

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

**САДИКОВА Регина Ильгизовна**

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ  
ПРЕДИКТОРЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У  
БОЛЬНЫХ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА**

14.01.04 – Внутренние болезни

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**  
доктор медицинских наук,  
профессор Э.Г. Муталова

Уфа – 2020

## ОГЛАВЛЕНИЕ

	<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	5
<b>ГЛАВА 1.</b>	<b>ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	13
1.1	Инфаркт миокарда как звено сердечно-сосудистого континуума.....	13
1.2	Ремоделирование сосудов и эндотелиальная дисфункция в развитии инфаркта миокарда.....	16
1.3	Роль цитокинов и молекул адгезии в патогенезе сердечно-сосудистого континуума.....	19
1.4	Молекулярно-генетические исследования и анализ полиморфных локусов генов функции эндотелия и системы гемостаза при сердечно-сосудистых заболеваниях	24
1.4.1	Полиморфизм генов селектина Р, суперсемейства иммуноглобулинов VCAM1 и хемокина CCL2 в развитии сердечно-сосудистых заболеваний.....	27
1.4.2	Сосудистый эндотелиальный фактор роста и полиморфные маркеры гена <i>VEGFA</i> в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний.....	33
1.4.3	Система оксида азота и полиморфные маркеры генов <i>NOS3</i> и <i>DDAH1</i> в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний.....	35
<b>ГЛАВА 2.</b>	<b>МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....</b>	40
2.1	Клиническая характеристика пациентов с инфарктом миокарда, включенных в исследование.....	40
2.2	Материалы исследования.....	44
2.3	Методы исследования.....	55
2.3.1	Лабораторные методы исследования.....	56
2.3.2	Инструментальные методы исследования.....	58
2.3.3	Молекулярно-генетические методы	

	исследования.....	60
2.4	Статистические методы исследования.....	64
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....</b>		<b>66</b>
3.1	Оценка постинфарктного ремоделирования сердца и сосудов у больных инфарктом миокарда.....	66
3.2	Анализ проявления системного воспаления по уровню провоспалительных цитокинов, моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1), сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) в сыворотке крови у больных инфарктом миокарда.....	78
3.3	Изучение морфогенеза и клеточного гомеостаза по анализу содержания компонентов апоптоза при инфаркте миокарда.....	83
3.4	Генетические локусы эндотелиальной дисфункции у больных инфарктом миокарда.....	85
3.4.1	Анализ ассоциаций частот генотипов и аллелей по полиморфизму генов молекул адгезии VCAM1 и селектина Р с инфарктом миокарда.....	86
3.4.2	Анализ ассоциаций частот генотипов и аллелей по полиморфизму генов хемокинов CCL2 и VEGFA с инфарктом миокарда.....	89
3.4.3	Анализ ассоциаций частот генотипов и аллелей по полиморфизму генов эндотелиальной синтазы оксида азота (NOS3) и гена <i>DDAH1</i> с инфарктом миокарда.....	93
3.4.4	Анализ ассоциаций генотипов и аллелей полиморфных ДНК локусов с инфарктом миокарда в зависимости от наличия артериальной гипертонии.....	96
3.5	Анализ взаимосвязи процессов ремоделирования крупных сосудов и миокарда, состояния иммунного воспа-	

ления, апоптоза и генетических факторов у больных инфарктом миокарда.....	104
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>	109
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	118
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....</b>	120
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....</b>	121
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	123

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Независимо от того, что за последние десятилетия уровень смертности в экономически развитых странах заметно убывает, в структуре заболеваемости, смертности и инвалидности населения ишемической болезни сердца (ИБС) отводится лидирующее место, а доля инфаркта миокарда (ИМ) составляет 13% смертности от ИБС [71,121,172,251].

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) по данным Всемирной организации здравоохранения в 2012 году в мире стали причиной смерти более 17,5 млн. человек, это 247,5 случаев на 100 тыс. населения. Доля ИБС составила 42% в структуре смертности от ССЗ, а доля инсультов – 38%. По прогнозам Всемирной организации здравоохранения к 2030 году смертность от ССЗ может достигнуть 269 случаев на 100 тыс. населения [194].

ИМ – наиболее опасное из острых проявлений ИБС, причиной которого в подавляющем большинстве случаев является нестабильная атеросклеротическая бляшка в коронарных артериях [40,121,231,297]. На этапах образования атеросклеротической бляшки отводится важная роль следующим составляющим: гемодинамические условия, активность эндогенного воспалительного процесса, а также разрушение бляшки [2,102,123]. Больные ИМ, независимо от того, что широко используется реперфузионная терапия, имеют большой риск возникновения всевозможных осложнений в раннем периоде (24-48 часов), а также позднем постинфарктном периоде [82,256,295].

Известно, что повреждение сосудистого эндотелия влечет за собой нарушение его функций, которые лежат в основе развития сердечно-сосудистых заболеваний, в частности, ИМ [105]. В основе дестабилизации атеросклеротической бляшки лежит воспалительный процесс, где важная роль отведена цитокинам: МСР-1, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-6, которые стимулируют

ют выработку С-реактивного белка в гладко-мышечных клетках сосудов, тем самым усугубляя воспалительный процесс в стенке сосудов и эндотелиальную дисфункцию. Отмечено, что гомеостаз про- и противовоспалительных факторов, а также взаимосвязь протеиназы/ингибиторы обуславливают развитие постинфарктного периода и скорость ремоделирования поврежденных тканей [154,203,289]. Однако, значительное количество современных ученых придают значимость изменениям профиля цитокинов, не учитывая концентрации белков, экспрессирующих данные цитокины [155,261,270].

### **Степень разработанности темы исследования**

Прогноз пациентов, переносящих ИМ, зависит от значительного количества причин. Выявление важных из них, достоверно влияющих на развитие в дальнейшем и прогрессирование хронической сердечной недостаточности и смертельных исходов, а также разработка способов их оценки на протяжении последних десятилетий являются наиболее существенными задачами в кардиологии.

Наибольший интерес представляет изучение специфических маркеров воспалительного ответа – цитокинов, которые могут быть прогностически более важными в определении процессов, связанных с дестабилизацией атеросклеротической бляшки в венечных артериях. Существует целый ряд цитокинов, действие которых связано с активацией воспаления в атеровоспалительной бляшке. Высокий уровень цитокинов ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 в плазме крови является достоверным и независимым предиктором развития ИМ, а наибольшее увеличение их концентраций коррелирует с летальным исходом [287]. Повышенные уровни фактора некроза опухолей –  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) у пациентов с ИМ статистически значимо коррелирует с его осложненным течением или наличием выраженной сердечной недостаточности (3-го, 4-го класса по Killip) [301]. Кроме того, провоспалительные цитокины стимулируют продукцию кардиомиоцитами межклеточных молекул адгезии, к которым про-

исходит адгезия нейтрофильных гранулоцитов. Активированные нейтрофильные гранулоциты усиливают экспрессию интегрина Mac-1 на своей мембране, присоединяющий растворимый фибриноген и фактор свертывания X, таким образом, стимулируя импульс тромбообразования.

Цитокины принимают участие в регуляции клеточного цикла, дифференцировке и апоптозе, процессах хемотаксиса и ангиогенеза. Считается, что эти вещества могут играть большую роль в реализации процессов гиперкоагуляции крови, нарушении регуляции сосудистого тонуса, развитии острого коронарного синдрома, эндотелиальной дисфункции, левожелудочковой недостаточности у больных с ИМ.

Таким образом, важную роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний имеет нарушение баланса про- и противовоспалительных цитокинов, таких, как интерлейкины: интерлейкин-1 бета (ИЛ-1), интерлейкин-6 (ИЛ-6), фактор некроза опухоли альфа (ФНО- $\alpha$ ) [11,12,48,149,214,217]. Цитокины участвуют во всех процессах формирования атеросклероза, КБС и ее осложнений [12]. Воспалительные цитокины (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-6) являются маркерами риска развития атеросклероза и острых коронарных событий [21,46]. Кроме того, вклад данных воспалительных медиаторов в механизм развития разных форм ИБС и ОКС, в частности, а также их диагностическое и прогностическое значение в клинических условиях у больных ИБС требуют дальнейшего изучения и конкретизации.

### **Цель исследования**

Оценить клинико-иммунологические и генетические предикторы развития эндотелиальной дисфункции у больных QИМ.

### **Задачи исследования**

1. Оценить наличие и степень возможного взаимоотношения между ремоделированием крупных сосудов и миокарда у больных QИМ.

2. Оценить проявление системного воспаления по уровню провоспалительных цитокинов, моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1), сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) в сыворотке крови у больных QИМ.

3. Провести изучение морфогенеза и клеточного гомеостаза по анализу содержания компонентов апоптоза (CD95+(Fas), активности каспаз при QИМ.

4. Провести анализ распределения частот генотипов полиморфных маркеров генов-кандидатов возможных предикторов развития ЭД в выборках здоровых индивидов и больных, перенесших QИМ: *SELP* (1q24.2, S331N, rs6131), *VCAM1* (1p32-p31, с.928+420A>C, rs3917010), *VEGFA* (6p21.1, -2549(18)I/D, rs34357231), *CCL2* (17q12, -2518A>G, rs1024611), *NOS3* (7q36, E298D, rs1799983), *DDAH1* (1p22, с.303+30998A>G, rs669173).

5. Провести анализ взаимосвязи процессов ремоделирования крупных сосудов и миокарда, состояния иммунного воспаления, апоптоза и генетических факторов у больных QИМ.

### Научная новизна

Впервые проведено сопоставление концентрации хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1), сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), компонентов апоптоза с биомаркерами субклинического воспаления, клиническими, анамнестическими, инструментальными и лабораторными показателями у пациентов с ИМ, кроме того, проведен анализ его роли в формировании патологического ремоделирования миокарда ЛЖ.

Впервые был проведен анализ частот генотипов и аллелей полиморфизмов генов молекул адгезии *VCAM1* и селектина Р, генов хемокинов rs1024611 (-2518A> G) гена *CCL2* и rs34357231 (-2549(18)I/D) гена *VEGFA*, генов эндотелиальной синтазы оксида азота (*NOS3*) и гена *DDAH1* у больных ИМ, выделены генетические маркеры повышенного риска ИМ и протективные маркеры.



## **Практическая и теоретическая значимость**

Теоретическая значимость диссертационного исследования состоит в увеличении данных о роли хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1), сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), компонентов апоптоза в патогенетических реакциях ремоделирования миокарда ЛЖ и эндотелиальной дисфункции при ИМ, что позволяет улучшить прогнозирование неблагоприятных исходов ИМ, и в будущем определить дополнительные молекулярные аспекты оценки эффективности патогенетической терапии данного заболевания. Выделение генетических маркеров повышенного риска ИМ и протективных маркеров будет способствовать совершенствованию проведения реабилитации пациентов с ИМ и определить группы риска.

## **Методология и методы исследования**

Методологической основой настоящей работы были результаты анализа исследовательских работ зарубежных и российских ученых, посвященных изучению воспалительных, фибротических процессов при ИМ, участия в них провоспалительных цитокинов, хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1), сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), компонентов апоптоза; генетические исследования частот генотипов и аллелей полиморфизмов генов молекул адгезии VCAM1 и селектина P, генов хемокинов rs1024611 (-2518A> G) гена *CCL2* и rs34357231 (-2549(18)I/D) гена *VEGFA*, генов эндотелиальной синтазы оксида азота (NOS3) и гена *DDAH1* у больных ИМ. Для выполнения поставленных задач были проведены клинические, лабораторные и инструментальные исследования у 90 пациентов ИМ, генетические исследования в лаборатории молекулярной генетики человека Института биохимии и генетики УНЦ РАН.

Исследуемое в диссертационной работе явление - это нейрогормональная активация, проанализированная с помощью провоспалительных цитокинов, хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1), сосудистого эндотелиального фак-

тора роста (VEGF), компонентов апоптоза, генотипов и аллелей полиморфизмов генов, отражающая процессы эндотелиальной дисфункции, патологического фиброобразования и субклинического воспаления у больных ИМ. Объект исследования – пациент с ИМ.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Повышенные концентрации провоспалительных цитокинов, хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1), сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), компонентов апоптоза у пациентов с QИМ ассоциированы с исходной клинической тяжестью больных, связанной с наличием гипертонической болезни, дислипидемии, эндотелиальной дисфункции.

2. Повышенные значения провоспалительных цитокинов, хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1), сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), компонентов апоптоза у пациентов с QИМ связаны с тяжестью патологического постинфарктного ремоделирования миокарда ЛЖ в виде систолической и диастолической дисфункций.

3. Выделены маркеры повышенного риска инфаркта миокарда - генотипы и аллели: *VCAM1*\*A/\*C, *CCL2*\*G/\*G, *CCL2*\*G, *VEGFA*\*I, *DDAH1*\*T/\*T и *DDAH1*\*T; протективными маркерами являются – генотипы и аллели *VCAM1*\*A/\*A, *CCL2*\*A, *VEGFA*\*D/\*D, *VEGFA*\*D и *DDAH1*\*C. У больных с QИМ и АГ в анамнезе предикторами развития воспаления и атеротромбоза становятся генотипы *CCL2*\*G/\*G, *VEGFA*\*I/\*D.

### **Степень достоверности результатов**

Достоверность результатов исследования основана на подробном изучении и анализе выявленных результатов с использованием адекватных статистических методов, а также непосредственным участием соискателя в получении, анализе и обработке представленных данных. Статистический анализ

результатов произведен с помощью программ Statistica 8.0, SPSS Statistics версии 17.0.0.

### **Апробация материалов**

Основные положения диссертации представлены на российских конференциях: Московский международный форум кардиологов (Москва, 2012), (Москва, 2013), а также «Ломоносов-2014» (Москва, 2014).

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 12 работ, из них 6 – в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, а также 2 – в журналах, входящих в международные цитатно-аналитические базы данных Scopus и WoS.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертационная работа изложена на 163 страницах печатного текста и состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, списка условных сокращений и списка литературы, состоящего из 316 источников (121 отечественных и 195 зарубежных работ). Диссертация иллюстрирована 17 рисунками и 29 таблицами.

### **Личный вклад автора**

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации, состоит в непосредственном участии во всех этапах процесса. Автором самостоятельно проведен анализ зарубежных и отечественных литературных источников по изучаемой проблеме, разработка дизайна и организация исследования, набор материала, его статистическая обработка и анализ полученных результатов. Личный вклад автора также состоит в написании научных статей, тезисов и рукописи диссертационного исследования.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты данной диссертационной работы внедрены в практическую деятельность кардиологического отделения и амбулаторно-поликлинической службы Муниципального бюджетного учреждения здравоохранения Городская клиническая больница № 13, применяются в учебном процессе на кафедре госпитальной терапии № 1 ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

## Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

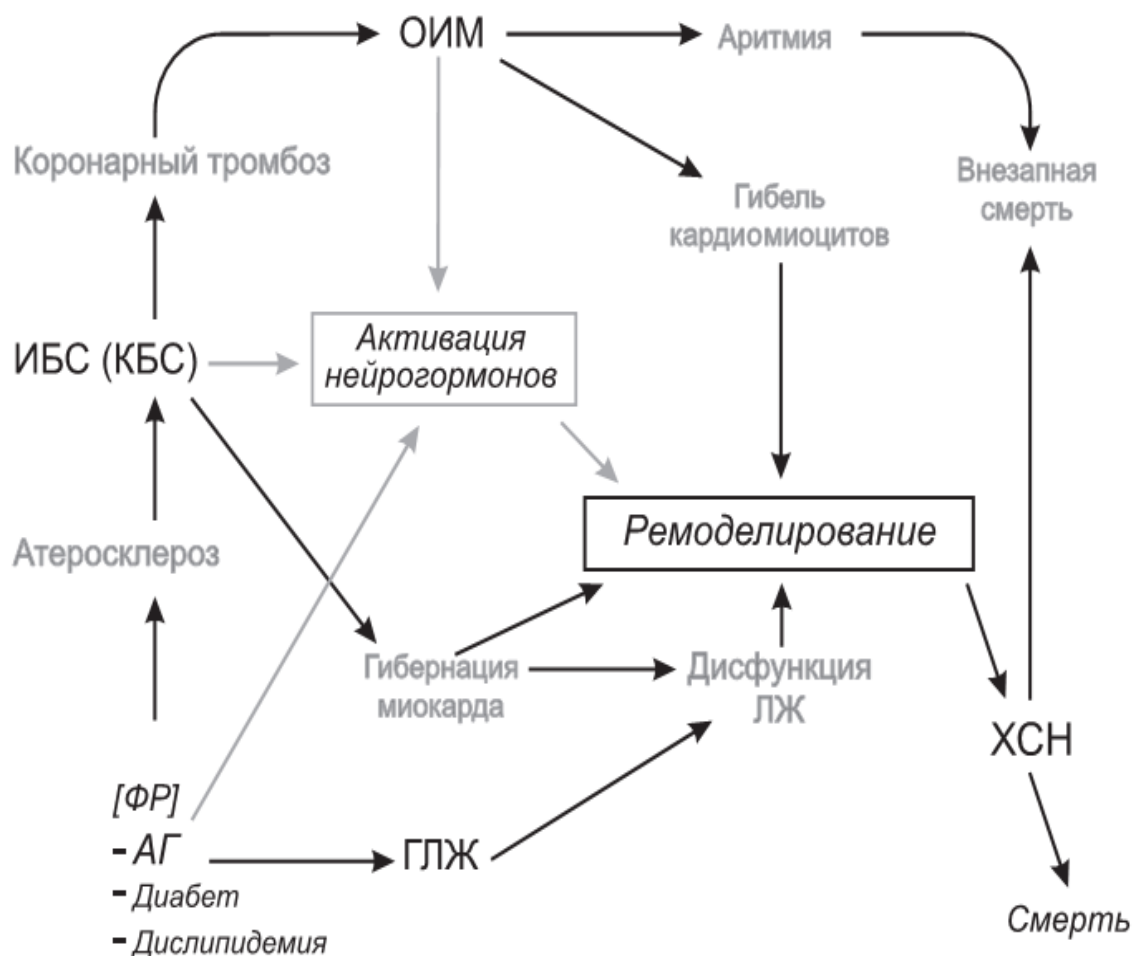
### 1.1 Инфаркт миокарда как звено сердечно-сосудистого континуума

Развитие наиболее социально значимых сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), в основе которых лежит прогрессирование атеросклероза с дальнейшим возникновением его осложнений, в последние десятилетия рассматривается с позиций «сердечно–сосудистого континуума». Сердечно-сосудистый континуум (ССК) – это прогрессирующий процесс на молекулярном и клеточном уровне с метаболическими нарушениями и определенными клиническими проявлениями (гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца (ИБС), сердечная недостаточность, внезапная смерть), где острый инфаркт миокарда (ОИМ), как одно из звеньев, находится на пике кривой последовательных процессов ССК [9,48,79].

Пусковыми звеньями этого процесса становятся, главным образом, такие факторы риска, как артериальная гипертензия (АГ), гиперхолестеринемия, сахарный диабет, дислипидемия, курение, пол, возраст, масса тела. АГ чаще вызывает ремоделирование крупных периферических сосудов мышечного и мышечно-эластического типа, а относительный риск развития инсульта и инфаркта миокарда (ИМ) в 4,0 раза выше за счет гипертрофии сосудистой стенки независимо от классических факторов риска. Систематический контроль артериального давления и лечение АГ является неотъемлемой частью предотвращения движения по пути ССК [56,117].

Эндотелиальная дисфункция способствует дальнейшему развитию и прогрессированию атеросклероза, ИБС, дестабилизации атеросклеротической бляшки, повышению коагулянтных свойств крови. В итоге развивается ИМ с последующим ремоделированием миокарда левого желудочка и разви-

тием хронической сердечной недостаточности, которая прогрессирует и без соответствующего лечения приводит к летальному исходу (рисунок 1).



**Примечание:** ОИМ – острый инфаркт миокарда, ФР – факторы риска, АГ – артериальная гипертензия, ХСН – хроническая сердечная недостаточность

Рисунок 1 – Схема, отражающая звенья сердечно-сосудистого континуума (цит. по: Беленков Ю.Н, Мареев В.Ю., 2002)

Многочисленными исследованиями установлено, что дисфункция эндотелия является неблагоприятным предиктором у больных ИБС, увеличивая количество случаев ОИМ, острого нарушения мозгового кровообращения и частоту внезапных сердечно-сосудистых смертей [32,48,153,175,178,255].

Эндотелий представлен тонким слоем плоских клеток, образующих внутреннюю выстилку всех кровеносных сосудов и камер сердца, в целом, является большой эндокринной железой, вырабатывающей многочисленное

количество биологически активных веществ. Эндотелиоциты имеют включения, называемые тельцами Вайбеля–Паладе, внутри которых содержатся фактор фон Виллебранда и Р-селектин. Клетки эндотелия формируют барьер, который селективно контролирует проникновение веществ из кровеносного русла в ткани и обратно, кроме того, осуществляют следующие функции: образуют молекулы внеклеточного матрикса, участвуют в диапедезе лейкоцитов. Кроме того, эндотелиоциты играют важную роль в процессах воспалительного и иммунного ответа, вазоконстрикции и вазодилатации, тромбообразовании и фибринолизе, ангиогенезе [48,89,107,109,200]. Эндотелиальная дисфункция является следствием дисбаланса сосудорасширяющих (оксид азота - NO, эндотелиальный фактор гиперполяризации, простациклин, натрийуретический пептид С-типа и др.) и сосудосуживающих (эндотелин-1, тромбоксан А2, простагландин H2) факторов [53,59,88,89]. В функционально неповрежденном эндотелии поддерживаются вазодилатирующие и атромбогенные функции эндотелиальных клеток, а при дисфункции эндотелия преобладают такие процессы, как тромбообразование и вазоконстрикция [49,109,177]. Известны следующие основные факторы, способствующие повреждению эндотелия: избыточное образование свободных радикалов, которые часто присутствуют при сахарном диабете, гипертонии, курении; дислипидемия; повышенная концентрация гомоцистеина в крови; инфекционные агенты.

Считается, что одним из ключевых механизмов дисфункции эндотелия является потеря биодоступности окиси азота (уменьшение образования или ускоренное разрушение). Торможение синтеза оксида азота из L-аргинина NO-синтазой, происходит вследствие повышения содержания асимметричного диметиларгинина (АДМА). Причем, уровень АДМА контролируется ферментом диметиларгинин диметиламиногидролазой [310].

Всем известно, что атеросклероз – это хронический многолетний процесс воспаления в артериальных стенках, который развивается в ответ на

биологические эффекты факторов риска. Атерогенез начинается, как качественное изменение интактных эндотелиальных клеток. Возникает утолщение сосудистой стенки, в результате компенсаторных реакций развивается дилатация. На данном этапе просвет сосуда остается неизменным. По мере прогрессирования атеросклероза жировые полосы постепенно преобразуются в атеросклеротические бляшки (АСБ) вследствие притока воспалительных клеток и межклеточных липидов с формированием ядра бляшки, вокруг которого образована покрышка из гладкомышечных клеток и слоем матрикса богатого коллагеном [61]. Дальнейшее увеличение размеров АСБ сосуда не в состоянии компенсировать дилатацией, в результате возникает нарушение кровотока в сосудах, вследствие увеличения размеров АСБ. Прогрессирующий воспалительный процесс ведет к нарушению целостности внеклеточного матрикса фиброзной покрышки АСБ, которая состоит из коллагена и эластина. Повреждение АСБ с разрывом покрышки и дальнейшая агрегация тромбоцитов и тромбообразование являются основными механизмами, приводящими к развитию ИМ [131,231].

Таким образом, ИМ является одним из клинических проявлений последовательных изменений в сердечно-сосудистой системе от воздействия факторов риска до развития терминальных осложнений и смертельного исхода, именуемых как ССК. Замедление прогрессирования состояний, характеризующих практически все звенья вышеназванного континуума, является неотъемлемой задачей на пути профилактики ССЗ.

## **1.2 Ремоделирование сосудов и эндотелиальная дисфункция в развитии инфаркта миокарда**

В настоящее время, многочисленными исследованиями доказано, что характеристики сосудов являются факторами риска сердечно-сосудистых осложнений [17,72,181,265]. В свою очередь, посредником между факторами



риска и развитием сердечно-сосудистых осложнений является поражение органов мишеней.

Сосуды являются органами-мишенями, поражающимися при различных заболеваниях и состояниях, в частности, гипертонической болезни, атеросклерозе, сахарном диабете, хронической болезни почек, ИБС. Главная функция сосудов – демпфирующая и транспортная. Гемодинамические характеристики напрямую зависят от свойств артериального русла (величина просвета, эластичность, податливость, упругость). Снижение растяжимости сосудистой стенки приводит к нарушению демпфирующей функции, что в свою очередь приводит к возникновению патофизиологических явлений, которые увеличивают риск ССЗ.

Ремоделирование периферических сосудов определяется степенью гипертрофии сосудистой стенки, повышением артериальной ригидности, где важную роль играет структура сосудистой стенки с нарушением функции эндотелия, что является ранним прогностическим критерием развития осложнений. Повреждение эндотелия сосудов запускает реакции агрегации, свертывания, вызывает вазоспазм [48,72,88,178].

Основным субстратом для развития атеросклеротического поражения сосудов являются изменения в стенках артерий. Именно увеличение толщины комплекса интима-медиа (ТИМ) сонных артерий является независимым предиктором развития сердечно-сосудистых осложнений, таких, как ИМ и инсульт, что подтверждается результатами многочисленных работ [5,24,28,33,34,80,85,94,111].

В последние годы стало известно, что изменения структуры крупных сосудов, развивающихся при атеросклерозе, являются неоднородными и не укладываются в понятие эндотелиальной дисфункции. Прогрессирование атеросклероза, в той или иной степени, способствует экстрацеллюлярному ремоделированию сосудов и увеличивает артериальную жесткость [32].

Эндотелиальные клетки чувствительны не только к изменению кровотока, но и к его импульсовым колебаниям, которые определяются механическими свойствами сосудистой стенки. В результате повышенной жесткости стенки сосуда снижается активность синтазы NO, что приводит к ослаблению сосудорасширяющей функции кровотока, а также уменьшается концентрация внутри эндотелиоцитов ферментов серотонин-треониновых протеинкиназ, участвующих во внутриклеточной передаче антистатических сигналов и тормозящих процессы свободно-радикального окисления [109,250,251].

Эндотелиальная дисфункция клинически проявляется как нарушение вазодилатации при действии специфических стимулов, таких, как ацетилхолин или брадикинин [10,45]. При эндотелиальной дисфункции происходит нарушение баланса медиаторов вазодилатации и констрикции сосуда и повышение сосудистого тонуса. В дальнейшем, развивается гипертрофия и гиперплазия гладкомышечных клеток стенок сосудов, активируется синтез соединительнотканного матрикса, утолщение меди артерий, что приводит к нарушению эластических свойств сосуда. Увеличивается степень вазоконстрикции на действие нейрогормонов за счет избыточной массы гладкомышечных клеток.

В результате – утолщение меди артерий, лейкоцитарная инфильтрация. Механическое повреждение эндотелиальных клеток высоким давлением крови стимулируют апоптоз, тем самым предрасполагая сосуды к развитию атеросклероза [130,248].

Показано, что нарушение функции эндотелиоцитов является важным фактором риска развития ИБС и острой ишемии миокарда [48,52,77,109,119,120,199]. Окклюзия левой коронарной артерии в кровеносной системе с физиологической упругостью на фоне снижения САД не оказывает воздействия на общую коронарную перфузию. А при высокой упругости в ситуации коронарной закупорки даже небольшое снижение АД может способствовать критическому падению коронарной перфузии, что впо-

следствие может способствовать дилатации левого желудочка с нарушением насосной функции, расширением зоны инфаркта и значительным падением АД [230].

В ряде исследований выявлено, что увеличение жесткости крупных артерий неблагоприятно влияет на коронарный кровоток и увеличивает риск сердечно-сосудистых осложнений [29,132,214,311].

В настоящее время возможности коррекции сосудистого ремоделирования мало изучены, в связи с этим представляется возможным поиск уточнения роли структурно-функциональных изменений сосудистой стенки в риске прогрессирования сердечно-сосудистых осложнений, что является своевременной и актуальной.

### **1.3 Роль цитокинов и молекул адгезии в патогенезе сердечно-сосудистого континуума**

Главной причиной развития ИБС и ИМ является атеросклероз сосудов. Атерогенез представляет собой сложный процесс взаимодействий между стенкой сосуда, форменными элементами крови, растворенными в ней биологически активными веществами и локальным нарушением кровотока (триада Р. Вирхова) [7]. Еще 150 лет назад Рудольф Вирхов выделил три основные стадии атеросклероза: I – ирритации («нитритивное воспаление клеток интимы»), II – дегенерации («жировой и белковой с образованием атероматозных масс») и III – воспаления («паренхиматозное воспаление с раздражением соединительной ткани») [68].

На сегодняшний день, понимание патогенеза атеросклероза вышло за пределы оценки значимости гиперхолестеринемии как основного механизма процесса. Одним из этапов в становлении нового подхода к исследованию атерогенеза стал научный труд английского ученого R. Ross «Атеросклероз – воспалительный процесс» [273]. В данной публикации доказано, что атеросклероз – это последовательность клеточных и молекулярных реакций, сви-

детельствующих о его воспалительной природе, от начала – этапа возникновения липидных пятен, до конечного этапа – разрыва атеросклеротической бляшки и развития ИМ [13,214].

Воспаление в стенке сосуда сопровождается каскадом процессов, которые начинаются с активации эндотелиальных клеток, в результате чего повышается экспрессия молекул адгезии на поверхности клетки, провоспалительных цитокинов и хемокинов. Кроме того, процессы окисления и ферментативных реакций ЛПНП в субэндотелии приводит к высвобождению фосфолипидов, активирующих эндотелиальные клетки. Кроме того, в тех участках сосудов, где имеют место такие гемодинамические нарушения, как турбулентный поток крови и низкое напряжение сдвига, происходит активация эндотелиоцитов [89,293]. В результате дисфункции эндотелия повышаются адгезивные свойства клеток эндотелия к лейкоцитам и тромбоцитам, увеличивается проницаемость эндотелия. Роллинг лейкоцитов происходит из-за краткого, обратимого связывания L-, E-и P-селектинов с их комплементарными молекулами, которые экспрессируются на поверхности катящихся лейкоцитов. Семейство хемокинов и интегринов участвуют в следующем этапе, который заключается в активации лейкоцитов и твердой адгезии с эндотелиальными клетками. Данные молекулы обеспечивают высокую аффинность лейкоцитов к эндотелиальным клеткам, приводящее к остановке, катящихся лейкоцитов [41,77,161]. Молекулы межклеточной адгезии (ICAM-1, ICAM-2) и сосудистой клеточной адгезии (VCAM-1) сопровождают твердую адгезию и тесный контакт с эндотелиальными клетками, подготавливая к следующему этапу – диапедезу, в котором также принимают участие. Однако, главная роль в диапедезе лейкоцитов отведена пластинчатой эндотелиальной молекуле адгезии-1 (PECAM-1)[14,59,239]. Трансэндотелиальная миграция лейкоцитов является сложным процессом, каждый этап сопряжен совместным участием большого количества молекул. Блокада или отсутствие одной или

нескольких молекул адгезии приводит к нарушению процесса роллинга, адгезии и транссудации лейкоцитов [14,89,108].

В активированную воспалительную реакцию вовлекается несколько типов иммунокомпетентных клеток, прежде всего, это моноциты, Т- и В-лимфоциты и тучные клетки. Ключевая роль отведена клеткам крови моноцитам/макрофагам [50]. Отмечено, селективное накопление макрофагов в области атеросклеротической бляшки в сосудах крупного и мелкого калибра у мышей [234,241]. В процессе атерогенеза Т-лимфоциты выполняют следующие функции: антигенноераспознавание, клональная экспансия, инициация клеточно-опосредованного воспалительного ответа. Повышенная активация Т-клеток играет роль в нестабильности АСБ и окклюзии коронарных артерий. Хотя циркулирующие иммунные маркеры также постоянно повышены у пациентов со стабильной стенокардией, но резко выраженная активация Т-клеток может быть обнаружена только у больных с нестабильной стенокардией и ИМ [174]. Нейтрофилы также редко обнаруживаются в неосложненной АСБ, но были описаны в тромбированных коронарных бляшках, вероятно, завербованных в качестве ответа на разрыв бляшки [73,232]. Параллельно, макрофаги усиливают воспалительный ответ через секрецию многочисленных факторов роста и цитокинов.

В ряде исследования доказано, что повышенные уровни цитокинов свидетельствуют об активном воспалительном процессе у больных ИМ и являются предикторами неблагоприятных сердечно-сосудистых осложнений [27,95,138,274].

Цитокины - это низкомолекулярные белки-медиаторы, участвующие в процессах межклеточных взаимодействий, подразделяют на следующие группы: интерфероны, интерлейкины, хемокины, факторы некроза опухоли, колониестимулирующие факторы, факторы роста. Цитокины содержатся в сыворотке крови в очень низких концентрациях, и выявление высоких уровней свидетельствует о патологии [110,112].

Фактор некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ) – представляет собой провоспалительный цитокин, который синтезируется в большей степени макрофагами и моноцитами. TNF- $\alpha$  – это главный медиатор воспалительных реакций и клеточных иммунных процессов, которые воздействуют на метаболизм липидов, процессы коагуляции крови и на функцию эндотелиальных клеток [282]. По результатам многочисленных исследований доказано, что TNF- $\alpha$  стимулирует выработку молекул адгезии эндотелиальными клетками, хемотаксис клеток, активирует макрофаги, нейтрофилы, повышает синтез простагландинов [42]. TNF- $\alpha$  участвует в процессе атерогенеза путем стимуляции ростовых факторов, цитокинов, хемоаттрактантов и активации молекул адгезии. TNF- $\alpha$  индуцирует экспрессию широкого спектра цитокинов, в том числе хемокинов и IL-6 эндотелиальными клетками. TNF- $\alpha$  также играет важную роль в метаболизме липидов за счет уменьшения активности 7 $\alpha$ -гидроксилазы и липопротеинлипазы, тем самым стимулируя производство печенью триглицериды [271]. Выявлено, что повышенная концентрация TNF- $\alpha$  в сыворотке у больных ИБС ассоциирована с неблагоприятным прогнозом [113]. Многочисленные исследования свидетельствуют о высоких концентрациях TNF- $\alpha$  у больных ИМ [12,42,140,269,274]. Однако установлено, у больных с коронарным атеросклерозом не выявлено повышенного содержания данного цитокина [2].

Интерлейкин -1 (IL-1) является ключевым провоспалительным цитокином, регулирует все стороны воспалительной реакции и иммунного ответа, существует в двух биологически активных формах IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , оба из которых оказывают подобные, но не полностью перекрывающиеся биологические функции, опосредованных IL-1 рецептором (IL-1R). После связывания с IL-1R, IL-1 индуцирует выработку широкого спектра цитокинов и хемокинов, синтез молекул адгезии на эндотелиоцитах, что приводит к накоплению воспалительных клеток. IL-1 способствует повреждению эндотелия, стимулирует пролиферацию и дифференцировку клеток, выделение матричных

ферментов [223]. Выявлено синергическое взаимодействие IL-1 с другими цитокинами, в частности, с TNF- $\alpha$ [174]. TNF- $\alpha$  и IL-1 очень токсичны при совместном действии. Данные цитокины стимулируют продукцию эндотелиальными клетками прокоагулянтов, оксида азота и миокардиального депрессорного фактора, который вызывает уменьшение сократимости миокарда [42]. IL-1 участвует в атерогенезе, повышая сосудистое воспаление и стимулируя процесс дестабилизации атеросклеротической бляшки. У больных ИМ, путем повышения экспрессии матриксных металлопротеиназ, IL-1 участвует в развитии неблагоприятного ремоделирования миокарда. Кроме того, IL-1 является предиктором развития сердечной недостаточности, запуская процессы апоптоза кардиомиоцитов и гипертрофии миокарда [154].

Интерлейкин-6 (IL-6) - еще один провоспалительный цитокин, участвующий на всех стадиях развития и прогрессирования атеросклероза, от ранних воспалительных поражений до дестабилизации бляшки, путем активации эндотелиальных клеток, протромботического воздействия на тромбоциты, стимулирования пролиферации гладких мышц и накопления липидов макрофагами [292]. Отмечена хемотаксическая активность IL-6 для нейтрофилов и макрофагов, а также индукция экспрессии молекул адгезии эндотелиальными клетками [212,268]. Показано, что циркулирующие уровни IL-6 и С-реактивного белка коррелируют с размером инфаркта миокарда [21,211,212]. Кроме того, обнаружено, что высокие уровни IL-6 связаны с низким содержанием ЛПВП в крови [203].

На сегодняшний день проведено многочисленное количество исследований, посвященных изучению концентраций цитокинов у больных ИМ и ИБС, которые свидетельствуют об гиперэкспрессии таких цитокинов: ФНО- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-10. Но многие исследования противоречивы. Доказано важная роль провоспалительных медиаторов в процессе атерогенеза, при этом увеличение уровня медиаторов воспаления становится достоверным диагностическим и прогностическим маркером. Имеется большое количество данных о

роли провоспалительных цитокинов в патогенезе ИМ, но эти сведения противоречивы, не отражают всех аспектов рассматриваемой проблемы. Поэтому возникает необходимость дальнейшего исследования в этом направлении для разработки дальнейших профилактических мероприятий и лечения ССЗ, в частности ИБС и ИМ.

#### **1.4 Молекулярно-генетические исследования и анализ полиморфных локусов генов функции эндотелия и системы гемостаза при сердечно-сосудистых заболеваниях**

Ишемическая болезнь сердца и инфаркт миокарда являются многофакторными заболеваниями с полигенным типом наследования, поскольку, мы имеем дело со сложным взаимодействием генетических и средовых факторов. Интенсивный поиск молекулярно-генетических основ ИБС и ИМ идет более двух десятилетий. Во всем мире и в нашей стране опубликовано значительное количество работ, посвященных этой теме,.

Методы изучения роли генетических факторов в развитии ИБС и ИМ включают в себя клинико-генеалогический, близнецовый, изучение модельных объектов.

Клинические и популяционные исследования показали, что генетические факторы играют важную роль в ИБС и ИМ. Генетические факторы не зависят от традиционных факторов риска, такие как гипертония, сахарный диабет, гиперхолестеринемия, низкая физическая активность, ожирение, уровень плазменного С-реактивного белка, плазменные значения гомоцистеина и употребление табака для этого заболевания. Рисунок 2 иллюстрирует вклад генетических факторов непосредственно или через традиционные факторы риска в развитии ИБС и ИМ. Сложные механизмы взаимодействия генетических факторов, факторов окружающей среды и возраста определяют развитие ИБС и ИМ.





Рисунок 2 – Вклад факторов риска в развитие сердечно-сосудистых заболеваний (цит. по: Dai X. Et al.,2016)

В настоящее время наиболее популярным является метод анализа ассоциаций с заболеванием полиморфных локусов генов-кандидатов, ответственных за синтез белков, участвующих в патогенезе болезни.

На сегодняшний день известно более 300 генов-кандидатов ИБС [<http://www.bioguo.org/CADgene/>]. В частности, это гены, кодирующие белки, вовлеченные в патогенез ИБС и ИМ: эндотелиальной дисфункции, регуляции ренин-ангиотензиновой системы, воспалительных реакций, обмена липидов, тромбообразовании, ферментов системы матриксных металлопротеиназ, метаболизма глюкозы и гомоцистеина. В последние годы большое значение отводится роли воспаления в сосудистой стенке.

В последнее десятилетие перспективным стали полногеномные ассоциативные исследования (Genome-Wide Association study – GWAS), где используется большое количество маркеров, расположенных по всему геному.

В 2007 году были опубликованы первые GWAS для ИБС и ИМ [122,124,195]. Основным результатом было обнаружение локуса 9p21, кото-

рый по-прежнему является наиболее ассоциированным с риском развития ИБС и ИМ на сегодняшний день [166]. Впоследствии были проведены многочисленные исследования GWAS, в которые включены десятки тысяч пациентов ИБС и ИМ и группы сравнения, охватывающих широкий спектр выборок различающихся по этническому, географическому, возрастному и половому составу [125,135,207,225,227,306].

Несмотря на то, что известно более 160 генов, которые ассоциированы с ИБС и ИМ, эти гены объясняют менее 20% наследуемости ИБС и ИМ. Кроме того, биологические функции и патофизиологические роли большинства генов и геномных локусов не полностью поняты, так как большинство этих локусов расположены в межгенных областях или в областях с неизвестной функцией. Известно, что некоторые из этих локусов ассоциированы с липидным обменом, артериальной гипертензией и воспалительными процессами, что подтверждает важность этих патологий в патогенезе ИБС.

Следует отметить, что особенность ассоциативных исследований и GWAS заключается в низкой воспроизводимости полученных результатов, а именно, когда результаты одних исследований не подтверждаются на других популяционных группах. К факторам, способствующим низкой воспроизводимости результатов, является существенная гетерогенность анализируемых групп, небольшие размеры выборки исследования, проведенные в разных этнических группах (ОНП частоты аллелей могут сильно отличаться в разных популяциях), ложноположительные и ложноотрицательные ассоциации и расслоение населения [190]. Одной из возможных причин получения противоречивых результатов являются влияние факторов внешней среды, возраста и пола.

Таким образом, все еще есть необходимость в ассоциативных исследованиях, основанных на различных выборках этнических групп, отличающихся по возрастному и половому составу, чтобы внести вклад для изучения генетической предрасположенности ИБС и ИМ, а именно – выявление генов и

их продуктов, участвующих в развитии ИБС и ИМ, изучение и выявление ключевых моментов в молекулярной и клеточной патофизиологии, а затем разработка стратегий для прямой профилактики и эффективных терапевтических подходов для лечения данных заболеваний.

#### **1.4.1 Полиморфизм генов селектина Р, суперсемейства иммуноглобулинов VCAM1 и хемокина CCL2 в развитии сердечно-сосудистых заболеваний**

Молекулы адгезии – это мембранные белки, опосредующие механическое связывание клеток друг с другом. Их подразделяют на четыре большие группы – селектины, интегрины, суперсемейство иммуноглобулинов, кадгеринины.

Селектины – это лектиновые трансмембранные белки, обеспечивающие самую раннюю стадии взаимодействия лейкоцитов и стенкой сосудов. Молекулы селектинов пронизывают клеточную мембрану, имеют N-концевой домен, способный связываться с углеводными группами лигандов [75,89,151].

Ген *SELP* (17 экзонов, >50 kb) локализован на длинном плече хромосомы 1 (1q24-q25, 160 kb).

Для селектина Р лигандом является PSGL-1 (гликопротеиновый лиганд Р-селектина, CD162) [189], который экспрессируется на нейтрофилах, моноцитах, лимфоцитах. Селектин Р экспрессируется конституитивно эндотелиальными клетками, а также активированными тромбоцитами; стимуляторами являются тромбин, лейкотриены, оксиданты, гистамин, цитокины, окисленные липопротеины низкой плотности, компоненты комплемента, эндотоксины, лизосомальные ферменты. Р селектин содержится в тельцах Вейбла-Палада эндотелиальных клеток, альфа-гранулах тромбоцитов [36,59,93].

Наряду с мембранными формами существуют циркулирующие или растворимые формы Р (sP-селектин или CD62, PADGEM, GMP-140), которые обнаруживаются у здоровых людей в плазме крови и лимфе.

Селектины играют ключевую роль в развитии воспалительной реакции, так как обеспечивают начальные стадии процесса адгезии лейкоцитов к эндотелию сосудов в местах воспаления. Селектины начинают взаимодействие между лейкоцитами и клетками эндотелия, обеспечивают начальный этап миграции клеток – «роллинг» лейкоцитов по поверхности эндотелия. Миграцию лейкоцитов из кровотока через эндотелий в зону тканевого повреждения регулируют как мембраносвязанные, так растворимые формы молекул.

P-селектин обеспечивает взаимодействие тромбоцитов и эндотелиальных клеток с лейкоцитами, которые содержат специфический рецептор для P-селектина. Экспонирование P-селектина на поверхности тромбоцитов стимулирует образование тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов, адгезию и захват лейкоцитов сосудистой стенкой. Это один из механизмов запуска тромбоцитами воспалительной реакции. В целом селектины опосредуют самую раннюю стадию взаимодействия лейкоцитов со стенками сосудов, но не обеспечивают прочного прикрепления лейкоцитов к эндотелию сосудов. sP-селектин принимает участие в адгезии лейкоцитов к эндотелию в начальной фазе воспаления [59,97,229,264].

Сведения о роли селективов в патогенезе ССЗ, а также и других заболеваний, противоречивы.

sP-селектин определяется в плазме крови в повышенных концентрациях в острую фазу воспаления. Взаимодействие селектина P с рецепторами на нейтрофилах и моноцитах приводит к образованию агрегатов, которые нарушают микроциркуляцию, что приводит к последующей ишемии тканей и формированию органных дисфункций. Увеличение сывороточной концентрации sP-селектина приводит к прогрессированию атеросклероза [263]. Также, отмечено, что сывороточные концентрации белка ассоциированы со значениями ТИМ и индексом жесткости сосудов при атеросклерозе [262].

Обнаружено, что полиморфный участок rs6136 (g.169563951T>G, экзон 13, Thr715Pro) гена *SELP* ассоциирован при очень высоком уровне значимо-

сти ( $P = 5.2 \times 10^{-39}$ ) с содержанием sP-селектина в плазме крови; влиянием этого полиморфизма обусловлено 9.7% вариаций концентрации sP-селектина. У носителей аллеля \*Pro содержание sP-селектина в плазме крови сравнительно ниже, чем у носителей аллеля \*Thr [202]. В итоге полногеномного анализа ассоциаций (GenomeEpidemiologyconsortium) на выборке из 4115 индивидов европейского происхождения была подтверждена роль полиморфного участка rs6136 в вариабельности концентрации sP-селектина в плазме крови [225]. На основании результатов мета-анализа пришли к заключению о значимости аллеля \*Pro как протективного фактора по отношению к риску развития ИМ [201]. Предположили, что протективный эффект этого аллеля обусловлен скорее прямым агонизмом против тромбообразования, чем против атеросклероза.

Выявлена связь полиморфного локуса rs6136 (Thr715Pro) гена *SELP* с венозной тромбоэмболией [204], полиморфного локуса rs6125 (Val168Met) гена *SELP* с риском развития фибрилляции желудочков при остром ИМ [205], тромбоэмболического инсульта [299]. Связь полиморфного маркера rs6125с атеросклерозом не обнаружена у жителей США европеоидного происхождения [282].

В итоге мета-анализа результатов опубликованных исследований (1966-2013 гг.) нашли, что полиморфные участки rs1800805 (-1969A>G), rs1800808(-1817T>C), rs1800807(-2123C>G), rs6136, и rs6131 (Ser290Asn) гена *SELP* ассоциированы с риском развития ИБС, ИМ и их можно применять в качестве показателей риска развития ИБС и ИМ [269].

Члены суперсемейства иммуноглобулинов являются трансмембранными белками первого типа, характеризующиеся сериями повторяющихся внеклеточных IgG-подобных доменов, имеющих трансмембранный регион и короткий цитоплазматический конец. Суперсемейство состоит из молекул межклеточной адгезии-1, 2, 3 (ICAM-1, 2 и 3), сосудистой молекулы адгезии-1

(VCAM-1) и тромбоцитарной эндотелиальной молекулы адгезии-1 (PECAM-1) [14].

Ген *VCAM1* (ID: 7412, 1p32-p31, 19406 п.о., 7 экзонов) кодирует молекулу сосудистой адгезии-1 (VCAM-1 или CD106- Cluster of Differentiation 106). Сосудистая молекула адгезии представляет собой трансмембранный гликопротеин молекулярной массой 100-110 кДа. Молекула VCAM-1 состоит из внеклеточной части с двумя иммуноглобулинподобными доменами, трансмембранного и короткого цитоплазматического доменов [144]. VCAM-1 связывается с  $\alpha 4 \beta 1$  – интегрином (VLA-4-Lymphocyte Function-Associated Antigene-4), который конститутивно экспрессируется на лимфоцитах, а также опосредуют избирательную адгезию эозинофилов и базофилов, но не нейтрофилов, играя тем самым важную роль в аллергических реакциях. Экспрессия VCAM-1 стимулируется провоспалительными цитокинами - IL-1, TNF-  $\alpha$ , IL-4 и IL-13. VCAM - 1 экспрессируется на эндотелиальных клетках, а также на макрофагах, миоцитах и дендритных клетках [108]. Максимальная экспрессия этой молекулы наблюдается приблизительно через 6 часов после первоначального воздействия провоспалительного стимула и сохраняется более 24 часов [265]. VCAM-1 опосредует адгезию лейкоцитов к эндотелию и их трансэндотелиальную миграцию через стенки сосудов, участвует в развитии ранних этапов атеросклероза, привлекая моноциты и Т-лимфоциты в интиму артерий [15, 210]. Выявлена экспрессия VCAM-1 гладкомышечными клетками макрофагами в атеросклеротических бляшках [31,151]. Экспрессию VCAM-1 эндотелиальными клетками стимулирует гиперхолестеринемия, которая инициирует накопление модифицированных частиц липопротеинов и макрофагов в интима артерий [189].

Ламинарный поток крови продуцирует напряжение сдвига, вырабатывающее атеропротективные механизмы, такие как экспрессию антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы или повышенной экспрессии синтазы оксида азота. Повышенные уровни оксида азота (NO) подавляет экспрессию

VCAM-1, в частности, путем ингибирования транскрипционного фактора NFκB [314].

В физиологических условиях VCAM-1 не экспрессируется эндотелиальными клетками. Высокие сывороточные концентрации sVCAM-1 ассоциированы с ранней стадией атеросклероза. Повышенная концентрация белка наблюдается у лиц с нестабильной стенокардией, ОИМ [238], ИБС [58], атеросклерозом периферических артерий [57]. В других исследованиях выявлено, что уровень белка коррелирует с риском развития сердечно-сосудистых событий с неблагоприятным исходом у лиц с сахарным диабетом 2 типа и ИБС [152]. Отмечено, что повышенные концентрации sVCAM-1 и C – реактивного белка являются предвестниками повышенного риска серьезных неблагоприятных сердечно-сосудистых осложнений в течение шести месяцев после возникновения эпизодов острого коронарного синдрома (ОКС) [163]. Lupattelli и др. обнаружили, что низкий уровень холестерина ЛПВП прямо коррелирует с повышенной концентрацией sICAM-1 и sVCAM-1 у 184 пациентов с гиперлипидемией, в то же время, увеличение уровня окисленных ЛПНП свидетельствуют о повышенных значениях sVCAM-1 в сыворотке крови [239]. Также выявлено, что высокие концентрации sICAM-1, sVCAM-1 и фактора фон Виллебранда связаны с тромбозами стентов после чрескожного коронарного вмешательства в отдаленные сроки [214].

Полиморфный участок rs1041163 (-1591C>T) ассоциирован с риском развития атеросклероза и ССЗ у женщин (жительниц Турции) с синдромом поликистозных яичников, причем у носительниц генотипа -1591\*С/\*Т содержание в плазме крови триглицеридов повышено, а уровень ЛПВП понижен по сравнению с носительницами генотипов -1591\*Т/\*Т и -1591\*С/\*С [259]. Согласно результатам мета-анализа, полиморфные участки rs2050471, rs4520436 rs3176860, rs3917010, rs3181088, rs3176877, rs3176878, rs1041163 гена *VCAM1* не ассоциированы с инсультом [157]. В другом исследовании выявлено, что полиморфные участки rs1041163, rs2392221, rs3783613 гена

*VCAM1* ассоциированы с процессами кальцификации атеросклеротической бляшки в сонных артериях у жителей Латинской америки [158].

Хемокины представляют собой семейство низкомолекулярных белков, которые функционируют в гомеостатических и патологических состояниях, вызывают направленную миграцию лейкоцитов из сосудистого русла в ткани, в очаги воспаления. В настоящее время известно более 50 хемокинов, которые в свою очередь разделены на четыре семейства. Различия между семействами хемокинов C, CC, CXC, и CX3C зависят от взаимного расположения двух первых цистеинов на N-конце пептидной цепи [144].

Ген *CCL2* (ID:6347, 17q11.2-q12, 1927 п.о., 3 экзона) кодирует молекулу хемокина *CCL2* (или моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1, MCP-1).

Хемокин *CCL2* мономерный полипептид молекулярной массой 9-15 кДа. Относится к семейству CC хемокинов. Оказывает самую сильную хемотаксическую активность к Т-лимфоцитам и моноцитам, стимулирует их активацию и прилипание к сосудистой стенке [253], связываясь с рецепторами *CCR2* на моноцитах, способствует диапедезу между эндотелиальными клетками сосудов [248].

*CCL2* экспрессируется многочисленными типами клеток, в том числе эндотелиальными, гладкомышечными клетками, моноцитами, кардиомиоцитами, Т-клетками, остеобластами, фибробластами, клетками костного мозга, астроцитами, в ответ на различные стимулы, такие как фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), ангиотензин II,  $\gamma$ -интерферон (IFN $\gamma$ -), IL-6, IL-4, IL-1 $\beta$  [162].

Высокие плазменные уровни *CCL2* связаны с повышенным риском развития ИМ, внезапной смерти, развития рестеноза после ангиопластики, что свидетельствуют о немаловажной роли *CCL2* в атерогенезе сосудов человека [145,168,276].

В промоторной области гена *CCL2* обнаружена функционально значимая однонуклеотидная замена -2518A>G (rs1024611). У носителей *CCL2*\*G



содержание *CCL2* в плазме крови и экспрессия гена сравнительно выше, чем у носителей аллеля *CCL2\*A* [293]. По результатам мета-анализа полиморфный локус rs1024611 (-2518A>G) гена *CCL2* связан с высоким риском развития ИМ [233,235]. Результаты фрамингемского исследования доказали, что аллель *CCL2\*G* ассоциирован с повышенным уровнем *CCL2* в плазме крови и риском развития ИМ [162], артериальной гипертензии [137]. Согласно результатам мета-анализа, охватившего результаты 27 исследований, полиморфный участок rs1024611 (-2518A>G) гена *CCL2* является маркером риска развития ИБС и ишемического инсульта [287].

#### **1.4.2 Сосудистый эндотелиальный фактор роста и полиморфные маркеры гена *VEGFA* в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний**

Ген *VEGFA* (ID: 7422, 6p21-p12, 16304 п.о., 8 экзонов) кодирует молекулу сосудистого эндотелиального фактора роста (*VEGFA/VEGF* или сосудистый фактор проницаемости - *VFP*). Сосудистый эндотелиальный фактор роста представляет собой гликопротеин, молекулярной массой 34-42 кДа, экспрессирующийся сосудистыми эндотелиоцитами и гладкомышечными клетками.

Семейство *VEGF* состоит из семи членов (*VEGFA,-B,-C,-D, - E, -F* и плацентарный фактор роста), из них *VEGFA* является ключевой молекулой в процессе ангиогенеза. *VEGFA* (далее *VEGF*) и его тирозинкиназные рецепторы *VEGFR-1* и *VEGFR-2* играют важную роль как в физиологическом, так и в патологическом ангиогенезе, включая ангиогенез сосудов опухолей [26,92,280].

*VEGF* оказывает селективное действие на эндотелий сосудов, повышая его проницаемость, кроме того, данный гликопротеин обладает митогенным эффектом на эндотелиоциты, стимулирует активацию моноцитов и их миграцию в очаг воспаления [92,165,309]. *VEGF* отведена одна из главных ролей в

патофизиологии атеросклероза, ревматоидного артрита, диабетической ретинопатии, онкогенез, где ангиогенез и проницаемость сосудов, являются неотъемлемой частью этих патологических состояний [22,26,37,92,128,293]. Гипоксия является мощным индуктором экспрессии VEGF, это доказывают опыты на различных культурах клеток [17,230].

Доказано, что уровень VEGF в сыворотке крови при ИМ в острый период значительно повышается и после начала лечения быстро снижается [305]. Повышение плазменного уровня VEGF при остром коронарном синдроме достоверно ассоциируется с высоким риском развития ИМ [249, 308,309] и является независимым фактором риска смерти от ИБС [306].

Полиморфный участок  $-2578A>C$  гена *VEGFA* расположен в промоторной области и сцеплен с полиморфным участком  $-2549(18)I/D$ . Доказано, что носители генотипа *VEGFA*\*C/\*C полиморфного участка  $-2578A>C$  гена *VEGFA* имеют высокий риск развития ИБС и сниженную экспрессию растворимой формы VEGF по сравнению с носителями генотипа *VEGFA*\*A/\*A [308]. Китайскими учеными доказано, что у носителей генотипов *VEGFA*\*C/\*C полиморфного участка  $+405C>G$  (rs2010963) и *VEGFA*\*A/\*A полиморфного участка  $-2578C>A$ (rs699947) гена *VEGFA* коронарные артерии способны к развитию коллатеральных анастомозов по сравнению с носителями остальных генотипов среди больных ИБС, тем самым снижая риск развития ИМ [190].

Полиморфный участок  $-2549(18)I/D$  гена *VEGFA* обусловлен наличием (I) или отсутствием (D) нуклеотидной вставки в 18 п.о. В исследовании Bucarzynska M. доказана ассоциация полиморфного участка  $-2549(18)I/D$  с диабетической ретинопатией [140]. Диабетические изменения микрососудов в сетчатке приводят к гипоксии, которая является стимулятором VEGF. Было установлено, что VEGF играет значительную роль в развитии диабетической ретинопатии, путем индуцирования повышенной проницаемости сосудов сетчатки и образованием новых сосудов[277].

### 1.4.3 Система оксида азота и полиморфные маркеры генов *NOS3* и *DDAH1* в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний

Ген *NOS3* (ID:4846, 7q35-36, 23605 п.о., 26 экзонов) кодирует молекулу эндотелиальной синтазы оксида азота (endothelial nitric oxide synthase, *NOS3*, eNOS). Ген *DDAH1* (ID:23576, 1p22.3,259883 п.о., 11 экзонов, *DDAH1*) кодирует молекулу диметиларгинина диметиламиногидролазы (dimethylarginine dimethylaminohydro-lase, *DDAH1*).

Оксид азота (NO) обладает уникальными свойствами. NO – это сильный вазодилататор. В гладкомышечных клетках сосудов путем активации растворимой гуанилатциклазы повышается концентрация цГМФ, в результате чего активируются цГМФ-зависимые протеинкиназы, затем снижается концентрация кальция и расслабляются сосуды [185]. NO стимулирует ангиогенез, ингибирует пролиферативные и миграционные процессы клеток гладкой мускулатуры сосудов (таким образом, способствует торможению образования неинтимы и гипертрофии сосудов)[185], кроме того, высокая концентрация оксида азота усиливает апоптоз в клетках, блокирует образование внеклеточного матрикса, тем самым способствует поддержанию нормальной структуры стенок сосудов [51].

NO препятствует процессам воспаления и тромбообразования: замедляет транскрипцию провоспалительного ядерного фактора каппа-В (NF-κB), предотвращает экспрессию молекул адгезии ICAM-1, VCAM-1, E-селектина и хемокина CCL2, снижает прилипание, инфильтрацию, агрегацию нейтрофилов и моноцитов, превращение последних в макрофаги, блокирует агрегацию и адгезию тромбоцитов, обладает антиоксидантными свойствами, ингибирует окисление ЛПНП [51,54]. Все эти функции замедляют прогрессирование атеросклероза, таким образом, NO считается антиатерогенной молекулой.

Снижение продукции и/или биодоступности NO, синтезирующегося эндотелиальными клетками, является ключевым моментом в развитии эндоте-

лиальной дисфункции, которая участвует в патогенезе ССЗ, в частности, ИБС и ИМ [7,13,25,50,107,129,183].

Ассиметричный диметиларгинин (АДМА) - это структурный аналог L-аргинина, блокирующий активность всех изоформ синтазы оксида азота (NOS), таким образом, ингибирует механизмы синтеза NO в плазме крови и тканях [245]. В некоторых публикациях была установлена связь между уровнем АДМА в плазме и количеством развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [141,285], в том числе, и у больных ИБС [143].

Диметиларгинин диметиламиногидролаза (DDAH) - это фермент, который является катализатором в реакции разложения АДМА в цитрулин и диметиламин. У данного фермента есть две изоформы DDAH1 и DDAH2, кодируемые разными генами. Малая часть АДМА экскретируется почками, около 80% метаболизируется DDAH [284].

Ткани, экспрессирующие синтазы оксида азота (NOS), экспрессируют DDAH, а именно, нейрональная NOS найдена в тканях, которые экспрессируют преимущественно DDAH1, в то время как эндотелиальная NOS обнаруживается в тканях с высоким уровнем DDAH2. DDAH1 экспрессируется клетками центральной нервной системы, желудочно-кишечного тракта, органов дыхания, мочевыводящих путей, мужских половых органов. В свою очередь, DDAH2 синтезируется клетками кроветворной системы, костного мозга, органами кровообращения, желудочно-кишечного тракта, мочевыделительной системы и клетками половых органов у женщин [267].

Повышенные концентрации ADMA в плазме крови были выявлены у пациентов с ИМ [214], нестабильной стенокардией [174]. Крупное проспективное исследование со средним периодом наблюдения 5,5 лет «The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study» выявило, что сывороточные уровни ADMA связаны с показателями смертности от сердечно-сосудистых и других причин у пациентов со стабильной и нестабильной стенокардией независимо от наличия известных факторов риска [144]. Исследо-

вание длительностью 24 года выявило ассоциацию высокого уровня АДМА с повышенным риском развития ИМ и ишемического инсульта у женщин [143].

Таким образом, поскольку содержание АДМА является важным фактором физиологии и патофизиологии системы NO, особое внимание следует уделить не только активности NO-синтаз, но и ферментам разрушающим АДМА. Сывороточный уровень АДМА независимо предсказывает будущие неблагоприятные сердечно-сосудистые события и может стать новым биомаркером сердечно-сосудистого риска [142].

Полиморфный участок rs1799983 (с.894Т>G, E298D или p.Glu298Asp) локализован в экзоне 7. Полиморфизм, обусловленный варьирующим числом tandemных повторов размером в 27 пар нуклеотидов (variablenumberoftandemrepeats, VNTR) – минисателлит в 4-м интроне. Другой распространенный вариант полиморфного участка - rs2070744 (с.-813С>Т).

В итоге мета-анализа результатов опубликованных исследований (1996-2014 гг.) вывлено, что полиморфные участки rs 1799983 (Glu298Asp) и VNTR ассоциированы с риском развития ИБС у жителей стран Ближнего Востока, а rs2070744 (с.-813С>Т) ассоциирован с риском ИБС у лиц азиатского происхождения (корейцы, японцы, китайцы) [224].

Однако, не выявлено ассоциаций данного полиморфного участка с ССЗ в ряде других исследований, проведенных среди населения Туниса, Северной Индии[139,182,258]. В то же время, в результате анализа сочетаний аллелей и генотипов следующих генов (*ACE*, *NOS3*, *ET2*, *ANP*, *AGT*, *NPRC*) выявлена значимость полиморфного участка rs1799983 в развитии эссенциальной гипертонии у китайцев [312].

AbharyS. в своем исследовании провел анализ ассоциаций сывороточного уровня АДМА у пациентов сахарным диабетом 2 типа с рядом полиморфных участков генов *DDAH1* и *DDAH2*. Отмечено, что полиморфный участок rs669173(с.303+30998A>G)гена *DDAH1* ассоциирован с высокой сывороточ-

ной концентрацией АДМА в у больных сахарным диабетом 2 типа без ретинопатии [275]. Обнаружено, что полиморфные участки rs11161606, rs12132677, rs13373844, rs233099, rs233109, rs3768227, rs11161614, rs12140935, rs3768226, rs527762, rs582145, rs6669293, rs669173, rs7521189 гена *DDAH1* ассоциированы с плазменным уровнем АДМА у шведов старше 70 лет [191].

Таким образом, в настоящее время в ходе анализа зарубежных и отечественных источников выявлено, что важное значение отведено системному воспалению в этиологии и патогенезе ИМ. Хотя в этой области остаются противоречивые вопросы. Менее изученной остаётся роль дисфункции эндотелия, системного воспаления и поражения сосудистой стенки в развитии ИМ. В доступной литературе доказано участие молекул адгезии в процессах атерогенеза и тромбообразования, где пусковым фактором является дисфункция эндотелия. Клетки эндотелия синтезируют молекулы адгезии, хемокины, стимулирующие хемотаксис лейкоцитов в очаг воспаления, последние в свою очередь выделяют интерлейкины, цитокины, в результате чего в стенке артерии формируется очаг воспаления. Ведущая роль отводится качественным характеристикам сосудистой стенки и структуре атеросклеротической бляшки, что позволило доказать патогенетическую общность всех осложнений ССЗ. В последнее десятилетие активно изучается ассоциация наличия (или изменение концентрации) воспалительных маркеров с увеличением риска развития осложнений ССЗ или прогноза уже случившихся сердечно-сосудистых катастроф. Однако, комплексного подхода анализа сосудистой стенки и концентраций воспалительных маркеров при осложнениях ССЗ, в частности, при ИМ, не разработано.

Раскрытие роли генетических факторов ИМ способствуют определению основных звеньев в его патофизиологии. Анализ полиморфизма генов молекул адгезии при развитии ИМ представляет значительный интерес, так как может являться дополнительным маркером выявления риска возникновения сердечно-сосудистых осложнений. Результаты многочисленных работ, по-

священные изучению молекулярно-генетических основ ИМ, довольно противоречивы и имеют выраженные этнические различия. Поэтому, изучение этноспецифических факторов риска развития ИМ актуально, что позволит с высокой точностью предсказать риск развития, характер течения заболевания с учетом расовых различий. В настоящее время работы посвященные анализу ассоциаций с ИМ полиморфных локусов генов-кандидатов ССЗ в Республике Башкортостан единичны.

Изучение взаимосвязи клинических и молекулярно-генетических данных при ИМ, которыми мы располагаем в настоящее время, дают новые перспективные возможности для прогнозирования течения ИМ, а также созданию новых представлений в терапии и мониторинга эффективности лечебных мероприятий.

## Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Клиническая характеристика пациентов с инфарктом миокарда, включенных в исследование

Исследование проводилось в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на базе кардиологического отделения МБУЗ ГКБ №13, Республиканской клинической больницы им.Г.Г. Куватова и в лаборатории молекулярной генетики человека Института биохимии и генетики УНЦ РАН (директор, академик РАН, проф. Хуснутдинова Э.К.).

Данная научная работа выполнялась в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practise) и принципами Хельсинкской декларации. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Все пациенты подписали информированное согласие.

Критерии включения:

1. Наличие ИМ на момент госпитализации согласно критериям, обозначенным в Национальных рекомендациях и «Третьем универсальном определении инфаркта миокарда» [64,296].
2. Возникновение клинических проявлений не более чем за 24 часа до госпитализации.
3. Подписанное добровольное согласие на участие в исследовании.

Диагноз «инфаркт миокарда» подтверждается при доказанном некрозе миокарда в результате длительной острой его ишемии. Диагноз устанавливали при наличии повышения и/или закономерной динамики снижения кардио-



специфических ферментов (тропонин Т) в сочетании хотя бы с одним из нижеследующих критериев: – симптомы ишемии миокарда;  
– диагностически значимая элевация сегмента ST либо впервые зарегистрированная блокада левой ножки пучка Гиса (БЛНПГ);  
– патологический зубец Q на ЭКГ;  
– появление нежизнеспособного миокарда или выявление зон гипо- /акинеза;  
– выявление интракоронарного тромбоза при ангиографическом или патологоанатомическом исследовании.

Все инфаркты миокарда относились к 1 типу – спонтанному ИМ. При появлении патологического зубца Q на ЭКГ ИМ считался Q-образующим (ИМсQ), при отсутствии – ИМ без патологического зубца Q (ИМбезQ).

Критерии невключения:

1. Наличие клинически значимой сопутствующей патологии (метастазирующие онкологические заболевания, тяжелые хронические заболевания внутренних органов в стадии обострения, печеночная недостаточность, тяжелая хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), аутоиммунные заболевания, терминальная почечная недостаточность, психические заболевания).
2. ИМ, осложнивший ЧКВ или коронарное шунтирование.
3. Смерть больного в первые сутки заболевания.

У всех пациентов при госпитализации собирали жалобы, анамнез, проводили осмотр, оценивали результаты лабораторных и инструментальных исследований. По классификации Killip оценивали тяжесть ОСН, далее сердечную недостаточность анализировали по NYHA. Всем пациентам выполнены стандартные при ИМ лабораторные обследования: общий анализ крови, биохимический анализ крови с оценкой липидного спектра глюкозы, креатинина, мочевины, калия, общего белка, билирубина, аспартатаминотрансферазы, аланиламинотрансферазы, уровня кардиоспецифических маркеров некроза миокарда (КФК-МВ, тропонин Т/И) с использованием стандартных реактивов.

Для расчёта скорости клубочковой фильтрации (СКФ) использовали формулуСКД - EPI.

Определяемые показатели гемостаза включали в себя активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновый индекс (ПТИ), международное нормализованное отношение (МНО), фибриноген, количество тромбоцитов, участвующих в агрегации, время агрегации с коллагеном и аденозиндифосфатом.

Тропонин Т определяли количественным методом с помощью набора «TnT» («Roche», Швейцария). Повышением уровня тропонина считалась концентрация, превышающая 99 перцентиль нормального референсного значения для популяции. Нормальным значением считалась концентрация менее 50 нг/л.

Из инструментальных методов исследования применялись ЭКГ, эхокардиография (ЭхоКГ), триплексное сканирование БЦА. ЭхоКГ проводили на 1-2 сутки поступления в стационар в стандартных М- и В-режимах. Ультразвуковое исследование за время пребывания в стационаре проводилось для обнаружения признаков ремоделирования.

Всем больным оценивали сывороточные уровни таких биомаркеров как ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-1 $\beta$ , MCP-1, VEGF в первые сутки пребывания в стационаре.

Дизайн исследования представлен на рисунке 3.

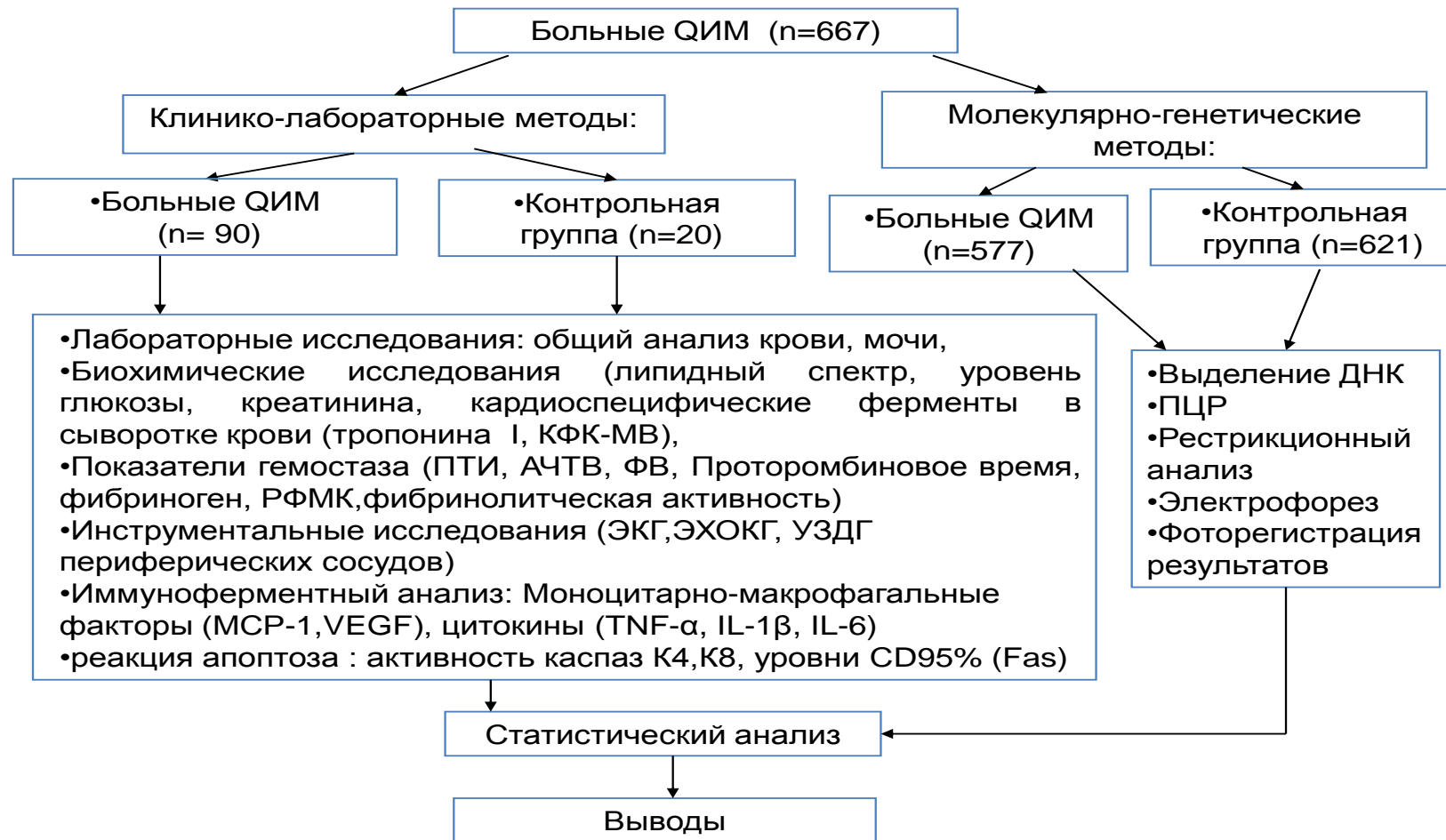


Рисунок 3– Дизайн исследования.

## 2.2 Материалы исследования

Всего в исследование включено 667 мужчин с Q-образующим инфарктом миокарда, в возрасте от 35 до 64 лет (средний возраст  $50,15 \pm 0,5$  года). Полное клиническое обследование прошли 90 мужчин (средний возраст  $53,3 \pm 2,2$  года). В качестве контроля в лабораторных исследованиях использовали сыворотки крови 20 практически здоровых мужчин – донора сравнимого возраста ( $49,3 \pm 1,8$  года). Контрольную группу для молекулярно-генетических исследований составили 621 практически здоровых мужчин (средний возраст  $50,17 \pm 1,22$  года), не имевших в анамнезе ИБС. В этой группе на момент обследования по анамнестическим и лабораторным данным не имелось острых и хронических сердечно-сосудистых, аутоиммунных заболеваний.

Диагноз ИМ устанавливался согласно критериям ВНОК (2008) и Европейского общества кардиологов на основании клинических, электрокардиографических (ЭКГ), биохимических (увеличение в сыворотке крови биохимических маркеров некроза миокарда – тропонина, креатининкиназы – МВ (КФК-МВ), миоглобина), наличие признаков патологических характеристик заболевания по ЭХОКГ (Российские рекомендации ВНОК, 2007).

Результаты были внесены в разработанную анкету, где отражались паспортные данные, субъективные и объективные показатели, результаты инструментальных и лабораторных исследований. Основные анамнестические данные на момент поступления отражены в таблице 1.

У 38 (42,2%) пациентов ангинозная боль была спровоцирована значительной физической нагрузкой, у 24 (24,4%) – психоэмоциональным стрессом, у 5 (6,7%) – приемом алкоголя, у оставшейся группы пациентов не было связи с провоцирующими факторами. Все больные в момент поступления в стационар отмечали боли за грудиной давящего, жгучего, сжимающего характера, не купирующиеся приемом нитроглицерина, анальгетиками. Дли-

тельность болевого синдрома составила от 5 (от начала инфузионной терапии) до 24 часов, у 8 (8,9 %) пациентов и у 5 (5,6 %) в течение 48 часов, у остальных длительность болевого синдрома не превышала 5 часов.

Таблица 1 – Исходная характеристика больных, включенных в исследование

Показатель	Количество	%
1	2	3
Мужской пол	90	100
Курение	51	56,7
ИМТ выше 25 кг/м <sup>2</sup>	68	75,6
Гиперхолестеринемия в анамнезе	21	23,3
Гипертоническая болезнь	74	82,2
Острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе	8	8,9
Сахарный диабет 2 типа в анамнезе	13	14,4
Инфаркт миокарда в анамнезе	15	16,7
Стенокардия напряжения в анамнезе	38	42,2
Хроническая сердечная недостаточность в анамнезе	16	17,8
ХПН в анамнезе	2	2,2
ЧКВ в анамнезе	4	4,4
КШ в анамнезе	1	1,1
ФП в анамнезе	3	3,3
Передний ИМ	62	68,9
Задний ИМ	26	28,9
Задний ИМ с захватом правого желудочка (ПЖ)	1	1,1
Циркулярный	1	1,1

Болевой синдром был ведущим показателем во всех группах, что свидетельствует о типичном ангинозном характере ИМ. «Стаж» заболевания ИБС в среднем составил от 9 до 12 лет. У 49 (54,4 %) пациентов – наличие в анамнезе близких родственников с ИМ и ИБС.

Среднее значение систолического артериального давления (САД) составило  $102,3 \pm 3,7$  мм.рт.ст., диастолического артериального давления (ДАД) –  $60,1 \pm 4,4$  мм.рт.ст. Частота сердечных сокращений (ЧСС) более 80 уд. в/мин отмечено у 61 (67,8 %) больных, менее 60 уд. в/мин – у 18 (20 %) и в пределах от 60 до 80 уд. в/мин – у 9 (10 %) пациентов. У 48 (53,3%) больных выявлены нарушения ритма по типу экстрасистолии, пароксизмальной тахикардии. Артериальная гипертензия отмечена у 74 (82,2%) пациента, где САД составило  $150,0 \pm 9,74$  мм.рт.ст., ДАД –  $81,10 \pm 7,05$  мм.рт.ст. Субфебрильная температура в пределах  $37,5-37,7^{\circ}\text{C}$  тела в течение 2-3 дней отмечалась у 90 % больных. У 90 (100%) больных на ЭКГ в общепринятых отведениях определялся зубец QS.

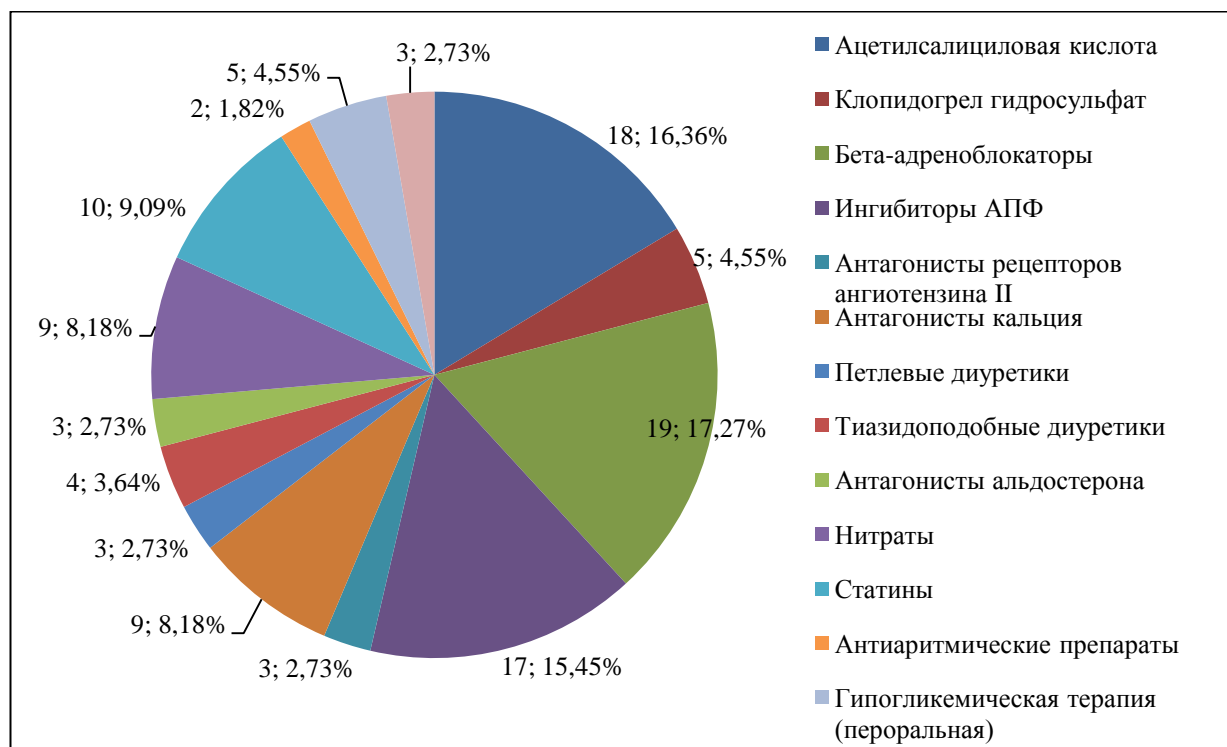


Рисунок 4 – Характеристика регулярной медикаментозной терапии больных до госпитализации

В первые сутки госпитализации повышение КФК МВ выше 25 ЕД/л было у 82,2 %, положительный тропонин I, определенный экспресс-методом, - у 95,6% пациентов. Сведения о постоянном приеме лекарственных препаратов (с учетом приема лекарств не меньше недели до поступления в стационар) отражены на рисунке 4.

Таким образом, на догоспитальном этапе приверженность больных к рекомендованному лечению выявлена как низкая, а также, видимо, и лекарственная терапия ИБС согласно рекомендациям была назначена не часто. У 75 (83%) больных в ходе анализа ЭКГ выявлен синусовый ритм, у 6 (6,6%) обнаружена синусовая тахикардия, у 2 (2,3%) синусовая брадикардия, а 7 (7,7%) больных имели фибрилляцию предсердий.

Гипертоническая болезнь в анамнезе отмечалась у 82% пациентов, предшествовавшая ИМ стенокардия наблюдалась у 42,2% больных.

Таблица 2 – Оценка клинической тяжести пациентов с ИМ при госпитализации

Признак	Значения
Частота сердечных сокращений <sup>1</sup>	78 [73 и 86]
Систолической артериальное давление (мм. рт. ст.) <sup>1</sup>	134 [115 и 165]
Острая сердечная недостаточность I <sup>2</sup> ,	72 (80%)
Острая сердечная недостаточность II <sup>2</sup> ,	13 (14,4%)
Острая сердечная недостаточность III <sup>2</sup> ,	4 (4,4%)
Острая сердечная недостаточность IV <sup>2</sup> ,	1 (1,1%)
Фракция выброса ЛЖ (%) <sup>1</sup>	50 [41 и 62]

**Примечание:** 1- Ме [25-й и 75-й процентиля]; 2- классификация по Killip

Среди других факторов риска 85,7 % больных имели повышенную массу тела и ожирение, курили до возникновения ИМ 56,7% пациентов, у 2/3 индекс курения составил 25,8±10,1 пачка/лет, т.е. отнесены к злостным ку-

рительщикам. У 26 (28,8%) пациентов выявлен задний ИМ, у 61 (67,7%) больных – передней локализации ИМ, у 2 (2,2%) больных засвидетельствован задний ИМ с вовлечением правого желудочка, а у 1 (1,1%) был обнаружен циркулярный ИМ. Значение медианы фракции выброса в группе пациентов приходится на 50 [41 и 62] %. Наибольшее количество больных госпитализировались с острой сердечной недостаточностью в диапазоне I - II классов по Killip (таблица 2).

В таблице 3 отображены результаты лабораторных исследований больных ИМ, проведенных во время пребывания в стационаре.

Таблица 3 – Лабораторные значения больных ИМ во время пребывания в стационаре, Медиана [25-й и 75-й процентиля]

Параметры	Единицы измерения	Показатели
Холестерин общий	ммоль/л	5,4 [4,5 и 6,1]
Холестерин ЛПВП,	ммоль/л	1,2 [1,0 и 1,4]
Холестерин ЛПНП,	ммоль/л	3,4 [2,4 и 3,8]
Триглицериды	ммоль/л	1,8 [1,6 и 2,5]
Общий билирубин,	мкмоль/л	13,2 [10,5 и 17]
Креатинин	мкмоль/л	91 [81 и 107]
Общая КФК,	Е/л	163,3 [99 и 369]
КФК фракция МВ,	Е\л	13,1 [8,5 и 24,8]
Мочевина	ммоль/л	5,7 [5,1 и 7,4]
АСТ	Е\л	39 [25,1 и 86,3]
АЛТ	Е\л	31,4 [21,2 и 51,0]
Уровень глюкозы при госпитализации	ммоль/л	7,4 [6,2 и 9,3]
Уровень глюкозы натощак	ммоль/л	5,3 [4,3 и 6,1]
Гемоглобин при госпитализации,	г/л	140 [130 и 150]
Гемоглобин наименьши за период госпитализации	г/л	128 [115 и 136]



Определенные изменения были выявлены по ряду лабораторных показателей больных ИМ (таблица 4).

У пациентов с ИМ выявлено увеличение количества лейкоцитов ( $11,84 \pm 0,98 \times 10^9/\text{л}$  при контроле  $5,90 \pm 0,32 \times 10^9/\text{л}$ ,  $p < 0,05$ ), моноцитов ( $0,30 \pm 0,02 \times 10^9/\text{л}$  при контроле  $0,22 \pm 0,05 \times 10^9/\text{л}$ ,  $p < 0,05$ ), лимфоцитов ( $0,31 \pm 0,01 \times 10^9/\text{л}$  при контроле  $0,19 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$ ,  $p < 0,05$ ) как реакция умеренного воспаления на фоне ослабленной активности иммунной системы.

Таблица 4 – Анализ лабораторных показателей у больных ИМ

Показатели	Больные	Контрольная группа
Лейкоциты ( $10^9/\text{л}$ )	$10,68 \pm 0,95^*$	$4,86 \pm 0,23$
Нейтрофилы ( $10^9/\text{л}$ )	$3,89 \pm 0,26$	$5,20 \pm 0,24$
Моноциты ( $10^9/\text{л}$ )	$0,30 \pm 0,02^*$	$0,22 \pm 0,05$
Лимфоциты ( $10^9/\text{л}$ )	$0,27 \pm 0,01^*$	$0,15 \pm 0,03$
ОХ (ммоль/л)	$6,80 \pm 0,24$	$4,50 \pm 0,09$
ХС-ЛПНП (ммоль/л)	$3,58 \pm 0,11^*$	$2,26 \pm 0,07$
ХС-ЛПВП (ммоль/л)	$0,99 \pm 0,02^*$	$1,4 \pm 0,16$
ТГ (моль/л)	$2,16 \pm 0,11$	$1,48 \pm 0,03$
Коэффициент атерогенности	$3,94 \pm 0,26$	$2,47 \pm 0,18$

**Примечание:** \* $p < 0,05$  – достоверность различий с контрольной группой

Следует отметить, что изменение количества лейкоцитов является прогностическим маркером развития сердечно-сосудистых осложнений. Отмечено, что высокий уровень лейкоцитов при поступлении коррелирует с тяжелым течением и частотой осложнений ИМ [83].

Известно, что уровень лейкоцитов периферической крови, превышающей  $12,6 \times 10^9/\text{л}$  в первые сутки критического состояния свидетельствует о гиперергическом характере системной воспалительной реакции, обусловленной

детерминированием уровня провоспалительных медиаторов и цитокинов, и имеет высокую корреляцию с неблагоприятным прогнозом, а также свидетельствует о срыве адаптационных путей развития системных реакций [80].

Ранние скрининговые маркеры, позволяющие оценить характер реакций организма при разных критических состояниях, в том числе при ОИМ – это количество лейкоцитов, который демонстрирует степень системной воспалительной реакции, и количество лимфоцитов как один из маркеров готовности иммунной системы.

Высокие концентрации ОХС, ХСЛПНП при нормальных значениях ТГ (гиперлипопротеинемия IIА типа по Fredrickson) выявлено у 12 (11,6%) пациентов.

Гиперхолестеринемия в сочетании с высокой концентрацией ХС ЛПНП и повышенным содержанием ТГ в сыворотке крови (гиперлипопротеинемия IIБ типа по Fredrickson) отмечалась у 18 (17,9%) пациентов ИМ.

У 9 (10%) пациентов с ИМ установлен III тип гиперлипопротеинемии по Fredrickson – высокая сывороточная концентрация ОХС и ТГ, в то время как содержание ХС ЛПНП было в норме. У 46(51,1%) больных отмечены высокие плазменные концентрации ХС ЛПНП ( $p<0,05$ ), также при сравнении с группой здоровых лиц значения ХС ЛПНП были повышены на 69,5% ( $p<0,05$ ).

В содержании средних уровней триглицеридов у больных ИМ достоверных различий с контрольными показателями не было.

Таким образом, у каждого четвертого больного с классом клинической тяжести острой ишемии миокарда выявлен атерогенный тип гиперлипопротеинемии (IIБ тип по Fredrickson).

Коагуляционное и антикоагуляционное процессы гемостаза претерпевают разные изменения в ходе развития и прогрессирования ИБС. Показатели плазменного компонента гемостаза представлены в таблице 5.

Таблица 5– Состояние коагуляционного звена гемостаза у пациентов  
ИМ

Показатели	Контрольная группа	Больные ИМ
Активированное частичное тромбопластиновое время, с	31,12±0,45	27,34±0,73
Активность факторов внутреннего пути образования протромбиназы,% по Квику	94,63±1,15	109,53±2,58
Активность факторов протромбинового комплекса,% по Квику	88,96±1,66	96,31±2,04*
Международное нормализованное отношение	1,17±0,11	1,03±0,015
Фибриноген,г/л	2,54±0,11	4,88±0,52*

**Примечание:** \* $p < 0,05$  – достоверность по отношению к группе контроля

У больных ИМ выявлено достоверное повышение показателей активности факторов протромбинового комплекса (% по Квику), которое отражает уменьшение активности тромбопластина по сравнению с группой здоровых лиц (рисунок 5).

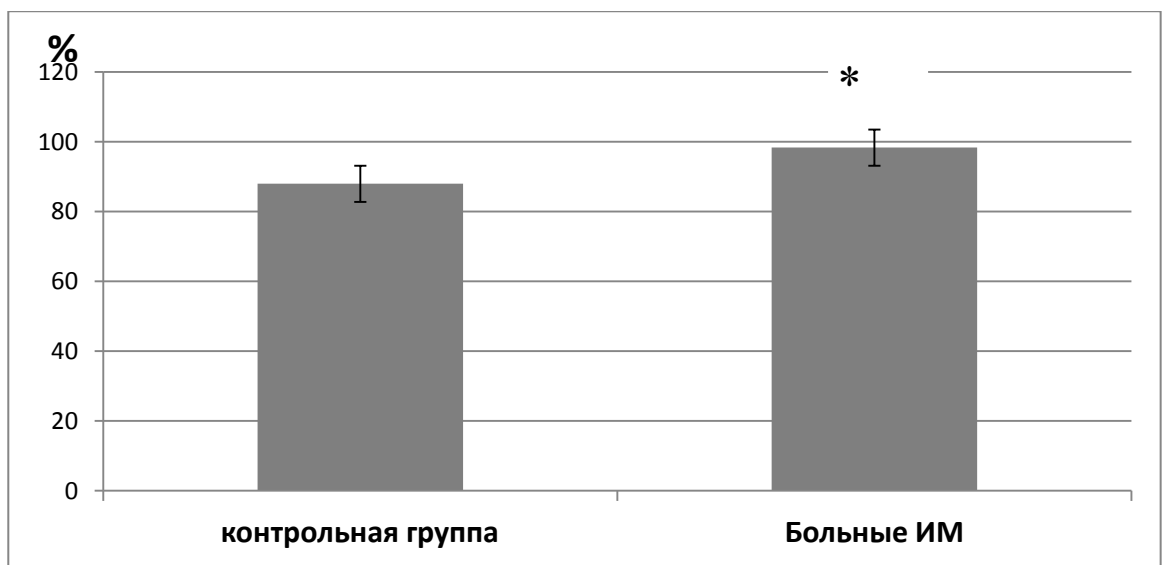


Рисунок 5 –Активность факторов протромбинового комплекса в крови у пациентов с ИМ

Количественное определение концентрации фибриногена по методу Клаусса считается базисным тестом исследования гемостаза.

Образование фибрина и его стабилизация являются конечным этапом в процессе формирования тромба, при котором растворимый фибриноген превращается в нерастворимый фибрин под действием тромбина и фактора XIII.

Повышение уровня фибриногена – независимый фактор риска тромбообразования. Во многих исследованиях выявлено, что при атеросклерозе возникает устойчивое повышение концентрации фибриногена, которое сложно корректируется лекарствами.

Таким образом, риск сердечно-сосудистых заболеваний увеличивается с повышением начального содержания фибриногена в диапазоне 3,0–4,5 г/л. Установлено, что увеличение концентрации фибриногена в плазме крови пациентов сердечно-сосудистыми заболеваниями предшествует возникновению сердечно-сосудистых катастроф.

У пациентов с ИМ концентрация фибриногена увеличилась до  $4,78 \pm 0,22$  г/л по сравнению с контрольной группой  $2,84 \pm 0,12$  г/л, ( $p < 0,05$ ) (рисунок 6).

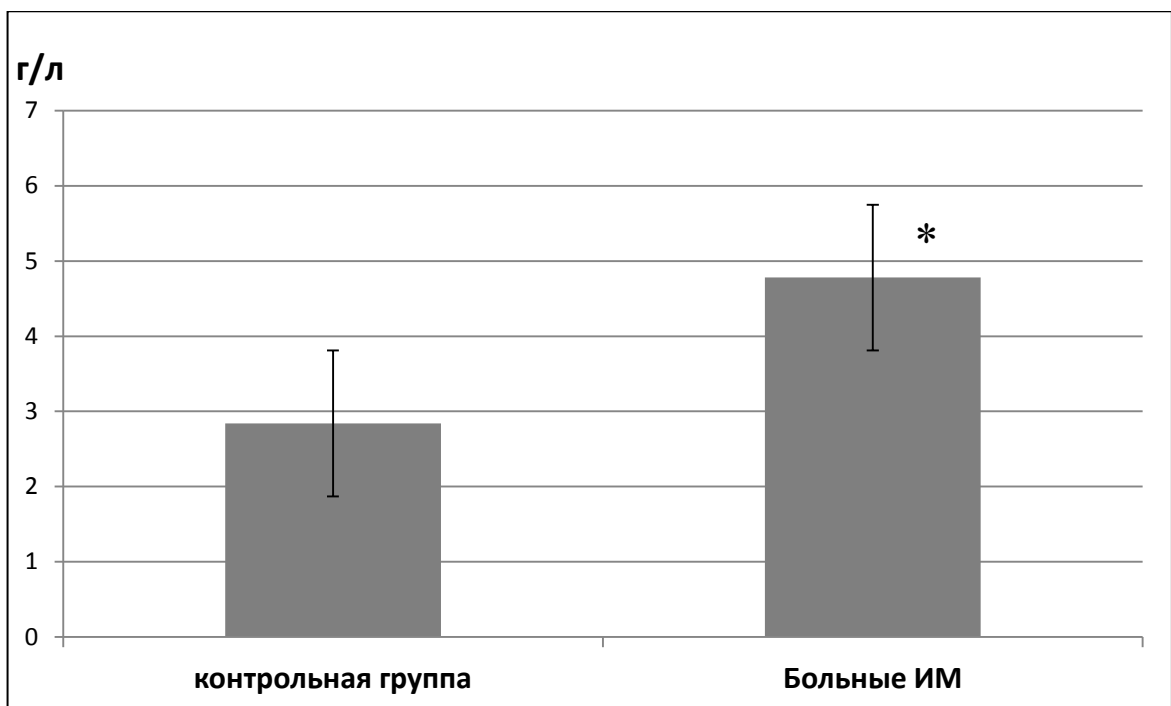


Рисунок 6 – Уровень фибриногена в плазме крови у пациентов ИМ

При сравнении наших данных с результатами других исследователей можно предположить, что измерение концентрации фибриногена – один из чувствительных методов для обнаружения бессимптомных стадий поражений периферических артерий, поэтому может быть использован для ранней диагностики и прогнозирования возникновения окклюзионных осложнений.

Согласно нашим результатам, при повышении прокоагуляционной активности плазмы развитие ишемического компонента наиболее предсказуемо. Подавление свертывания крови и фибринолиз обусловлено действием антикоагулянтов эндогенного происхождения.

В нашем исследовании обнаружено увеличение уровня тромбинемии (растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК)) у больных с ИМ составили  $5,6 \pm 0,6$  мг/дл при контроле -  $3,4 \pm 0,3$  мг/дл, ( $p < 0,05$ ) (рисунок 7).

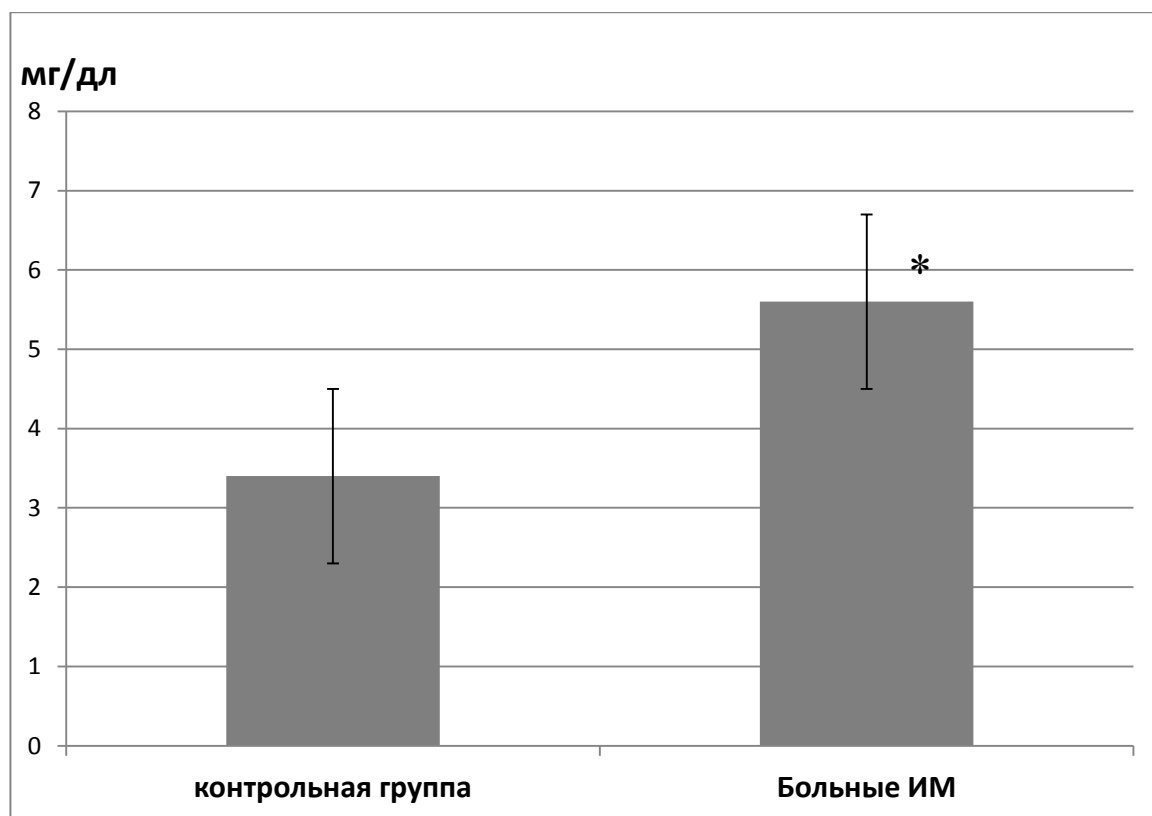


Рисунок 7 – Уровень РФМК в крови у пациентов ИМ

ДФМК – это конгломераты эритроцитов, тромбоцитов и фибрина. Эти образования размерами больше объема эритроцита и не способны проходить

по мелким сосудам и капиллярам, тем самым блокируют их и приводят к окклюзии.

По данным таблицы 6, продемонстрировано статистически значимое повышение данного фактора.

Показатели фибринолиза у больных ИМ выявили наличие гиперкоагуляции. Количество тромбоцитов у больных ИМ было выше по сравнению с контрольной группой ( $234,15 \pm 56,79 \times 10^9/\text{л}$   $180,11 \pm 36,89 \times 10^9/\text{л}$ , соответственно) ( $p < 0,05$ ), фибринолитическая активность снижалась до  $12,04 \pm 0,64\%$  при контроле  $15,6 \pm 2,4\%$ , ( $p < 0,05$ ), что характеризует дисбаланс в системе гемостаза, где усиливается внутрисосудистого свертывания и изменяется коагуляционный гемостаз: повышается концентрация фибриногена по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

Таблица 6 – Состояние антикоагуляционного и фибринолитического звеньев гемостаза у пациентов ИМ

Показатели	Контрольная группа	Больные ИМ
Антикоагуляционное звено гемостаза		
Антитромбин III, %	$102,21 \pm 0,63$	$96,54 \pm 0,72$
Тромбиновое время, с	$16,45 \pm 0,22$	$12,82 \pm 0,17$
Фибринолитическое звено гемостаза		
Фибринолитическая активность, %	$15,6 \pm 2,4$	$12,04 \pm 0,64$
Уровень тромбинемии РФМК, мг/дл	$3,4 \pm 0,3$	$5,6 \pm 0,6$ *
Суммарный индекс тромбогенности	$0,90 \pm 0,013$	$0,98 \pm 0,02$
D-димер, мг/л	$0,11 \pm 0,02$	$0,38 \pm 0,08$ *
Количество тромбоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	$180,11 \pm 36,89$	$234,15 \pm 56,79$ *
Агрегация тромбоцитов с универсальным индуктором	$13,1 \pm 0,4$	$15,26 \pm 0,36$ *

Примечание: \* $p < 0,05$  – достоверность по отношению к группе контроля

Таким образом, отмечено увеличение тромбообразования и фибринообразования, характеризующиеся повышением значений РФМК и снижением суммарной фибринолитической активности у пациентов ИМ по сравнению с контрольной группой.

Во время госпитализации все больные получали стандартное медикаментозное лечение согласно рекомендациям Российского кардиологического общества (2007 г.) по диагностике и лечению больных ИМ (рисунок 8) [25].

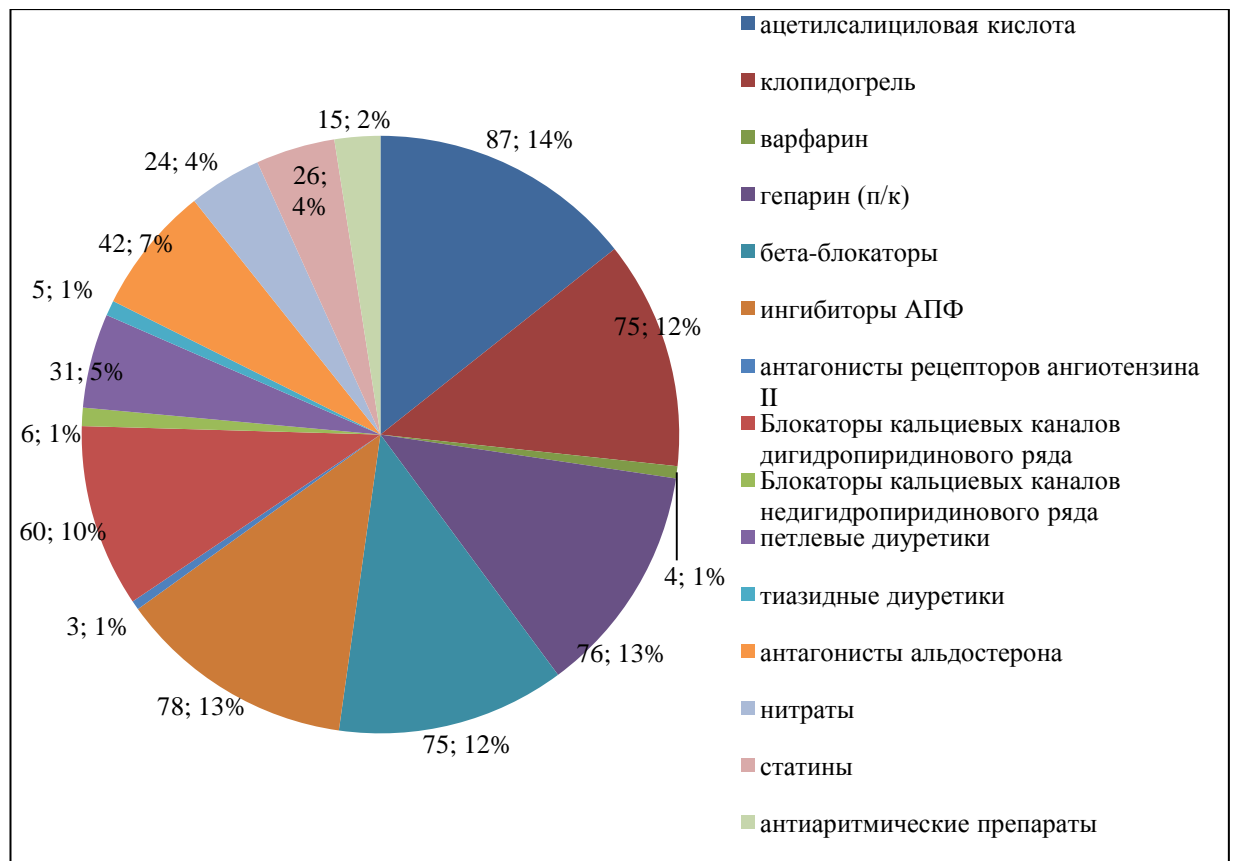


Рисунок 8 – Терапия больных ИМ в период госпитализации

### 2.3 Методы исследования

Клиническое обследование включало опрос жалоб, анамнеза, оценивались антропометрические данные [рост (см), вес (кг)]. По формуле отношения массы тела к квадрату роста ( $\text{кг}/\text{м}^2$ ) оценивали ИМТ. Проводили объективный осмотр больных, также оценивали гемодинамические показатели: АД и ЧСС. АД измеряли по стандартному методу ручным тонометром на

плече манжетой размером 22-42 см.

### 2.3.1 Лабораторные методы исследования

Лабораторными методами определяли значения общего анализа крови, содержание в сыворотке крови глюкозы, креатинина, липидного спектра, кардиоспецифических ферментов, фибриногена, ферментов печени, а также определение провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ), моноциттарно-хемотаксического протеина-1 (MCP-1) и сосудистого фактора роста эндотелия (VEGF). Взятие крови производили натошак из локтевой вены в стерильных условиях после 12-часового периода голодания.

**Сывороточные уровни глюкозы** измеряли при помощи автоматического анализатора Architect С 8000 (Abbott, США). У здоровых лиц нормальный уровень глюкозы приняли до 6,1 ммоль/л.

**Сывороточный уровень креатинина** определяли колоритметрическим методом по Jaffe после абсорбции. Нормой для здорового человека принимали до 115 мг/дл.

Сывороточные значения липидного спектра (общий холестерин (ХС), триглицериды (ТГ), ХС-липопротеины высокой плотности (ХС-ЛПВП) определяли в негемолизированной плазме крови с использованием холинэстеразного, колориметрического методов и метода осаждения, используя реактивы «Холестерин ФС «ДДС»», «Триглицериды ФС «ДДС»», «Холестерин ЛПВП» ЗАО «Диакон ДС». Концентрация ХС-ЛПВП рассчитывали по формуле: ЛПВП= ОХС- ТГ/(2,2-ЛПВП). Целевыми показателями данных значений определяли показатели липидного спектра согласно рекомендациям Российского кардиологического общества.

**Активность кардиоспецифических ферментов (КФК, КФК-МВ)** изучалась спектрофотометрическим методом при госпитализации, а также при необходимости контролировали в динамике.



У всех больных определение провоспалительных маркеров проводилось с соблюдением правил асептики, забирали кровь натощак в течение 24 часов от поступления из локтевой вены в объёме 5 мл в вакуумные пробирки. Проподготовка проводилась методом холодной цепи.

**Количественное определение** провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ), иммуноферментов MCP-1 (моноцитарно-хемотаксический протеин-1) и VEGF (сосудистый эндотелиальный фактор роста) в сыворотке крови больных ОИМ производилось методом ИФА с использованием коммерческих тест-наборов (производство «Вектор Бест», Новосибирская область).

Биомаркеры определялись по стандартным методикам, приведённым в указанных наборах для иммуноферментного анализа. ИЛ-1 $\beta$  использовали в качестве провоспалительного цитокина. У здоровых людей уровень ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови не превышает 11 пг/мл, средняя концентрация – 0,2 пг/мл.

ИЛ-6 использовали для оценки иммунного статуса организма и выраженности воспаления и иммунного ответа на ишемию. Концентрация в крови здоровых людей не более 16 нг/мл.

MCP-1 (CCL2) применялся как маркер активации моноцитов/макрофагов. В крови здоровых людей средняя концентрация маркера составляет 190 пг/мл с диапазоном 50-280 пг/мл.

ФНО- $\alpha$  использовали как провоспалительный медиатор межклеточных взаимодействий. В крови здоровых людей верхняя граница концентрации альфа-ФНО составляет 6 пг/мл, среднее значение – 0,5 пг/мл.

VEGF использовался как фактор ангиогенеза, отражающий эндотелиальную дисфункцию. Диапазон концентрации VEGF у здоровых людей – 10 – 246 пг/мл.

**Состояние системы гемостаза** определяли по следующим тестам: сосудисто-тромбоцитарное звено – по количеству тромбоцитов фазовоконтрастными тестами; коагуляционный гемостаз оценивался с применением базисных

коагуляционных тестов (наборы «Технология-Стандарт», г. Барнаул); активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ) – по LarrieuWieland; протромбиновый индекс (ПТИ) – по методу A.J. Qwick в модификации В.Н. Туголукова; протромбиновое время – по Э.Сирмом; фибриноген – по методу Clauss в модификации Thomas L. Trobisch; суммарная фибринолитическая активность крови – по методу М.А. Котовщиковой и Б.И. Кузкина.

**Активность апоптоза** изучалась по показателям спонтанного апоптоза по содержанию CD95+ лимфоцитов, количеству 1- и 2-нитевых разрывов ДНК и активности каспаз (K4, K8).

Определение субпопуляции лимфоцитов периферической крови проводилось методом проточной цитофлуорометрии с использованием моноклональных антител (МКА) меченых различными флюорохромами.

Для определения FaS (CD95) использовали МКА мышей против антител человека CD95 клона DX-2 (Galtag Lab., USA). Оценка апоптоза циркулирующих лимфоцитов проводилась по активности K4 и K8 после реакции флуоресценции (ФЦ) с использованием специфических субстратов K и по выявлению количества 2-нитевых и 1-нитевых разрывов ДНК методом ФЦ ДНК-тропных красителей – бромистого этидия (EtBr) и 4',6-диамидино-2-фенилиндола (DAPI).

### **2.3.2 Инструментальные методы исследования**

Регистрация ЭКГ осуществлялась в 12 отведениях (6 стандартных и 6 грудных отведений) с помощью аппарата «Megacart-400» (фирма Siemens, ФРГ) при госпитализации, затем – ежедневно до формирования подострого периода ИМ, в последующем – один раз в 3-5 дней и за сутки до предполагаемой даты выписки пациента согласно Национальным рекомендациям (Национальные рекомендации по диагностике и лечению больных острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST ЭКГ, 200). На ЭКГ отмечались

признаки ишемических изменений зубца Т, сегмента ST, изменения вольтажа R, появление патологических зубцов Q. Патологическим зубцом Q считали любой зубец Q в отведениях V2-V3  $\geq 0,02$  сек или QS в V2-V3, а также зубец Q  $\geq 0,03$  сек и  $\geq 0,1\text{mV}$  по амплитуде или QS в двух отведениях из групп I, aVL; II, III, aVF; V1-6. При появлении патологического зубца Q на ЭКГ ИМ считался Q-образующим, при отсутствии – ИМ без патологического зубца Q.

ЭхоКГ проводилась на аппарате Sonos-100 (фирма Hewlett Packard, США) по стандартной методике Американской ассоциации эхокардиографии (ASE) в М-и В-режимах эхолокации из парастернальной и апикальной позиции по короткой и длинной оси датчиком 3,5 МГц. Определяли следующие показатели центральной гемодинамики: конечно-диастолический (КДО) и конечно-систолический объемы (КСО) левого желудочка, ударный объем (УО) левого желудочка планиметрическим методом Симпсона, фракцию выброса (ФВ), конечно-диастолическое давление в полости ЛЖ (КДД ЛЖ), толщину межжелудочковой перегородки и задней стенки ЛЖ (ТМЖП, ТЗСЛЖ). По формуле R.Devereux рассчитывали массу миокарда левого желудочка (ММЛЖ). Индекс ММЛЖ (ИММЛЖ) рассчитывали как отношение ММЛЖ к площади поверхности тела. За нормальные показатели ИММЛЖ брали цифры менее  $124 \text{ г/м}^2$  у мужчин и менее  $110 \text{ г/м}^2$  у женщин. В ходе исследования проводили оценку трансмитрального кровотока в импульсном доплеровском режиме из четырехкамерной позиции по следующим параметрам диастолической функции ЛЖ: максимальной скорости потока в фазу позднего наполнения ( $V_a$ , норма  $0,45\text{-}0,70 \text{ м/с}$ ), их соотношение ( $V_e/V_a$ ), время замедленного пика раннего наполнения (ДТЕ), время изоволюмического расслабления левого желудочка (IVRT, норма  $70\text{-}90 \text{ м/с}$ )

Структурно-функциональное состояние периферических сосудов исследовалось путем изменения толщины слоя интимы-медиа (ТИМ) общих сонных артерий (ОСА) и бедренных артерий (ОБА). ТИМ рассчитывали как среднюю величину по трем сердечным циклам (норма ТИМ  $< 1 \text{ мм}$ ), пока-

затель ТИМ 1-1,3 мм рассматривали как утолщение интимы, ТИМ>1,3 мм – показатель наличия атеросклеротической бляшки.

При ультразвуковом методе исследования в стенке крупной артерии за счет различного уровня эхогенности определялись три оболочки, представленные двумя параллельными гиперэхогенными линиями (*tunica intima* и *intima adventicia*), разделенные гипозэхогенным пространством (*tunica media*) на экране. Показатель комплекса интима – медиа (ТИМ) сонной артерии измерялся при сканировании артерии в трех продольных сечениях на расстоянии 1 см проксимальнее бифуркации в области задней стенки. Изначально в В-режиме, затем – с использованием ультразвуковой системы «НД1500» с линейными датчиками 7,5 МГц и 10 МГц.

Величину ТИМ общей бедренной артерии оценивали на расстоянии 1 см проксимальнее отхождения глубокой артерии бедра. Показатель ТИМ определялся по методике Pignolli P. как расстояние между верхней границей внутреннего эхопозитивного и нижней границей среднего эхонегативного слоев сосудистой стенки [222].

Систолический Д (s) и диастолический Д (d) диаметры сонной и бедренной артерий исследовали в нескольких сердечных циклах с вычислением среднего значения.

### 2.3.3 Молекулярно-генетические методы исследования

Проведен анализ ассоциаций с ИМ полиморфных локусов генов молекул адгезии (*SELP*, *VCAM1*), хемокина (*CCL2*), сосудистого эндотелиального фактора роста (*VEGFA*), ферментов контролирующего содержание NO (*NOS3*, *DDAH1*).

ДНК выделяли из 10 мл периферической крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции [238]. Взятие крови производили в про-

бирки с консервантом, в качестве которого использовался глюцигер в соотношении с кровью 1:4.

Для выделения ДНК к 10 мл крови добавляли 30 мл лизирующего буфера (320мМ сахарозы, 1% тритон X-100, 5мМ MgCl<sub>2</sub>, 10мМ трис-НСl, рН 7,6) и центрифугировали в течение 20 минут со скоростью 4000g при температуре +4<sup>0</sup>С.

Надосадочную жидкость сливали, к осадку добавляли 20 мл лизирующего буфера и центрифугировали при тех же условиях в течение 10 минут. К полученному осадку добавляли 800 мкл буфера Soline ЭДТА (25 мМ ЭДТА, рН 8,0, 75 мМ NaCl). Затем ресуспензировали полученный раствор и переносили его в двухмиллилитровые стерильные пластиковые пробирки, добавляли 80 мкл 10% SDS, 20 мкл протеиназы К (10 мг/мл) и инкубировали при 37<sup>0</sup>С в течение 16 часов.

Экстракцию ДНК осуществляли в 3 этапа: раствором забуференного фенола (200 мкл меркаптоэтанола на 50 мл фенола – Трис-НСl, рН 7,8), смесью фенола – хлороформа (1:1) и хлороформом (2 мл изоамилового спирта на 48 мл хлороформа) в равных объемах (1000 мкл) с плавным перемешиванием на ротаторе в течение 10 мин., центрифугированием при 6000 g в течение 10 мин. и отбором водной фазы после каждого этапа. ДНК осаждали из раствора в стеклянных плоскодонных конических колбах объёмом 50 мл 96% раствором охлажденного этанола в соотношении 1:3.

Сформированную ДНК промывали 70% раствором этилового спирта, подсушивали на воздухе, растворяли в деионизированной воде и хранили при -20<sup>0</sup>С. Качество образцов ДНК оценивали методом электрофореза в 1% агарозном геле.

### **Полимеразная цепная реакция синтеза ДНК**

Аmplификацию полиморфных локусов генов проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК на амплификаторах «Терцик» производства компании «ДНК-технология» (Россия).

Подбор праймеров и рестриктаз осуществляли с помощью базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.gov/SNP>) и пакета программ DNASTARV.5.0.

Таблица 7 – Сведения об условиях идентификации аллельных вариантов анализируемых генов

Ген (OMIM) ихромосомная локализация	Полиморфизм, локализация	Праймеры рестриктаза	Аллели (размер фрагментов, п.о.)
<i>SELP</i> (173610), 1q24.2	<i>S290N</i> rs6131 экзон 7	F 5'-gtc caa gcc cct cac tct-3' R 5'-ccc tgg gaa ctg gta atc-3' <i>BseNI</i>	* <i>S</i> (179, 105, 12) * <i>N</i> (284, 12)
<i>VCAM1</i> 1p32-p31	IVS4+420A>C rs3917010 интрон 4	F 5'-tta cac ccc tgg gtc ctc tt-3' R 5'-cag gag ccc aag tga gag atg-5' A 5'atc ctg tca gtt cta cct caa aa C 5'atc ctg tca gtt cta cct caa ac-3'	200 ВК 98 Аллель*
<i>CCL2</i> (601960), 17q12	-2518A>G rs1024611 промотор	F 5'- cag cgg ggg agg gca tct -3' R 5'- aca ggg aag gtg aag ggt at -3' <i>PvuII</i>	* <i>A</i> 105 * <i>G</i> 51_54
<i>VEGFA</i> (192240), 6p21.1	-2549(18)I/D rs34357231 промотор	F 5'- gtg ctg agg atg ggg ctg ac-3' R 5'- caa agt tgg ggc tct ga-3'	* <i>I</i> (196) * <i>D</i> (178)
<i>NOS3</i> 7q36	E298D rs1799983 экзон 7	F 5'- caa tga ggg acc ctg gag atg-3' R 5'- ctc cat ccc acc cag tca at-3' <i>FriOI</i>	* <i>E</i> (279) * <i>D</i> (184_95)
<i>DDAH1</i> 1p22	c.303+30998A>G rs669173 интрон 2	R 5'-ggg att atc gtc aat cca aca act-3' F 5'-tag ggg gtg agg gaa aca gt-3' C 5'-ggc tac aaa taa cat aac tag att g-3' T 5'-ggc tac aaa taa cat aac tag att a-3'	575 ВК 225 Аллель*

Перечень исследованных локусов, последовательности специфичных олигонуклеотидных праймеров, размеры амплифицируемых фрагментов,

данные о рестрикционных локусах, названия рестриктаз и длины продуктов расщепления представлены в таблице 7.

\*Для аллельспецифичной ПЦР с помощью пары праймеров F и R амплифицируется внутренний контроль, содержащий исследуемую замену аллель-специфичный праймер в паре с праймером R амплифицирует аллель-специфичный продукт.

Для амплификации использовали реакцию смесь объемом 25 мкл, которая содержала 2,5 мкл 10xTaq-буфера (67 мМтрис-НСl (рН 8,8), 16,6 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>, 2,5 мМMgCl<sub>2</sub>, 0,01% Tween-20), 0,1 мкггеномнойДНК, смесьdNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTPпо 200 мкМкаждого), 1 ед. ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* (Силекс, Россия) и 5-10 пМ локуспецифичных олигонуклеотидных праймеров. Для каждой пары праймеров индивидуально подбирали необходимую концентрацию ионов магния, температуру отжига и режим амплификации. Концентрацию праймеров в 25 мкл амплификационной смеси рассчитывали по следующей формуле:  $V = (0.137 \cdot L) / C_{pr}$ , где L – длина праймера, C<sub>pr</sub> – концентрация праймера в оптических единицах на 1 мл [217].

### Рестрикционный анализ

Для выявления нуклеотидных замен проводили гидролиз амплифицированных фрагментов соответствующей рестриктазой (табл. 9). Рестрикцию полиморфных локусов *SELP* (rs6131), *CCL2* (rs1024611), *NOS3*(rs179983) проводили с помощью эндонуклеаз рестрикции *BseNI*, *PvuII*, *FriOI* (Fermentas, Латвия) при условиях и температуре, рекомендуемых фирмой – производителем.

Разделение фрагментов ДНК после амплификации и рестрикции проводили при помощи электрофореза в 7% полиакриламидном геле (ПААГ) (исходное соотношение акриламида и метиленбисакриламида – 29:1). Электрофорез проводили в 1×ТБЕ буфере (0,089 М трис-НСl; 0,089 М борная кислота; 0,002 М ЭДТА, рН=8,0) при напряжении 300В. Перед нанесением на гель пробы смешивали в соотношении 5:1 с краской, содержащей 0,25% бромфенолового синего,

0,25% ксиленцианола и 15% фикола. После окончания электрофореза гель окрашивали раствором бромистого этидия и визуализировали в проходящем ультрафиолетовом свете. Документирование результатов электрофореза проводили с использованием видеосистемы (Geldokulant, Франция).

## 2.4 Статистические методы исследования

Статистическую обработку полученных результатов выполняли с помощью пакета прикладных программ IBMSPSSStatisticsv.21.0. При сравнении исследуемых групп проводилось парное сравнение групп с использованием непараметрического теста для проверки достоверности различий изучаемых признаков в независимых выборках – U-тест Манна-Уитни с поправкой Бонферони. Различия считались высоко значимыми при  $p < 0,01$ , значимыми – при  $p < 0,05$ . Анализ достоверности различий относительных величин выполнялся по критерию  $\chi^2$ . Для выявления корреляционных взаимосвязей использовался метод ранговых корреляций Спирмена [85].

Для сравнения групп по частотам генотипов и аллелей использовался точный двухсторонний тест Фишера. При анализе соответствия наблюдаемых частот генотипов теоретически ожидаемому равновесному распределению Харди–Вайнберга использовалась программа Arlequin 3.0. Для анализе ассоциаций сочетаний аллелей/ генотипов с ИМ применялась программа APSampler 3.6.0. Программа и её описание представлена на сайте <https://code.google.com/p/apsampler>, основной алгоритм описан в статье А.В. Фаворова и др. [126]. В качестве поправки на множественность сравнения использовался пермутационный тест. Относительный риск заболевания по конкретному аллелю или генотипу вычисляли как соотношение шансов (OR–odds ratio).

$$OR = (a \cdot d) / (b \cdot c), \text{ где,}$$

a – частота аллеля (генотипа) в выборке больных,



b – частота аллеля (генотипа) в контрольной выборке,

c – сумма частот остальных аллелей (генотипов) в выборке больших,

d – сумма частот остальных аллелей (генотипов) в контрольной выборке.

В случае если один из компонентов равен нулю принимается поправка на непрерывность - 0.5. Доверительный интервал для относительного риска рассчитывали по следующей формуле [150]:

$$OR' = \exp\left(\ln OR - 1.96\sqrt{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}}\right)$$

$$OR'' = \exp\left(\ln OR + 1.96\sqrt{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}}\right).$$

### Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

#### 3.1 Оценка постинфарктного ремоделирования сердца и сосудов у больных инфарктом миокарда

В настоящее время, большое внимание исследователей уделяется анализу постинфарктного ремоделирования миокарда как важного фактора, определяющего возникновение и прогрессирование последующей ХСН [67].

Биохимические корреляты этого процесса также активно обсуждаются [149]. Выявлено, что повышенные уровни цитокинов, MCP-1 и VEGF свидетельствуют об активном воспалительном процессе у больных ИМ и являются предикторами неблагоприятных сердечно-сосудистых осложнений [22,69,90,95,104,118].

Таблица 8 – Линейные и объемные показатели сердца у больных ИМ

Показатели	Больные ИМ (n=90)	Контрольная группа (n=20)	p
1	2	3	4
ТМЖП, мм,	9,72±1,4	9,2±0,6	>0,05
ТЗСЛЖ, мм,	9,7±1,1	8,1±0,5	>0,05
ДПЖ, мм,	31,1±5,5	29,7±2,7	>0,05
ПЗРЛП, мм,	36,5±4,1	30,4±3,2	>0,05
КДР, мм	72,4±3,4	48,1±3,3	<0,05
КСР, мм	69,2±3,9	34,8±4,2	<0,05
КДО, мл,	130,6±9,1	111,4±4,8	>0,05
КСО, мл	80,9±5,1	40,6±6,6	<0,05
ОЛП, мл	66,6±4,2	45,8±3,5	<0,05

**Примечание:** p – уровень статистической значимости; M±SD – среднее и стандартное отклонение; ТМЖП – толщина межжелудочковой перегородки; ТЗСЛЖ – толщина задней стенки левого желудочка; ДПЖ – диаметр правого желудочка; ПЗРЛП – переднезадний размер левого предсердия; КДО – конечный диастолический объем; КСО – конечный систолический объем; ОЛП – объем левого предсердия

В связи с этим была проведена оценка патологического постинфарктного ремоделирования сердца и сосудов и выраженности эндотелиальной дисфункции у пациентов с QИМ.

Характеристика эхокардиографических показателей в общей группе пациентов с ИМ представлена в таблице 8. Средние значения толщины стенок миокарда ЛЖ у больных ИМ статистически недостоверно отличались от показателей контрольной группы.

Выявлены статистически значимые отличия по показателям размеров левого желудочка и левого предсердия у больных ОИМ по сравнению с контрольной группой. У всех больных ИМ выявлялось статистически значимое увеличение переднезаднего размера ЛП ( $p < 0,05$ ).

В остром периоде ИМ процессы ремоделирования сопровождаются дилатацией левого желудочка сердца с повышением главным образом конечно-диастолического и конечно-систолического размеров миокарда. Лишь у 13,3% (12 больных) установлено, что структурно-функциональные взаимоотношения в виде нормальной геометрии миокарда не нарушены.

Также, у 86,7% (78 больных,  $p < 0,01$ ) выявлено ремоделирование левого желудочка сердца, где главными составляющими которого были повышение КДО левого желудочка на 46,2% ( $p < 0,001$ ), КСО на 72,5% ( $p < 0,001$ ) и уменьшение фракции выброса на 15,8% ( $p < 0,01$ ).

Для оценки структуры ЛЖ изучались значения массы миокарда: индекс массы миокарда, индекс относительной толщины миокарда.

Вычисление индекса относительной толщины (ИОТ) по формуле  $(2 \times \text{ТЗСд}) / \text{КДР}$  допускает отнести увеличение ММЛЖ к концентрической (ИОТ  $> 0,42$ ) или эксцентрической (ИОТ  $\leq 0,42$ ) гипертрофии, а также дает возможность выявить концентрическое ремоделирование (нормальная ММЛЖ при повышенном ИОТ). Результаты представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Показатели массы миокарда левого желудочка

Показатели	Больные ИМ (n=90)	Контрольная группа (n=20)	p
Индекс массы миокарда, г/м <sup>2</sup>	118,2±8,0	91,6±8,7	< 0,05
Индекс относительной толщины	0,38±0,08	0,32±0,05	> 0,05

**Примечание:** p – уровень статистической значимости; M±SD – среднее и стандартное отклонение

Далее у каждого пациента определяли наличие или отсутствие гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ) и ее тип, результаты отражены на рисунке 9. Выявлено, что среди больных инфарктом миокарда преобладают больные с концентрическим ремоделированием левого желудочка и концентрической ГЛЖ.

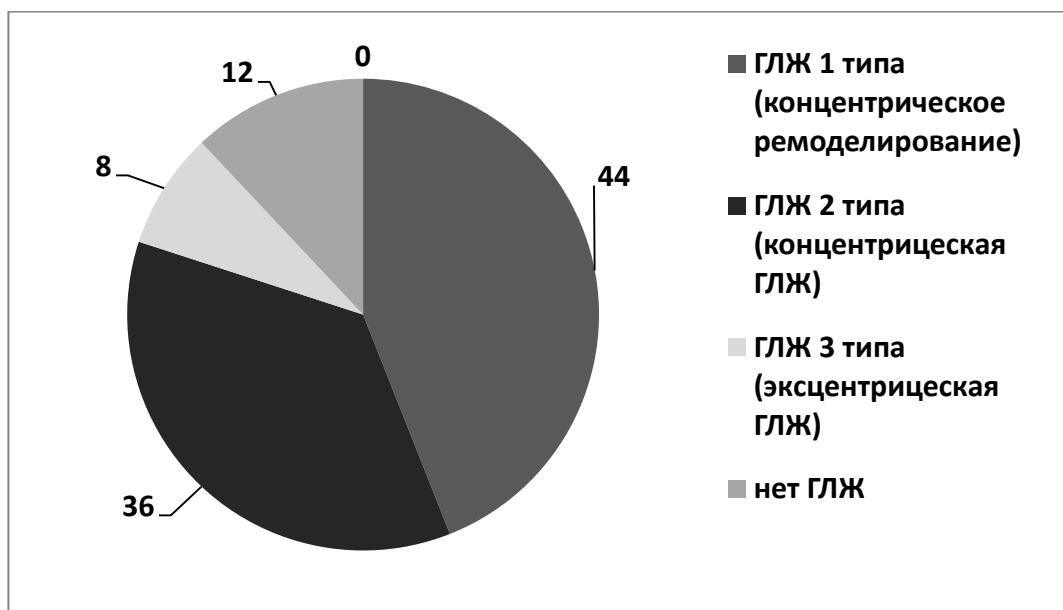


Рисунок 9– Распределение пациентов по типу ГЛЖ, (%)

После ИМ возникает особенный вариант ремоделирования вследствие острой утраты значительного объема сократительного миокарда [229,247]. Ударный объем сохраняется и полость ЛЖ увеличивается за счет механизмов, которые происходят вследствие перераспределения увеличенного мест-

ного напряжения на стенку ЛЖ, возникающее из-за раннего расширения зоны ишемии.

Регуляция ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и натрийуретических пептидов, активность симпатoadреналовой системы, а также размер и локализация ишемии являются определяющими факторами в процессах раннего и позднего постинфарктного ремоделирования.

У более, чем половины пациентов с ИМ обнаружена прогрессирующая дилатация полости ЛЖ с нарушением геометрии и вторичной митральной регургитацией [257,285], последняя в свою очередь является следствием застойной СН за счет нарушения функции ЛЖ.

Таким образом, ремоделирование ЛЖ является определяющим процессом, приводящим в итоге к СН, несмотря на наличие повреждающих факторов, таких, как ИМ, постоянная перегрузка объемом или давлением, генетически обусловленная кардиомиопатия.

Кроме того, постинфарктное ремоделирование является результатом действия гемодинамической нагрузки объемом и сопротивлением, и увеличенная при этом масса миокарда и его толщина, вызывает снижение стеночного напряжения ЛЖ, прекращая расширение полости [96].

В результате анализа независимо от вариантов развития диастолической функции ЛЖ у всех больных ИМ, выявили ее нарушение в виде достоверно значимого увеличения времени изоволюмического расслабления на 16,9% и изменение трансмитрального диастолического потока преимущественно по гипертрофическому типу.

Диастолическое наполнение ЛЖ  $V_e/V_a$  выявлено уменьшением  $V_e$  на 8,8% и увеличением  $V_a$  на 8,4% в первые четыре сутки ИМ ( $p < 0,05$ ). В таблице 10 представлены перечисленные результаты, они подтверждаются и работами других ученых [3,98].

Таблица 10 – Показатели диастолической функции у больных ИМ

Показатели	Больные ИМ (n=90)	Контрольная группа (n=20)	p
Ve, м/с	0,63±0,08	0,69±0,09	> 0,05
Va, м/с	0,87±0,09	0,80±0,06	> 0,05
Ve/ Va	0,71±0,11	0,87±0,05	< 0,05
E, м/с	0,63±0,11	0,69±0,17	> 0,05
A, м/с	0,57±0,13	0,51±0,12	> 0,05
E/A	0,92±0,12	1,35±0,23	< 0,05
ВИР, сек	0,096±0,006	0,083±0,003	< 0,05

**Примечание:** p – уровень статистической значимости; M±SD – среднее и стандартное отклонение

Пиковая скорость потока E у пациентов ИМ была равна 0,63±0,11 м/с, пиковая скорость потока A, соответственно, составила 0,57±0,13 м/с. Было выявлено снижение индекса E/A в группе больных ИМ соответственно на 22,01% (p<0,05).

При корреляционном анализе выявлена связь величин Ve/ Va и E/A со значениями КСО (r = 0,37, p<0,05), ФВ (r = 0,39, p<0,05). Полученные данные корреляционного анализа показателей подтверждаются результатами других ученых о присутствии ассоциации значений трансмитрального диастолического потока от объемных показателей и сократимости ЛЖ [4,97,184].

Также была обнаружена связь показателей диастолической функции и ремоделирования ЛЖ: ИОТС и E/A (r = - 0,76, p=0,045), ВИР (r=0,48; p=0,083), ИММЛЖ и ВИР (r=0,33, p=0,034). Исследование полученных ассоциаций предоставляет возможность предполагать, что положительный эффект оказывает на заполнение ЛЖ изменение геометрических показателей на стадии замедленной релаксации миокарда, то есть, увеличенная скорость E и соотношение E/A за счет сферификации полости, рассматривается в виде компонента ремоделирования в результате адаптации, а увеличивающиеся

масса миокарда и ИОТС, и усиление дилатации в конце систолы способствуют ухудшению расслабления. Данные выводы подтверждаются результатами других исследователей [1,19,87].

В зависимости от показателей ЭхоКГ все больные были разделены на группы. Наличие или отсутствие систолической дисфункции ЛЖ явилось критерием для распределения пациентов. Уменьшение ФВ ЛЖ менее 45% и/или КДР >5,5 см свидетельствовало о наличии систолической дисфункции [44]. В итоге, было выявлено что, большая часть больных – 55 (60,9 %) имеют систолическую дисфункцию.

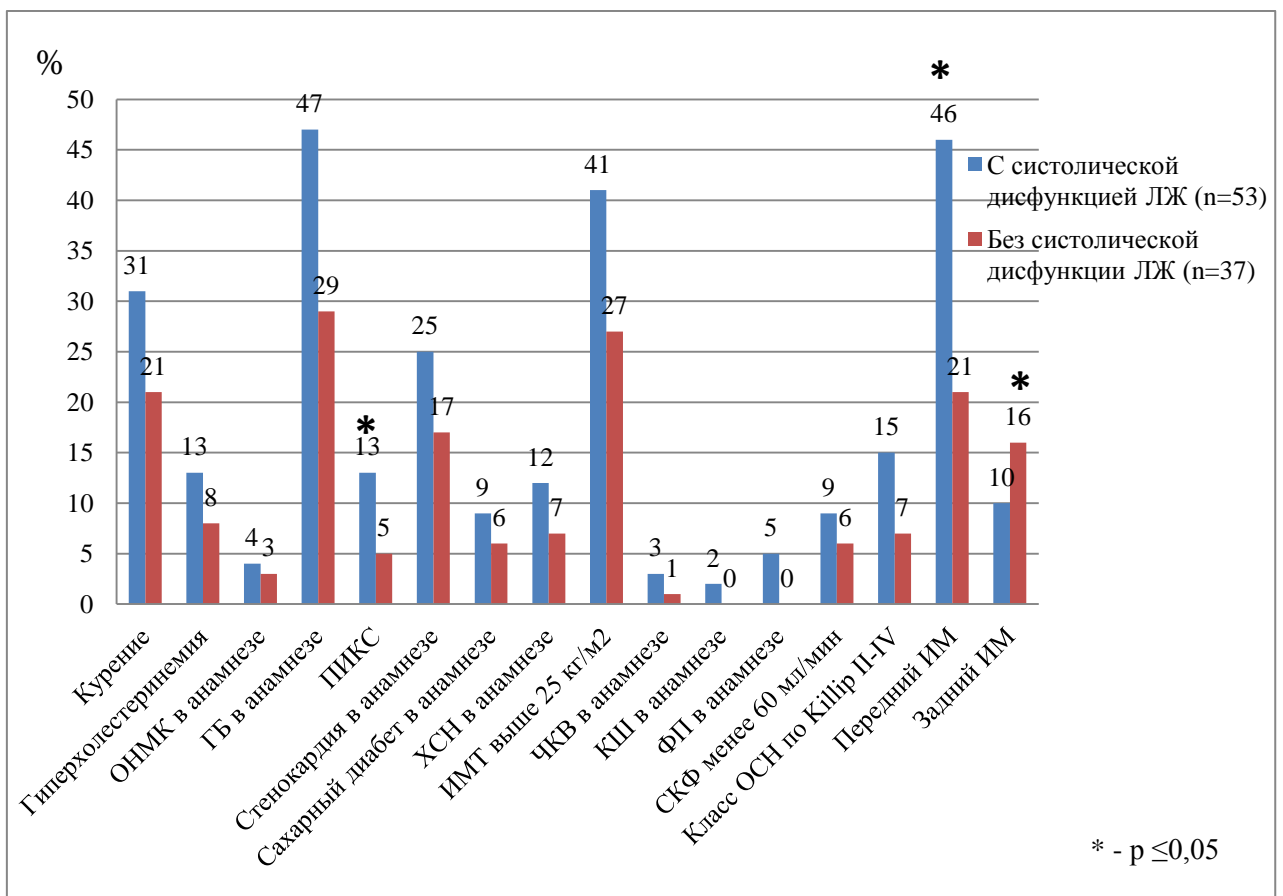


Рисунок 10 – Клинико-anamнестическая характеристика пациентов в зависимости от наличия систолической дисфункции ЛЖ

В ходе анализа наличия факторов риска между группами, имеющими систолическую дисфункцию, статистически значимых различий не установлено. Установлено, что большинство больных с систолической дисфункцией

в анамнезе перенесли ИМ ( $p=0,006$ ). Также, отмечены достоверные различия по клиническим показателям у больных ИМ, имеющих систолическую дисфункцию. Результаты отражены на рисунке 10.

Пациенты с наличием систолической дисфункции были в возрасте  $58,2 \pm 2,6$  лет, а средний возраст пациентов без систолической дисфункции был в диапазоне  $56,3 \pm 3,0$  лет. Выявлены статистически значимые различия в показателях фракции выброса ЛЖ между пациентами с наличием и без систолической дисфункции ЛЖ (медиана значений с 25 и 75 перцентилями) 45 [42 и 53]% против 54,8 [53 и 63]% соответственно,  $p=0,00001$ .

Признаки диастолической дисфункции обнаружены у 50 больных (55,7%). Показатель повышения толщины задней стенки ЛЖ более 1,2 см и/или гипертрофический тип спектра трансмитрального доплеровского потока принимался за диастолическую дисфункцию ( $E/A < 1,0$ ) [24].

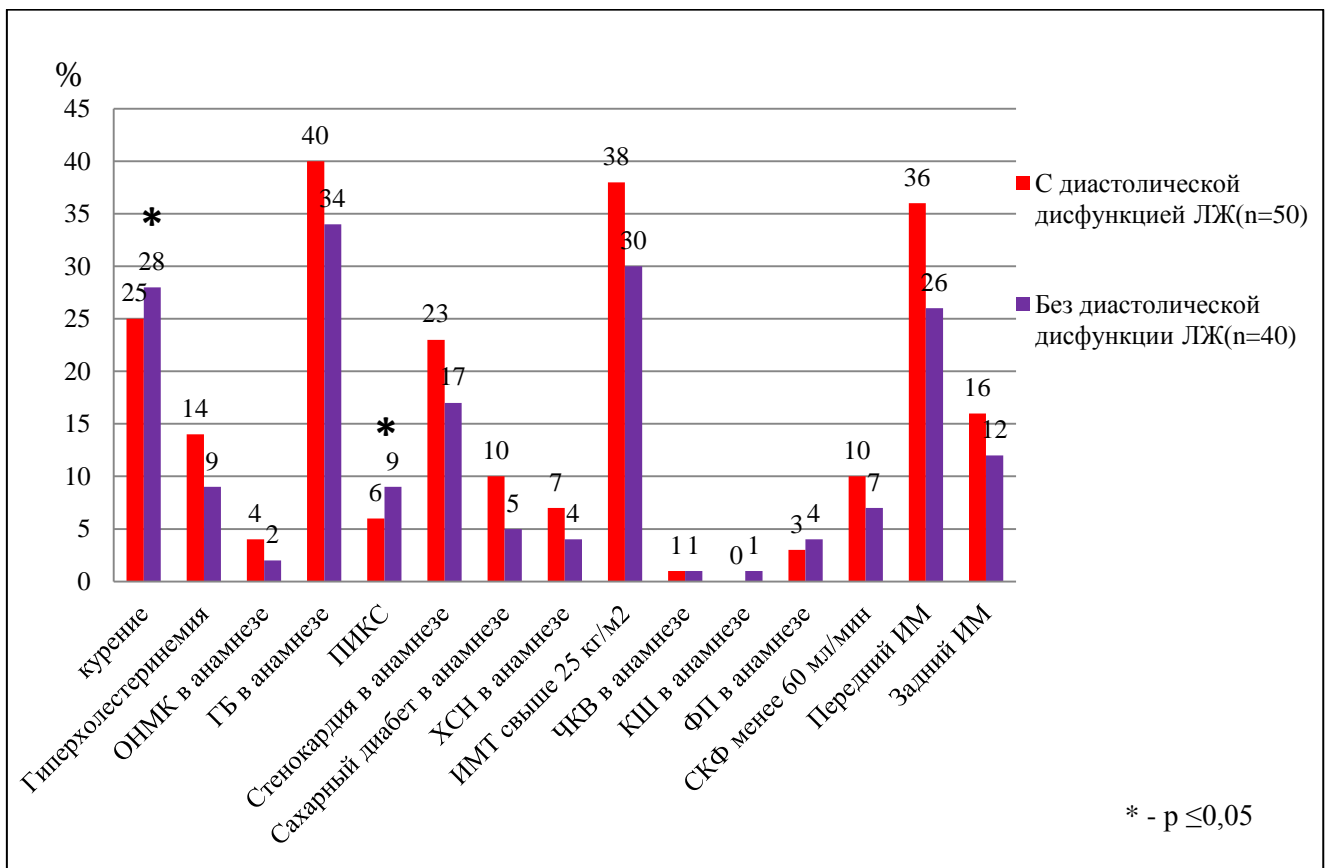


Рисунок 11 – Клинико-анамнестическая характеристика пациентов в зависимости от наличия диастолической дисфункции ЛЖ



Среди больных наблюдались различия по возрасту, но клиническая характеристика была сопоставима в зависимости от наличия диастолической дисфункции (рисунок 11).

Пациенты с наличием диастолической дисфункции были в возрасте  $59,4 \pm 3,5$  лет, а средний возраст пациентов без диастолической дисфункции был в диапазоне  $52,2 \pm 3,7$  лет.

Доказано, что неблагоприятный прогноз обуславливает наличие ремоделирование ЛЖ после ИМ [224]. В работе H.D. White et al., включавшем 605 пациентов в период от 1 до 2 месяцев после ИМ, выявлено, что показатель КСО один из самых важных факторов выживания пациентов ИМ [313]. По результатам ангиографии в исследовании Global Utilization of Streptokinase and t-PA for Occluded Coronary Arteries I (GUSTO I) конечно-систолический объем ЛЖ  $40 \text{ мл/м}^2$  стал независимым фактором увеличения смертности среди 1300 пациентов, которых лечили тромболитическими препаратами при трансмуральном ИМ [184].

Группа ученых во главе L. Bolognese et al. выявили, что среди больных с ОИМ, которым была произведена успешная реперфузионная терапия с помощью первичного ЧКВ, у 30% возникла значительная дилатация ЛЖ через 6 месяцев, определяемая, как повышение КДО ЛЖ более, чем на 20% по сравнению с исходными данными [228]. Кроме того, пациенты, имеющие ремоделирование ЛЖ, значительно чаще были подвержены развитию СН и летальных исходов по сравнению с пациентами без признаков ремоделирования ЛЖ. При многофакторном анализе доказано, что значения КСО ЛЖ через полгода после возникновения ИМ является сильным предиктором смертности. Другими учеными выявлена ассоциация между прогрессивной дилатацией ЛЖ после ИМ и частотой внезапной сердечной смерти и желудочковых аритмий [298]. Выявлена прямая корреляционная связь между ремоделированием и частотой кардиальных событий, что подтверждает значимость ремоделирования ЛЖ после ИМ в эпоху реперфузионной терапии.

Таким образом, ремоделирование ЛЖ является мальадаптивным процессом, приводящим к медленному уменьшению функции ЛЖ и, следовательно, прогрессированию ХСН.

В ходе анализа литературных данных, у пациентов получавших плацебо, обнаружена прогрессивная дилатация ЛЖ результате ИМ, а также у пациентов, страдающих ХСН, которая возникла по причине хронической ИБС или неишемической этиологии. По результатам радионуклидной вентрикулографии и эхокардиографии в исследовании Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) у больных, вошедших в подгруппу плацебо, через 1 год выявлена прогрессивная дилатация полости ЛЖ и тенденция к увеличению массы миокарда ЛЖ. В итоге, пациенты, перенесшие ИМ и пациенты, имеющие систолическую дисфункцию с наличием или отсутствием клиники ХСН имеют прогрессивное ремоделирование ЛЖ [272].

У больных ИМ была изучена структура и функциональное состояние сосудистой стенки общей сонной артерии (ОСА) и бедренной артерии (ОБА). Определен комплекс «интима-медиа» (ТИМ) как показателя толщины субэндотелиальных слоев - раннего маркера атеросклеротического процесса.

Исследование толщины интима-медиа крупных артерий обнаружило утолщение сосудистой стенки, которое отмечалось в ОСА и ОБА. На ОСА выявлена статистически достоверное повышение толщины на 98,1% у пациентов с ИМ, где ТИМ составил  $1,32 \pm 0,03$  мм, превышая значения лиц контрольной группы ( $0,69 \pm 0,04$  мм;  $p < 0,01$ ), что указывало на развитие атеросклеротических изменений (рисунок 12).

На общей бедренной артерии (ОБА) увеличение показателя ТИМ незначительное и выражалось в разнице со значениями в контрольной группе на 25,3% ( $0,97 \pm 0,016$  и  $0,66 \pm 0,017$  мм соответственно;  $p < 0,05$ ). Обнаруженные структурные изменения стенки сосудов на ОБА у больных с ИМ подтверждают распространение раннего атероматозного процесса в артериальном русле на уровне бедренной артерии у пациентов ИМ.

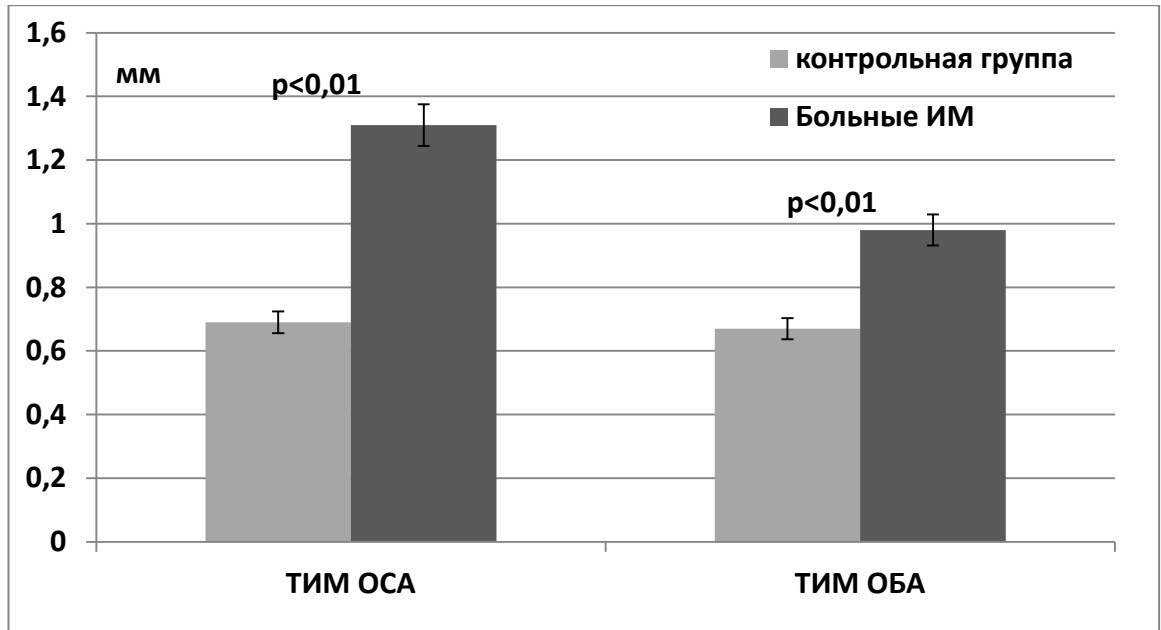


Рисунок 12– Показатели ТИМ ОСА и ОБА в обследованных группах

Анализ процессов сосудистого ремоделирования в зависимости от наличия АГ показал, что при ИМ без АГ показатель ТИМ повышался на 71% по отношению к контрольной группе и составил  $1,18 \pm 0,016$  мм при контроле  $0,69 \pm 0,04$  мм ( $p < 0,05$ ), а при сочетании ИМ с АГ превышал группу контроля уже на 107,2% ( $1,43 \pm 0,02$  мм,  $p < 0,01$ ) и показателя больных без АГ на 21%, что указывало на значимое увеличение атероматоза на ОСА у пациентов при сочетании АГ с ИМ (рисунок 13).

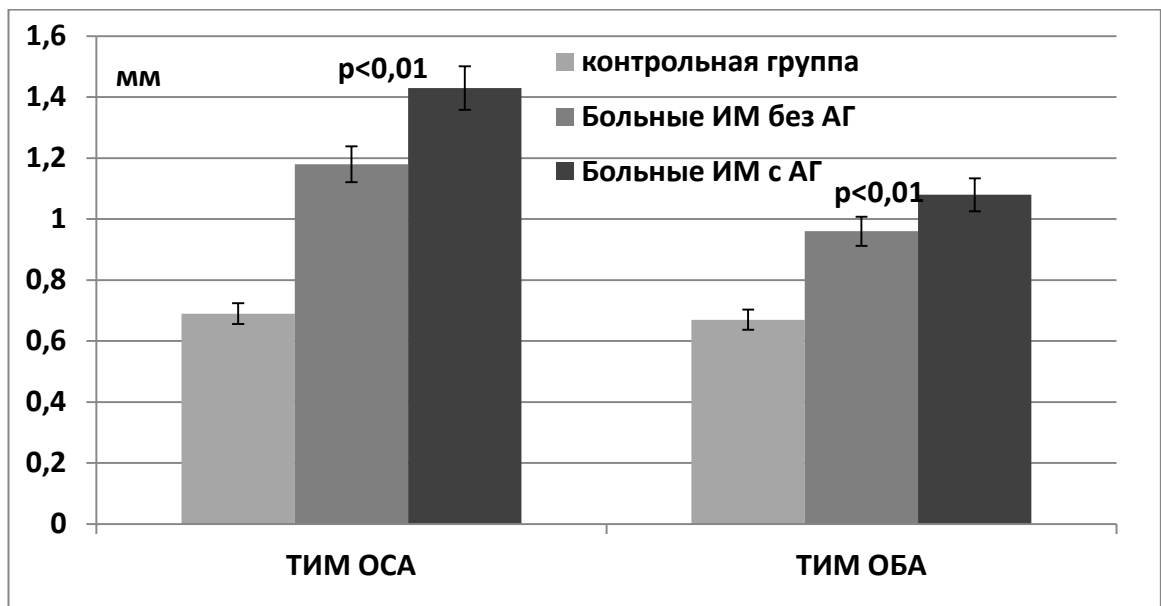


Рисунок 13 – Показатель толщины интима-медиа ОСА и ОБА у больных ИМ в зависимости от наличия АГ

Увеличение ТИМ ОБА было менее выражено, но значимо отличалось от группы сравнения у больных ИМ без АГ ( $0,96 \pm 0,01$  мм при контроле  $0,67 \pm 0,016$  мм), а при сочетании с АГ ТИМ ОБА увеличилась на 70,9% ( $1,09 \pm 0,011$  мм,  $p < 0,01$ ).

Данные структурные изменения стенки сосудов подтверждают о наличии процессов ремоделирования крупных сосудов и о большей степени распространенности раннего атероматозного процесса в артериальном дереве у больных ИМ, где при сочетании острой ишемии с артериальной гипертензией определяется большая подверженность также бедренной артерии к атеросклерозу.

Полученные изменения ТИМ сосудистой стенки могут свидетельствовать о том, что предиктором острых коронарных нарушений становится ремоделирование периферических сосудов с развитием атероматоза.

Для анализа взаимосвязи процессов сердечного и сосудистого ремоделирования больные были разделены на 2 группы: 1 группа – с ТИМ сонных артерий менее 0,9 мм и 2 группа – с ТИМ сонных артерий равным или более 0,9 мм. Результаты ЭхоКГ-исследования продемонстрировали, что у лиц 2-й группы выявлены более выраженные процессы ремоделирования миокарда левого желудочка (ЛЖ), нарушения его диастолической функции.

В пользу этого свидетельствуют высокие значения конечно-диастолического размера (КДР) и диастолической толщины задней стенки ЛЖ (ДТ ЗСЛЖ), а достоверное, в сравнении с 1-й группой, увеличение индекса массы миокарда (ИММЛЖ) в сочетании с относительной толщиной стенок (ОТС) дает основание предположить о формировании у лиц с увеличенным ТИМ концентрической гипертрофии ЛЖ, параллельно с ремоделированием сосудов. У больных 2-й группы обнаружены достоверно высокие показатели, которые характеризуют сократительную способность миокарда (фракция выброса - ФВ и ударный объем - УО), но, выявление у них больших размеров левого предсердия (ЛП) и показателя Е/А говорит о тенденции, в

сравнении с 1-й группой, к формированию диастолической дисфункции ЛЖ (таблица 11).

Таблица 11–Показатели гемодинамики (по данным ЭхоКГ)  
в зависимости от ТИМ ОСА

Показатель	1 гр. КИМ <0,9 (n=21)	2 гр. КИМ ≥0,9 (n=69)
КСР, мм	51,2± 3,5	73,4± 3,7
КДР, мм	58,2± 3,1	74,8± 2,5
КСО, мл	68,2±4,8	81,6±6,0**
КДО, мл	124,6±8,7	138,4±7,7**
ФВ,%	68,2± 3,8	69,8± 5,8**
УО, мл	86,5± 12,9	94,6 ±13,3**
ММЛЖ, гр	165,8± 49,2	208,6± 30,2**
ИММЛЖ, г/ м <sup>2</sup>	109,4±6,5	124,3±8,6**
ДТ МЖП, мм	9,1±1,29	1,03± 1,2**
ДТ ЗСЛЖ, см	8,9± 1,2	1,04 ±1,4*
ЛП, мм	35,8±4,5	39,8±3,2**
Е/А, ед	1,10± 0,16	1,17± 0,11
ОТС, ед	0,34± 0,03	0,38± 0,02**
Корень аорты, см	3,15± 0,24	3,44 ±0,21**

**Примечание:** \*p<0,05;\*\* - p<0,01 - достоверность различий между I и II группами

В ходе проведенного корреляционного анализа между показателями ремоделирования миокарда и толщиной комплекса интима-медиа крупных сосудов была установлена положительная корреляционная связь ТИМ с толщиной задней стенки ЛЖ ( $r=0,56$ ;  $p=0,038$ ), толщиной межжелудочковой перегородки ( $r=0,69$ ;  $p=0,043$ ), а также с величиной левого предсердия ( $r=0,88$ ;  $p=0,041$ ), кроме того, отмечена умеренная отрицательная корреляционная связь с показателям сократимости миокарда - ФВ( $r=-0,52$ ;  $p=0,033$ ).

### **3.2 Анализ проявления системного воспаления по уровню провоспалительных цитокинов, моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1), сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) в сыворотке крови у больных инфарктом миокарда**

Повреждение с участием провоспалительных цитокинов и их рецепторов, моноцитарно-макрофагальных факторов являются частью стрессовой реакции, направленной на восстановление повреждения.

Цитокины активируют клетки-мишени. В числе медиаторов как биомаркеров воспаления обоснованы провоспалительные цитокины (интерлейкины 1 и 6, фактор некроза опухоли - TNF- $\alpha$ ).

С целью изучения цитокинового профиля в развитии ИМ был проведен анализ IL-1,6; TNF- $\alpha$  в первые три дня поступления больных. Результаты исследования показали, что содержание IL-1 $\beta$  как высоко значимого провоспалительного цитокина превышало уровень здоровых лиц в 2,5 раза и составило 28,77(10,6;40,1) пкг/мл (при контроле 10,77 пкг/мл,  $p=0,002$ ). Полученные нами высокие показатели IL-1 $\beta$  в период ишемии миокарда определяют наличие острофазового ответа на повреждение, вероятно, как реакцию иммунной системы на окислительный стресс.

Содержание IL-6 в сыворотке крови было также достоверно выше у больных ИМ (6,36 (3,81;7,12) чем у здоровых (2,15 пкг/мл,  $p=0,032$ ), как быстрофазовый ответ на воспаление.

Уровень TNF- $\alpha$  был также значимо выше у больных ИМ (24,8 (18,6;28,4) пкг/мл по сравнению с контрольной группой 7,58 пкг/мл,  $p=0,01$ ). На рисунке 14 представлены сравнительные значения провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у больных ИМ и здоровых лиц. Выявлена высокая корреляционная зависимость уровня IL-1 $\beta$  с уровнем КФКМВ ( $r=0,48$ ;  $p=0,01$ ).

О выраженной активности воспалительного процесса при ИМ свидетельствуют корреляционные связи IL-6 и IL-1 $\beta$  ( $r=0,56$ ;  $p=0,048$ ).

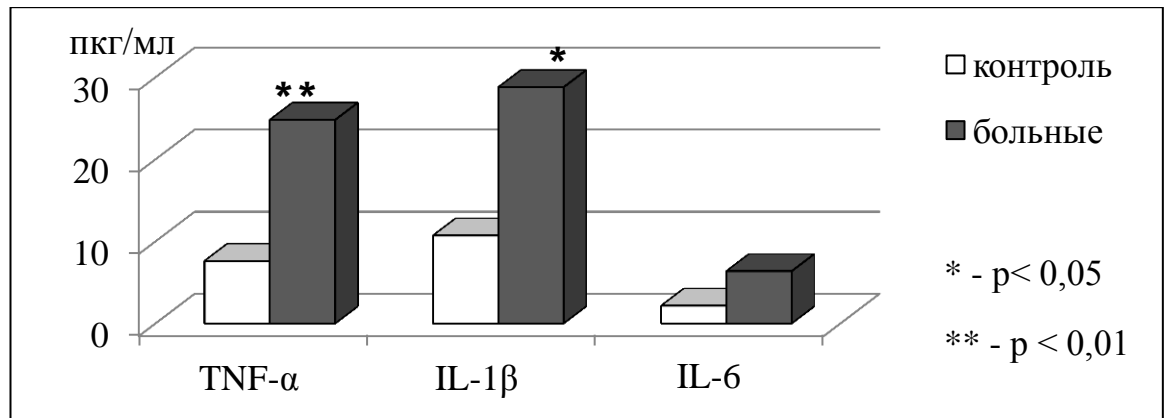


Рисунок 14– Уровни провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у больных ИМ

Вероятно, повышение способности клеток к продукции провоспалительных цитокинов у больных острым инфарктом миокарда является отражением высокой активности острого воспаления, а гиперпродукция цитокинов у пациентов ИМ отражает прогрессирование постгипоксической тканевой воспалительной реакции. Вероятно, гиперпродукция IL-6 и IL-1 $\beta$  может увеличивать риск неблагоприятного исхода у пациентов ИМ, а повышение концентрации IL-1 $\beta$  у больных ИМ ассоциировалось с увеличением уровня ХС ЛПНП в плазме крови как усиление свободнорадикальных реакций. Получена высокая корреляционная связь между уровнем ХСЛПНП и показателями провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  ( $r=0,88$ ;  $p=0,01$ ) и IL-6 ( $r=0,98$ ;  $p=0,001$ ) и обратная с уровнем лимфоцитов ( $r= - 0,63$ ;  $p=0,032$ ).

Наши результаты позволяют предположить, что при ИМ имеют место механизмы, снижающие самосохранение через понижение активации лимфоцитов.

Ряд многочисленных исследований также подтвердили повышенные значения провоспалительных цитокинов и низкие концентрации противовоспалительных цитокинов при ИМ [21,23,39,247].

Если концентрация цитокинов в сыворотке крови в норме незначительна и повышается только при патологических состояниях, то полученный рядом авторов низкий суммарный уровень IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  у больных Q-

образующим ИМ может быть расценен как маркер крайне тяжелого течения заболевания и указывает на неблагоприятный прогноз [21,112].

Установлен разброс в содержании иммуноферментов VEGF и MCP-1 у больных ИМ. Агрегация кровяных пластинок сопровождается высвобождением фактора роста эндотелия сосудов VEGF, где его экспрессия усиливается под влиянием гипоксии, повышение ЛПНП, накопление цитокинов.

Повышение VEGF становится важным фактором гиперкоагуляции и ангиогенеза. Нами выявлено его повышение у больных ИМ по отношению к группе контроля (таблица 12). Нами изучился уровень фактора VEGF у больных ИМ в зависимости от наличия АГ.

Таблица 12– Содержание VEGF в сыворотке крови у больных ИМ

Показатели	N	Mean	Confid -95%	Confid +95%	Media	Min	Max	Q <sub>1</sub>	Q <sub>3</sub>
Контроль (0)	20	83,34	31,10	138,75	51,05	0,00	273,18	0,00	161,01
ИМ без АГ (1)	34	223,7	13,76	228,18	132,42	16,1	442,48	74,02	219,64
ИМ с АГ (2)	56	265,8	107,90	468,72	161,70	21,6	654,26	112,68	382,49
P <sub>1-0</sub>		0,038							
P <sub>2-0</sub>		0,001							

У больных ИМ без АГ отмечено значимое повышение VEGF до  $223,7 \pm 25,89$  пг/мл ( $p=0,001$ ), но на 30,9% ниже уровня больных ИМ с АГ. При наличии АГ уровень ростового фактора увеличивается до  $265,8 \pm 27,68$  пг/мл, превышая группу сравнения в 3 раза ( $p=0,001$ ). Среди цитокинов фактор роста эндотелия VEGF имеет наибольший ангиогенную активность, а его повышенный уровень подтверждает активность воспалительного процесса, а также деструктивные нарушения. Выработка VEGF стимулируется IL-6, что подтверждается корреляционными связями IL-6 с VEGF ( $r=0,58$ ;  $p=0,028$ ). Кроме того, VEGF способствует миграции воспалительных клеток в сосуди-



стом русле, активацию эндотелиальных клеток и их продукцию путем усиления экспрессии молекул клеточной адгезии ICAM-1 в эндотелии [274].

Моноцитарно-макрофагальный белок MCP-1 определяет иммунорегулирующее действие при воспалении повышением количества моноцитов/макрофагов, нейтрофилов. Увеличенные плазменные концентрации MCP-1 при ИМ является маркером защиты иммунной системы. Получен большой разброс экспрессии MCP-1 в группах изучаемых больных (таблица 13).

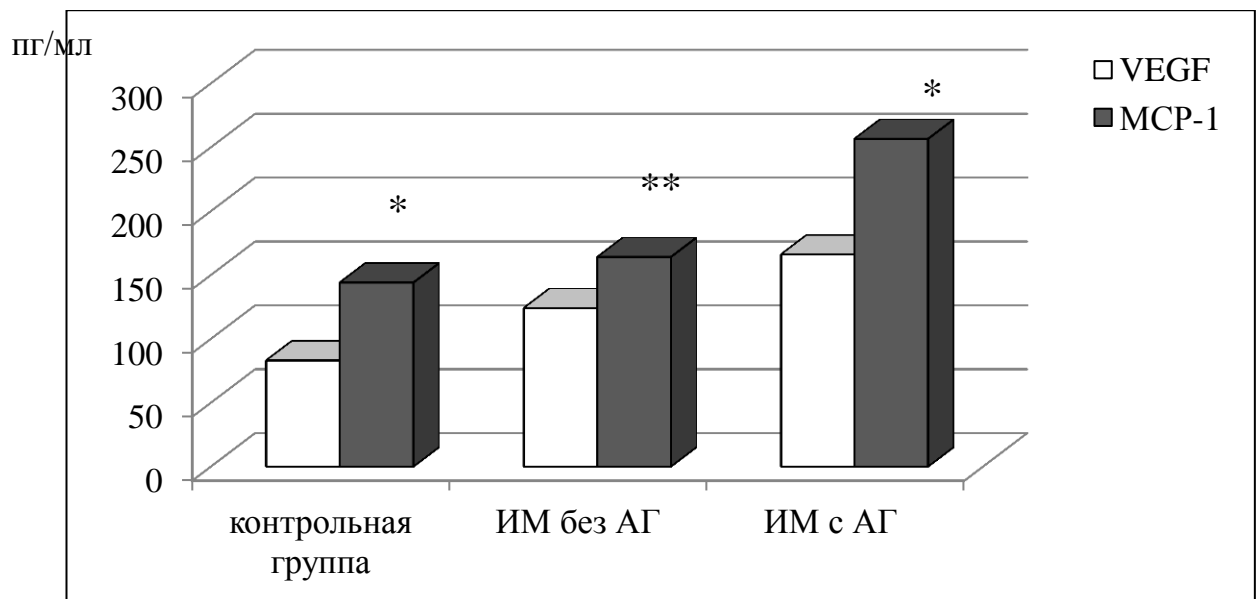
Таблица 13– Содержание MCP-1 в сыворотке крови у больных ИМ

Показатели	N	Mean	Confid -95%	Confid +95%	Media	Min	Max	Q <sub>1</sub>	Q <sub>3</sub>
Сравнение (0)	20	143,73	45,8	240,8	110,62	-10,97	273,23	40,71	164,32
ИМ без АГ (1)	34	163,85	68,9	269,8	128,56	42,38	249,72	53,89	194,43
ИМ с АГ (2)	56	256,49	157,1	328,7	212,57	74,26	418,06	176,2	392,00
P <sub>1-0</sub>		0,68							
P <sub>2-0</sub>		0,025							

Хотя получен разброс показателей MCP-1 в изучаемых группах, однако, значимое увеличение уровня MCP-1 выявлено только у больных ИМ с АГ (256,49±51,49 пг/мл, p=0,025). У больных ИМ без АГ наблюдались более низкие значения уровня MCP-1 (163,85±78,12 пг/мл, p=0,68), однако его содержание было выше группы сравнения.

В целом, нами отмечено нарастание фактора MCP-1, значимое при наличии АГ и превышало на 37% больных ИМ без АГ, что, вероятно, направлено на блокирование действия противовоспалительных цитокинов с

усилением иммунного воспаления в эндотелии. Это подтверждает участие иммунной системы в патогенезе ИМ с напряжением Т-клеточного звена. Полученные данные свидетельствуют о возможности участия MCP-1 в иммуногенезе ИМ в качестве белка острой фазы достоверно при наличии АГ. Значимое нарастание активности иммуноферментов с достаточно высоким и достоверным уровнем VEGF определяют значимость этого показателя под влиянием ангиогенных факторов, что выделяет его как маркера гиперкоагуляции и ангиогенеза с образованием дополнительных сосудов вследствие развития эндотелиальной дисфункции. Повышение активности моноцитранохемотаксического белка MCP-1 значимо у больных ИМ с АГ и вероятно определяет его иммунорегулирующее действие с развитием локального воспаления в зоне ишемии (рисунок 15).



**Примечание:** достоверность различий с контрольной группой: \*-  $p < 0,05$ ;  
\*\*-  $p < 0,01$

Рисунок 15 – Содержание моноцитарно-макрофагальных факторов у больных инфарктом миокарда

Таким образом, у больных ИМ иммунная система характеризуется нарушением цитокиновой регуляции с активацией продуктов острого воспаления (IL-1 $\beta$ , IL-6), повышением содержания VEGF как активатора агрегации тромбоцитов и ангиогенеза сосудистого русла. Это свидетельствует об им-

мунном реагировании, что проявляется активацией первой линии защиты с повышением количества лейкоцитов, цитокинов и концентрации VEGF в периферической крови.

### 3.3 Изучение морфогенеза и клеточного гомеостаза по анализу содержания компонентов апоптоза при инфаркте миокарда

Ведущую роль в повреждении кардиомиоцитов, наступлении их апоптоза или гибернации играет воспаление. Апоптоз определяется как генетически запрограммированная форма гибели клетки, обеспечивающей в организме клеточный гомеостаз.

Основной молекулой, опосредующей апоптоз, является ассоциированный с клеточной мембраной Fas-рецептор (CD95), определяющий опосредованный апоптоз лимфоцитов как важнейший механизм иммунного гомеостаза, а TNF- $\alpha$  можно рассматривать, как регулятор апоптоза [133].

Определенную роль отводят интерлейкинам, как воспалительным цитокинам, влияющим на активность программированной гибели лимфоцитов.

Таблица 14– Количество 1- и 2-нитевых разрывов ДНК

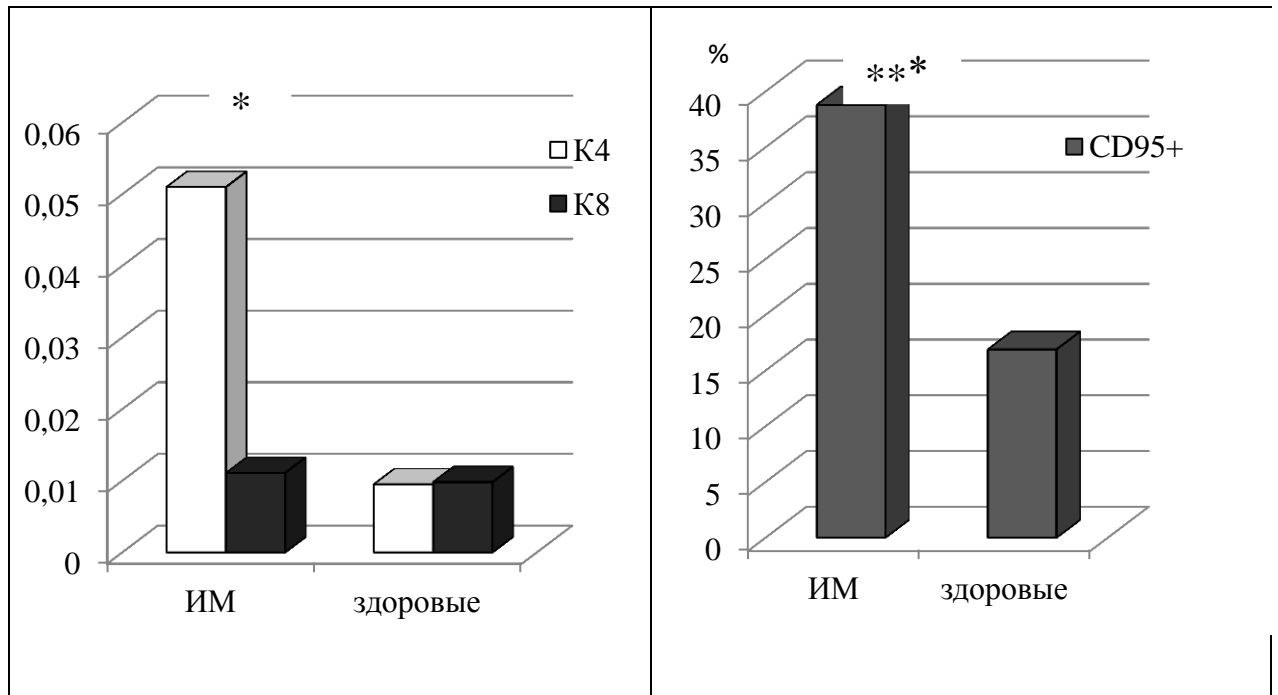
	Флуоресценция ДНК-прочных красителей	
	EtBr	DAPI
Больные ИМ	5,78 (3,9;6,8)**	30,40 (20,6;34,2)*
Здоровые	5,20 (4,0;5,18)	28,02 (26,0;29,1)

**Примечание:** достоверность различий со здоровыми \*-  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; EtBr – этидиумбромид; DAPI – 4,6 диамидин -2-фенилиндола

Активность апоптоза изучалась по показателям спонтанного апоптоза по содержанию CD95+ лимфоцитов, количеству 1- и 2-нитевых разрывов ДНК и активности каспаз (K4, K8). Показатели CD95+ лимфоцитов крови выявили статистически значимое повышение их содержания у больных ИМ до 38,84% (28,4;43,6% по отношению к контролю 16,9%,  $p = 0,024$ ), что определяет вы-

сокую готовность кардиомиоцитов к апоптозу. Реакция апоптоза оказалась также выше по количеству 1- и 2-нитевых разрывов ДНК (таблица 14).

Наряду со значимым разрывом ДНК у больных инфарктом миокарда выявлена высокая активность каспаз (рисунок 12).



**Примечание:** достоверность различий с контрольной группой: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$

Рисунок 16 – Активность компонентов апоптоза в исследуемых группах

Анализ полученных результатов выявил статистически значимое увеличение содержания CD95+(Fas) лимфоцитов у больных ИМ в 2,3 раза, высокую активность каспаз (K4 и K8) по отношению к здоровым лицам и значимое увеличение количества 1- и 2-нитевых разрывов ДНК.

Это позволяет предполагать, что выявлена повышенная апоптотическая реактивность лимфоцитов периферической крови при ИМ, что отражено нарушением Fas-зависимого апоптоза и связано с достаточно повышенной плазменной концентрацией растворимого Fas-рецептора, вероятно, определяя один из механизмов развития ИМ.

Повышение CD95+ лимфоцитов и нарастание активации клетки, согласно нашим результатам, свидетельствует о повышенной готовности лимфоцитов к апоптозу с активацией программированной гибели клеток. Высокие по-

казатели K4 объясняются ролью K4 как активатора цитокинов и участием в реализации провоспалительного эффекта. Это подтверждается корреляционной связью K4 с IL-6 ( $r=0,68$ ;  $p=0,002$ ). Активация K8 предполагает значение запрограммированной клеточной гибели в развитии заболевания. Отмечена положительная корреляция уровня K8 с СРБ ( $r=0,64$ ;  $p=0,001$ ), болевым синдромом ( $r=0,48$ ;  $p=0,038$ ), однако связь активности K8 с количеством разрывов ДНК оказалась ниже (5,38-29,14).

Вероятно, достоверное повышение количества разрывов ДНК при ИМ связано с повреждением молекул ДНК активными формами кислорода, приводящих к накоплению однонитевых и двунитевых разрывов, укорочение длины нитей в хромосомах клеток при ИМ можно рассматривать как непосредственное проявление старения клеток. Вероятно, достоверное повышение количества разрывов ДНК при ИМ связано с повреждением молекул ДНК активными формами кислорода, приводящих к накоплению однонитевых и двунитевых разрывов, а снижение длины нитей в хромосомах клеток при ИМ можно рассматривать как непосредственное проявление старения клеток [16,200]. Отмечена слабая положительная корреляция CD95+(Fas) с K8 ( $p=0,054$ ).

На основании полученных данных можно отметить, что у больных ИМ имеется более интенсивный апоптоз лимфоцитов периферической крови, определяемый повышением количества 1-нитевых и 2-нитевых разрывов ДНК, более высокой активностью CD95+(Fas) лимфоцитов, каспаз 1 и 8, как активатора провоспалительных цитокинов.

### **3.4 Генетические локусы эндотелиальной дисфункции у больных инфарктом миокарда**

Полногеномные поиски ассоциаций (GWAS) позволили получить данные в области идентификации генетических локусов, ассоциированных с

сердечно-сосудистыми заболеваниями. По данным сетевого анализа, ведущими ключевыми биологическими путями наследования риска ИБС являются метаболизм липидов и воспаление [225]. Эти локусы могут стать ключом к пониманию механизмов наследования повышенного риска ИБС. В диссертационной работе Г.Х. Туляковой был установлен повышенный риск развития крупноочагового ИМ у носителей генотипов провоспалительных цитокинов генов TNF- $\alpha$ , IL-10 и IL-6, что позволяет предполагать участие цитокинов в генетической предрасположенности к развитию ИМ [106]. Изучение генетических маркеров тромбоэмболических осложнений системы гемостаза послужит ключом в понимании неизвестных в настоящее время механизмов наследования повышенного риска ИБС [193].

### **3.4.1 Анализ ассоциаций частот генотипов и аллелей по полиморфизму генов молекул адгезии VCAM1 и селектина Р с инфарктом миокарда**

Результат сравнительного анализа распределения частот генотипов и аллелей полиморфного локуса S290N(rs6131) гена *SELP* среди больных ИМ и контрольной группы представленный в таблице 15 показал, что частоты генотипов и аллелей гена *SELP* у больных с ИМ и в контрольной группе практически совпадают.

Согласно данным литературы, среди жителей Австрии, носителей гаплотипа \*C/\*A(N)/\*G/\*A (rs1800807/rs6131/rs6127/rs6136), выявлен более высокий уровень sSELP в сравнении с референтным гаплотипом \*C/\*G(S)/\*G/\*A [205].

В США в большом мультицентровом исследовании продемонстрирована этническая гетерогенность по отношению к роли *SELP* в развитии ИБС: взаимосвязь уровня sSELP и частот случаев ИБС на протяжении 10 лет, при этом, для латино-американцев риск ИБС повышался на 90%, для американ-

цев выходцев из Западной и северо-западной Европы – 81%, американцев выходцев из Китая – 37%, для афро-американцев – 0% [262].

В целом, представленные данные свидетельствуют что полиморфный локус S290N может играть определенную роль в развитии ИМ. В настоящем исследовании данных, подтверждающих эту гипотезу, получено не было, вероятно, эффект данного полиморфного локуса может проявляться лишь на фоне дополнительных средовых или генетических факторов.

Таблица 15– Результаты анализа ассоциаций полиморфного локуса S290N гена *SELP* с ИМ

Показатель		Контроль		Больные		P
		n	$p \pm s_p$ CI (%)	n	$p \pm s_p$ CI (%)	
Генотип	*S/*S	28	$3,87 \pm 0,72$ 2,59 - 5,55	19	$2,70 \pm 0,61$ 1,63 - 4,18	0,237
	*S/*N	245	$33,89 \pm 1,76$ 30,44 - 37,47	254	$36,03 \pm 1,81$ 32,48 - 39,7	0,405
	*N/*N	450	$62,24 \pm 1,80$ 58,59 - 65,79	432	$61,28 \pm 1,83$ 57,57 - 64,89	0,744
Аллель	*S	301	$20,82 \pm 1,07$ 18,75 - 23,00	292	$20,71 \pm 1,08$ 18,62 - 22,92	0,963
	*N	1145	$79,18 \pm 1,07$ 77,00 - 81,25	1118	$79,29 \pm 1,08$ 77,08 - 81,38	0,963

Здесь и далее: P- тест Фишера

Полученные в результате проведенного исследования оценки частот аллелей и генотипов по полиморфному участку rs3917010 (с.928+420A>C) гена *VCAM1* в выборках больных ИМ и здоровых лиц представлены в таблице 16.

Согласно, полученных данных, в группе больных, перенесших ИМ, по сравнению с соответствующей контрольной группой повышена частота генотипа *VCAM1*\*A/\*C (47,11 и 39,57% соответственно,  $P=0,006$ ,  $OR=1,36$ ,  $CI_{OR}$ : 1,09-1,7) и понижена частота генотипа *VCAM1*\*A/\*A (46,01 и 52,65% соответственно,  $P=0,018$ ,  $OR=0,77$ ,  $CI_{OR}$ : 0,62-0,96).

VCAM1 участвует в патогенезе ранних этапов атеросклероза, путем привлечения моноцитов и Т-лимфоцитов в интиму артерий, кроме того доказана экспрессия этого иммуноглобулина в атеросклеротической бляшке, что способствует неоваскуляризации и прогрессированию атеросклероза [233].

Таблица 16 – Результаты анализа ассоциаций полиморфного локуса с.928+420A>C гена *VCAM1* с ИМ

Показатель		Контроль		Больные		P
		n	p±s <sub>p</sub> CI (%)	n	p±s <sub>p</sub> CI (%)	
Генотип	*A/*A	318	52,65±2,03 48,58 - 56,69	311	46,01±1,92 42,20 - 49,85	0,018
	*A/*C	239	39,57±1,99 35,65 - 43,60	319	47,19±1,92 43,37 - 51,03	0,006
	*C/*C	47	7,78±1,09 5,77 - 10,21	46	6,80±0,97 5,02 - 8,97	0,519
Аллель	*A	875	72,43±1,29 69,82 - 74,94	941	69,6±1,25 67,07 - 72,04	0,117
	*C	333	27,57±1,29 25,06 - 30,18	411	30,4±1,25 27,96 - 32,93	0,117

Согласно, полученных данных, в группе больных, перенесших ИМ, по сравнению с соответствующей контрольной группой повышена частота генотипа *VCAM1*\*A/\*C (47,11 и 39,57% соответственно, P=0,006, OR=1,36, CI<sub>OR</sub>: 1,09-1,7) и понижена частота генотипа *VCAM1*\*A/\*A (46,01 и 52,65% соответственно, P=0,018, OR=0,77, CI<sub>OR</sub>: 0,62-0,96).

Как показал анализ литературы, убедительных данных относительно ассоциаций SNP гена *VCAM1* с ССЗ у человека нет. В исследовании MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis, European Americans, African Americans, Hispanic, Chinese) был проведен анализ ассоциаций с уровнем sICAM-1, атеросклерозом коронарных артерий 17 SNP гена *VCAM1*, в том числе rs3917010. Не было выявлено каких-либо ассоциаций [265]. Однако, выявлена ассоциация rs3917010 с маркера воспаления и ожирением [315]. Данные о



вкладе полиморфного локуса rs3917010 в возникновении каких-либо заболеваний незначительны, к тому же и они носят противоречивый характер.

Таким образом, маркером повышенного риска развития ИМ является генотип *VCAM1*\*A/\*C, а протективным маркером - является генотип *VCAM1*\*A/\*A.

### **3.4.2 Анализ ассоциаций частот генотипов и аллелей по полиморфизму генов хемокинов *CCL2* и *VEGFA* с инфарктом миокарда**

Одним из основных факторов развития эндотелиальной дисфункции становится локальное иммунное воспаление с развитием ангиогенеза. Т-лимфоциты и макрофаги запускают апоптоз клеток эндотелия, увеличивают концентрацию провоспалительных цитокинов, активность молекул адгезии (*VCAM1*, селектины). Сосудистый эндотелиальный фактор роста (*VEGF*) блокирует апоптоз эндотелиальных клеток, увеличивает проницаемость сосудов, стимулирует секрецию фактора Виллебранда [280,307]. Ведущий фактор ангиогенеза *VEGF* высвобождается при гипоксии, повышается при развитии эндотелиальной дисфункции и становится маркером ангиогенеза и гиперкоагуляции.

Результаты анализа ассоциаций полиморфного локуса -2549(18)I/D (rs34357231) гена *VEGFA* с ИМ представлены в таблице 17. У больных ИМ, по сравнению с контрольной группой статистически достоверно понижены частоты генотипа *VEGFA*\*D/\*D (22,55% и 29,74% соответственно,  $P=0.002$ ,  $OR=0,69$ ,  $CI_{OR}0,55-0,87$ ) и аллеля *VEGFA*\*D (50,21% и 55,52% соответственно,  $P=0,004$ ,  $OR=0,81$ ,  $CI_{OR}0,7-0,94$ ), кроме того, в группе больных ИМ в отличие от контрольной группы наблюдается статистически значимое повышение частоты аллеля *VEGFA*\*I (49,79% и 44,48% соответственно,  $P=0,004$ ,  $OR=1,24$ ,  $CI_{OR}1,07-1,43$ ).

Согласно литературным данным, аллель *VEGFA*\*I -2549(18)I/D полиморфизма гена *VEGFA* ассоциирован с повышенным риском осложнений ре-

троперитонеального фиброза и является одним из ключевых регуляторов ангиогенеза [299]. Он действует селективно на сосудистый эндотелий, увеличивая его проницаемость, а также индуцирует клеточную миграцию и деление, способствует миграции макрофагов – одного из критических событий атеросклеротического поражения сосудов.

Таблица 17 – Результаты анализа ассоциаций полиморфного локуса –2549(18)I/D гена *VEGFA* с ИМ

Показатель		Контроль		Больные		P
		n	p±s <sub>p</sub> CI (%)	n	p±s <sub>p</sub> CI (%)	
Генотип	*I/*I	139	18,71±1,43 15,97 - 21,70	158	22,13±1,55 19,13 - 25,36	0,118
	*I/*D	383	51,55±1,83 47,89 - 55,20	395	55,32±1,86 51,59 - 59,01	0,156
	*D/*D	221	29,74±1,68 26,48 - 33,17	161	22,55±1,56 19,53 - 25,79	0,002
Аллель	*I	661	44,48±1,29 41,93 - 47,05	711	49,79±1,32 47,16 - 52,42	0,004
	*D	825	55,52±1,29 52,95 - 58,07	717	50,21±1,32 47,58 - 52,84	0,004

Приведённые данные вместе с нашими результатами дают основание предположить, что аллель *VEGFA*\*I ассоциирован с более высокой экспрессией гена *VEGFA* в клетках эндотелия сосудов.

Согласно результатам полногеномного исследования эффектами четырех SNP (rs6921438, rs4416670, rs6993770, andrs10738760) объясняется до 50% вариабельности уровня *VEGFA* в плазме крови [123].

В соответствие с результатами ряда исследований можно признать, что полиморфизм в промоторной области гена *VEGFA* вносит вклад в формирование предрасположенности к различным заболеваниям, в том числе к ИБС и ИМ [8,135,157,168,308]. В частности установлено, что SNP rs699947 (-2578A>C), тесно сцепленный с SNP rs34357231 (-2549I/D) ассоциирован с

ИБС и ИМ при курении независимо от таких факторов риска как возраст, пол, гипертензия, диабет, содержание С-реактивного белка, холестерина [166]. Существует точка зрения, что в основе наблюдаемых ассоциаций лежит влияние генетического полиморфизма на уровень экспрессии VEGFA [99].

Таким образом, протективным маркером развития ИМ является генотип *VEGFA*\*D/\*D и аллель *VEGFA*\*D, а предрасполагающим развитию ИМ является аллель *VEGFA*\*I.

Моноцитарно-хемотаксический протеин (MCP-1) определяет степень локального воспаления в развитии эндотелиальной дисфункции. Уровень MCP-1 провоцируется многими типами клеток, включая эндотелиальные, его синтез индуцируется цитокинами TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , INF- $\gamma$ , IL-6, IL-4 и играет важную роль, где характерна инфильтрация мононуклеарных клеток, включая атеросклероз.

Нами не получено достоверного повышения MCP-1 при ИМ, но его значимость не уменьшается в развитии эндотелиальной дисфункции.

Сравнительный анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфного локуса -2518A>G(rs1024611) гена *CCL2* в группах больных ИМ и соответствующей контрольной группой представлен в таблице 18.

У больных ИМ, по сравнению с контрольной группой статистически значимо повышена частота генотипа *CCL2*\*G/\*G (9,97% и 5,9% соответственно, P=0,008, OR=1,77, CI<sub>OR</sub>1,17-2,69), а также повышена частота аллеля *CCL2*\*G (29,56% и 25,74% соответственно, P=0,032, OR=1,21, CI<sub>OR</sub>1,02-1,44) и понижена частота аллеля *CCL2*\*A (70,44% и 74,26% соответственно, P=0,032, OR=0,83, CI<sub>OR</sub>0,70-0,99).

Роль хемокина *CCL2* в развитии атеросклероза подтверждена в опытах на модельных животных: у мышей с нокаутированным геном *CCL2* менее выражены атеросклеротические повреждения сосудов [316].

Таблица 18 – Результаты анализа ассоциаций полиморфного локуса – 2518A>G гена *CCL2* с ИМ

Показатель		Контроль		Больные		P
		n	$p \pm s_p$ CI (%)	n	$p \pm s_p$ CI (%)	
Генотип	*A/*A	332	54,43±2,02 50,38 - 58,43	357	50,85±1,89 47,09 - 54,61	0,203
	*A/*G	242	39,67±1,98 35,77 - 43,68	275	39,17±1,84 35,54 - 42,9	0,865
	*G/*G	36	5,90±0,95 4,17 - 8,08	70	9,97±1,13 7,86 - 12,43	0,008
Аллель	*A	906	74,26±1,25 71,71 - 76,7	989	70,44±1,22 67,98 - 72,82	0,032
	*G	314	25,74±1,25 23,30 - 28,29	415	29,56±1,22 27,18 - 32,02	0,032

По данным исследования D.H. McDermott et al., у носителей генотипа *CCL2\*G/G* в отличие от носителей других генотипов выявлено более высокое содержанием хемокина *CCL2* в плазме крови [161].

В то же время, в работе M.H.T. Pham et al. обнаружено, что *in vitro* у носителей *CCL2\*G* содержание *CCL2* в плазме крови экспрессия гена сравнительно выше, чем у носителей аллеля *CCL2\*A* [296].

Найдена ассоциация аллеля *CCL2\*G* с гипертонией в популяциях жителей Туниса [136], у лиц с безболевым ишемией миокарда, ИМ и ИБС в Словакии [290], ишемическим инсультом в Армении [278].

Таким образом, полученный нами результат (ассоциация SNPrs1024611 гена *CCL2* с ИМ) согласуется с результатами других исследований.

Таким образом, маркером повышенного риска ИМ является генотип *CCL2\*G/\*G* и аллель *CCL2\*G*/, а протективным маркером – аллель *CCL2\*A*.

### 3.4.3 Анализ ассоциаций частот генотипов и аллелей по полиморфизму генов эндотелиальной синтазы оксида азота (NOS3) и гена *DDAH1* с инфарктом миокарда

Результаты анализа ассоциаций полиморфного маркера E298D гена *NOS3* с ИМ представлены в таблице 19. В группе больных ИМ генотипы *NOS3\*E/\*E*, *NOS3\*E/\*D* и *NOS3\*D/\*D* обнаружены с частотами 50,7, 42,33 и 6,97%, аллели *NOS3\*E* и *NOS3\*D* – с частотами 71,86 и 28,14 %. В контрольной группе, перечисленные генотипы выявлены соответственно с частотами 54,62, 38,15 и 7,23%, аллели с частотами 73,7 и 26,3%.

Таблица 19– Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного локуса E298D гена *NOS3* в группе контроля и больных ИМ

Показатель		Контроль		Больные		P
		n	p±s <sub>p</sub> CI (%)	n	p±s <sub>p</sub> CI (%)	
Генотип	*E/*E	325	54,62±2,04 50,52 - 58,67	291	50,7±2,09 46,53 - 54,86	0,197
	*E/D*	227	38,15±1,99 34,23 - 42,19	243	42,33±2,06 38,25 - 46,49	0,153
	*D/*D	43	7,23±1,06 5,28 - 9,61	40	6,97±1,06 5,02 - 9,37	0,909
Аллель	*E	877	73,70±1,28 71,1 - 76,18	825	71,86±1,33 69,17 - 74,45	0,329
	*D	313	26,30±1,28 23,82 - 28,9	323	28,14±1,33 25,55 - 30,83	0,3291

У больными ИМ, по сравнению с контрольной группой статистически достоверных различий частот генотипов и аллелей не найдено.

*NOS3* постоянно экспрессируется в клетках эндотелия сосудов, за счет активности этого фермента снижается тонус сосудов, а делеция этого гена ведет к повышению АД, также *NOS3* опосредованно препятствует агрегации тромбоцитов, снижает экспрессию гена *CCL2* [183].

Генотип *NOS3*\*D/\*D полиморфного локуса rs1799983 ассоциирован с повышенным риском ИБС среди египтян [129], с АГ у жителей Восточной Африки [141]. Связь этого же генотипа с ИБС подтверждена результатами мета-анализа 60 работ, куда вошли исследования, проведённые в Европе, среднем Востоке, Азии, Африки [138,290]. В то же время, в работе Carreras-R. Torres на выборке из 2165 больных с ИМ и 2153 – контрольной группы, собранной из 34 общеевропейских популяций показана ассоциация генотипа *NOS3*\*E/\*E с повышенным риском ИМ [191].

Результаты анализа ассоциаций полиморфного локуса с.303+30998A>G гена *DDAH1* с ИМ представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Результаты анализа ассоциаций полиморфного локуса с.303+30998A>G гена *DDAH1* с ИМ

Показатель		Контроль		Больные		P
		n	p±s <sub>p</sub> CI (%)	n	p±s <sub>p</sub> CI (%)	
Генотип	*T/*T	205	34,22±1,94 30,43 - 38,18	239	41,21±2,04 37,17 - 45,34	0,014
	*T/*C	284	47,41±2,04 43,35 - 51,50	247	42,59±2,05 38,52 - 46,73	0,101
	*C/*C	110	18,36±1,58 15,34 - 21,70	94	16,21±1,53 13,30 - 19,46	0,355
Аллель	*T	694	57,93±1,43 55,08 - 60,74	725	62,50±1,42 59,64 - 65,29	0,025
	*C	504	42,07±1,43 39,26 - 44,92	435	37,50±1,42 34,71 - 40,36	0,025

У больных ИМ, по сравнению с контрольной группой статистически значимо увеличена частота генотипа *DDAH1*\*T/\*T (41,21% и 34,22% соответственно, P=0,014, OR=1,35, CI<sub>OR</sub>1,07-1,71) и аллеля *DDAH1*\*T (62,5 и 57,93 % соответственно, P=0,025, OR=1,21, CI<sub>OR</sub>1,03-1,43), однако, наблюдается достоверное снижение частоты аллеля *DDAH1*\*C (37,5 и 42,07 % соответственно, P=0,025, OR=0,83, CI<sub>OR</sub>0,70-0,98).

DDAH1 осуществляет деградацию эндогенного ингибитора синтаз оксида азота – ADMA, а повышенная экспрессия гена *DDAH1* тормозит развитие атеросклероза и улучшает функциональное состояние эндотелия сосудов, через снижение уровня ADMA. Нокаут гена *DDAH1* снижает экспрессию гена VEGF, останавливает деление эндотелиальных клеток [171, 276]. Согласно результатам исследований аллель *DDAH1*\*Т полиморфного локуса rs669173 ассоциирован более высоким содержанием ADMA в плазме крови среди больных сахарным диабетом типа 2 у австралийцев [277] и среди жителей Швеции в возрасте 70 лет [192]. Таким образом, можно предположить, что у носителей аллеля *DDAH1*\*Т более высокий уровень ADMA, который является эндогенным ингибитором синтаз NO– протективных факторов в отношении ИМ.

Следовательно, маркером повышенного риска развития ИМ является генотип *DDAH1*\*Т/\*Т и аллель *DDAH1*\*Т, а протективным маркером развития ИМ выявлен аллель *DDAH1*\*С.

Оценки генетического риска, включающие известную генетическую информацию для изучения ассоциаций между различными липидными признаками и ИБС, уже использовались для обоснования степени вариабельности уровня липидного спектра с частыми генетическими вариантами с включением в лечение статинов. Была подтверждена взаимосвязь липопротеидов низкой плотности, триглицеридов и липопротеина (а) с ИБС, относительный и абсолютный клинический эффект терапии статинами был максимален у лиц с наиболее высоким бременем генетического риска [193].

Результаты наших генетических исследований установили вклад частоты аллеля *VEGFA*\*I с более высокой экспрессией гена *VEGFA*, как маркера ангиогенеза и гиперкоагуляции, а генотипа *DDAH1*\*Т/\*Т и аллеля *DDAH1*\*Т как эндогенного ингибитора синтаз NO. Повышенные частоты генотипов *VCAM1*\*А/\*С, *CCL2*\*G/\*G и аллеля *CCL2*\*G у больных ИМ, подтверждают прогрессирование атеросклероза коронарных артерий у носителей данных

генотипов и аллелей, путем привлечения иммунокомпетентных клеток в стенку артерий. Риск развития ИМ повышен у носителей генотипов и аллелей: *VCAM1*\*A/\*C, *VEGFA*\*D, *CCL2*\*G/\*G, *CCL2*\*G, *DDAH1*\*T/\*T и *DDAH1*\*T, а понижен у носителей генотипов и аллелей: *VCAM1*\*A/\*A, *CCL2*\*A, *VEGFA*\*D/\*D, *VEGFA*\*D и *DDAH1*\*C, что позволит идентифицировать с частыми генетическими вариантами.

#### **3.4.4 Анализ ассоциаций генотипов и аллелей полиморфных ДНК локусов с инфарктом миокарда в зависимости от наличия артериальной гипертонии**

Благодаря методам генетического анализа, таких, как генеалогический, близнецовый, изучение модельных объектов, а также, молекулярно – генетический анализ генома стало возможным оценить роль генетических факторов в развитии артериальной гипертонии. Изучение ключевых моментов во взаимодействии и проявлении средовых факторов и ген-кандидатов предрасположенности к АГ позволит разработать эффективную стратегию для лечения и профилактики данной нозологии. Ген-кандидат – это «ген, экспрессирующий белок, который в свою очередь вносит вклад в патофизиологию интересующей нозологии». Поэтому, зная патогенез заболевания, можно выбирать предполагаемые гены-кандидаты, учитывая вклад генетических локусов в их развитие через фенотипические (биохимические) признаки. Следовательно, ключевой момент исследований заключается в верификации предположения о том, что в популяции для данной нозологии могут быть генетические маркеры, которые позволяют определить риск развития заболевания намного раньше до его клинической манифестации.

Нами проведен анализ ассоциаций полиморфных локусов генов молекул адгезии (селектин Р, иммуноглобулин *VCAM1*), хемокина *CCL2* (MCP-1), сосудистого эндотелиального фактора роста (*VEGFA*), ферментов контроли-



рующих содержание NO (NOS3, DDAH1) среди пациентов с учетом наличия или отсутствия АГ в анамнезе.

Сравнительный анализ групп больных ИМ с АГ в анамнезе с контрольной группой показал достоверные различия частот генотипов и аллелей по следующим полиморфным локусам генов: *CCL2*, *VEGFA*, *DDAH1*.

В таблице 21 представлены результаты анализа ассоциаций полиморфного локуса  $-2518A>G$  (rs1024611) гена *CCL2* в группах больных ИМ с наличием АГ в анамнезе и контрольной группой.

Таблица 21 – Результаты анализа ассоциаций полиморфного локуса –  $2518A>G$  гена *CCL2* с ИМ с наличием артериальной гипертонии в анамнезе

Показатель		Контроль		Больные		P
		n	$p \pm s_p$ CI (%)	n	$p \pm s_p$ CI (%)	
Генотип	*A/*A	332	54,43±2,02 50,38 - 58,43	162	2,68±41,34 52,09 – 2,23	0,023
	*A/*G	242	39,67±1,98 35,77 - 43,68	149	42,94±2,66 37,67 – 48,33	0,338
	*G/*G	36	5,90±0,95 4,17 - 8,08	36	10,37±1,64 7,37 – 14,07	0,015
Аллель	*A	906	74,26±1,25 71,71 - 76,70	473	68,16±1,77 64,55 – 71,61	0,005
	*G	314	25,74±1,25 23,30 - 28,29	221	31,84±1,77 28,39 – 35,45	0,005

В группе больных по сравнению с контрольной группой повышена частота генотипа *CCL2*\*G/\*G (10,37% и 5,90% соответственно,  $P=0,015$ ,  $OR=1,85$ ,  $CI_{OR}:1,14-3$ ) и понижена частота генотипа *CCL2*\*A/\*A (2,68% и 54,43% соответственно,  $P=0,023$ ,  $OR=0,73$ ,  $CI_{OR}:0,56-0,95$ ), кроме того, понижена частота аллеля *CCL2*\*A (68,19% и 74,26% соответственно,  $P=0,005$ ,  $OR=0,74$ ,  $CI_{OR}:0,6-0,91$ ) и повышена частота аллеля *CCL2*\*G (31,84% и 25,74% соответственно,  $P=0,005$ ,  $OR=1,35$ ,  $CI_{OR}: 1,1-1,66$ ).

Таким образом, маркерами повышенного риска развития ИМ у лиц с АГ является генотип *CCL2*\*G/\*G и аллель *CCL2*\*G, протективными маркерами – генотип *CCL2*\*A/\*A и аллель *CCL2*\*A.

Статистические оценки частот генотипов и аллелей по полиморфному участку –2549(18)I/D гена *VEGFA* в выборках пациентов с инфарктом миокарда с наличием артериальной гипертонии в анамнезе и здоровых лиц представлены в таблице 22.

Таблица 22 – Результаты анализа ассоциаций полиморфного локуса –2549(18)I/D гена *VEGFA* с ИМ с наличием артериальной гипертонии в анамнезе

Показатель		Контроль		Больные		P
		n	p±s <sub>p</sub> CI (%)	n	p±s <sub>p</sub> CI (%)	
Генотип	*I/*I	139	18,71±1,43 15,97 - 21,70	67	2,10±15,11 23,60 – 0,87	0,878
	*I/*D	383	51,55±1,83 47,89 - 55,20	211	60,11±2,61 54,78 – 65,27	0,009
	*D/*D	221	29,74±1,68 26,48 - 33,17	73	20,80±2,17 16,67 – 25,42	0,001
Аллель	*I	661	44,48±1,29 41,93 - 47,05	345	49,15±1,89 45,39 – 52,91	0,043
	*D	825	55,52±1,29 52,95 - 58,07	357	50,85±1,89 47,09 – 54,61	0,043

В группе больных с контрольной группой существенно повышена частота генотипа *VEGFA*\*I/\*D (60,11% против 51,55% соответственно, P=0,009, OR=1,42, CI<sub>OR</sub>: 1,1-1,84) и аллеля *VEGFA*\*I (49,15% и 44,48% соответственно, P=0,0432, OR=1,21, CI<sub>OR</sub>: 1,01-1,45). Получено, что в контрольной группе в сравнении с больными повышена частота генотипа *VEGFA*\*D/\*D (29,74% против 20,80% соответственно, P=0,043, OR=0,62, CI<sub>OR</sub>: 0,46-0,84) и *VEGFA*\*D (55,52% и 50,85% соответственно, P=0,043, OR=0,83, CI<sub>OR</sub>: 0,69-0,99).

На основании полученных данных следует, что маркером повышенного риска развития ИМ у лиц с АГ в анамнезе являются генотип *VEGFA*\*I/\*D и аллель *VEGFA*\*I, а протективным маркером – генотип *VEGFA*\*D/\*D и аллель *VEGFA*\*D.

Частоты генотипов и аллелей по полиморфному участку с.303+30998A>G гена *DDAH1* с инфарктом миокарда с наличием артериальной гипертонии в анамнезе и контрольной группы представлены в таблице 23.

Таблица 23 – Результаты анализа ассоциаций полиморфного локуса с.303+30998A>G гена *DDAH1* с ИМ с наличием артериальной гипертонии в анамнезе

Показатель		Контроль		Больные		P
		n	p±s <sub>p</sub> CI (%)	n	p±s <sub>p</sub> CI (%)	
Генотип	*T/*T	205	34,22±1,94 30,43 - 38,18	136	37,38±2,78 48,55 – 1,18	0,018
	*T/*C	284	47,41±2,04 43,35 - 51,50	125	39,43±2,74 34,02 – 45,05	0,021
	*C/*C	110	18,36±1,58 15,34 - 21,70	56	17,67±2,14 13,63 – 22,32	0,857
Аллель	*T	694	57,93±1,43 55,08 - 60,74	397	62,62±1,92 58,72 – 66,40	0,057
	*C	504	42,07±1,43 39,26 - 44,92	237	37,38±1,92 33,60 – 41,28	0,057

Сравнительный анализ полученных нами результатов показал, что в выборке больных относительно контрольной группы повышена частота генотипа *DDAH1*\*T/\*T (37,88% и 34,22% соответственно, P=0,018, OR=1,44, CI<sub>OR</sub>: 1,09-1,9) и понижена частота генотипа *DDAH1*\*T/\*C (39,43% и 47,41% соответственно, P=0,021, OR=0,72, CI<sub>OR</sub>: 0,55-0,95).

Таким образом, маркером риска развития ИМ у лиц с наличием АГ является генотип *DDAH1*\*T/\*T, а протективным маркером – генотип *DDAH1*\*T/\*C.

Сравнительный анализ групп больных ИМ без АГ в анамнезе с контрольной группой показал достоверные различия частот генотипов и аллелей по следующим полиморфным локусам генов: *CCL2*, *VEGFA*, *VCAM1*.

Результаты анализа ассоциаций полиморфного локуса–2518A>G гена *CCL2* с инфарктом миокарда без артериальной гипертензии в анамнезе представлены в таблице 24.

Таблица 24 – Результаты анализа ассоциаций полиморфного локуса – 2518A>G гена *CCL2* с ИМ без артериальной гипертензии в анамнезе

Показатель		Контроль		Больные		P
		n	p±s <sub>p</sub> CI (%)	n	p±s <sub>p</sub> CI (%)	
Генотип	*A/*A	332	54,43±2,02 50,38 - 58,43	135	2,99±42,39 54,42 – 9,66	0,096
	*A/*G	242	39,67±1,98 35,77 - 43,68	112	40,14±2,93 34,34 – 46,15	0,941
	*G/*G	36	5,90±0,95 4,17 - 8,08	32	11,47±1,91 7,98 – 15,8	0,006
Аллель	*A	906	74,26±1,25 71,71 - 76,70	382	68,46±1,97 64,42 – 72,3	0,012
	*G	314	25,74±1,25 23,30 - 28,29	176	31,54±1,97 27,7 – 35,58	0,012

В группе больных по сравнению с контрольной группой повышена частота генотипа *CCL2*\*G/\*G (11,47% и 5,90% соответственно, P=0,006, OR=2,07, CI<sub>OR</sub>:1,26 -3,41) и повышена частота аллеля *CCL2*\*G (31,54% и 25,74% соответственно, P=0,012, OR=1,33, CI<sub>OR</sub>:1,07–1,66), однако, понижена частота аллеля *CCL2*\*A (74,26% и 68,46% соответственно, P=0,012, OR=0,75, CI<sub>OR</sub>:.0,6-0,93).

Таким образом, маркером повышенного риска развития ИМ у лиц без АГ в анамнезе является генотип *CCL2*\*G/\*G и аллель *CCL2*\*G, а протективным маркером – аллель *CCL2*\*A.

Сравнительный анализ ассоциаций полиморфного локуса –2549(18)I/D гена *VEGFA* с инфарктом миокарда без артериальной гипертензии в анамнезе

полученных нами результатов показал, что в выборке больных по сравнению с соответствующей контрольной группой понижены частоты генотипа *VEGFA*\*D/\*D (21,83% против 29,74%,  $P=0,012$ ,  $OR=0,66$ ,  $CI_{OR}$ : 0,48-0,91) и аллеля *VEGFA*\*D (48,77% против 55,52%,  $P=0,006$ ,  $OR=0,76$ ,  $CI_{OR}$ : 0,63-0,92), но повышена частота аллеля *VEGFA*\*I (51,23% против 44,48%,  $P=0,006$ ,  $OR=1,31$ ,  $CI_{OR}$ : 1,08 -1,59) (таблица 25).

Таблица 25 – Результаты анализа ассоциаций полиморфного локуса –2549(18)I/D гена *VEGFA* с ИМ без артериальной гипертензии в анамнезе

Показатель		Контроль		Больные		P
		n	$p \pm s_p$ CI (%)	n	$p \pm s_p$ CI (%)	
Генотип	*I/*I	139	18,71±1,43 15,97 - 21,70	69	2,55±19,42 29,71 – 5,59	0,055
	*I/*D	383	51,55±1,83 47,89 - 55,20	153	53,87±2,96 47,89 – 59,78	0,529
	*D/*D	221	29,74±1,68 26,48 - 33,17	62	21,83±2,45 17,17 – 27,09	0,012
Аллель	*I	661	44,48±1,29 41,93 - 47,05	291	51,23±2,10 47,04 – 55,42	0,006
	*D	825	55,52±1,29 52,95 - 58,07	277	48,77±2,1 44,58 – 52,96	0,006

Следовательно, маркером повышенного риска развития ИМ у лиц без АГ в анамнезе является генотип аллель *VEGFA*\*I, а протективным маркером – генотип *VEGFA*\*D/\*D и аллель *VEGFA*\*D.

Полученные в результате проведенного исследования оценки частот аллелей и генотипов по полиморфному участку с.928+420A>C гена *VCAM1* в выборках больных инфарктом миокарда без артериальной гипертензии в анамнезе и здоровых лиц представлены в таблице 26.

В группе больных по сравнению с соответствующей контрольной группой повышена частота генотипа *VCAM1*\*A/\*C (49,43 и 39,57% соответственно,  $P=0,007$ ,  $OR=1,49$ ,  $CI_{OR}$ : 1,11-1,99) и понижена частота генотипа

*VCAM1*\*A/\*A (3,05 и 52,65% соответственно, P=0,022, OR=0,71, CI<sub>OR</sub>: 00,53-1,95).

Таблица 26 – Результаты анализа ассоциаций полиморфного локуса с.928+420A>C гена *VCAM1* с ИМ без артериальной гипертензии в анамнезе

Показатель		Контроль		Больные		P
		n	p±s <sub>p</sub> CI (%)	n	p±s <sub>p</sub> CI (%)	
Генотип	*A/*A	318	52,65±2,03 48,58 - 56,69	117	3,05±38,08 50,36 – 2,24	0,022
	*A/*C	239	39,57±1,99 35,65 - 43,60	131	49,43±3,07 43,26 – 55,62	0,007
	*C/*C	47	7,78±1,09 5,77 - 10,21	17	6,42±1,51 3,78 – 10,07	0,572
Аллель	*A	875	72,43±1,29 69,82 - 74,94	365	68,87±2,01 64,73 – 72,79	0,134
	*C	333	27,57±1,29 25,06 - 30,18	165	31,13±2,01 27,21 – 35,27	0,134

Таким образом, маркером повышенного риска развития ИМ у лиц без АГ в анамнезе становится генотип *VCAM1*\*A/\*C.

Материалы сравнительного анализа групп больных ИМ с наличием и без АГ в анамнезе показали достоверные различия частот генотипов и аллелей по следующим полиморфным локусам генов: *CCL2*, *VEGFA*. В то же время, у лиц с ИМ без АГ в анамнезе определены значимые различия по полиморфизму гена *VCAM1*.

Молекула адгезии *VCAM-1* обладает селективной адгезивностью к моноцитам и лимфоцитам. В целом, наши данные высветили патогенетическую значимость *VCAM-1* в контексте атерогенеза, у больных ИМ без АГ в анамнезе.

Таким образом, анализ ассоциаций полиморфных локусов генов: *SELP*, *VCAM1*, *CCL2*, *VEGFA*, *NOS3*, *DDAH1* среди пациентов ИМ показал, что у больных с АГ в анамнезе становятся генотипы *CCL2*\*G/\*G, *VEGFA*\*I/\*D, как предикторы развития воспаления и атеротромбоза, что подтверждает

данные многих исследований о значимости АГ, как основного фактора риска острой коронарной патологии. В то же время эти генотипы значимо повышены у больных ИМ без АГ, что позволяет утверждать о существенной роли полиморфных локусов генов *CCL2*, *VEGFA* в развитии ИМ независимо от уровня артериального давления.

В целом, достигнутые за последние годы успехи в области генетики позволили получить определенные данные, которые могут уточнить новые механизмы, лежащие в основе наследуемого риска ИМ, разработать возможности терапии. Понимание наследственных причин ИБС и ИМ дает возможности стратегии профилактики, прогнозирования и лечения. Причем больше будет известно о генетических детерминантных признаков, тем появится больше возможностей для использования этой информации в фармакологических целях.

Точные молекулярные механизмы, которые приводят к ИБС и ИМ, не до конца выяснены, несмотря на большой объем знаний о предрасполагающих факторах риска и патомеханизмах. Это доказывает, ИМ является сложным генетическим заболеванием, где сочетание экологических и генетических факторов приводит к атеросклерозу коронарных артерий с последующим клиническим проявлением.

Традиционные факторы риска (АГ, гиперхолестеринемия, сахарный диабет, дислипидемия, курение, пол, возраст, масса тела) ССЗ не могут полностью предсказать развитие ИБС, что подчеркивает сложное взаимодействие между факторами риска, генетической предрасположенностью и другими атеропротективными компонентами при прогнозировании сердечно-сосудистых событий, которые сами по себе идентифицированы лишь частично.

### 3.5 Анализ взаимосвязи процессов ремоделирования крупных сосудов и миокарда, состояния иммунного воспаления, апоптоза и генетических факторов у больных инфарктом миокарда

Результатами многочисленных исследований доказано, что иммунное воспаление имеет важную роль в развитии и прогрессировании эндотелиальной дисфункции и атеросклероза [27,50,72,138,315]. При помощи провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  стимулируются молекулы межклеточной адгезии, способствующие снижению антиадгезивных и антиагрегантных свойств эндотелия, повышая риск тромбообразования при ИБС и ИМ с неблагоприятным исходом [167]. Установлено, что основными предикторами возникновения ИМ являются продолжительно существующая гемодинамическая перегрузка артерий при АГ, гиперактивация системы РАСС, симпатико-адреналовой системы, окислительный стресс, иммунное воспаление сосудистой стенки [177,254].

Таблица 27 – Суммарные показатели биомаркеров воспаления при ИМ

Биомаркеры	ИМ	Группа сравнения	ЕИ	АЧ	ВГН
СРБ	15,6[10,2;20,3]	1,0[0,5;5,0]	Мкг/мл	0,175	5,0
IL-1 $\beta$	28,77[18,12;42,8]	10,77[7,2;16,4]	Пкг/мл	0,05	7,6
IL-6	6,36[4,12;9,08]	2,15[0,6;2,8]	Пкг/мл	0,006	2,68
TNF- $\alpha$	24,8[24,5;56,21]	7,6[5,8;8,43]	Пкг/мл	0,5	6,0
VEGF	2443,7[163;548,3]	83,37[0,00;273,18]	Пкг/мл	0,05	63,0
МСР-1	209,74[58,37;333,4]	143,73-10,9;237,23]	Пкг/мл	0,2	148,5
Лейкоциты	11,84[7,0-12,16]	5,90[5,0;6,24]	10 <sup>9</sup> /л	0,2	5,0
Лимфоциты	0,31[0,24-0,43]	0,189[0,3;0,48]	10 <sup>9</sup> /л	0,2	1,80

**Примечание:** ЕИ- единицы измерения, АЧ- аналитическая чувствительность, ВГН – верхняя граница нормы

Нами представлена концентрация основных биомаркеров иммунного воспаления при ИМ, из которых после проведения статистического анализа



полученных данных стало возможным выделить наиболее значимые маркеры воспаления как факторы прогнозирования данного заболевания (таблица 27).

На основании проведенных исследований выделены медиаторы воспаления: IL-1 $\beta$ , IL-6, VEGF. Кандидатными показателями по коэффициентам прогнозирования могут быть следующие показатели (таблица 28).

Таблица 28–Коэффициент прогностической модели для диагностики ИМ

Прогностическая модель	Нестандартный коэффициент		Стандартный коэффициент	P
	B	Стандартная ошибка		
Константа А	-0,108	0,085		
IL-6	0,001	0,02	0,324	0,418
IL-1 $\beta$	-0,002	0,03	-0,129	0,0216
VEGF	0,002	0,003	0,106	0,0013
T-I	0,000	0,000	0,156	0,003

**Примечание:** T-I – тропонин I

Данные нашего исследования указывают на то, что усиление цитокиновой реакции, приводя к воспалению, может явиться одним из механизмов эндотелиальной дисфункции при ИМ. Причем, как показали результаты исследования, усиливается апоптотическая реакция, приводя к деструкции молекул ДНК, что может выступать в качестве индуктора неблагоприятного течения заболевания. Выявлено, что уровень в сыворотке повышается при ОКС по сравнению с больными стабильной стенокардией, отмечено, что уровень TNF- $\alpha$  прямо коррелирует с риском развития неблагоприятных сердечно-сосудистых осложнений [84].

Многочисленными исследованиями установлено, что дисфункция эндотелия и системное воспаление играют приоритетные роли в развитии и прогрессировании атеросклероза и ИБС. Повреждение эндотелия и воспаление –

это два взаимоотношающиеся процессы [178,179]. При участии TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  происходит индукция эндотелиоцитами образование молекул адгезии, что в свою очередь способствует снижению антиадгезивных и антикоагулятивных свойств эндотелия, а это в свою очередь увеличивает риск тромбообразования при ИМ, тем самым приводит к неблагоприятным исходам [168].

Длительно существующая гемодинамическая перегрузка артерий, гиперактивация системы РААС, симпатико-адреналовой системы, окислительный стресс, воспаление сосудистой стенки с участием иммунной системы становятся основными предикторами развития гиперкоагуляционной активности крови и реакции апоптоза [130].

Проведенный множественный корреляционный анализ позволил установить у больных ИМ корреляционные связи маркеров эндотелиальной дисфункции с генетическими показателями (таблица 29).

Таблица 29 – Корреляционный анализ маркеров эндотелиальной дисфункции у больных ИМ

Показатель		ИЛ-1 $\beta$	ИЛ-6	VEGF	MCP-1	ТИМ ОСА
Ген <i>VCAM1</i>	Генотип А/С	0,65204	0,56381	0,92338	0,74716	0,75622
	Генотип С/С	0,21840	0,23475	0,25347	0,23814	0,12831
	Генотип А/А	0,62728	0,72821	0,79452	0,81538	0,79265
Ген <i>VEGFA</i>	Генотип D/D	0,18462	0,15826	0,19381	0,15625	0,08166
	Генотип I/D	0,83624	0,83624	0,92446	0,78256	0,91488
	Генотип I/I	0,23614	0,19682	0,22615	0,21834	0,14285
Ген <i>CCL2</i>	Генотип А/А	0,68261	0,548251	0,64683	0,72482	0,78352
	Генотип А/Г	0,48452	0,58281	0,62338	0,61486	0,52945
	Генотип G/G	0,17433	0,22851	0,05625	0,00831	0,14722
Ген <i>NOS3</i>	Генотип E/E	0,05728	0,08422	0,12182	0,13257	0,12621
	Генотип D/D	0,09235	0,13482	0,23185	0,08622	0,11635
	Генотип E/D	0,09428	0,11465	0,10431	0,10448	0,13638
Ген <i>DDAH1</i>	Генотип T/T	0,69261	0,58344	0,47566	0,56284	0,62488
	Генотип С/С	0,14882	0,22462	0,11649	0,15371	0,23152
	Генотип T/C	0,25384	0,19366	0,12485	0,21482	0,22741

Также проведенный корреляционный анализ позволил установить прямые и обратные корреляционные связи эндотелиально-гемостазиологических



типов гена *VCAM1* \*A/\*A и \*A/\*C, *VEGFA* \*I/\*D, *CCL2* \*A/\*A и *DDAH1* \*T/\*T ( $p < 0,05$ ). Таким образом, исследование позволило определить тесные взаимосвязи показателей ремоделирования сосудов с комплексом параметров воспаления и эндотелиальной дисфункции, полиморфизмом генов функции эндотелия, достоверно характеризующие системность механизмов ремоделирования.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Регистрируется высокий процент смертности от острых форм ИБС независимо от того, что разрабатываются и внедряются новые методы в диагностике, а также широко используется реваскуляризация при лечении ИБС, в том числе ИМ [71,75]. Смертность от болезней системы кровообращения (БСК) в структуре общей смертности в России продолжает занимать первое место, составляя 46,4% в структуре смертности за январь-сентябрь 2018 г., к тому же 53,4% летальных случаев, причиной которых стала ИБС, в том числе, и ИМ [35]. Согласно результатам многочисленных исследований изучение данной патологии актуально. Улучшение подходов в диагностике и прогнозирование осложнений ИМ [42,173,251] диктует высокий риск развития различных осложнений в ранние и отдаленные периоды ИМ [82,256,295].

Учитывая наличие различных прогностических показателей, таких, как клинические данные, снижение сократительной функции миокарда [103,191,196,254,260,280], характер и выраженность коронарного атеросклероза [82,171,196,281], электрическая нестабильность миокарда [147], вариабельность ритма сердца [258], кардиоспецифичные маркеры некроза миокарда [198] и другие биохимические маркеры [62,75,82] разработаны многочисленные шкалы (TIMI, PAMI, CADILLAC, GRACE, KEMSCORE) оценки риска возникновения осложнений в различные периоды ИМ [65,75,82,101,171,196,255,260,280].

Полученные знания в звеньях патогенеза ИМ способствовали поиску новых биомаркеров, независимо от того, что имеются широко востребованные в клинической практике тропонины [157,235,237,243,249], маркеры нейрогормональной активации [127,146,168,233,243,248,249,285] и маркеры воспаления (ИЛ, СРБ, ФНО- $\alpha$ ) [146,149,194,206,216,220,221,243,249]. В последние годы внимание исследователей привлекают такие молекулы как моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1 (MCP-1), сосудистый эндотелиаль-

ный фактор роста (VEGF), а также гены-кандидаты ССЗ в отношении развития эндотелиальной дисфункции [14,36,60,69,113,118,159,162,219,240,305].

Всего в исследовании приняли участие 667 мужчин с Q-образующим инфарктом миокарда, в возрасте от 35 до 64 лет (средний возраст  $50,15 \pm 0,5$  года). Критериями включения явились:

1) наличие ИМ на момент поступления согласно критериям, определенным в Национальных рекомендациях и «Третьем универсальном определении инфаркта миокарда» [64,298];

2) начало симптомов не более чем за 24 часа до госпитализации;

3) подписанное информированное согласие.

Критериями исключения явились: наличие клинически значимой сопутствующей патологии (метастазирующие онкологические заболевания, тяжелые хронические заболевания внутренних органов в стадии обострения, печеночная недостаточность, тяжелая хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), аутоиммунные заболевания, терминальная почечная недостаточность, психические заболевания); ИМ, осложнившийся ЧКВ или коронарное шунтирование; смерть больного в первые сутки заболевания.

При госпитализации больных обследовали по следующей схеме: сбор жалоб, анамнеза, физикальный осмотр, проведение лабораторных и инструментальных методов обследования (ЭКГ, ЭхоКГ, УЗДС общих сонных и бедренных артерий). В первые дни после поступления в стационар в изучали сывороточную концентрацию ряда биомаркеров – ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, CD95+ лимфоцитов, количество 1- и 2-нитевых разрывов ДНК, каспазы 4 и 8, моноцитарно-макрофагальные факторы - MCP-1 и VEGF, а также проведен анализ частот генотипов и аллелей полиморфизмов генов молекул адгезии VCAM1 и селектина P, генов хемокинов rs1024611 (-2518A> G) гена *CCL2* и rs34357231 (-2549(18)I/D) гена *VEGFA*, генов эндотелиальной синтазы оксида азота (NOS3) и гена *DDAH1*.

Одной из задач настоящего исследования была оценка постинфарктного ремоделирования сердца и сосудов. Были выявлены основные направления ремоделирования в остром периоде инфаркта миокарда, представленные дилатацией левого желудочка сердца с увеличением преимущественно конечно-диастолических и конечно-систолических размеров миокарда. Выявлено, что среди больных инфарктом миокарда преобладают больные с концентрическим ремоделированием левого желудочка и концентрической ГЛЖ. Диастолическая функция ЛЖ у всех больных с ИМ характеризовалась статистически значимым повышением времени изоволюмического расслабления и изменением трансмитрального диастолического потока преимущественно по гипертрофическому типу. Постинфарктное ремоделирование можно рассматривать как еще один механизм срочной компенсаторной реакции сердца в ответ на внезапную потерю части сократительного миокарда, обусловленный повышением преднагрузки на ЛЖ, с другой стороны, как отражение изменения жесткости миокарда ЛЖ в результате процессов заживления и формирования рубца.

Определение толщины интима-медиа крупных артерий установило утолщение стенки сосудов, что отмечалось и в ОСА, и в ОБА. Выявленные структурные изменения сосудистой стенки у больных с ИМ свидетельствуют о распространении раннего атероматозного процесса в артериальном дереве в группе больных ИМ.

Изучение концентрации цитокинов как биомаркеров субклинического воспаления выявило повышение концентрации ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6 и ИЛ-1 $\beta$  у больных ИМ. Корреляционный анализ показал наличие прямой связи между уровнем ХСЛПНП и показателями провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$  ( $r=0,88$ ;  $p=0,01$ ) и ИЛ-6 ( $r=0,98$ ;  $p=0,001$ ) и обратная с уровнем лимфоцитов ( $r=-0,63$ ;  $p=0,032$ ). Анализ результатов исследования компонентов апоптоза выявил статистически значимое увеличение содержания CD95+(Fas) лимфоцитов у больных ИМ в 2,3 раза, высокую активность каспаз (K4 и K8) по отно-

шению к здоровым лицам и значимое увеличение количества 1- и 2-нитевых разрывов ДНК. Это позволяет предполагать, что выявлена повышенная апоптотическая реактивность лимфоцитов периферической крови при ИМ, что отражено нарушением Fas-зависимого апоптоза и ассоциируется с достаточно высоким уровнем растворимого Fas-рецептора в периферической крови, вероятно, определяя один из механизмов развития ИМ.

Увеличение CD95+ лимфоцитов и нарастание активации клетки, по нашим данным, позволяет предполагать повышенную готовность лимфоцитов к апоптозу с активацией программированной гибели клеток. Высокие показатели К4 объясняются ролью К4 как активатора цитокинов и участием в реализации провоспалительного эффекта. Это подтверждается корреляционной связью К4 с IL-6 ( $r=0,68$ ;  $p=0,002$ ). Активация К8 предполагает значение программированной клеточной гибели в развитии заболевания. Отмечена положительная корреляция уровня К8 с СРБ ( $r=0,64$ ;  $p=0,001$ ), болевым синдромом ( $r=0,48$ ;  $p=0,038$ ), однако связь активности К8 с количеством разрывов ДНК оказалась ниже (5,38-29,14). Вероятно, достоверное повышение количества разрывов ДНК при ИМ связано с повреждением молекул ДНК активными формами кислорода, приводящих к накоплению одонитевых и двунитевых разрывов, укорочение длины нитей в хромосомах клеток при ИМ можно рассматривать, как непосредственное проявление старения клеток.

На основании полученных данных можно отметить, что у больных ИМ имеется более интенсивный апоптоз лимфоцитов периферической крови, определяемый повышением количества 1-нитевых и 2-нитевых разрывов ДНК, более высокой активностью CD95+(Fas) лимфоцитов, каспаз 1 и 8, как активатора провоспалительных цитокинов.

Моноцитарно-макрофагальные факторы цитокинового звена иммунитета определяются иммуноферментами, регулируемыми фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и функциональное состояние клеток фагоцитарного звена иммунитета (MCP-1). У больных ИМ без АГ отмечено значимое повыше-



ние VEGF до  $223,7 \pm 25,89$  пг/мл ( $p=0,001$ ), но на 30,9% ниже уровня больных ИМ с АГ. При наличии АГ уровень ростового фактора увеличивается до  $265,8 \pm 27,68$  пг/мл, превышая группу сравнения в 3 раза ( $p=0,001$ ).

Среди цитокинов фактор роста эндотелия VEGF обладает наибольшей ангиогенной активностью, а высокий его уровень может подтвердить активность воспалительного процесса, а также деструктивные нарушения. Выработка VEGF стимулируется IL-6, что подтверждается корреляционными связями IL-6 с VEGF ( $r=0,58$ ;  $p=0,028$ ). Моноцитарно-макрофагальный белок MCP-1 определяет иммунорегулирующее действие при воспалении увеличением моноцитов/макрофагов, нейтрофилов. Повышение уровня MCP-1 при ИМ может рассматриваться как маркер защиты иммунной системы. Хотя получен разброс показателей MCP-1 в изучаемых группах, однако значимое увеличение уровня MCP-1 выявлено только у больных ИМ с АГ ( $256,49 \pm 51,49$  пг/мл,  $p=0,025$ ).

У больных ИМ без АГ наблюдались более низкие значения уровня MCP-1 ( $163,85 \pm 78,12$  пг/мл,  $p=0,68$ ), однако, его содержание было выше группы сравнения. В целом, нами отмечено нарастание фактора MCP-1, значимое при наличии АГ и превышало на 37% больных ИМ без АГ, что, вероятно, направлено на блокирование действия противовоспалительных цитокинов с усилением иммунного воспаления в эндотелии. Это подтверждает участие иммунной системы в патогенезе ИМ с напряжением Т-клеточного звена.

Полученные данные свидетельствуют о возможности участия MCP-1 в иммуногенезе ИМ в качестве белка острой фазы достоверно при наличии АГ.

Значимое нарастание активности иммуноферментов с достаточно высоким и достоверным уровнем VEGF определяют значимость этого показателя под влиянием ангиогенных факторов, что выделяет его как маркера гиперкоагуляции и ангиогенеза с образованием дополнительных сосудов вследствие развития эндотелиальной дисфункции. Повышение активности моноцитранохемотаксического белка MCP-1 значимо у больных ИМ с АГ и вероятно

определяет его иммунорегулирующее действие с развитием локального воспаления в зоне ишемии.

Многочисленные исследования показали, что иммунное воспаление играет приоритетную роль в развитии и прогрессировании дисфункции эндотелия и атеросклероза [27,50,72,138,314]. При участии провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  происходит индукция эндотелиоцитами молекул клеточной адгезии, которые в свою очередь способствуют снижению антиадгезивных и антиагрегантных свойств эндотелия, увеличивая риск тромбообразования при ИБС и ИМ с неблагоприятным исходом [166].

Нами представлена концентрация основных биомаркеров иммунного воспаления при ИМ, из которых после проведения статистического анализа полученных данных стало возможным выделить наиболее значимые маркеры воспаления как факторы прогнозирования данного заболевания.

На основании проведенных исследований выделены медиаторы воспаления: IL-1 $\beta$ , IL-6, VEGF, которые могут быть представлены кандидатными показателями по коэффициентам прогнозирования.

Результаты настоящей работы подтверждают, что усиление цитокиновой реакции, приводя к воспалению, может явиться одним из механизмов эндотелиальной дисфункции при ИМ. Причем, как показали результаты исследования, усиливается апоптотическая реакция, приводя к деструкции молекул ДНК, что может выступать в качестве индуктора неблагоприятного течения заболевания.

Полногеномные поиски ассоциаций (GWAS) позволили получить данные в области идентификации генетических локусов, ассоциированных с сердечно-сосудистыми заболеваниями, которые могут стать ключом к пониманию механизмов наследования повышенного риска ИБС. Изучение генетических маркеров тромбоэмболических осложнений системы гемостаза и состояния функции эндотелия послужит ключом к пониманию неизвестных в

настоящее время механизмов наследования повышенного риска ИБС и ее осложнений.

В нашем исследовании сравнительный анализ распределений частот генотипов и аллелей полиморфного локуса S290N (rs6131) гена *SELP* среди больных ИМ и контрольной группы показал, что частоты генотипов и аллелей гена *SELP* у больных с ИМ и в контрольной группе практически совпадают. Вероятно, эффект данного полиморфного локуса может проявляться лишь на фоне дополнительных средовых или генетических факторов. Оценка частот аллелей и генотипов по полиморфному участку rs3917010 (с.928+420A>C) гена *VCAM1* в выборках больных ИМ и здоровых лиц выявила повышение частот генотипа *VCAM1*\*A/\*C (47,11 и 39,57% соответственно,  $P=0,006$ ,  $OR=1,36$ ,  $CI_{OR}$ : 1,09-1,7) и понижение частоты генотипа *VCAM1*\*A/\*A (46,01 и 52,65% соответственно,  $P=0,018$ ,  $OR=0,77$ ,  $CI_{OR}$ : 0,62-0,96) у больных ИМ по сравнению с группой здоровых лиц. Таким образом, маркером повышенного риска развития ИМ является генотип *VCAM1*\*A/\*C, а протективным маркером - является генотип *VCAM1*\*A/\*A.

Результаты анализа ассоциаций полиморфного локуса -2549(18)I/D (rs34357231) гена *VEGFA* с ИМ демонстрируют статистически достоверное понижение у больных ИМ по сравнению с контрольной группой частоты генотипа *VEGFA*\*D/\*D (22,55% и 29,74% соответственно,  $P=0,002$ ,  $OR=0,69$ ,  $CI_{OR}$  0,55-0,87) и аллеля *VEGFA*\*D (50,21% и 55,52% соответственно,  $P=0,004$ ,  $OR=0,81$ ,  $CI_{OR}$  0,7-0,94). Кроме того, в группе больных ИМ в отличие от контрольной группы наблюдается статистически значимое повышение частоты аллеля *VEGFA*\*I (49,79% и 44,48% соответственно,  $P=0,004$ ,  $OR=1,24$ ,  $CI_{OR}$  1,07-1,43). Согласно литературным данным, аллель *VEGFA*\*I -2549(18)I/D полиморфизма гена *VEGFA* отмечен, как наиболее важный участник процесса ангиогенеза [298]. Действие данного гликопротеина на эндотелиоциты заключается в том, что увеличивает проницательную способность сосудистой стенки, и стимулирует миграционную способность клеток и

деление – одного из критических событий атеросклеротического поражения сосудов. Приведённые данные вместе с нашими результатами дают основание предположить, что аллель *VEGFA*\*I ассоциирована с более высокой экспрессией гена *VEGFA* в клетках эндотелия сосудов. Таким образом, протективным маркером развития ИМ является генотип *VEGFA*\*D/\*D и аллель *VEGFA*\*D, а предрасполагающим развитию ИМ является аллель *VEGFA*\*I.

Моноцитарно-хемотаксический протеин (MCP-1) определяет степень локального воспаления в развитии эндотелиальной дисфункции. Сравнительный анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфного локуса –2518A>G (rs1024611) гена *CCL2* в группах больных ИМ и соответствующей контрольной группе выявил статистически значимое повышение частоты генотипа *CCL2*\*G/\*G (9,97% и 5,9% соответственно,  $P=0,008$ ,  $OR=1,77$ ,  $CI_{OR}1,17-2,69$ ), а также повышение частоты аллеля *CCL2*\*G (29,56% и 25,74% соответственно,  $P=0,032$ ,  $OR=1,21$ ,  $CI_{OR}1,02-1,44$ ) и понижение частоты аллеля *CCL2*\*A (70,44% и 74,26% соответственно,  $P=0,032$ ,  $OR=0,83$ ,  $CI_{OR}0,70-0,99$ ) у больных ИМ в сравнении с группой контроля. Таким образом, маркером повышенного риска ИМ является генотип *CCL2*\*G/\*G и аллель *CCL2*\*G, а протективным маркером – аллель *CCL2*\*A.

Анализ частот генотипов и аллелей по полиморфизму генов эндотелиальной синтазы оксида азота (*NOS3*) и гена *DDAH1* не выявил у больных ИМ статистически достоверных различий.

Результаты анализа ассоциаций полиморфного локуса с.303+30998A>G гена *DDAH1* демонстрируют статистически значимое увеличение частоты генотипа *DDAH1*\*T/\*T (41,21% и 34,22% соответственно,  $P=0,014$ ,  $OR=1,35$ ,  $CI_{OR}1,07-1,71$ ) и аллеля *DDAH1*\*T (62,5 и 57,93 % соответственно,  $P=0,025$ ,  $OR=1,21$ ,  $CI_{OR}1,03-1,43$ ), однако, наблюдается достоверное снижение частоты аллеля *DDAH1*\*C (37,5 и 42,07 % соответственно,  $P=0,025$ ,  $OR=0,83$ ,  $CI_{OR}0,70-0,98$ ) у больных ИМ в сравнении с группой контроля. *DDAH1* осуществляет деградацию эндогенного ингибитора синтаз оксида азота –

ADMA, а повышенная экспрессия гена *DDAH1* тормозит развитие атеросклероза и улучшает функциональное состояние эндотелия сосудов, через снижение уровня ADMA. Нокаут гена *DDAH1* снижает экспрессию гена VEGF, останавливает деление эндотелиальных клеток [167,170]. Маркером повышенного риска развития ИМ является генотип *DDAH1*\*T/\*T и аллель *DDAH1*\*T, а протективным маркером развития ИМ выявлен аллель *DDAH1*\*C.

Нами было проведено исследование ассоциаций полиморфных локусов генов молекул адгезии (селектин P, иммуноглобулин VCAM1), хемокина CCL2 (MCP-1), сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGFA), ферментов контролирующего содержание NO (NOS3, *DDAH1*) среди пациентов с учетом наличия или отсутствия АГ в анамнезе. Анализ ассоциаций полиморфных локусов генов: *SELP, VCAM1, CCL2, VEGFA, NOS3, DDAH1* среди пациентов ИМ показал, что у больных с АГ в анамнезе становятся генотипы *CCL2*\*G/\*G, *VEGFA*\*I/\*D, как предикторы развития воспаления и атеротромбоза, что подтверждает данные многих исследований о значимости АГ, как основного фактора риска острой коронарной патологии. В то же время эти генотипы значимо повышены у больных ИМ без АГ, что позволяет утверждать о существенной роли полиморфных локусов генов *CCL2, VEGFA* в развитии ИМ независимо от уровня артериального давления.

## ВЫВОДЫ

1. Выявлена положительная корреляционная связь толщины комплекса интима-медиа с такими показателями как толщина задней стенки ЛЖ ( $r=0,56; p=0,038$ ), толщина межжелудочковой перегородки ( $r=0,69; p=0,043$ ), величина левого предсердия ( $r=0,88; p=0,041$ ), умеренная отрицательная корреляционная связь с показателями сократимости миокарда - фракцией выброса ( $r=-0,52; p=0,033$ ).

2. У больных QИМ выявлено статистически значимое повышение концентрации ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-1 $\beta$ , а также уровня VEGF и MCP-1, как проявление системного иммунного воспаления отражающих активность воспалительного процесса, как факторов развития эндотелиальной дисфункции.

3. У больных QИМ определяется значимое увеличение содержания компонентов апоптоза по показателям CD95+(Fas) и высокой активности каспаз (K4 и K8) как проявление нарушений морфогенеза, клеточного гомеостаза (или еще как) системного воспаления, что является одним из механизмов эндотелиальной дисфункции при ИМ.

4. Проведенный анализ распределения частот генотипов полиморфных маркеров генов-кандидатов предикторов эндотелиальной дисфункции выявил, что высокий риск развития инфаркта миокарда с возникновением эндотелиальной дисфункции у носителей генотипов *VCAM1*\*A/\*C (OR=1,36), *CCL2*\*G/\*G (OR=1,77), *DDAH1*\*T/\*T (OR=1,35), а у носителей генотипов *VCAM1*\*A/\*A (OR=0,77), *VEGFA*\*D/\*D (OR=0,69) риск развития инфаркта миокарда понижен. У больных QИМ в сочетании с АГ, носителей генотипов *CCL2*\*G/\*G (OR=2,07) и *VEGFA*\*I/\*D (OR=1,42), выявлен высокий риск развития ИМ, что подтверждает вклад АГ в развитие эндотелиальной дисфункции.

5. Проведенный корреляционный анализ установил наличие статистически значимых связей между показателями маркерами апоптоза CD95+(Fas) ( $r=0,58; p=0,028$ ), VEGF ( $r=0,86; p=0,04$ ), частотой генотипов *VCAM1*\*A/\*A

( $r=0,62$ ), *VCAM1*\*A/\*C ( $r=0,59$ ), *VEGFA*\*I/\*D ( $r=0,78$ ), *CCL2*\*A/\*A ( $r=0,62$ ) и *DDAH1*\*T/\*T( $r=0,53$ ) в зависимости от степени эндотелиальной дисфункции ТИМ ОСА ( $p < 0,05$ ).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Определение провоспалительных цитокинов (IL-6), компонентов апоптоза, моноцитарно-макрофагальных факторов (VEGF) дает возможность применять как дополнительные маркеры развития эндотелиальной дисфункции и оценки системного воспаления.

2. Для прогнозирования высокого риска развития инфаркта миокарда может быть использовано определение генных полиморфизмов (*VCAM1* (rs3917010), *CCL2* (rs1024611), *DDAH1* (rs669173)) с целью выделения особой группы больных для проведения интенсивных мероприятий по первичной профилактике сердечно-сосудистых осложнений.



## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ	артериальная гипертензия
АВР	активированное время рекальцификации плазмы крови
АД	артериальное давление
ДАД	диастолическое артериальное давление
ИБС	ишемическая болезнь сердца
ИМ	инфаркт миокарда
ИМТ	индекс массы тела
КА	коэффициент атерогенности
ЛПНП	липопротеиды низкой плотности
ОИМ	острый инфаркт миокарда
ОБА	общая бедренная артерия
ОСА	общая сонная артерия
ПДРФ	полиморфизм длины рестрикционных фрагментов
ПЦР	полимеразная цепная реакция
САД	систолическое артериальное давление
ССЗ	сердечно-сосудистые заболевания
ЭХО-КГ	эхокардиографическое исследование
ЭГ	эссенциальная гипертензия
<i>CCL2</i>	ген хемокина CCL2 (chemokine C-C motif ligand 2) или моноцитарного хемоаттрактантного белка (MCP-1—monocyte chemoattractant protein 1)
<i>DDAH1</i>	ген диметиларгинададиметиламиногидролазы 1 (dimethylargininedimethylaminohydrolase 1)
IL-6	интерлейкин- 6(interleukin6)
IL-1 $\beta$	интерлейкин -1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ )
NO	оксид азота
<i>NOS3</i>	ген синтазы оксида азота 3(nitricoxidesynthase 3)
<i>SELP</i>	ген селектина P (selectinP)

SNP	single-nucleotide polymorphism – однонуклеотидный полиморфизм
TNF- $\alpha$	фактор некроза опухолей альфа (tumor necrosis factor alpha)
<i>VCAM1</i>	ген сосудистой молекулы адгезии 1 (vascularcelladhesionmolecule 1)
<i>VEGFA</i>	ген сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF)
CI	95% confidence interval – 95% доверительный интервал
N	объем выборки
OR	odds ratio – соотношение шансов

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Агеев, Ф.Т. Диастолическая сердечная недостаточность: 10 лет знакомства / Ф.Т. Агеев. – Текст (визуальный) : непосредственный // Сердечная недостаточность. – 2010. – Т. 11, № 1.– С. 69-76.
2. Активность воспалительного процесса в разных типах нестабильных атеросклеротических бляшек / Ю.И. Рагино, А.М. Чернявский, Я.В. Полонская [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – № 2. – С. 150-153.
3. Аляви, Б.А. Нарушение систолической функции левого желудочка при остром коронарном синдроме в зависимости от типов конечной трансформации / Б.А. Аляви. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. –2008. – № 2. – С. 26-27.
4. Аляви, Б.А. Структурно-функциональное состояние левого желудочка при остром коронарном синдроме / Б.А. Аляви, М.М. Якубов. – Текст (визуальный) : непосредственный // Рациональная фармакотерапия в кардиологии.– 2008. – Т7, № 2. – С. 26-29.
5. Аничков, Д.А. Новые маркеры сердечно-сосудистого риска: от исследований к клиническим рекомендациям / Д.А. Аничков, Н.А. Шостак. – Текст (визуальный) : непосредственный // Клиницист. – 2014. – № 1. – С. 4-8.
6. Арабидзе, Г.Г. Клиническая иммунология атеросклероза - от теории к практике / Г.Г. Арабидзе. – Текст (визуальный) : непосредственный // Атеросклероз и дислипидемии. – 2013. – № 1. – С. 4-19.
7. Аронов, Д.М. Некоторые аспекты патогенеза атеросклероза / Д.М. Аронов, В.П. Лупанов. – Текст (визуальный) : непосредственный // Атеросклероз и дислипидемии. – 2011.– № 1. – С. 49-56.
8. Ассоциированность комбинированных генотипов полиморфных участков генов цитокинов, фактора роста сосудистого эндотелия и металлопротеиназ с развитием инфаркта миокарда у мужчин / В.И. Коненков, В.Ф.

Прокофьев, А.В. Шефченко [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Российский кардиологический журнал. – 2014. – № 10. – С. 158-166.

9. Беленков, Ю. Н. Сердечно-сосудистый континуум / Ю.Н. Беленков, В. Ю. Мареев. – Текст (визуальный) : непосредственный // Журнал сердечная недостаточность. – 2002. – Т. 3, № 1. – С. 7-11.

10. Билецкий, С.В. Эндотелиальная дисфункция и патология сердечно сосудистой системы / С.В. Билецкий, С.С. Билецкий. – Текст (визуальный) : непосредственный // Внутренняя медицина. – 2008. – № 2. – С. 8-12.

11. Богова, Т.Е. Инфаркт миокарда. Воспаление и прогноз / Т.Е. Богова, И.И. Чукаева. – Текст (визуальный) : непосредственный // Российский кардиологический журнал. – 2003. – № 4. – С.95-97.

12. Бондарь, Т.П. Исследование этапов воспаления у больных с ОКС с помощью определения цитокинов / Т.П. Бондарь, Т.В. Цогоева. – Текст (визуальный) : непосредственный // Новости «Вектор- Бест». –2005. – Т. 38, № 4. – С.26-30.

13. Братусь, В.В. Воспаление как патогенетическая основа атеросклероза / В. В. Братусь, Т.В. Талаева. – Текст (визуальный) : непосредственный // Украинский кардиологический журнал. – 2007. – № 1. – С. 91-96.

14. Васина, Л.В.Эндотелиальная дисфункция и ее основные маркеры / Л.В. Васина, Н.Н. Петрищев, Т.Д. Власов. – Текст (визуальный) : непосредственный // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16, № 1. – С. 4-15.

15. Вербовой, А.Ф. Некоторые аспекты патогенеза атеросклероза / А.Ф. Вербовой, А.В. Пашенцева, Н.И.Вербовая. – Текст (визуальный) : непосредственный // Университетская медицина Урала. – 2018. – Т. 4, № 1. – С. 14-19.

16. Влияние окислительного стресса на длину теломерных повторов в хромосомахлейкоцитовкрови лиц сразличным риском сердечно-сосудистой смерти и больных ИБС / Н.А. Дорошук, А.К. Тихазе, В.З. Ланкин [и др.]. –

Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиологический вестник. – 2017. – Т. 12, № 1. – С. 32-37.

17. Влияние фактора роста эндотелия сосудов на ангиогенез и нейрогенез / А.С. Рудько, М.Х. Эфендиева, М.В. Будзинская, М.А. Карпилова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Вестник офтальмологии. – 2017. – Т. 133, № 3. – С. 75-81.

18. Возрастные аспекты заболеваемости острыми формами ишемической болезни сердца и смертности от них у мужчин и женщин / С.А.Бойцов, С.С. Якушин, Н.Н. Никулина [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2010. – Т. 6, № 5. – С. 639-644.

19. Волкова, И.И. Ремоделирование сердца и сосудов при ишемической болезни сердца / И.И. Волкова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2010. – № 4. – С. 96-98.

20. Воспалительные и аутоиммунные маркеры у больных с инфарктом миокарда / Е.В.Константинова, В.Т. Тимофеев, Н.А. Константинова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2010. – Т. 1. – С. 65-69.

21. Воспалительные цитокины у больных с острым ишемическим инсультом и инфарктом миокарда / В.И.Скворцова, Е.В. Константинова, М.Х. Шурдумова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Неврологический вестник. – 2007. –Т. 39, № 1. – С.22- 25.

22. Гавриленко, Т.И. Сосудистый эндотелиальный фактор роста в клинике внутренних заболеваний и его патогенетическое значение / Т.И. Гавриленко, Н.А. Рыжкова, А.Н. Пархоменко. – Текст (визуальный) : непосредственный // Украинский кардиологический журнал. – 2011. – № 4. – С. 87-95.

23. Гаврилюк, Е.В. Иммунные и оксидантные нарушения у больных острым инфарктом миокарда и их коррекция мексикором / Е.В. Гаврилюк, А.И. Конопля, В.П. Михин. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кур-

ский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2008. – № 4. – С. 54-60.

24. Гайсёнок, О.В. Толщина интима-медиа-предиктор выявления ишемической болезни сердца и независимый фактор риска развития сердечно-сосудистых событий / О.В. Гайсёнок, С.Ю. Марцевич. – Текст (визуальный) : непосредственный // Клиницист. – 2011. – № 4. – С. 5-10.

25. Генетическая предрасположенность к развитию атеросклероза [Текст] / Т.В. Кожанова, Е.В. Неудахин, С.С. Жилина [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Архивъ внутренней медицины. – 2018. – Т. 8, №6. – С. 407-417.

26. Генетические маркеры наследственной отягощенности по ишемической болезни сердца и стеноза ствола левой коронарной артерии у пациентов с острым коронарным синдромом / Е.Н. Иванцов, Ф.А. Магамедкеримова, М.А. Макаров [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Вестник современной клинической медицины. – 2018. – Т. 11, № 5. – С. 43-47.

27. Гольшко, В.С. Роль цитокинов в патогенезе ишемической болезни сердца / В.С. Гольшко, В.А. Снежицкий. – Текст (визуальный) : непосредственный // Журнал Гродненского Государственного медицинского университета. – 2010. – №4. – С. 28-30.

28. Джанаева, Э.Ф. Патогенетические основы и современные подходы к ранней диагностике атеросклероза / Э.Ф. Джанаева, Г.Н. Шеметова, С.А. Ширшова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Фундаментальные исследования. – 2012. – Т. 2, № 4. – С. 264-269.

29. Дзизинский, А.А. Артериальная жесткость как новый фактор оценки прогноза артериальной гипертензии: обзор литературы / А.А. Дзизинский, К.В. Протасов. – Текст (визуальный) : непосредственный // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. – 2006. – Т.52, № 6. – С. 210-215.

30. Диагностическая значимость определения содержания факторов повреждения эндотелия для оценки выраженности эндотелиальной дисфункции при остром коронарном синдроме / Н.Н. Петрищев, Л.В. Васина, А.А. Сапегин [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Клиническая больница. – 2015. – Т. 11, № 1. – С. 41-45.

31. Динамика содержания факторов воспаления у больных с острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST в отдаленные сроки после коронарного шунтирования / Н.А. Гавришева, К.А. Корженевская, Г.В. Алексеева, А.В. Панов. – Текст (визуальный) : непосредственный // Медицинская иммунология. – 2014. – Т. 16, № 2. – С. 183-188.

32. Дисфункция сосудистого эндотелия при артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца (обзор литературы) / Л.Б. Корякина, Ю.И. Пивоваров, Т.Е. Курильская [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2013. – №.2. – С. 165-170.

33. Доренская, О.В. Внутрисосудистые изменения у больных артериальной гипертензией, осложненной ишемическим инсультом / О.В. Доренская, Л.Н. Коричкина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Российский кардиологический журнал. – 2014. – № 8. – С. 53-56.

34. Драпкина, О.М. Сосудистый возраст как фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний / О.М. Драпкина, М.В. Фадеева. – Текст (визуальный) : непосредственный // Артериальная гипертензия. – 2014. – Т. 20, № 4. – С. 224-231.

35. Здравоохранение: Федеральная служба государственной статистики. – Текст (визуальный) : электронный. – URL: ([http://www.gks.ru/free\\_doc/new\\_site/population/zdrav/zdr2-1.xls](http://www.gks.ru/free_doc/new_site/population/zdrav/zdr2-1.xls)), 2018 г.

36. Зимницкая, О.В. Плазменные маркеры эндотелиальной дисфункции при гипертонической болезни (обзор литературы) / О.В. Зимницкая, М.М.

Петрова, Д.С. Каскаева. – Текст (визуальный) : непосредственный // В мире научных открытий. – 2015. – № 4. – С. 204-230.

37. Значение молекулярных маркеров в диагностике сосудистой патологии / Н.Б. Захарова, В.В. Никитина, Т.Г. Каменских [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – № 9. – С. 9-10.

38. Изменение содержания провоспалительных цитокинов и деструктивных металлопротеиназ в процессе развития атеросклеротического очага до нестабильной бляшки / Ю.И. Рагино, А.М. Чернявский, Я.В. Полонская [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиология. – 2009. – Т. 49, № 6. – С. 43-49.

39. Иммуновоспалительные реакции при остром коронарном синдроме / Р.Г. Оганов, Н.Э. Закирова, А.Н. Закирова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2007. – Т. 3, № 5. – С. 15-19.

40. Кактурский, Л.В. Клиническая морфология острого коронарного синдрома / Л.В. Кактурский. – Текст (визуальный) : непосредственный // Архив патологии. – 2007. – № 4. – С. 16– 19.

41. Карпов, Ю.А. Атеросклероз и факторы воспаления: нелипидные механизмы действия статинов / Ю.А. Карпов, Е.В. Сорокин. – Текст (визуальный) : непосредственный // Российский медицинский журнал. – 2001. – № 10. – С. 418-422.

42. Качковский, М.А. Оценка системной воспалительной реакции при остром инфаркте миокарда: современное состояние проблемы / М.А. Качковский, Е.Ю. Рагозина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2013. – Т. 9, № 6. – С. 690 -697.

43. Клиническое значение определения в крови фактора некроза опухоли- $\alpha$  у больных ишемической болезнью сердца / О.П. Шевченко, Д.Х.



Кушхова, Л.В. Харламова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Вестник РГМУ. – 2009. – № 2. – С. 6-9.

44. Клинические рекомендации. Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) / В.Ю. Мареев, И.В. Фомин, Ф.Г. Агеев [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Сердечная недостаточность. – 2017. – Т. 18, № 1. – С. 3-40.

45. Коноплева, Л.Ф. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний и методы ее коррекции / Л.Ф. Коноплева. – Текст (визуальный) : непосредственный // Терапия. – 2011. – Т. 3, № 56. – С. 26-30.

46. Концевая, А.В. Социально-экономический ущерб от острого коронарного синдрома в Российской Федерации / А.В. Концевая, А.М. Калинина, Р.Г. Оганов. – Текст (визуальный) : непосредственный // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2011. – Т. 7, № 2. – С. 158-166.

47. Королева, О.С. Биомаркеры в кардиологии: регистрация внутрисосудистого воспаления / О.С. Королева, Д.А. Затейщиков. – Текст (визуальный) : непосредственный // Фарматека. – 2007. – №8/9. – С. 30-36.

48. Котюжинская, С.Г. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе сосудистых катастроф при сердечно-сосудистых заболеваниях / С.Г. Котюжинская, Д.А. Уманский. – Текст (визуальный) : непосредственный // Запорожский медицинский журнал. – 2017. – № 4. – С. 225-230.

49. Lupinская, З.А. Эндотелий сосудов – основной регулятор местного кровотока / З.А. Lupinская. – Текст (визуальный) : непосредственный // Вестник Кыргызско-Российского Славянского университета. – 2003. – Т. 7, № 7. – С. 107-114.

50. Лутай, М.И. Атеросклероз: современный взгляд на патогенез / М.И. Лутай. – Текст (визуальный) : непосредственный // Украинский кардиологический журнал. – 2004. – № 1. – С. 22-34.

51. Марков, Х.М. Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия / Х.М. Марков. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиология. – 2005. – № 12. – С. 62-72.

52. Маянская, С.Д. Механизмы формирования дисфункции эндотелия при остром коронарном синдроме / С.Д. Маянская. – Текст (визуальный) : непосредственный // Практическая медицина. – 2010. – № 41.– С. 115-121.

53. Мельникова, Ю.С. Эндотелиальная дисфункция как центральное звено патогенеза хронических болезней / Ю.С. Мельникова, Т.П. Макарова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Казанский медицинский журнал. – 2015. – Т. 96, № 4. – С.659-665.

54. Метельская, В.А. Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови человека / В.А. Метельская, Н.Г. Гуманова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Лабораторная медицина. – 2005. – № 7. – С. 19-24.

55. Множественная роль лейкоцитов при ишемической болезни сердца / Н.А. Гавришева, Г.В. Алексеева, А.И. Бойко, А.В. Панов. – Текст (визуальный) : непосредственный // Российский кардиологический журнал. – 2017. – № 11. – С. 86-92.

56. Модификация концепции сердечно-сосудистого континуума на основе представлений о коморбидности и метавоспалении / Е.Ю.Ковальчук, В.А. Костенко, В.В. Сорока, О.В. Алексеенко. – Текст (визуальный) : непосредственный // Биомедицинский журнал Medline. ru. Кардиология. – 2015. – № 16. – С. 596-608.

57. Молекулы адгезии sVCAM-1 и siCAM-1 и атеросклероз у мужчин / Д.Е. Гусев, Е.М. Пальцева, Б.Г. Потиевский [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиология. – 2010. – Т.3, №2. – С. 33-35.

58. Молекулы адгезии sVCAM-1 и siCAM-1при различных формах ишемической болезни сердца / Д.Е. Гусев, Е.М. Пальцева, Б.Г. Потиевский [и

др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Ишемическая болезнь сердца. – 2009. – № 2. – С. 11-14.

59. Молекулярные маркеры эндотелиальной дисфункции / Т.В. Степанова А.Н. Иванов, Э.Б. Попыхова, Д.Д. Лагутина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – №1. – С. 37-37.

60. Моноцитарный хемотаксический белок в иммунопатогенезе хронической обструктивной болезни легких / Х.Х. Ганцева, Л.Ф. Азнабаева, А.К. Ханова, С.Ф. Афлятунова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Медицинская иммунология. – 2011. –Т. 13, № 5. – С. 502–503.

61. Моноциты в развитии и дестабилизации атеросклеротической бляшки / Д.Н. Нозадзе, А.В. Рвачева, Е.И. Казначеева, И.В. Сергиенко. – Текст (визуальный) : непосредственный // Атеросклероз и дислипидемии. – 2012. – № 3.– С. 25-36.

62. Мультифокальный атеросклероз как фактор неблагоприятного прогноза у больных инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST и сахарным диабетом 2-го типа / В.Н. Каретникова, Ю.А. Беленькова, М.В. Зыков [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиология. – 2013. – № 4. – С. 12-18.

63. Мычка, В.Б. Лечение артериальной гипертонии у больных с метаболическим синдромом / В.Б. Мычка, И.Е. Чазова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Болезни сердца и сосудов. – 2004. – Т. 3. – С. 11-14.

64. Национальные рекомендации по диагностике и лечению больных острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST ЭКГ / М.Я. Руда, С.П. Голицын, Н.А. Грацианский [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2007. – №6 (Приложение 1).– С. 415-500.

65. Неблагоприятные сердечно-сосудистые исходы и их связь с факторами риска по данным проспективного исследования МЕРИДИАН-РО / Е.В.

Филиппов, А.Н. Воробьев, Н.В. Добрынина, Л.А. Зотова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Российский кардиологический журнал. – 2019. – №. 6. – С. 42-47.

66. Неинвазивная диагностика нарушения эластических свойств артериальных сосудов / О.А. Жирнова, Н.Ф. Берестень, О.Р. Пестовская, Е.Я. Богданова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Ангиология. – 2011. – № 1. – С. 18-25.

67. Нечесова, Т.А. Ремоделирование левого желудочка: патогенез и методы оценки / Т.А. Нечесова, И.Ю. Коробко, Н.И. Кузнецова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Мед. новости. – 2008. – № 11. – С. 7-13.

68. Никитин, Ю.П. Новые фундаментальные и прикладные основы атерогенеза / Ю.П. Никитин. – Текст (визуальный) : непосредственный // Бюллетень СО РАМН. – 2006. – № 2. – С. 6-14.

69. Никитина, В.В. Роль ФРЭС и MCP-1 в развитии дисфункции эндотелия при сахарном диабете 1-го и 2-го типа, осложненном диабетической ретинопатией / В.В. Никитина, Н.Б. Захарова, Т.Г. Каменских. – Текст (визуальный) : непосредственный // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – №6. – С.8-10.

70. Никитина, В.В. Значение MCP-1 как предиктора сосудистых нарушений / В.В. Никитина, Н.Б. Захарова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2010. – Т. 6, № 4. – С. 786-790.

71. Никитина, С.Ю. Здоровоохранение в России 2015: стат. сб. / С.Ю. Никитина. – М., 2015. – 174 с. – Текст (визуальный) : непосредственный.

72. Орлова, Я.А. Жесткость артерий как интегральный показатель сердечно-сосудистого риска: физиология, методы оценки и медикаментозной коррекции / Я.А. Орлова, Ф.Т. Агеев. – Текст (визуальный) : непосредственный // Сердце. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 65-69.

73. Основные механизмы развития атеросклероза / И.С. Мурашов, С.В. Савченко, А.М. Волков [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Вестник судебной медицины. – 2017. – Т. 6, № 1. – С. 31-36.

74. Оценка организации медицинской помощи больным с острым коронарным синдромом с подъемом сегмента ST в динамике за 2009-2010 гг. в субъектах Российской Федерации, реализующих сосудистую программу (по данным регистра ОКС) / Е.В. Ощепков, В.А. Дмитриев, В.И. Гриднев, П.Я. Довгалевский. – Текст (визуальный) : непосредственный // Терапевтический архив. – 2012. – № 1. – С. 23-29.

75. Оценка факторов воспаления у больных инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST и наличием мультифокального атеросклероза / О.Л. Барбараш, М.В. Зыков, В.В. Кашталап [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2010. – № 6. – С. 20-26.

76. Оценка маркёров воспаления и эндотелиальной дисфункции у пациентов с артериальной гипертензией на фоне достижения целевого уровня артериального давления / И.И. Чукаева, Я.В.Спирякина, Н.В. Орлова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Клиническая лабораторная диагностика. – 2018. – Т. 63, № 6. – С. 1 – 6.

77. Петрищев, Н.Н. Нарушение адгезионной активности как форма эндотелиальной дисфункции / Н.Н. Петрищев, Л.В. Васина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Трансляционная медицина. – 2014. – № 3. – С. 5-15.

78. Плазменные маркеры эндотелиальной дисфункции при гипертонической болезни (обзор литературы) / О.В. Зимницкая, М.М. Петрова, Д.С. Каскаева [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // В мире научных открытий. – 2015. – Т.64, № 4. – С. 204-230.

79. Подзолков, В.И. Сердечно-сосудистый континуум: могут ли ингибиторы АПФ разорвать " порочный круг"? / В.И. Подзолков, К.К. Осадчий. –

Текст (визуальный) : непосредственный // Российский медицинский журнал. – 2008. – Т. 16, № 17. – С. 1102-1109.

80. Приходько, Н.П. Предикторы неблагоприятного течения ишемической болезни сердца и способ его прогнозирования / Н.П. Приходько. – Текст (визуальный) : непосредственный // Вестник проблем биологии и медицины. – 2012. – Т. 1, № 3. – С. 99-102.

81. Проблемы и перспективы коррекции промежуточного метаболизма у больных с сосудистой коморбидностью / С.А. Румянцева, Р.Г. Оганов, В.А. Ступин [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2013. – Т. 9, № 3. – С. 316-322.

82. Прогнозирование осложнений инфаркта миокарда в течение одного года наблюдения / М.В. Зыков, В.В. Кашталап, Д.С. Зыкова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 26, № 4. – С. 41-46.

83. Прогностическое значение лейкоцитоза при инфаркте миокарда / Х.А. Бацигов, Р.Г. Сайфутдинов, Д.Р. Тагирова, Г.Р. Муртазина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Казанский медицинский журнал. – 2010. – Т. 91, № 3. – С. 225-215.

84. Прогностическое значение маркеров воспаления и NT-proBNP при различных вариантах лечения больных с острым коронарным синдромом / Е.В. Шрейдер, Р.М. Шахнович, Е.И. Казначеева [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиологический вестник. – 2008. – Т. 3, № 2. – С. 44-53.

85. Прогностическое значение характеристик атеросклеротических бляшек в коронарных артериях у больных с острым инфарктом миокарда и хронической ишемической болезнью сердца по данным внутрисосудистого ультразвукового исследования / Н.Р. Тагиева, Р.М. Шахнович, В.М. Миронов [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Атеросклероз и дислипидемии. – 2015. – № 4. – С. 20-26.

86. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – Москва: Изд-во Медиа Сфера, 2006. – 312 с. – Текст (визуальный) : непосредственный.

87. Ремоделирование левого желудочка и дисфункция артериальной системы у больных с постинфарктным кардиосклерозом с артериальной гипертензией при хронической сердечной недостаточности / О.А. Солдатова, А.Е. Рябов, Ю.В. Щукин [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Казанский медицинский журнал. – 2007. – Т. 88, № 3. – С. 215-219.

88. Роль дисфункции эндотелия в генезе сердечно-сосудистых заболеваний / В.Н. Ельский, Н.Т. Ватутин, Н.В. Калинин, А.М. Салахова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Журнал АМН Украины. – 2008. – Т. 14, № 1. – С. 51-62.

89. Роль дисфункции эндотелия в патогенезе атеросклероза / Е.Н. Воробьева, Г.И. Шумахер, И.В. Осипова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2018. – Т. 5, № 6. – С. 129-136.

90. Роль иммунных нарушений и дисбаланса микроэлементов в прогнозировании сердечно-сосудистых осложнений у больных q-образующим инфарктом миокарда / Д.З. Бекенова, А.А. Демидов, Г.Р. Сагитова, М.Я. Ледяев. – Текст (визуальный) : непосредственный // Вестник ВолгГМУ. – 2015. – Т.54, № 2. – С. 65-67.

91. Роль полиморфных маркеров генов медиаторов воспаления в формировании наследственной предрасположенности к эссенциальной гипертензии / Т.Р. Насибуллин, В.А. Белоногова, В.В. Эрдман [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Цитокины и воспаление. – 2011. – Т.10, № 3. – С. 22-26.

92. Роль рецептора-2 VEGF (KDR/Flk-1) в кардиомиогенезе и цитопротекторных реакциях / И.О. Мешков, Е.И. Новоселова, Г.М. Бушманова, Д.Е.

Семенов. – Текст (визуальный) : непосредственный // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 1-15.

93. Роль тромбоцитов в воспалении и иммунитете / С.П. Свиридова, О.В. Соменова, Ш.Р. Кашия [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Исследования и практика в медицине. – 2018. – Т. 5, № 3. – С. 40-52.

94. Роль ультразвуковой визуализации субклинического атеросклероза сонных артерий в прогнозировании сердечно-сосудистого риска в рамках первичной кардиоваскулярной профилактики / А.Е. Головина, Н.О. Катамадзе, Е.Б. Бондарева [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Атеросклероз и дислипидемии. – 2017. – № 1. – С. 5-16.

95. Роль цитокинов в патогенезе ишемической болезни сердца / Ф.Н. Палеев, И.С. Белокопытова, Б.И. Минченко, О.В. Москалец. – Текст (визуальный) : непосредственный // Креативная кардиология. – 2011. – № 1. – С. 75–80.

96. Романюк, С.В. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия и уровень sP-селектина у больных с инфарктом миокарда / С.В. Романюк. – Текст (визуальный) : непосредственный // Символ науки. – 2017. – Т. 2, № 1. – С. 174-177.

97. Сайганов, С.А. Ишемическая дисфункция левого желудочка и острая сердечная недостаточность при первых и повторных инфарктах миокарда нижней локализации / С.А. Сайганов. – Текст (визуальный) : непосредственный // Скорая медицинская помощь. – 2010. – № 2. – С. 41-46.

98. Сергеева, Л.И. Общие закономерности и патогенетическая значимость постинфарктного ремоделирования в прогрессировании хронической сердечной недостаточности / Л.И. Сергеева, Н.И. Панев. – Текст (визуальный) : непосредственный // Бюллетень СО РАМН. – 2008. – Т.133, № 5. – С. 121-126.

99. Сетевой подход к анализу локусов количественных признаков генов фактора некроза опухолей (TNF $\alpha$ -863, TNF $\alpha$ -308, TNF $\alpha$ -238), фактора роста



сосудистого эндотелия (VEGF-2578, VEGF+ 936) и матриксных металлопротеиназ (MMP2-1306, MMP3-1171, MMP9-1569) при возрастной макулярной дегенерации / А.В. Шевченко, Ф.В. Прокофьев, В.И. Коненков [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19, № 5. – С. 538-546.

100. Современные представления об иммуновоспалительных механизмах атеросклероза / А.М. Карпов, А.В. Рвачева, М.Х. Шогенова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Атеросклероз и дислипидемии. – 2014. – № 1. – С. 25-30.

101. Сравнительная характеристика шкал прогнозирования госпитальной летальности у больных инфарктом миокарда / М.В. Зыков, О.Л. Барбараш, Д.С. Зыкова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Российский кардиологический журнал. – 2012. – № 1. – С. 11-16.

102. Структурные особенности и некоторые механизмы развития нестабильности атеросклеротических бляшек в коронарных артериях при ишемической болезни сердца / В.С. Жданов, И.П. Дробкова, В.Г. Цыпленков [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиологический вестник. – 2012. – № 2. – С. 24-28.

103. Сумароков, А.Б. Риск-стратификация больных ишемической болезнью сердца / А.Б. Сумароков. – Текст (визуальный) : непосредственный // Русский медицинский журнал – 1999. – Т. 6, № 14. – С. 896-905.

104. Сумеркина, В.А. Маркеры дисфункции эндотелия и цитокиновый профиль у пациентов с метаболическим синдромом и абдоминальным ожирением / В.А. Сумеркина, Е.С. Головнева, Л.Ф. Телешева. – Текст (визуальный) : непосредственный // Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. – Т. 61, № 7. – С. 408-412.

105. Сушкина, И.Ф. Оценка функционального состояния эндотелия у пациентов с острым инфарктом миокарда на фоне сахарного диабета 2 типа /

И.Ф. Сушкина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2014. – № 2. – С. 40-45.

106. Тулякова, Г.Х. Полиморфизм генов цитокинов и предрасположенность к инфаркту миокарда и внезапной смерти : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.06, 03.00.15 / Тулякова Гульнара Хамитовна. – Уфа, 2007. – 24 с. – Текст (визуальный) : непосредственный.

107. Улумбекова, Э.Г. Гистология, эмбриология, цитология: учебник для вузов / Э.Г. Улумбекова, Ю.А. Челышева – 3-е изд. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 480 с. – Текст (визуальный) : непосредственный.

108. Устинович, Т.Н. Новые биомаркеры: прогностическая роль в течение острого коронарного синдрома / Т.Н. Устинович, О.Н. Журова, В.П. Подпалов. – Текст (визуальный) : непосредственный // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации. – 2018. – №.1 – С. 334-336.

109. Участие биохимических систем в патогенезе эндотелиальной дисфункции / С.Г. Дзугкоев, Ф.С. Дзугкоева, О.И. Маргиева [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 2. – С. 143-153.

110. Фатхуллина, А.Р. Роль цитокинов в развитии атеросклероза (обзор) / А.Р. Фатхуллина, Ю.О. Пешкова, Е.К. Кольцова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Биохимия. – 2016. – Т. 81, № 11. – С. 1614-1627.

111. Церебральный инсульт в трудоспособном возрасте: оценка профиля факторов риска и фоновых состояний / М.Е. Евсеева, М.Ю. Мартынов, А.А. Курбанмагомедова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 6. – С. 323-323.

112. Цитокины и атеросклероз – новые направления исследований / С.В. Дутова, Ю.В. Саранчина, М.Р. Карпова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Бюллетень Сибирской медицины. – 2019. – Т. 17, № 4. – С. 199-208.

113. Черешнев, В.А. Иммунологические и патофизиологические механизмы системного воспаления / В.А. Черешнев, Е.Ю. Гусев. – Текст (визуальный) : непосредственный // Медицинская иммунология. – 2012. – №14. – С. 9-20.

114. Шаленкова, М.А. Роль маркеров некроза и воспаления в прогнозировании острых форм ишемической болезни сердца / М.А. Шаленкова, Э.Т. Мухаметова, З.Д. Михайлова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Клиническая медицина. – 2013. – Т. 91, № 11.– С. 210-215.

115. Шахнович, Р.М. Маркеры воспаления, NT-proBNP и инфекционный фактор у больных с острым коронарным синдромом и значение их определения для прогноза исходов заболевания: дис. ... д-ра мед. наук 14.01.05./ Шахнович Роман Михайлович. – Москва, 2010. – 350 с. – Текст (визуальный) : непосредственный.

116. Шестерня, П.А. Генетические аспекты инфаркта миокарда: проблемы и перспективы / П.А. Шестерня, В.А. Шульман, С.Ю. Никулина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Российский кардиологический журнал. – 2012. – Т. 93, № 1. – С. 41-47.

117. Шляхто, Е.В. Классификация артериальной гипертензии: от болезни Брайта до сердечно-сосудистого континуума / Е.В. Шляхто, А.О. Конради. – Текст (визуальный) : непосредственный // Артериальная гипертензия. – 2004. – Т. 10, № 2. – С. 98-105.

118. Экспрессия хемокинов и цитокинов в атеросклеротических бляшках и интиме артерий у больных ИБС / Н.Б. Кухтина, Т.И. Арефьева, А.М. Арефьева [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Терапевтический архив. – 2008. – № 4. – С. 63-69.

119. Эндотелиальная дисфункция у больных с острым инфарктом миокарда: связь с течением заболевания / А.Н. Пархоменко, О.И. Иркин, Я.М. Лутай [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Медицина неотложных состояний. – 2016. – № 1. – С. 131-136.

120. Якушин, С.С. Значение оценки эндотелиальной функции на популяционном уровне (по данным исследования МЕРИ-ДИАН-РО) /С.С. Якушин, Е. В. Филиппов. – Текст (визуальный) : непосредственный //Наука молодых–Eruditio Juvenium. – 2013. – №. 3. – С. 131-136.

121. Якушин, С.С. Инфаркт миокарда / С.С. Якушин, Н.Н. Никулина, С.В. Селезнев. – М., 2018. – 240 с. – Текст (визуальный) : непосредственный.

122. A common allele on chromosome 9 associated with coronary heart disease / R. McPherson, A. Pertsemlidis, N. Kavaslar [et al.]. – Text : visual // Science. – 2007. – Vol. 316, № 5830. – P. 1488-1491.

123. A common variant highly associated with plasma VEGFA levels also contributes to the variation of both LDL-C and HDL-C / M.G. Stathopoulou, A. Bonnefond, N.C. Ndiaye [et al.]. – Text : visual // Journal of lipid research. – 2013. – Vol. 54, № 2. – P. 535-541.

124. A common variant on chromosome 9p21 affects the risk of myocardial infarction / A. Helgadottir, G. Thorleifsson, A. Manolescu [et al.]. – Text : visual // Science. – 2007. - Vol. 316, № 5830. – P. 1491-1493

125. A comprehensive 1000 Genomes–based genome-wide association meta-analysis of coronary artery disease / M. Nikpay, A. Goel, H.H. Won [et al.]. – Text : visual // Nature genetics. – 2015. – Vol. 47, № 10. – P. 1121-1140.

126. A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans / A.V. Favorov, T.V. Andreewski, M.A. Sudomoina [et al.]. – Text : visual // Genetics. – 2005. – Vol. 171, № 4. – P.2113–2121.

127. A novel discharge risk model for patients hospitalized for acute decompensated heart failure incorporating N-terminal pro B type natriuretic peptide levels: a European Collaboration on Acute decompensated Heart Failure: ELAN-HF Score / K. Salah, W.E. Kok, L.W. Eurlings [et al.]. – Text : visual // Heart. – 2014. – Vol. 100. – P. 115-125.

128. A systematic meta-analysis of genetic association studies for diabetic retinopathy / S. Abhary, A. W. Hewitt, K. P. Burdon, J. E. Craig. – Text : visual // *Diabetes*. – 2009. – Vol. 58, № 9. – P. 2137-2147.

129. Abdel-Aziz, T.A. Association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms with classical risk factors in development of premature coronary artery disease / T.A. Abdel-Aziz, R.H. Mohamed. – Text : visual // *Molecular biology reports*. – 2013. – Vol. 40, № 4. – P. 3065-3071.

130. Adiponectin inhibits superoxide generation by human neutrophils / U.J. Magalang, R. Rajappan, M. G. Hunter [et al.]. – Text : visual // *Antioxidants & redox signaling*. – 2006. – Vol. 8, № 12. – P. 2179-2186.

131. Anderson, J.L. Acute myocardial infarction / J.L. Anderson, D.A. Morrow. – Text : visual // *New England Journal of Medicine*. – 2017. – Vol. 376, № 21. – P. 2053-2064.

132. Arterial stiffness and risk of coronary heart disease and stroke: the Rotterdam Study / F.U.S. Mattace-Raso, T.J.M. van der Cammen, A. Hofman [et al.]. – Text : visual // *Circulation*. – 2006. – Vol. 113, № 5. – P. 657-663.

133. Ashkenazi, A. Regulated cell death: signaling and mechanisms/A. Ashkenazi, G. Salvesen. – Text : visual // *Annual review of cell and developmental biology*. – 2014. – Vol. 30. – P. 337-356.

134. Assessment of genetic effects of polymorphisms in the MCP-1 gene on serum MCP-1 levels and myocardial infarction in Japanese / N.Iwai, K. Kajimoto, Y. Kokubo [et al.]. – Text : visual // *Circulation journal: official journal of the Japanese Circulation Society*. – 2006. – Vol. 70, №7. – P. 805-809.

135. Assimes, T.L. Coronary Artery Disease and Myocardial Infarction / T.L. Assimes. – Text : visual // *Genomic and Precision Medicine (Academic Press)*. – 2017. – Vol. 3. – P. 127-163.

136. Association between HIF-1 alpha and VEGF genopolymorphisms in Tunisian patients with ischemic heart diseases / S. Khelil, B.H.M. Manel, L. Khelifi [et al.]. – Text : visual // *Int J Clin Exp Med*. – 2018. – Vol. 11, №2. – P. 1-9.

137. Association between the– 2518G/A polymorphism in the monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) gene and hypertension in Tunisian patients / R. Jemaa, H. Rojbani, A. Kallel [et al.]. – Text : visual // *Clinical biochemistry*. – 2009. – Vol. 42, №1. – P. 34-37.

138. Association between NOS3 G894T, T-786C and 4a/4b Variants and coronary artery diseases in iranian population / H.R. Joshaghani, A. Salehi, E. Samadian [et al.]. – Text : visual // *Iranian Journal of Public Health*. – 2018. – Vol. 47, №. 12. – P. 1891-1898.

139. Association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms with coronary artery disease: an updated meta-analysis and systematic review / H. Rai, F. Parveen, S. Kumar [et al.]. – Text : visual // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, № 11. – P. 113363-113370.

140. Association of the VEGF gene polymorphism with diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients / M. Buraczynska, P. Ksiazek, I. Baranowicz-Gaszczyk, L. Jozwiak. – Text : visual // *Nephrology Dialysis Transplantation*. – 2007. – Vol. 22, №3. – P. 827-832.

141. Association of NOS3 gene polymorphisms with essential hypertension in Sudanese patients: a case control study / S. Gamil, J. Erdmann, I.B. Abdalrahman [et al.]. – Text : visual // *BMC Medical Genetics*. – 2017. – Vol. 18, №. 1. – P. 128.-137.

142. Asymmetric Dimethylarginine and the Risk of Cardiovascular Events and Death in Patients With Coronary Artery Disease Results from the AtheroGene Study / R. Schnabel, S. Blankenberg, E. Lubos [et al.]. – Text : visual // *Circulation research*. – 2005. – Vol. 97, №5. – P. 53-59.

143. Asymmetric Dimethylarginine Independently Predicts Fatal and Nonfatal Myocardial Infarction and Stroke in Women 24-Year Follow-Up of the Population Study of Women in Gothenburg / T. Leong, D. Zylberstein, I. Graham [et al.]. – Text : visual // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2008. – Vol. 28, №5. – P. 961-967.

144. Asymmetrical dimethylarginine independently predicts total and cardiovascular mortality in individuals with angiographic coronary artery disease (the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study) / A. Meinitzer, U. Seelhorst, B. Wellnitz [et al.]. – Text : visual // *Clinical chemistry*. – 2007. – Vol. 53, №2. – P. 273-283.

145. Atherosclerosis and immunity: a perspective / F. Abdolmaleki, S.M.G. Hayat, V. Bianconi [et al.]. – Text : visual // *Trends in cardiovascular medicine*. – 2019. – Vol. 29, №. 6. – P. 363-371.

146. Baseline NT-proBNP and biomarkers of inflammation and necrosis in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: insights from the APEX-AMI trial / S. Diepen, M.T. Roe, R.D. Lopes [et al.]. – Text : visual // *J. Thromb. Thrombolysis*. – 2012. – Vol. 34, № 1. – P. 106-113.

147. Bax, J.J. Radionuclide techniques for the assessment of myocardial viability and hibernation / J.J. Bax, E.E. van der Wall, M. Harbinson. – Text : visual // *Heart*. – 2004. – Vol. 90, №5. – P. 26-33.

148. Ben-Selma, W. MCP-1– 2518 A/G functional polymorphism is associated with increased susceptibility to active pulmonary tuberculosis in Tunisian patients / W.Ben-Selma, H. Harizi, J. Boukadida. – Text : visual // *Molecular biology reports*. – 2011. – Vol. 38, № 8. – P. 5413-5419.

149. Biasucci, L.M. Workshop on markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: clinical use of inflammatory markers in patients with diseases: a background paper / L.M. Biasucci. – Text : visual // *Circulation*. – 2004. – №110. – P. 560-567.

150. Bland, J.M. The odds ratio / J.M. Bland, D.G. Altman. – Text : visual // *Bmj*. – 2000. – Vol. 320, № 7247. – P. 1468-1473.

151. Blankenberg, S. Adhesion molecules and atherosclerosis / S. Blankenberg, S. Barbaux, L. Tiret. – Text : visual // *Atherosclerosis*. – 2003. – Vol.170, № 2. – P. 191–203.

152. Bonetti, P.O. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk / P.O. Bonetti, L.O. Lerman, A. Lerman. – Text : visual // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2003. – Vol. 23, №2. – P. 168-175.
153. Brasier, A.R. The nuclear factor- $\kappa$ B–interleukin-6 signalling pathway mediating vascular inflammation / A.R. Brasier. – Text : visual // *Cardiovasc. Res.* – 2010. – Vol. 86, № 2. – P. 211-218.
154. Bujak, M. The role of TGF- $\beta$  signaling in myocardial infarction and cardiac remodeling / M. Bujak, N.G. Frangogiannis. – Text : visual // *Cardiovascular research*. – 2007. – Vol. 74, № 2. – P. 184-195.
155. Canavese, M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and lovastatin suppress the inflammatory response to *Plasmodium berghei* infection and protect against experimental cerebral malaria / M. Canavese, A. Crisanti. – Text : visual // *Pathogens and global health*. – 2015. – Vol. 109, № 6. – P. 266-274.
156. Candidate gene polymorphisms for ischemic stroke / M. Matarin, W.M. Brown, H. Dena [et al.]. – Text : visual // *Stroke*. – 2009. – Vol. 40, № 11. – P. 3436-3442.
157. Cardiac troponin T-levels for risk stratification in acute myocardial ischemia / E.M. Ohman, P.W. Armstrong, R.H. Christenson [et al.]. – Text : visual // *N. Engl. J. Med.* – 1996. – Vol. 335. – P. 1333-1341.
158. Carotid plaque and candidate genes related to inflammation and endothelial function in Hispanics from northern Manhattan / H. Gardener, A. Beecham, D. Cabral [et al.]. – Text : visual // *Stroke*. – 2011. – Vol. 42, №4. – P. 889-896.
159. CCL2 expression correlates with Snail expression and affects the prognosis of patients with gastric cancer / J. Zhang, Y. Yan, X. Cui [et al.]. – Text : visual // *Pathol. Res. Pract.* – 2017. – Vol. 213, № 3. – P. 217-221.
160. CCL2 polymorphisms are associated with serum monocyte chemoattractant protein-1 levels and myocardial infarction in the Framingham Heart Study / D.H. McDermott, Q. Yang, S. Kathiresan [et al.]. – Text : visual // *Circulation*. – 2005. – Vol. 112, №8. – P. 1113-1120.



161. Cell-cell interactions: leukocyte-endothelial interactions / T.M. McIntyre, S.M. Prescott, A.S. Weyrich [et al.]. – Text : visual // *Current opinion in hematology*. – 2003. – Vol. 10, № 2. – P. 150-158.

162. Chen, B. Immune cells in repair of the infarcted myocardium / B. Chen, N. G. Frangogiannis. – Text : visual // *Microcirculation*. – 2017. – Vol. 24, №. 1. – P. 12305-12311.

163. Circulating soluble adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 and their association with clinical outcome, troponin T and C-reactive protein in patients with acute coronary syndromes / A.S. Postadzhiyan, A.V. Tzontcheva, I. Kehayov [et al.]. – Text : visual // *Clinical biochemistry*. – 2008. – Vol. 41, №3. – P. 126-133.

164. Clinical perspective / H. Schunkert, A. Götz, P. Braund [et al.]. – Text : visual // *Circulation*. – 2008. – Vol. 117, № 13. – P. 1675-1684.

165. Clinician guide to angiogenesis / N.P. Fam, S. Verma, M. Kutryk [et al.]. – Text : visual // *Circulation*. – 2003. – Vol. 108, № 21. – P. 2613-2618.

166. Cytokines and acute heart failure / D. Chen, C. Assad-Kottner, C. Orrego [et al.]. – Text : visual // *Critical care medicine*. – 2008. – Vol. 36, № 1. – P. 9-16.

167. DDAH1 deficiency attenuates endothelial cell cycle progression and angiogenesis / P. Zhang, X. Xu, X. Hu [et al.]. – Text : visual // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, № 11. – P. 79444-79450.

168. de Lemos, J.A. Natriuretic peptides in the prognosis and management of acute coronary syndromes / J.A. de Lemos, W.F. Peacock, P.A. McCullough. – Text : visual // *Rev. Cardiovasc. Med.* – 2010. – Vol. 11, № 2. – P. 24-34.

169. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase overexpression ameliorates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice by lowering asymmetric dimethylarginine / J. Jacobi, R. Maas, A.J. Cardounel [et al.]. – Text : visual // *The American journal of pathology*. – 2010. – Vol. 176, №. 5. – P. 2559-2570.

170. Dinarello, C.A. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family / C.A. Dinarello. – Text : visual // Annual review of immunology. – 2009. – Vol. 27. – P. 519-550.

171. Dynamic TIMI risk score for STEMI / S.T. Amine, D.A. Morrow, E. Braunwald [et al.]. – Text : visual // J. Am. Heart Assoc. – 2013. – Vol. 2, № 1. – P. 3269-3277.

172. Early extracorporeal membrane oxygenator-assisted primary percutaneous coronary intervention improved 30-day clinical outcomes in patients with ST-segment elevation myocardial infarction complicated with profound cardiogenic shock / J.J. Sheu, T.H. Tsai, F.Y. Lee [et al.]. – Text : visual // Crit. Care Med. – 2010. – Vol. 38. – P. 1810-1817.

173. Effects of Stress Hyperglycemia on Acute Myocardial Infarction Role of inflammatory immune process in functional cardiac outcome / R. Marfella, M. Siniscalchi, K. Esposito [et al.]. – Text : visual // Diabetes care. – 2003. – Vol. 26, № 11. – P. 3129-3135.

174. Elevation of asymmetric dimethylarginine in patients with unstable angina and recurrent cardiovascular events / T.K. Krempl, R. Maas, K. Sydow [et al.]. – Text : visual // European heart journal. – 2005. – Vol. 26, №. 18. – P. 1846-1851.

175. Endemann, D.H. Endothelial dysfunction / D.H. Endemann, E.L. Schiffrin. – Text : visual // Journal of the American Society of Nephrology. – 2004. – Vol. 15, № 8. – P. 1983-1992.

176. Endothelial dysfunction and oxidative stress in arterial hypertension / P. Ferroni, S. Basili, V. Paoletti, G. Davi. – Text : visual // Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases. – 2006. – Vol. 16, № 3. – P. 222-233.

177. Endothelial dysfunction and vascular disease / P.M. Vanhoutte, H. Shimokawa, E.H.C. Tang, M. Feletou. – Text : visual // Acta physiologica. – 2009. – Vol. 196, № 2. – P. 193-222.

178. Endothelial dysfunction: the early predictor of atherosclerosis / M. Mudau, A. Genis, A. Lochner, H. Strijdom. – Text : visual // Cardiovascular journal of Africa. – 2012. – Vol. 23, № 4. – P. 222-231.

179. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and the risk of acute myocardial infarction in a South Indian population / A.S. Kumar, G. Umamaheswaran, R. Padmapriya [et al.]. – Text : visual // Molecular biology reports. – 2013. – Vol. 40, №2. – P. 1275-1281.

180. Endothelial nitric oxide synthase reduces crescentic and necrotic glomerular lesions, reactive oxygen production, and MCP1 production in murine lupus nephritis / J.C. Oates, A.K. Mashmouhi, S.R. Shaftman, G.S. Gilkeson. – Text : visual // PloS one. – 2013. – Vol. 8, № 5. – P. 1-9.

181. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) / K. Dickstein, A.E. Epstein, J. Dimarco [et al.]. – Text : visual // Eur Heart J. – 2008. – Vol.29, № 19. – P. 2388-2442.

182. ESH-ESC Practice Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: ESH-ESC Task Force on the Management of Arterial Hypertension / G. Mancia, G. De Backer, A. Dominiczak [et al.]. – Text : visual // Journal of hypertension. – 2007. – Vol. 25, №9. – P. 1751.

183. Farah, C. Nitric oxide signalling in cardiovascular health and disease / C. Farah, L.Y.M. Michel, J.L. Balligand. – Text : visual // Nature Reviews Cardiology. – 2018. – Vol. 15, №. 5. – P. 292.-316.

184. For the Global Utilization of Streptokinase and t-PA for Occluded Coronary Arteries (GUSTO)-I Angiographic Investigators. End-systolic volume index at 90 to 180 minutes into reperfusion therapy for acute myocardial infarction is a

strong predictor of early and late mortality / R.Q. Migrino, J.B. Young, S.G. Ellis [et al.]. – Text : visual // *Circulation*. – 1997. – Vol. 96. – P.116-121.

185. Förstermann, U. Nitric oxide synthases: regulation and function / U. Förstermann, W.C. Sessa. – Text : visual // *European heart journal*. – 2012. – Vol. 33, № 7. – P. 829-837.

186. Frangogiannis, N.G. Chemokines in the ischemic myocardium: from inflammation to fibrosis / N.G. Frangogiannis. – Text : visual // *Inflamm. Res.* – 2004. – Vol. 53, № 11. – P. 585-595.

187. Functional vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and diabetes: effect on coronary collaterals in patients with significant coronary artery disease / T.H. Lin, C.L. Wang, H.M. Su [et al.]. – Text : visual // *Clinica chimica acta*. – 2010. – Vol. 411, № 21. – P. 1688-1693.

188. Galkina, E. Vascular adhesion molecules in atherosclerosis / E. Galkina, K. Ley. – Text : visual // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2007. – Vol. 27, № 11. – P. 2292-2301.

189. Genetic markers progress and potential for cardiovascular disease / G.H. Gibbons, C.C. Liew, M.O. Goodarzi [et al.]. – Text : visual // *Circulation*. – 2004. – Vol. 109, № 25. – P. 47-58.

190. Genetic risk score of NOS gene variants associated with myocardial infarction correlates with coronary incidence across Europe / R. Carreras-Torres, S. Kundu, D. Zanetti [et al.]. – Text : visual // *PloS one*. – 2014. – Vol. 9, №5. – P. 96504-96512.

191. Genetic variation in the dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1 gene (DDAH1) is related to asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels, but not to endothelium-dependent vasodilation / L. Lind, E. Ingelsson, J. Kumar [et al.]. – Text : visual // *Vascular Medicine*. – 2013. – Vol. 18, № 4. – P. 192-199.

192. Genetics of coronary artery disease and myocardial infarction / X. Dai, S. Wiernek, J.P. Evans, M.S. Runge. – Text : visual // *World journal of cardiology*. – 2016. – Vol. 8, №1. – P. 15-20.

193. Genomewide association analysis of coronary artery disease / N.J. Samani, J. Erdmann, A.S. Hall [et al.]. – Text : visual // *New England Journal of Medicine*. – 2007. – Vol. 357, № 5. – P. 443-453.
194. Global platelet hyperreactivity and elevated C-reactive protein levels predict long-term mortality in STEMI patients / R. Marcucci, S. Valente, A.M. Gori [et al.]. – Text : visual // *Thromb. Res.* – 2014. – Vol. 134, № 4. – P. 884-888.
195. Global status report on noncommunicable diseases / World Health Organization. – Text : electronic. – URL: (<http://www.who.int/nmh/publications/ncd-status-report-2014/en/>), 2014г.
196. GRACE score among six risk scoring Systems (CADILLAC, PAMI, TIMI, Dynamic TIMI, ZWOLLE) demonstrated the best predictive value for prediction of long-term mortality in patients with ST-elevation myocardial infarction / S. Littnerova, P. Kala, J. Jarkovsky [et al.]. – Text : visual // *PloS One*. – 2015. – Vol. 10, № 4. – P. 123215-123230.
197. Greenberg, B. Role of aldosterone blockade for treatment of heart failure and post-acute myocardial infarction / B. Greenberg, F. Zannad, B. Pitt. – Text : visual // *Am. J. Cardiol.* – 2006. – Vol.97, №10. – P.34-40.
198. Greider, C.W. Regulating telomere length from the inside out: the replication fork model / C.W. Greider. – Text : visual // *Genes & development*. – 2016. – Vol. 30, № 13. – P. 1483-1491.
199. Hadi, H.A.R. Endothelial dysfunction: cardiovascular risk factors, therapy, and outcome / H.A.R.Hadi, C.S. Carr, J. Al Suwaidi. – Text : visual // *Vascular health and risk management*. – 2005. – Vol. 1, № 3. – P. 183.
200. Hansson, G.K. Inflammation and atherosclerosis: the end of a controversy / G.K. Hansson. – Text : visual // *Circulation*. – 2017. – Vol. 136, №. 20. – P. 1875-1877.
201. Heterogeneous effect of two selectin gene polymorphisms on coronary artery disease risk: a meta-analysis / Z. Wu, Y. Lou, L. Lu [et al.]. – Text : visual // *PloS one*. – 2014. – Vol. 9, № 2. – P. 1-12.

202. High interleukin-6 plasma levels are associated with low HDL-C levels in community-dwelling older adults: the InChianti study / G. Zuliani, S. Volpato, A. Blè [et al.]. – Text : visual // *Atherosclerosis*. – 2007. – Vol. 192, № 2. – P. 384-390.

203. High plasma levels of soluble P-selectin are predictive of venous thromboembolism in cancer patients: results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS) / C. Ay, R. Simanek, R. Vormittag [et al.]. – Text : visual // *Blood*. – 2008. – Vol. 112, № 7. – P. 2703-2708.

204. 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.]. – Text : visual // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2007. – Vol. 45, № 10. – P. 1360-1365.

205. High shear stress induces atherosclerotic vulnerable plaque formation through angiogenesis / Y. Wang, J. Qiu, S. Luo [et al.]. – Text : visual // *Regenerative Biomaterials*. – 2016. – Vol. 3, №4. – P. 257-267.

206. High-sensitivity C-reactive protein predicts 10-year cardiovascular outcome after percutaneous coronary intervention / R.M. Oemrawsingh, J.M. Cheng, I. Kardys [et al.]. – Text : visual // *EuroIntervention*. – 2015. – Vol. 11, № 3. – P. 20140818-2014022.

207. ICAM1 and VCAM1 polymorphisms, coronary artery calcium, and circulating levels of soluble ICAM-1: the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA) / S. J. Bielinski, J.S. Pankow, N. Li [et al.]. – Text : visual // *Atherosclerosis*. – 2008. – Vol. 201, №2. – P. 339-344.

208. Identification of 15 novel risk loci for coronary artery disease and genetic risk of recurrent events, atrial fibrillation and heart failure / N. Verweij, R.N. Eppinga, Y. Hagemeyer, P. Harst. – Text : visual // *Scientific reports*. – 2017. – Vol. 7, № 1. – P. 1-9.

209. IL-6 and its receptors in coronary artery disease and acute myocardial infarction / D.R. Anderson, J.T. Poterucha, T.R. Mikuls [et al.]. – Text : visual // Cytokine. – 2013. – Vol. 62, № 3. – P. 395-400.

210. IL-6 and adhesion molecules VCAM-1 and ICAM-1 as biomarkers of post-acute myocardial infarction heart failure / D.O.C. Lino, I.A. Freitas, G.C. Meneses [et al.]. – Text : visual // Brazilian Journal of Medical and Biological Research. – 2019. – Vol. 52, №. 12. – P.1-6.

211. IL-6: a regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation / G. Kaplanski, V. Marin, F. Montero-Julian [et al.]. – Text : visual // Trends in immunology. – 2003. – Vol. 24, № 1. – P. 25-29.

212. Impact of asymmetric dimethylarginine on mortality after acute myocardial infarction / M. Zeller, C. Korandji, J.C. Guiland [et al.]. – Text : visual // Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. – 2008. – Vol. 28, № 5. – P. 954-960.

213. Impaired aortic distensibility measured by computed tomography is associated with the severity of coronary artery disease / N. Ahmadi, V. Nabavi, F. Hajsadeghi [et al.]. – Text : visual // The international journal of cardiovascular imaging. – 2011. – Vol. 27, №3. – P. 459-469.

214. Increased serum vWF and sVCAM-1 levels are associated with late or very late angiographic stent thrombosis after sirolimus-eluting stent implantation / C.Jin, L. Lu, Z.B. Zhu [et al.]. – Text : visual // Coronary artery disease. – 2010. – Vol. 21, № 5. – P. 273-277.

215. Inflammation following acute myocardial infarction: multiple players, dynamic roles, and novel therapeutic opportunities / S.B. Ong, S. Hernández-Reséndizab, G.E.Crespo-Avilan [et al.]. – Text : visual // Pharmacology & therapeutics. – 2018. – Vol. 186. – P. 73-87.

216. Inflammatory markers in ST-elevation acute myocardial infarction / I.M. Seropian, C. Sonnino, B.W.V. Tassel [et al.]. – Text : visual // European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care. – 2016. – Vol. 5, №. 4. – P. 382-395.

217. Innate immune response in the pathogenesis of heart failure in survivors of myocardial infarction / A. Zimmer, A.K. Bagchi, K. Vinayak [et al.]. – Text : visual // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2019. – Vol. 316, №. 3. – P. 435-445.

218. Innis, M.A. Optimization of pcrs / M.A. Innis, D.H. Gelfand. – Text : visual // *PCR protocols: A guide to methods and applications*. – 1990. – Vol. 3. – C. 1-11.

219. Interaction of six candidate genes in essential hypertension / D.C. Hu, X.L. Zhao, J.C. Shao [et al.]. – Text : visual // *Genet Mol Res*. – 2014. – Vol. 13, № 4. – P. 8385-8395.

220. Interleukin-6 as a predictor of the risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective epidemiological studies / B. Zhang, X.L. Li, C.R. Zhao [et al.]. – Text : visual // *Immunological Investigations*. – 2018. – Vol. 47, №. 7. – P. 689-699.

221. Interleukin 6 inhibition and coronary artery disease in a high-risk population: a prospective community-based clinical study / B.C. Bacchiega, A.B. Bacchiega, M.J.G. Usnayo [et al.]. – Text : visual // *Journal of the American Heart Association*. – 2017. – Vol. 6, №. 3. – P. 005038-005045.

222. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging / P. Pignoli, E. Tremoli, A. Poli [et al.]. – Text : visual // *Circulation*. – 1986. – Vol. 74, № 6. – P. 1399-1406.

223. Kwong, R.Y. Infarct haemorrhage detected by cardiac magnetic resonance imaging: are we seeing the latest culprit in adverse left ventricular remodeling / R.Y. Kwong, M.A. Pfeffer. – Text : visual // *Eur. Heart J*. – 2009. – Vol.30, № 12. – P.1431-1433.

224. Lack of association between Glu298Asp polymorphism and coronary artery disease in North Indians / H. Rai, J. Fitt, A.K. Sharma [et al.]. – Text : visual // *Molecular biology reports*. – 2012. – Vol. 39, №5. – P. 5995-6000.



225. Large-scale association analysis identifies new risk loci for coronary artery disease / P. Deloukas, S. Kanoni, C. Willenborg [et al.]. – Text : visual // *Nature genetics*. – 2013. – Vol. 45, № 1. – P. 25-50.

226. Large-scale genomic studies reveal central role of ABO in sP-selectin and sICAM-1 levels / M. Barbalić, J. Dupuis, A. Dehghan [et al.]. – Text : visual // *Human molecular genetics*. – 2010. – Vol. 19, № 9. – P. 1863-1872.

227. Large-scale gene-centric analysis identifies novel variants for coronary artery disease / A.S. Butterworth, D. Saleheen, S.G. Thompson [et al.]. – Text : visual // *PLoS genetics*. – 2011. – Vol. 7, № 9. – P. 5-25.

228. Left ventricular remodeling after primary coronary angioplasty: patterns of left ventricular dilation and long-term prognostic implications / L. Bolognese, A.N. Neskovic, G. Parodi [et al.]. – Text : visual // *Circulation*. – 2002. – Vol. 106. – P. 2351-2357.

229. Levels of platelet-derived microparticles and soluble p-selectin in patients of acute myocardial infarction (case control study) / A. Hameed, Z. Rubab, S.K.A. Rizvi [et al.]. – Text : visual // *Journal Pak Medical Association*. – 2017. – Vol. 67, № 7. – P. 998-1003.

230. Liao, D. Hypoxia: a key regulator of angiogenesis in cancer / D.Liao, R.S. Johnson. – Text : visual // *Cancer and Metastasis Reviews*. – 2007. – Vol. 26, № 2. – P. 281-290.

231. Libby, P. From focal lipid storage to systemic inflammation: JACC review topic of the week / P. Libby, G. K. Hansson. – Text : visual // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2019. – Vol. 74, № 12. – P. 1594-1607.

232. Lipids, lipoproteins, and metabolites and risk of myocardial infarction and stroke / M. V. Holmes, I.Y. Millwood, C. Kartsonaki [et al.]. – Text : visual // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2018. – Vol. 71, № 6. – P. 620-632.

233. Low serum levels of CCL2 are associated with worse prognosis in patients with acute coronary syndrome: 2-year survival analysis / P.C.L. Leocádio,

P.L. dos Reis Menta, M.T.S. Dias [et al.]. – Text : visual // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2019. – Vol. 109. – P. 1411-1416.

234. Ma, Y. Cardiac macrophage biology in the steady-state heart, the aging heart, and following myocardial infarction / Y. Ma, A. J. Mouton, M. L. Lindsey. – Text : visual // *Translational Research*. – 2018. – Vol. 191. – P. 15-28.

235. Mallick, A. Biomarkers in acute heart failure / A. Mallick, J.L. Januzzi. – Text : visual // *Rev. Esp. Cardiol.* – 2015. – Vol. 68. – P. 514-525.

236. Mao, B. MCP-1-2518A> G Polymorphism and Myocardial Infarction Risk: A Meta-Analysis and Meta-Regression / B. Mao, J. Zhang, F. Zhuo. – Text : visual // *Genetic testing and molecular biomarkers*. – 2013. – Vol. 17, № 12. – P. 857-863.

237. Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary disease. FRISC substudy group. Fragmin during Instability in Coronary artery disease / B. H. Lindahl, H. Toss, A. Siegbahn [et al.]. – Text : visual // *N. Engl. J. Med.* – 2000. – Vol. 343, № 16. – P. 1139-1147.

238. Mathew, C.G.P. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA / C.G.P. Mathew. – Text : visual // *Nucleic Acids*. – 1984. – Vol. 2. – P. 31-34.

239. Mechanisms of high-density lipoprotein cholesterol effects on the endothelial function in hyperlipemia / G. Lupattelli, S. Marchesi, R. Lombardini [et al.]. – Text : visual // *Metabolism*. – 2003. – Vol. 52, № 9. – P. 1191-1195.

240. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview / S.L. Deshmane, S. Kremlev, S. Amini, B.E. Sawaya. – Text : visual // *J. Interferon. Cytokine Res.* – 2009. – Vol. 29, № 6. – P. 313-326.

241. Monocyte subsets in myocardial infarction: a review / J. Arfvidsson, F. Ahlin, K.G. Vargas [et al.]. – Text : visual // *International journal of cardiology*. – 2017. – Vol. 231. – P. 47-53.

242. Muller, W.A. Mechanisms of leukocyte transendothelial migration / W.A. Muller. – Text : visual // *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. – 2011. – Vol. 6. – P. 323-344.

243. Multimarker risk model containing troponin-T, interleukin 10, myeloperoxidase and placental growth factor predicts long-term cardiovascular risk after non-ST-segment elevation acute coronary syndrome / R.M. Oemrawsingh, T. Lenderink, K.M. Akkerhuis [et al.]. – Text : visual // *Heart*. – 2011. – Vol. 97, № 13. – P. 1061 -1066.

244. Myocardial apoptosis associated with the expression of proinflammatory cytokines during the course of myocardial infarction / Y. Akasaka, N. Morimoto, Y. Ishikawa [et al.]. – Text : visual // *Mod. Pathol.* – 2006. – Vol. 19, № 4. – P. 588-598.

245. Nair, N. Oxidative stress and cardiovascular aging: interaction between NRF-2 and ADMA / N. Nair, E.Gongora. – Text : visual // *Current Cardiology Reviews*. – 2017. – Vol. 13, № 3. – P. 183-188.

246. Neutralization of interleukin-1beta in the acute phase of myocardial infarction promotes the progression of left ventricular remodelling / M.W.Hwang, A. Matsumori, Y. Furukawa [et al.]. – Text : visual // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2001. – Vol.38, № 5. –P.1546–1553.

247. Niu, J. Role of MCP-1 in cardiovascular disease: molecular mechanisms and clinical implications / J. Niu, P. Kolattukudy. – Text : visual // *Clinical science*. – 2009. – Vol. 117. – P. 95-109.

248. Normative values for intima-media thickness and distensibility of large arteries in healthy adolescents / C. Jourdan, E. Wühl, M. Litwin [et al.]. – Text : visual // *Journal of hypertension*. – 2005. – Vol. 23, № 9. – P. 1707-1715.

249. N-terminal pro-brain natriuretic peptide and other risk markers for the separate prediction of mortality and subsequent myocardial infarction in patients with unstable coronary artery disease: a Global Utilization of Strategies To open occluded arteries (GUSTO) – IV substudy / S.K. James, B. Lindahl, A. Siegbahn [et al.]. – Text : visual // *Circulation*. – 2003. – Vol. 108. – P. 275-281.

250. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels for dynamic risk stratification of patients with acute coronary syndromes / C. Heeschen, B. Lindahl, A. Siegbahn [et al.]. – Text : visual // *Circulation*. – 2004. – Vol. 110. – P. 3206-3212.

251. Outcomes of patients with killip class III acute myocardial infarction after primary percutaneous coronary intervention / T.H. Tsai, S. Chua, H. Hussein [et al.]. – Text : visual // *Crit. Care Med*. – 2011. – Vol. 39. – P.436-442.

252. Oxidative stress, aging, and diseases / I. Liguori, G. Russo, F. Curcio [et al.]. – Text : visual // *Clinical interventions in aging*. – 2018. – Vol. 13. – P. 757-772.

253. Oxidative stress in atherosclerosis / A.J. Kattoor, N. Venkata, K. Pothineni [et al.]. – Text : visual // *Current atherosclerosis reports*. – 2017. – Vol. 19, №. 11. – P. 42-58.

254. PAMI risk score for mortality prediction in acute myocardial infarction treated with primary angioplasty / S.B. Baptista, J.R. Loureiro, B. Thomas [et al.]. – Text : visual // *Rev. Port. Cardiol*. – 2004. – Vol. 23, № 5. – P. 683-693.

255. Persistent impairment of endothelial vasomotor function has a negative impact on outcome in patients with coronary artery disease / Y. Kitta, J. Obata, T. Nakamura [et al.]. – Text : visual // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2009. – Vol. 53, №4. – P. 323-330.

256. Peterson, E.D. Clinical Guideline: Part II: Risk stratification after myocardial infarction / E.D. Peterson, L.J. Shaw, R.M. Califf. – Text : visual // *Annals Internal Medicine*. – 1997. – Vol. 126. – P. 561-582.

257. Petrovic, D. Cytopathological Basis of Heart Failure c Cardiomyocyte Apoptosis, Interstitial Fibrosis and Inflammatory Cell Response / D. Petrovic. – Text : visual // *Folia Biol. (Praha)*. –2004. –Vol.50. – P.58-62.

258. Polymorphisms of the NOS3 gene and risk of myocardial infarction in the Tunisian population / A. Kallel, M.H. Sbaï, Y. Sediri [et al.]. – Text : visual // *Cytokine*. – 2013. – Vol. 64, № 3. – P. 646-651.

259. Polymorphisms of vascular cell adhesion molecule1 (VCAM1) in polycystic ovary syndrome determined by quantitative real-time polymerase chain reaction and melting curve analysis / M. Kanmaz-Özer, P. Vural, S. Doğru-Abbasoğlu [et al.]. – Text : visual // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. – 2012. – Vol. 160, №2. – P. 174-178.

260. Prediction of mortality after primary percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction. The CADILLAC Risk score / A. Halkin, M. Singh, E. Nikolsky [et al.]. – Text : visual // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2005. – Vol. 45. – P. 1397-1405.

261. Prognostic significance of angiogenic growth factor serum levels in patients with acute coronary syndromes / C. Heeschen, S. Dimmeler, C.W. Hamm [et al.]. – Text : visual // *Circulation*. – 2003. – Vol. 107, №4. – P. 524-530.

262. Prognostic value of cytokines and chemokines in addition to the GRACE Score in non-ST-elevation acute coronary syndromes / C.L. Correia, B.B. Andrade, V.M. Borges [et al.]. – Text : visual // *Clinica Chimica Acta*. – 2010. – Vol. 4116, № 7. – P. 540-545.

263. P-selectin and subclinical and clinical atherosclerosis: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) / S.J. Bielinski, C. Berardi, P.A. Decker [et al.]. – Text : visual // *Atherosclerosis*. – 2015. – Vol. 240, №1. – P. 3-9.

264. P-selectin Dependent Platelet-leukocyte Complex Formation is Dispensable for Leukocyte Recruitment to Sites of Inflammation / C. Starz, C. Haerdtner, M. Mauler [et al.]. – Text : visual // *Circulation*. – 2017. – Vol. 136, №. 1. – P. 19801-19801.

265. Ramana, K.V. Inhibition of aldose reductase attenuates TNF- $\alpha$ -induced expression of adhesion molecules in endothelial cells / K.V. Ramana, A. Bhatnagar, S.K. Srivastava. – Text : visual // *The FASEB journal*. – 2004. – Vol. 18, № 11. – P. 1209-1218.

266. Recommendations for improving and standardizing vascular research on arterial stiffness: a scientific statement from the American Heart Association / R.R.

Townsend, I.B. Wilkinson, E.L. Schiffrin [et al.]. – Text : visual // Hypertension. – 2015. – Vol. 66, № 3. – P. 698-722.

267. Reed, G.W. Acute myocardial infarction / G.W. Reed, J.E. Rossi, C.P. Cannon. – Text : visual // The Lancet. – 2017. – Vol. 389, №. 10065. – P. 197-210.

268. Reiss, A.B. Interleukin-6 in atherosclerosis: atherogenic or atheroprotective? / A.B.Reiss, N.M.Siegart, J.De Leon. – Text : visual // Clinical Lipidology. – 2017. – Vol. 12, №. 1. – P. 14-23.

269. Retracted article: SELP genetic polymorphisms may contribute to the pathogenesis of coronary heart disease and myocardial infarction: a meta-analysis / D. H. Zhou, Y. Wang, W.N. Hu [et al.]. – Text : visual // Molecular biology reports. – 2014. – Vol. 41, №. 5. – P. 3369-3380.

270. Ridker, P.M. Anticytokine agents: targeting interleukin signaling pathways for the treatment of atherothrombosis / P.M. Ridker. – Text : visual // Circulation research. – 2019. – Vol. 124, №. 3. – P. 437-450.

271. Role of the immune system in cardiac tissue damage and repair following myocardial infarction / A. Saporov, V. Ogay, T. Nurgozhin [et al.]. – Text : visual // Inflammation Research. – 2017. – Vol. 66, №. 9. – P. 739-751.

272. Ross, R. Atherosclerosis - an inflammatory disease / R. Ross. – Text : visual // N. Eng. J. Med. – 1999. – Vol. 340. – P. 115-126.

273. Roy, H. Biology of vascular endothelial growth factors / H. Roy, S. Bhardwaj, S. Ylä-Herttuala. – Text : visual //FEBS letters. – 2006. – Vol. 580, № 12. – P. 2879-2887.

274. Schumacher, S.M. Tumor necrosis factor- $\alpha$  in heart failure: an updated review / S.M. Schumacher, S.V.N. Prasad. – Text : visual //Current cardiology reports. – 2018. – Vol. 20, №. 11. – P. 117-125.

275. 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.]. – Text : visual // PLoS One. – 2010. – Vol. 5, № 3. – P. 9462-9470.

276. Serial Measurement of Monocyte Chemoattractant Protein-1 After Acute Coronary Syndromes Results From the A to Z Trial / J.A. de Lemos, D.A. Morrow, M.A. Blazing [et al.]. – Text : visual // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2007. – Vol. 50, № 22. – P. 2117-2124.

277. Serum levels of interleukin-6, interleukin-10 and C-reactive protein in patients with myocardial infarction treated with primary angioplasty during a 6-month follow-up / L. Karpinski, R. Płaksej, R. Derzhko [et al.]. – Text : visual // *Polish Archives of Internal Medicine.* – 2009. – Vol. 119, №3. – P. 115-121.

278. Serum cytokine profile in relation to the severity of coronary artery disease / X. Min, M. Lu, S. Tu, [et al.]. – Text : visual // *BioMed research international.* – 2017. – Vol. 2017. – P. 1-12.

279. Shawky, R.M. Progress in genetics of coronary artery disease / R.M. Shawky. – Text : visual // *Egyptian Journal of Medical Human Genetics.* – 2018. – Vol. 19, №. 1. – P. 51–52.

280. Shibuya, M. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis A Crucial Target for Anti-and Pro-Angiogenic Therapies / M. Shibuya. – Text : visual // *Genes & cancer.* – 2011. – Vol. 2, № 12. – P. 1097-1105.

281. Short- and long-term prognostic value of the TIMI risk score after primary percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction / P. Damman, P. Woudstra, W.J. Kuijt [et al.]. – Text : visual // *J. Interv. Cardiol.* – 2013. – Vol. 26, № 1. – P. 8-13.

282. Soluble P-selectin, SELP polymorphisms, and atherosclerotic risk in European-American and African-African young adults: the coronary artery risk development in young adults (CARDIA) study / A.P. Reiner, C.S. Carlson, B. Thyagarajan [et al.]. – Text : visual // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* – 2008. – Vol. 28, № 8. – P. 1549-1555.

283. Stem cell factor in mast cells and increased mast cell density in idiopathic and ischemic cardiomyopathy / V. Patella, I. Marino, E. Arbustini [et al.]. – Text : visual // *Circulation*. – 1998. – Vol. 97, № 10. – P. 971-978.

284. Tedgui, A. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways / A. Tedgui, Z. Mallat. – Text : visual // *Physiological reviews*. – 2006. – Vol. 86, № 2. – P. 515-581.

285. Teerlink, T. ADMA metabolism and clearance / T. Teerlink. – Text : visual // *Vascular Medicine*. – 2005. – Vol. 10, № 1. – P. 73-81.

286. Teodorovich, R. B-type natriuretic peptide: a universal cardiac biomarker / R. Teodorovich, Z. Krakover, N. Vered. – Text : visual // *Isr. Med. Assoc. J.* – 2008. – Vol. 10, № 2. – P. 152-153.

287. 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.]. – Text : visual // *Molecular biology reports*. – 2015. – Vol. 42. – № 5. – P. 997-1012.

288. The associations of high levels of C-reactive protein with depression and myocardial infarction in 9258 women and men from the HUNT population study / O. Bjerkeset, U. Romild, G.D. Smith [et al.]. – Text : visual // *Psychol. Med.* – 2011. – Vol. 41, № 2. – P. 345-352.

289. The G894T polymorphism on endothelial nitric oxide synthase gene is associated with increased coronary heart disease among Asia population: evidence from a Meta analysis / K. Zhang, C. Sekuri, I. Tengiz [et al.]. – Text : visual // *Thrombosis research*. – 2012. – Vol. 130, № 2. – P. 192-197.

290. The inhibitory effect of IL-1 $\beta$  on IL-6-induced  $\alpha$ 2-macroglobulin expression is due to activation of NF- $\kappa$ B / J.G. Bode, R. Fischer, D. Häussinger [et al.]. – Text : visual // *J. Immunol.* – 2001. – Vol. 167, № 3. – P. 1469-1481.

291. The MCP-1 – 2518 (A/G) single nucleotide polymorphism is associated with ischemic heart disease and myocardial infarction in men in the Slovak popula-



tion / M. Bucova, J. Lietava, F. Mrazek [et al.]. – Text : visual // Bratisl Lek Listy. – 2009. – Vol.110, №7. –P.385-389.

292. The role of inflammation and cell death in the pathogenesis, progression and treatment of heart failure / A. Briasoulis, E. Androulakis, T. Christophides [et al.]. – Text : visual // Heart failure reviews. – 2016. – Vol. 21, №. 2. – P. 169-176.

293. The role of inflammation in cardiovascular outcome / F. Montecucco, L. Liberale, A. Bonaventura [et al.]. – Text : visual // Current atherosclerosis reports. – 2017. – Vol. 19, №. 3. – P. 1-11.

294. The role of vascular endothelial growth factor SNPs as predictive and prognostic markers for major solid tumors / L. Jain, C.A. Vargo, R. Danesi [et al.]. – Text : visual // Molecular cancer therapeutics. – 2009. – Vol. 8, №9. – P. 2496-2508.

295. The rs1024611 regulatory region polymorphism is associated with CCL2 allelic expression imbalance / M.H.T. Pham, G.B. Bonello, J. Castiblanco [et al.]. – Text : visual // PloS one. – 2012. – Vol. 7, № 11. – P. 49498-49501.

296. The second Euro Heart Survey on acute coronary syndromes: characteristics, treatment, and outcome of patients with ACS in Europe and the Mediterranean Basin in 2004 / L. Mandelzweig, A. Battler, V. Boyko [et al.]. – Text : visual // Eur. Heart. J. – 2006. – Vol. 27. – P. 2285-2293.

297. Third universal definition of myocardial infarction: expert consensus document / K. Thygesen, H. Baumgartner, C. Ceconi [et al.]. – Text : visual // JACC. – 2012. – Vol. 60. – P.1581-1598.

298. Time course of cardiac structural, functional and electrical changes in asymptomatic patients after myocardial infarction: their inter-relation and prognostic impact / P. Gaudron, I. Kugler, K. Hu [et al.]. – Text : visual // J. Am. Coll. Cardiol. – 2001. – Vol.38, №1. – P.33-40.

299. TLR-4 and VEGF Polymorphisms in Chronic Periaortitis / F. Atzeni, L. Boiardi, A. Vaglio [et al.]. – Text : visual // PloS one. – 2013. – Vol. 8, № 5. – P. 62330-62336.

300. Tree and spline based association analysis of gene–gene interaction models for ischemic stroke / N.R Cook, R.Y.L. Zee, P.M. Ridker [et al.]. – Text : visual // *Statistics in medicine*. – 2004. – Vol. 23, № 9. – P. 1439-1453.

301. Troponin and C-reactive protein have different relations to subsequent mortality and myocardial infarction after acute coronary syndrome: a GUSTO-IV substudy / S.K. James, P. Armstrong, E. Barnathan [et al.]. – Text : visual // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2003. – Vol. 41. – P. 916-924.

302. Tulner, D.M. Antidepressive effect of mirtazapine in postmyocardial infarction depression is associated with soluble TNF-R1 increase: data from the MIND-IT / D.M. Tulner. – Text : visual // *Neuropsychobiology*. – 2011. – Vol.63, № 3. – P. 169-176.

303. Update on acute coronary syndromes: the pathologists' view / E. Falk, M. Nakano, J.F. Bentzon [et al.]. – Text : visual // *Eur. Heart J.* – 2013. – Vol. 34, №10. – P. 719–728.

304. van der Harst, P. Identification of 64 novel genetic loci provides an expanded view on the genetic architecture of coronary artery disease / P. van der Harst, N. Verweij. – Text : visual // *Circulation research*. – 2018. – Vol. 122, № 3. – P. 433-443.

305. Vascular endothelial growth factor, its soluble receptor, and hepatocyte growth factor: clinical and genetic correlates and association with vascular function / W. Lieb, R. Safa, E.J. Benjamin [et al.]. – Text : visual // *Eur. Heart J.* – 2009. – Vol. 30. – P. 1121-1127.

306. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-A: role on cardiac angiogenesis following myocardial infarction / T. Zhao, W. Zhao, Y. Chen [et al.]. – Text : visual // *Microvascular research*. – 2010. – Vol. 80, № 2. – P. 188-194.

307. VEGF gene mRNA expression in patients with coronary artery disease / M.M. Amoli, P. Amiri, A. Alborzi [et al.]. – Text : visual // *Molecular biology reports*. – 2012. – Vol. 39, № 9. – P. 8595-8599.

308. VEGF polymorphisms and severity of atherosclerosis / W.M. Howell, S. Ali, M. J. Rose-Zerilli, S. Ye. – Text : visual // *Journal of medical genetics*. – 2005. – Vol. 42, № 6. – P. 485-490.

309. VEGF-A165b is an endogenous neuroprotective splice isoform of vascular endothelial growth factor A in vivo and in vitro / N. Beazley-Long, J. Hua, T. Jehle [et al.]. – Text : visual // *The American journal of pathology*. – 2013. – Vol. 183, № 3. – P. 918-929.

310. Vita, J.A. Endothelial function / J.A. Vita. – Text : visual // *Circulation*. – 2011. – Vol. 124, № 25. – P. 906-912.

311. Vlachopoulos, C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis / C. Vlachopoulos, K. Aznaouridis, C. Stefanadis. – Text : visual // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2010. – Vol. 55, №. 13. – P. 1318-1327.

312. Willerson, J.T. Inflammation as a cardiovascular risk factor / J.T. Willerson, P.M. Ridker. – Text : visual // *Circulation*. – 2004. – Vol. 109. – P. 110-112.

313. White, H.D. Higher sensitivity troponin levels in the community: what do they mean and how will the diagnosis of myocardial infarction be made? / H.D. White. – Text : visual // *Am. Heart. J.* – 2010. – Vol. 159, № 6. – P. 933-936.

314. Yu, X.H. Nuclear factor- $\kappa$ B activation as a pathological mechanism of lipid metabolism and atherosclerosis / X.H. Yu, X.L. Zheng, C.K. Tang. – Text : visual // *Advances in clinical chemistry*. – 2015. – Vol. 70. – C. 1-30.

315. Yu, G. Associations of VCAM-1 gene polymorphisms with obesity and inflammation markers / G. Yu, S.E. Jun, D.H. Shin. – Text : visual // *Inflammation Research*. – 2017. – Vol. 66, №. 3. – P. 217-225.

316. Zernecke, A. Chemokines in atherosclerosis: an update / A. Zernecke, E. Shagdarsuren, C. Weber. – Text : visual // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2008. – Vol. 28, № 11. – P. 1897-1908.