимость СД / гипергликемии натощак, в то время как ИМТ не обладал достаточной достоверностью, хотя был к этому близок: СД / гипергликемия натощак ($\beta = -0,42; p = 0,021$), ИМТ ($\beta = -0,33; p = 0,071$), $F(2, 50) = 4,69, p = 0,019, R^2 = 0,28$, скорректированный $R^2 = 0,22$. При построении подобных регрессионных моделей с включением липидных фракций не обнаружено статистической значимости.

Независимо от групповой принадлежности пациенты с ИБС, имеющие анамнестические указания на перенесенный ИМ, отличались более высоким уровнем sFasL: $85,6 \pm 25,4$ против $73,3 \pm 31,4$ пг/мл (U-тест Манна–Уитни: $U = 1015, z = -3,32, p = 0,001$). При этом концентрация sFasL ($\rho S = -0,362; p < 0,001$) и от-

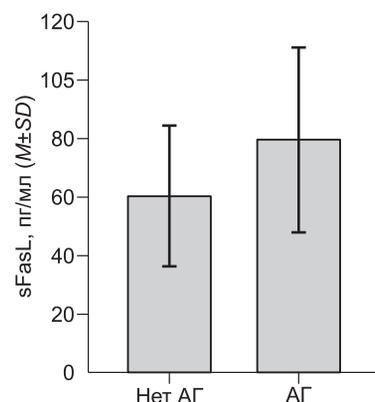


Рис. 4. Сывороточные уровни активатора апоптоза sFasL у лиц без АГ и с АГ ($n = 203$). U-тест Манна–Уитни: $60,1 \pm 24,1$ против $79,8 \pm 31,2$ пг/мл, $U = 1234, z = -4,33, p < 0,001$

ношение sFas / sFasL ($\rho S = -0,341, p = 0,007$) коррелировали с продолжительностью постинфарктного периода. С продолжительностью периода после ИМ коррелировали также уровни КФК ($\rho S = -0,280; p = 0,010$) и МВ-КФК ($\rho S = -0,255; p = 0,022$).

Сывороточные уровни биомаркеров апоптоза у пациентов 2-й группы с ИМ в анамнезе и различной продолжительностью постинфарктного периода представлены на рис. 5 и 6.

При построении регрессионной модели выяснилось, что в 1-й группе пациентов с ИБС предиктором сывороточных уровней sFasL является число пораженных КА ($\beta = 0,28; p = 0,016$): $F(2,65) = 496; p = 0,001, R^2 = 0,21$, скорректированный $R^2 = 0,18$.

ОБСУЖДЕНИЕ

В изучаемой группе пациентов, страдающих ИБС, среди классических модифицируемых факторов риска лидирующие позиции занимали малоподвижный образ жизни, АГ, абдоминальное ожирение и атерогенная дислипидемия. Поэтому на сегодняшний день МС сохраняет за собой права «смертельного квартета факторов риска» [20]. Необходимо отметить, что у пациентов, включенных в исследование в госпитальном периоде ИМ, дислипидемия носила

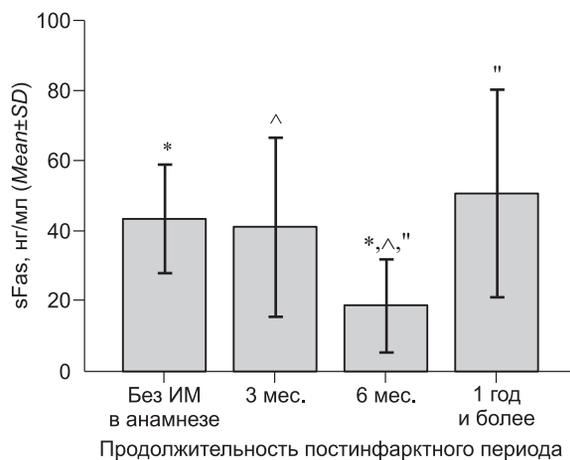


Рис. 5. Сывороточные уровни sFas у пациентов со стабильным течением ИБС при различной продолжительности постинфарктного периода ($n = 42$).

Тест Крускала–Уоллиса: $\chi^2(3, n = 42) = 11,33, p = 0,010$; U-тест Манна–Уитни: * $43,3 \pm 15,5$ нг/мл у пациентов без ИМ в анамнезе против $18,4 \pm 13,2$ нг/мл через 6 мес. после ИМ, $U = 13, z = -2,96, p = 0,002$; ^ $40,8 \pm 25,5$ нг/мл через 3 мес. против $18,4 \pm 13,2$ нг/мл через 6 мес., $U = 19, z = -2,54, p = 0,010$; " $18,4 \pm 13,2$ нг/мл через 6 мес. против $50,5 \pm 29,7$ нг/мл через один год и более, $U = 20, z = -2,47, p = 0,013$

более атерогенный характер с более низкими уровнями ХС ЛПВП и более высокими уровнями отношения ТГ / ХС ЛПВП по сравнению с группой пациентов со стабильной ИБС.

Изучаемые группы пациентов с ИБС (1 – в госпитальном периоде ИМ, 2 – со стабильным течением ИБС) не имели тяжелой сердечной недостаточности (СН) и не отличались по КДРЛЖ и ФИ. При сравнительном анализе сывороточных уровней биомаркеров апоптоза в этих группах обнаружены значимо более высокие уровни как активатора программированной клеточной гибели sFasL, так и ее ингибитора sFas у пациентов со стабильным течением ИБС (1-я группа), чем у пациентов на 10–14-е сутки ИМ (2-я группа). Распространенность классических факторов риска и тяжесть поражения коронарного русла были сопоставимы в двух группах, однако имели место различия уровней биомаркеров апоптоза, что требует дальнейшего углубленного изучения на большей выборке пациентов. Кроме того, концентрации sFasL и sFas у добровольцев без ИБС и МС оказались более низкими, чем в группе пациентов со стабильным течением ИБС. Полученные факты указывают на активацию программированной клеточной гибели при ИБС, что соотносится с литературными данными [14, 17].

Более высокие уровни биомаркеров апоптоза при стабильном течении ИБС и ИМ в анамнезе по сравнению с уровнями в госпитальном периоде ИМ свидетельствуют о продолжающейся программированной клеточной гибели в

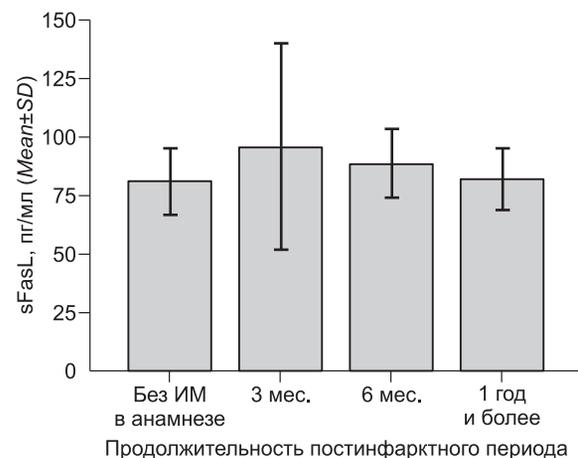


Рис. 6. Сывороточные уровни sFasL у пациентов со стабильным течением ИБС при различной продолжительности постинфарктного периода ($n = 42$).

Тест Крускала–Уоллиса: $\chi^2(3, n = 42) = 1,71, p = 0,634$. U-тест Манна–Уитни не выявил парных различий между представленными подгруппами пациентов

постинфарктном периоде. При этом обратные корреляционные связи концентраций sFas и КФК отражают снижение антиапоптотической активности при больших размерах зоны некроза миокарда. Уровни антиапоптотического фактора sFas оказались низкими при увеличении КДРЛЖ более 5,5 см, а также коррелировали с ТМЖП, что подтверждает участие медиаторов Fas-системы в процессах ремоделирования миокарда [7]. Большие размеры ЛЖ ассоциированы с низкими уровнями ингибитора апоптоза sFas, т. е. недостаточной антиапоптотической активностью.

Независимо от группы исследования концентрации sFas, а также отношение sFas / sFasL имели положительные связи с возрастом, что представляет собой закономерную тенденцию возрастного ослабления активности процессов апоптоза и объясняет повышенный риск развития онкопатологии и атеросклероза в пожилом возрасте [8].

Нами обнаружены ассоциации сывороточной активности Fas-опосредованной клеточной гибели с компонентами МС. Так, уровни активатора апоптоза sFasL оказались более высокими у пациентов, страдающих АГ. Кроме того, концентрация sFasL имела прямую связь с концентрацией ХС ЛПВП, т. е. для атерогенной дислипидемии характерно снижение уровня активатора апоптоза [19]. При МС имеет место недостаточность процессов Fas-опосредованного апоптоза, что влечет за собой избыточные пролиферативные реакции и развитие эндотелиальной дисфункции, персистирующее сосудистое воспаление, ослабление противоопухолевой защиты организма и пр. [8, 17].

Детальное изучение группы пациентов в госпитальном периоде ИМ продемонстрировало более высокие уровни ингибитора апоптоза sFas у курящих пациентов, а также глубокие ассоциации активности Fas-опосредованного апоптоза с компонентами МС. Выявлены пониженные уровни отношения sFas / sFasL при полнокомпонентном метаболическом инсулинорезистентном синдроме и регрессионная зависимость данного отношения от наличия нарушений углеводного обмена, что дополнительно подчеркивает описанную выше дисфункцию этой системы. Выявленные особенности могут свидетельствовать о генетической «поломке» Fas-рецептора при истинном инсулинорезистентном МС [17, 19].

Количество пораженных КА оказалось предикторами сывороточных уровней sFasL, т. е. показатели сывороточной активности апоптоза были взаимосвязаны с инструментальными признаками коронарного атеросклероза и его

распространенностью. В доступной литературе имеются сведения об ассоциациях биомаркеров Fas-опосредованного апоптоза с выраженностью атеросклероза экстракраниальных артерий шеи [12, 19].

При любой форме ИБС сывороточная концентрация sFasL зависела от наличия ИМ в анамнезе. При этом уровни как sFasL, так и sFas варьировали у пациентов с различной продолжительностью постинфарктного периода. Значимых различий в уровнях sFasL не обнаружено, однако имела место тенденция к постепенному снижению уровня активатора апоптоза в отдаленном постинфарктном периоде. Через один год после ИМ концентрация sFasL была сопоставима с таковой у пациентов без ИМ в анамнезе. Подобная динамика свидетельствует об ослаблении активности программированной клеточной гибели к концу первого года постинфарктного периода у пациентов без признаков систолической дисфункции ЛЖ и СН.

Показаны значимые различия сывороточных уровней антиапоптотического фактора sFas у пациентов с различной продолжительностью постинфарктного периода, при этом во временной точке 1 год после ИМ его уровень также был сопоставим с таковым у пациентов без ИМ.

Описанные факты свидетельствуют о том, что в течение первого года после ИМ наблюдается повышенная активность Fas-опосредованного апоптоза, которая постепенно снижается до значений, определяемых у больных ИБС без ИМ в анамнезе. Сывороточная активность биомаркеров апоптоза, несомненно, отражает тканевые процессы продолжающегося постинфарктного ремоделирования миокарда и стабилизации атеросклеротических бляшек [12]. Эти особенности диктуют необходимость активного наблюдения пациентов после ИМ для профилактики развития повторных коронарных событий и СН.

ВЫВОДЫ

1. Пациенты, страдающие ИБС, имеют значимо более высокие уровни биомаркеров апоптоза sFas и sFasL по сравнению с контрольной группой.

2. Активность Fas-опосредованного апоптоза ассоциирована с МС, наличием ИМ в анамнезе и тяжестью поражения КА, что подтверждает его роль в развитии ИБС.

3. Концентрации биомаркеров апоптоза sFas и sFasL варьируют у пациентов, перенесших ИМ, в зависимости от продолжительности постинфарктного периода, что требует целенаправленного исследования пациентов в различных

временных точках с целью возможной профилактики повторных коронарных событий и прогрессирования СН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование демонстрирует повышенную активность Fas-опосредованного апоптоза у пациентов с ИБС, а также ее ассоциации с МС, особенно в группе пациентов, недавно перенесших ИМ. Активность Fas-системы имеет проатерогенную направленность, «поломки» в ее работе могут приводить к запуску альтернативных неблагоприятных вариантов запрограммированной клеточной гибели и хроническому сосудистому воспалению. Эти факты, а также обнаруженные различия уровней ингибитора апоптоза sFas у пациентов в зависимости от длительности постинфарктного периода свидетельствуют о необходимости углубленного исследования пациентов с различными вариантами течения ИБС для оптимизации профилактики острых коронарных событий, прогрессирования атеросклероза и СН.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Crea F., Liuzzo G.** Pathogenesis of acute coronary syndromes // *J. Am. Coll. Card.* 2013. Vol. 61, N 1. P. 1–11.
2. **Zannad F., Backer D.G., Graham I. et al.** Risk stratification in cardiovascular disease primary prevention – scoring systems, novel markers, and imaging techniques // *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2012. Vol. 26. P. 163–174
3. **Alice P.S., Choi C.K., Choi C.K.** Novel and traditional cardiovascular risk factors in adolescents // *Cardiovasc. Risk Factors.* 2012. P. 61–80.
4. **Ogita M., Miyauchi K., Morimoto T. et al.** Association between circulating matrix metalloproteinase levels and coronary plaque regression after acute coronary syndrome – Subanalysis of the JAPAN-ACS study // *Atherosclerosis.* 2013. Vol. 226, N 1. P. 275–280.
5. **Lutgens E., Binder C.J.** Immunology of atherosclerosis // *Thromb. Haemost.* 2011. Vol. 106. P. 755–756.
6. **Angera O., Albertsson P., Karason K.** Evidence for obesity paradox in patients with acute coronary syndromes: a report from the Swedish Coronary Angiography and Angioplasty Registry // *Eur. Heart J.* 2013. Vol. 34. P. 345–353.
7. **Васина Л.В.** Клеточные и гуморальные маркеры апоптоза при остром коронарном синдроме в сочетании с гипертонической болезнью // *Артериальная гипертензия.* 2008. Т. 14, № 4. С. 332–335.
8. **Kavathia N., Jain A., Walston J. et al.** Serum markers of apoptosis decrease with age and cancer stage // *Aging.* 2009. Vol. 1, N 7. P. 652–663.
9. **Березикова Е.Н., Пустоветова М.Г., Шилов С.Н. и др.** Влияние апоптоза на течение хронической сердечной недостаточности // *Кардиология.* 2012. № 4. С. 55–58.
10. **Blanco-Colio L.M., Martin-Ventura J.L., de Teresa E. et al.** Increased soluble Fas plasma levels in subjects at high cardiovascular risk // *Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.* 2011. Vol. 27. P. 168–174.
11. **Орлова О.В., Наджафипур Р., Шевченко О.П. и др.** Растворимые формы маркеров Fas-опосредованного апоптоза при сердечной недостаточности // *Клин. лаб. диагностика.* 2006. № 9. С. 38.
12. **Martinet W., Kockx M.M.** Apoptosis in atherosclerosis: implications for plaque destabilization // *Verh. K. Acad. Geneesk. Belg.* 2004. Vol. 66, N 1. P. 61–79.
13. **Adamopoulos S., Parissis J.T., Georgiadis M. et al.** Growth hormone administration reduces circulating proinflammatory cytokines and soluble Fas/soluble Fas ligand system in patients with chronic heart failure secondary to idiopathic dilated cardiomyopathy // *J. Am. Coll. Card.* 2002. Vol. 144, N 2. P. 359–364.
14. **Shimizu M., Fukuo K., Nagata S. et al.** Increased plasma levels of the soluble form of Fas ligand in patients with acute myocardial infarction and unstable angina pectoris // *J. Am. Coll. Card.* 2002. Vol. 39. P. 585–590.
15. **Zhao W.S., Xu L., Wang L.F. et al.** A 60-s post-conditioning protocol by percutaneous coronary intervention inhibits myocardial apoptosis in patients with acute myocardial infarction // *Apoptosis.* 2009. Vol. 14, N 10. P. 1204–1211.
16. **Deftereos S., Giannopoulos G., Kossyvakis C. et al.** Effect of radiographic contrast media on markers of complement activation and apoptosis in patients with chronic coronary artery disease undergoing coronary angiography // *J. Interv. Cardiol.* 2009. Vol. 21, N 9. P. 473–477.
17. **Boos C.J., Balakrishnan B., Blann A.D. et al.** Endothelial damage/dysfunction and apoptosis in acute coronary syndromes: implications for prognosis // *Thromb. Haemost.* 2008. Vol. 6, N 11. P. 1841–1850.
18. **Katsaros K.M., Wiesbauer F., Speidl W.S. et al.** High soluble Fas and soluble Fas Ligand serum levels before stent implantation are protective against restenosis // *Thromb. Haemost.* 2011. Vol. 105, N 5. P. 883–891.
19. **Blanco-Colio L.M., Martin-Ventura J.L., Sol J.M. et al.** Decreased circulating Fas ligand in patients with familial combined hyperlipidemia or carotid atherosclerosis // *J. Am. Coll. Card.* 2011. Vol. 43. P. 1188–1194.
20. **Kassi E., Pervanidou P., Kaltsas G. et al.** Metabolic syndrome: definitions and controversies // *BMC Medicine.* 2011. Vol. 9. P. 48.

CLINICAL AND LABORATORY ASSOCIATIONS OF FAS-DEPENDANT APOPTOSIS IN PATIENTS WITH ACUTE AND CHRONIC CORONARY HEART DISEASE

A.S. Yakovleva, O.A. Miroyubova

Aim. To assess an activity of Fas-dependant apoptosis and its links with classical risk factors in patients (pts.) with acute and chronic coronary heart disease (CHD). **Material and methods.** We scrutinized 126 pts. with CHD: 84 pts. (1st group) - on 10–14th days of myocardial infarction (MI) and 42 pts. (2nd group) with stable CHD. Control group consisted of 77 volunteers without CHD and metabolic syndrome (MS). Serum levels of apoptosis activator sFasL and its inhibitor sFas were measured by ELISA. SPSS for Windows 19.0 was used. **Results.** The frequency of classical risk factors in 1st and 2nd groups did not differ significantly, both sFas (37.8 ± 24.4 vs. 22.1 ± 9.3 ng/ml, $p = 0.021$) and sFasL (86.2 ± 24.5 vs. 63.8 ± 22.7 pg/ml, $p < 0.001$) levels being higher in 2nd group. Besides biomarkers concentrations were higher in 2nd group than in controls. In the whole cohort of CHD pts. we revealed correlations between sFas level and age ($\rho_S = 0.330$, $p = 0.001$), sFas and CC ($\rho = -0.591$, $p < 0.001$) and MB-CC ($\rho = -0.484$, $p < 0.001$) levels. The level of sFasL correlated with HDL-C level ($\rho_S = 0.329$, $p = 0.017$) and was higher in arterial hypertension (79.8 ± 31.2 vs. 60.1 ± 24.1 pg/ml, $p < 0.001$). In the 1st group sFas/sFasL ratio was lower in pts. with full-component MS than in those with 3 components (204.7 ± 43.8 vs. 464.4 ± 196.4 , $p = 0.024$), sFasL level being higher in DM/hyperglycemia. In the same group the number of coronary lesions appeared to be sFasL level predictor ($\beta = 0.28$, $p = 0.016$): $F(2,65) = 496$, $p = 0.001$. The pts. survived MI were characterized with higher sFasL level: 85.6 ± 25.4 vs. 73.3 ± 31.4 pg/ml ($p = 0.001$). The concentration of sFasL ($\rho_S = -0.362$, $p < 0.001$) and sFas/sFasL ($\rho_S = -0.341$, $p = 0.007$) correlated with post-infarction period duration. **Conclusion.** Pts. with CHD had higher sFas и sFasL levels in comparison with controls. An activity of Fas-dependant apoptosis was associated with MS, survived MI and coronary lesions confirming its role in CHD development. The levels of sFas and sFasL depended on post-infarction period duration that may be of great significance as to prevent repeated coronary events.

Keywords: coronary heart disease, risk factors, Fas-dependant apoptosis.

*Статья поступила 14 мая 2013 г.,
после доработки – 22 августа 2013 г.*