Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Рязанцева Татьяна Владимировна

Провоспалительная активация моноцитов у пациентов с ранней ишемической болезнью сердца

3.1.20 – Кардиология
3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители: доктор медицинских наук,
Козлов Сергей Геннадьевич
доктор медицинских наук,
Собенин Игорь Александрович

Москва – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ **4**

ВВЕДЕНИЕ **7**

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ **17**

1.1. Традиционные факторы риска и клиническое течение рано возникшей ИБС 17

1.2. Моноциты/макрофаги и атерогенез 24

1.2.1. Общая характеристика моноцитов/макрофагов 24

1.2.2. Участие моноцитов/макрофагов в атерогенезе 38

1.3. Связь мутаций митохондриальной ДНК с атеросклерозом 54

1.4. С-реактивный белок и ИБС 60

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ **67**

2.1 Клиническая характеристика пациентов 67

2.2. Исследование провоспалительной активации моноцитов 69

2.3. Оценка митохондриальной гетероплазмии 72

2.4. ПЦР-анализ 73

2.5. Оценка уровня мСРБ 77

2.6. Методика определения биохимических показателей 78

2.7. Статистическая обработка данных 78

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ **81**

3.1. Исследование секреции провоспалительных цитокинов в первичной культуре моноцитов/макрофагов 81

3.2. Определение вариантов мутаций митохондриальной ДНК 100

3.3. Оценка секреции мСРБ моноцитами 102

3.4 Оценка уровня мСРБ в крови 103

3.5. Сравнительный анализ факторов, связанных с рано возникшей ИБС 104

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ..... 110

ЗАКЛЮЧЕНИЕ 119

ВЫВОДЫ 121

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 122

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 123

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ	-	артериальная гипертония
АД	-	артериальное давление
АДФ	-	аденозиндифосфат
апоВ	-	аполипопротеин В
АСБ	-	атеросклеротическая бляшка
АСК	-	ацетилсалициловая кислота
АТФ	-	аденозинтрифосфат
АФК	-	активные формы кислорода
ВИЧ	-	вирус иммунодефицита человека
вчСРБ	-	С-реактивный белок, измеренный высокочувствительным методом
ГМ-КСФ	-	гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
ГХС	-	гиперхолестеринемия
ДИ	-	доверительный интервал
ДНК	-	дезоксирибонуклеиновая кислота
ИБС	-	ишемическая болезнь сердца
ИК	-	индекс курильщика
ИЛ	-	интерлейкин
ИМ	-	инфаркт миокарда
ИМбпST	-	инфаркт миокарда без подъема сегмента ST
ИМпST	-	инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST
ИМТ	-	индекс массы тела
ИФА	-	иммуноферментный анализ
ИФН-γ	-	интерферон гамма

КАГ - коронароангиография
КТА - компьютерная томографическая ангиография
ЛП - липопротеин
Лп(а) - липопротеин(а)
ЛПС - липополисахарид
мАт - моноклональное антитело
МКА - магистральная коронарная артерия
М-КСФ - макрофагальный колониестимулирующий фактор
ММП - матриксная металлопротеиназа
мСРБ - мономер С-реактивного белка
мтДНК - митохондриальная ДНК
НАДН - никотинамидадениндинуклеотид
ОА - огибающая артерия
ОКС - острый коронарный синдром
ОНМК - острое нарушение мозгового кровообращения
ОХС - общий холестерин
ОШ - отношение шансов
ПКА - правая коронарная артерия
ПМЯ - полиморфноядерные лейкоциты
ПНА - передняя нисходящая артерия
ПЦР - полимеразная цепная реакция
РНК - рибонуклеиновая кислота
рРНК - рибосомальная РНК
тРНК - транспортная РНК
СГХС - семейная гиперхолестеринемия
СД - сахарный диабет
СРБ - С-реактивный белок
ССЗ - сердечно-сосудистые заболевания
ТГ - триглицериды

тРНК	-	транспортная РНК
ФНО-α	-	фактор некроза опухоли альфа
ХС ЛВП	-	холестерин липопротеидов высокой плотности
ХС ЛНП	-	холестерин липопротеидов низкой плотности
ЧКВ	-	чрескожное коронарное вмешательство
ALK	-	активино-подобная киназа
CCL	-	хемокиновый (мотив С-С) лиганд
CD	-	кластер дифференцировки
DAMPs	-	молекулярные фрагменты, связанные с повреждением
FGFR	-	рецептор фактора роста фибробластов
FITC	-	флуоресцеин изотиоцианат
HMGB	-	белок В1 высокомобильной группы
ICAM	-	молекула межклеточной адгезии
IgG	-	иммуноглобулин G
IgM	-	иммуноглобулин М
LOX-1	-	лектин-подобный рецептор-1 для окисленых ЛНП
MHC	-	главный комплекс гистосовместимости
MCP-1	-	моноцитарный хемоаттрактантный белок-1
NF-κB	-	ядерный фактор «каппа-би»
OXPHOS	-	окислительное фосфорилирование
PAMPs	-	молекулярные паттерны, связанные с патогеном
PRRs	-	образ-распознающие рецепторы
TCR	-	Т-клеточные рецепторы
TGF-β	-	Трансформирующий фактор роста бета
Th	-	Т-хелперы
TLRs	-	толл-подобные рецепторы
VCAM	-	васкулярная молекула клеточной адгезии

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень её разработанности

С возрастом вероятность возникновения ишемической болезни сердца (ИБС) повышается. Однако данное заболевание может манифестировать и у пациентов молодого возраста, отличаясь при этом более агрессивным началом и часто имея неблагоприятный прогноз. У пациентов молодого возраста ИБС зачастую манифестирует с развития острого инфаркта миокарда [1].

Традиционные факторы риска при ранней ИБС представлены преимущественно курением, неблагоприятным семейным анамнезом по ИБС, повышенным уровнем общего холестерина (ОХС) и холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛНП). У пациентов старшего возраста чаще встречаются такие факторы, как сахарный диабет (СД) и артериальная гипертония (АГ) [2-4]. При этом даже наличие нескольких факторов риска у одного пациента не всегда ведет к манифестации заболевания.

В связи с этим актуальным является поиск иных факторов, способствующих развитию и прогрессированию заболеваний, обусловленных атеросклеротическим поражением артерий, лежащим в основе ИБС. В возникновении и прогрессировании атеросклероза принимает участие множество разных клеток, среди которых моноциты/макрофаги относят к фундаментальным участникам [5]. Пусковым моментом возникновения атеросклероза является задержка в субэндотелиальном пространстве и модификация ЛНП с последующим их поглощением макрофагами и преобразованием макрофагов в пенистые клетки. Атеросклероз характеризуется наличием локального, хронического, вялотекущего воспаления в стенках артерий. Макрофаги играют ключевую роль в возникновении и поддержании воспаления в сосудистой стенке. Макрофаги, участвуя в

атерогенезе, взаимодействуют со всеми находящимися в сосудистой стенке клетками, внеклеточным матриксом и другими клетками иммунной системы. Макрофаги участвуют в росте атеросклеротических бляшек (АСБ) и могут способствовать их дестабилизации. Макрофаги так же играют ключевую роль в разрешении воспаления. Функциональное состояние макрофагов играет ключевую роль в процессе атерогенеза. В связи с этим изучение функционирования моноцитов/макрофагов применительно к атеросклерозу представляет значительный интерес исследователей. Макрофаги, участвуя в атерогенезе, осуществляют продукцию разнообразных биологически активных веществ, в том числе, цитокинов, которые принимают участие на всех стадиях атеросклероза, включая его возникновение, прогрессирование, а также развитие осложнений, и оказывают фундаментальное влияние на патогенез заболевания. Исследования, касающиеся изучения цитокинов у пациентов с рано возникшей ИБС, немногочисленны и носят противоречивый характер. Одним из побудительных мотивов проведения подобных исследований являлось предположение о том, что оценка уровня определенных цитокинов в крови пациентов может способствовать выявлению лиц с повышенным риском раннего возникновения ИБС. Так, согласно результатам исследования Cho S. и соавт., учет в дополнении к традиционным факторам риска ИБС уровня С-реактивного белка, измеренного высокочувствительным методом (вчСРБ) и интерлейкина 6 (ИЛ-6) в крови лучше предсказывает риск возникновения рано возникшей ИБС [6]. Следует отметить, что на уровень цитокинов в крови может оказывать влияние множество различных факторов, которые могут не учитываться при проведении исследований, например, латентные очаги инфекции или воспаления, а также другие факторы, что может приводить к ошибочной интерпретации результатов исследований. Исследования in vitro с использованием клеточных культур внесли значительный вклад в понимание роли цитокинов в межклеточном взаимодействии при атеросклерозе. Подобное понимание может быть использовано для создания новых лекарственных препаратов и новых подходов к профилактике заболеваний, обусловленных атеросклерозом. В работе Nikiforov N.G. и соавт., в которую были включены

пациенты с ИБС, средний возраст которых равнялся 58 годам, была показана более высокая базальная и ЛПС-стимулированная секреция ИЛ-1β моноцитами этих больных в сравнении с секрецией ИЛ-1β моноцитами пациентов без атеросклероза коронарных артерий. Наряду с этим авторы исследования обнаружили более высокую секрецию МСР-1 макрофагами больных ИБС при повторной стимуляции макрофагов ЛПС на 7-е сутки [7]. Было так же показано, что повышенная способность к секреции провоспалительных цитокинов культивируемыми моноцитами, полученными из крови больных с субклиническим атеросклерозом, связана с выраженностью атеросклеротического поражения сонных артерий [8]. Исследования, касающиеся изучения секреции цитокинов моноцитами/макрофагами пациентов с рано возникшей ИБС в культуре клеток, отсутствуют.

Наряду с обеспечением энергозависимых процессов в клетках за счет синтеза аденозинтрифосфата (АТФ), митохондрии принимают участие во многих других клеточных процессах, включая процессы, участвующие в атерогенезе, такие как апоптоз, воспаление, образование активных форм кислорода (АФК), передача сигналов внутри клетки, где ионы кальция выступают в качестве вторичных мессенджеров. К настоящему времени накопилось достаточно информации, свидетельствующей о том, что дисфункция митохондрий способствует возникновению и прогрессированию атеросклероза, влияя на функцию эндотелиальных клеток, на апоптоз и пролиферацию гладкомышечных клеток (ГМК), а также на функцию макрофагов [9].

Одним из методов выявления дисфункции митохондрий является молекулярно-генетическое исследование - определение мутаций в митохондриальной ДНК (мтДНК) и ядерных генах, которые кодируют митохондриальные белки. Мутации митохондриального генома долгое время оставались вне поля зрения исследователей, хотя они могут играть патогенетическую роль в патогенезе формирования атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний у человека [10].

Одновременное присутствие нормального и мутантного типов

последовательности мтДНК носит название гетероплазмии [11-13]. Она может быть следствием как мутаций мтДНК, наследуемых от матери, так и возникающих в течение жизни. Благодаря наличию нормальных копий генома мтДНК клетка временно способна сохранять нормальную функциональную активность. Для проявления клинических симптомов конкретного заболевания необходимо, чтобы количество мутантной ДНК превысило пороговый эффект.

С целью выявления уровня гетероплазмии мутаций митохондриального генома в исследуемых образцах д.б.н. Сазоновой М.А. и соавт. был разработан новый оригинальный метод количественной оценки мутантных аллелей митохондриального генома на основе технологии пиросеквенирования [14,15]. Пиросеквенирование характеризуется высокой точностью и обладает широким спектром преимуществ в сравнении с альтернативными методиками измерения уровня гетероплазмии митохондриального генома. Ключевым достоинством метода является возможность высокоточного анализа короткого фрагмента ДНК, содержащего исследуемый мутационный сайт. Использование фрагментов размером в среднем 5-10 пар оснований значительно уменьшает вероятность получения ошибочного результата анализа [16-18].

Некоторые формы гетероплазмии связаны с повышенным риском развития сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе, обусловленных атеросклерозом [19-22].

Различают несколько основных категорий мутаций мтДНК в соответствии с механизмами их патогенного действия. Первая – мутации в генах транспортных РНК (тРНК), которые дестабилизируют спаривание оснований, нарушают вторичную структуру тРНК, что ускоряет их деградацию и, в конечном итоге, снижает интенсивность синтеза митохондриальных белков [23]. Вторая категория включает мутации в генах системы окислительного фосфорилирования (OXPHOS), которые вызывают энергетический дефицит (снижение синтеза АТФ) и окислительный стресс (увеличение продукции АФК), приводя к повреждению органелл. Третья категория – мутации в регуляторной D-петле – нарушает репликативный потенциал мтДНК, уменьшая количество ее копий [24]. В ряде

исследований описан возможный протективный эффект гетероплазмии благодаря конкуренции и комплементарности различных вариантов мутаций мтДНК в клетке. Согласно данным ряда исследований, гетероплазмия мтДНК может обладать протективным эффектом в связи с возникновением межгеномной конкуренции и комплементарных взаимодействий между различными вариантами мутаций мтДНК в одной клетке. Большинство идентифицированных мутаций митохондриального генома не являются патогенными. Тем не менее, развитие клинических проявлений заболевания возможно при совокупном воздействии ряда факторов, включая генетические и экологические [22].

Исследования митохондриальной гетероплазмии у пациентов с ранним развитием ИБС немногочисленные. В исследовании Lorca R. и соавт. был осуществлен поиск мутаций мтДНК, ассоциированных с ранним возникновением ИБС [19]. Согласно результатам исследования, уровень гетероплазмии мтДНК по мутации m.16223C>T был выше у пациентов с рано возникшей ИБС.

Осуществление оптимальной терапии обусловленных атеросклеротическим поражением артерий заболеваний не может полностью устранить риск их прогрессирования. Остающийся, несмотря на оптимальную терапию риск, обозначают термином остаточный или резидуальный риск. Остаточный риск, обусловленный наличием воспаления, называют резидуальным воспалительным риском. Его определяют по уровню в крови основного биомаркера воспаления - вчСРБ ≥2,0 мг/л [25]. Интерес к оценке резидуального воспалительного риска обусловлен, с одной стороны, тем, что это позволяет прогнозировать возникновение неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. С другой стороны, появились исследования, в которых было показано, что проведение противовоспалительной терапии уменьшает частоту возникновения неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. В частности, в крупном многоцентровом, рандомизированном, плацебо-контролируемом исследовании CANTOS было показано, что проведение противовоспалительной терапии человеческим моноклональным антителом к интерлейкину-1β канакинумабом уменьшает частоту возникновения повторных неблагоприятных сердечно-

сосудистых событий у пациентов, перенесших ранее инфаркт миокарда [26].

Согласно общепринятым методам измерения, в крови определяют содержание пентамерной формы С-реактивного белка (пСРБ). Данная форма синтезируется гепатоцитами в ответ на системную или локальную секрецию воспалительных цитокинов. В очагах воспаления происходит диссоциация пСРБ на мономерные субъединицы (мСРБ), которые, принимая участие в ряде клеточных процессов, потенцируют воспалительную реакцию, а также стимулируют процессы неоангиогенеза и образования тромбов [27-29]. Анализ молекулярного состава атеросклеротических бляшек показал наличие в них мСРБ, но не пентамерной формы [30,31]. Высказано предположение, что, подвергаясь диссоциации до мономерных субъединиц, СРБ оказывает влияние на местный воспалительный ответ, в то время как пентамерная форма СРБ скорее отражает активность воспаления, а не оказывает на него непосредственное влияние. Согласно данным литературы, СРБ может как поступать в ткани АСБ из кровотока, так и синтезироваться локально. В некоторых исследованиях продемонстрирован синтез СРБ моноцитами/макрофагами. [32,33]. Исследований по оценке связи уровня мСРБ в крови с наличием рано возникшей ИБС и способности синтеза мСРБ моноцитами из крови пациентов с этим заболеванием не проводилось.

Цель исследования

Изучение провоспалительной активации моноцитов у пациентов с ранним развитием ишемической болезни сердца.

Задачи исследования

1. Изучить базальную и стимулированную секрецию провоспалительных цитокинов (ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, MCP-1/CCL2, ФНО-α) в первичной культуре моноцитов из крови пациентов с рано возникшей ИБС.
2. Определить варианты мутаций митохондриальной ДНК,

ассоциированные с рано возникшей ИБС.

3. Изучить связь уровня мСРБ с наличием рано возникшей ИБС и способность его синтеза моноцитами из крови пациентов с этим заболеванием.

4. Оценить связь провоспалительной активации моноцитов с классическими факторами риска ИБС.

Научная новизна

Впервые реализован комплексный многоуровневый подход (субклеточный, клеточный и гуморальный) к оценке моноцитарно-макрофагального звена у пациентов с рано возникшей ИБС. Впервые изучена базальная и стимулированная секреции провоспалительных цитокинов (ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, MCP-1/CCL2, ФНО-α) in vitro моноцитами пациентов с рано возникшей ИБС. Впервые определены гетероплазмичные варианты митохондриальной ДНК у пациентов с рано возникшей ИБС. Впервые изучена связь уровня мСРБ с наличием преждевременной ИБС и способность его синтеза моноцитами из крови пациентов с этим заболеванием. Впервые проведена оценка связи провоспалительной активации моноцитов с классическими факторами риска ИБС.

Практическая значимость

Выявленный фенотип гиперреактивности моноцитов (с максимизацией выброса ИЛ-1β после двукратной стимуляции) и измерение уровня мСРБ в крови целесообразно использовать в условиях научно-исследовательских институтов и специализированных кардиологических центров третьего уровня. Оценка стимулированной секреции ИЛ-1β in vitro и измерение уровня мСРБ в крови может применяться для создания пациент-специфичных клеточных моделей, прогнозирования величины "остаточного воспалительного риска" у лиц с рано возникшей ИБС при отсутствии классических модифицируемых факторов, а также

для стратификации пациентов перед включением в клинические исследования таргетной противовоспалительной терапии.

Методология и методы исследования

В исследование были включены 80 пациентов со стабильной ИБС (50 мужчин в возрасте до 55 лет, у которых ИБС возникла до 50 лет, и 30 женщин в возрасте до 65 лет с манифестацией ИБС до 60 лет) с верифицированным поражением коронарных артерий с помощью коронароангиографии (КАГ), с наличием сужения просвета ствола левой коронарной артерии (ЛКА) и/или магистральных коронарных артерий (МКА) – передней нисходящей артерии (ПНА), огибающей артерии (ОА), правой коронарной артерии (ПКА) и/или ветвей второго порядка диаметром более 2 мм на 50% и более. В контрольную группу были включены 63 пациента (32 мужчины в возрасте 55 лет и моложе и 31 женщина в возрасте до 65 лет), у которых не имелось типичных клинических проявлений ИБС, и стенозирующего атеросклероза коронарных артерий по результатам КАГ или компьютерной томографической ангиографии (КТА) коронарных артерий. У 80 пациентов с ранним развитием ИБС и у 63 пациентов контрольной группы проводилась оценка концентрации цитокинов в образцах культуральной жидкости моноцитов/макрофагов, определялась степень митохондриальной гетероплазмии моноцитов/макрофагов, проводилось измерение уровня мСРБ в плазме крови и культуральной жидкости моноцитов/макрофагов, а также проводилась оценка связи полученных показателей с наличием ИБС. Результаты измерений сопоставляли у пациентов с ИБС и без этого заболевания. Оценивалась связь между провоспалительной активацией моноцитов/макрофагов и традиционными факторами риска ИБС, такими как мужской пол, возраст, неблагоприятная наследственность в отношении ИБС, уровень холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛВП) <1 ммоль/л у мужчин и <1,2 ммоль/л у женщин, уровень ХС ЛНП >3 ммоль/л, курение, СД и АГ.

Положения, выносимые на защиту

1. Пациенты с ранним развитием ИБС, по сравнению с пациентами без этого заболевания, имеют в культуре клеток моноцитов/макрофагов более высокую базальную секрецию ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-6, МСР-1, стимулированную секрецию ИЛ-1β и повторно стимулированную секрецию ФНО-α, ИЛ-1β и МСР-1.

2. Уровень гетероплазмии мтДНК в моноцитах по мутациям m.1555A>G, m.5178C>A, m.12315G>A, m.3336T>C, m.15059G>A, m.13513G>A, m.3256C>T, m.14459G>A, m.14846G>A не отличается у пациентов с ранним развитием ИБС и пациентов без этого заболевания.

3. Уровень мСРБ в крови выше у пациентов с ранним развитием ИБС по сравнению с пациентами контрольной группы, в то время как уровень вчСРБ в крови не отличается у пациентов обеих групп. Уровень мСРБ в крови не связан с базальной и стимулированной секрецией мСРБ в первичной культуре моноцитов у пациентов с ранним развитием ИБС и пациентов без этого заболевания.

4. У мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет ЛПС-стимулированная секреция моноцитами ИЛ-1β (ОШ 1,011; 95% ДИ 1,001-1,022; p=0,035) и уровень мСРБ в крови (ОШ 1,137; 95% ДИ 1,033-1,250; p=0,009) вне зависимости от традиционных факторов риска связаны с повышенной вероятностью наличия ИБС.

Степень достоверности и апробация результатов

Научная обоснованность и достоверность результатов исследования, представленных в диссертации, подтверждена репрезентативностью выборки исследуемых материалов, использованием современных методов статистической обработки полученных результатов, их наглядным представлением. Все сформулированные выводы, теоретические положения и практические рекомендации основаны на комплексном анализе исследуемого материала. Основные положения диссертации были представлены на межотделенческой конференции по апробации кандидатских диссертаций института клинической

кардиологии им. А.Л. Мясникова (ИКК им. А.Л. Мясникова) ФГБУ «НМИЦК им ак. Е.И. Чазова» Минздрава России 18 июня 2026 года, протокол № 140.

Личный вклад автора

В ходе исследования автором проведен отбор пациентов согласно критериям включения и исключения, анализ медицинской документации и составление базы данных.

Автор принимал участие в выделении и культивировании моноцитов, оценке секреции моноцитами/макрофагами цитокинов с помощью иммуноферментного анализа (ИФА), проведении статистической обработке результатов, подготовке публикаций по теме диссертации.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ: 6 статей, из которых 4 – в журналах, рекомендованных ВАК, 2 – в журналах, рецензируемых Scopus, и 4 тезиса.

Структура и объем диссертации

Структура диссертационной работы включает введение, литературный обзор, клиническую характеристику и методы исследования пациентов, результаты исследования и их обсуждение, выводы и практические рекомендации, список литературы. Объем диссертации составляет 161 страницу машинописного текста, список литературы содержит 376 источников. Иллюстративный материал представлен 23 таблицами и 26 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Традиционные факторы риска и клиническое течение рано возникшей ИБС

В соответствии с действующими клиническими рекомендациями, ИБС считают рано развившейся при ее возникновении у мужчин в возрасте ≤55 лет и у женщин в возрасте ≤65 лет [34-36]. При этом основное внимание в работах, изучающих данную форму ИБС, сосредоточено на оценке вклада в ее развитие традиционных факторов риска.

Для прогнозирования вероятности возникновения неблагоприятных сердечно-сосудистых событий на основе анализа известных факторов риска применяются различные методики суммарной оценки риска. В европейских странах доминирующим инструментом прогнозирования вероятности является шкала SCORE-2 (Systematic Coronary Risk Estimation), заменившая использовавшуюся ранее шкалу SCORE [37], тогда как в Соединенных Штатах до недавнего времени преимущественно использовалась Фрамингемская шкала [38], на замену которой в настоящее время пришла шкала PREVENT (Predicting Risk of cardiovascular disease EVENTs) [39].

Шкала SCORE оценивала вероятность фатальных осложнений атеросклероза за десятилетний период. При расчете учитывались возраст, гендерная принадлежность, статус курения, уровень ОХС и значения систолического артериального давления. Согласно данной шкале, вероятность развития фатальных сердечно-сосудистых событий классифицировалась следующим образом: ≥10% - очень высокий риск, ≥5% до <10% - высокий риск, ≥1% до <5% - умеренный риск, <1% - низкий риск [40]. В 2019 году были представлены обновленные версии шкалы SCORE - SCORE-2 и SCORE-2 OP, которые существенно отличаются от оригинальной версии. SCORE-2 прогнозирует развитие и фатальных, и

нефатальных сердечно-сосудистых событий в ближайшее десятилетие, учитывает более широкий спектр факторов риска, включая уровень холестерина липопротеинов не высокой плотности, а также имеет модифицированные пороговые значения для оценки риска. Интерпретация результатов SCORE-2 различается в зависимости от возрастной категории. Для пациентов младше 50 лет: <2,5% - умеренный риск, 2,5-7,4% - высокий риск, ≥7,5% - очень высокий риск. Для пациентов 50-69 лет: <5% - умеренный риск, 5-9,9% - высокий риск, ≥10% - очень высокий риск. SCORE-2 OP (Older People) специально разработана для оценки риска у лиц старше 70 лет. SCORE-2 OP имеет свои критерии оценки: <7,5% - умеренный риск, 7,5-14,9% - высокий риск, ≥15% - очень высокий риск [39].

Фрамингемская шкала ориентирована на прогнозирование вероятности развития ИМ или смерти вследствие ИБС в течение десяти лет. При расчетах учитываются возраст, пол, статус курения, уровни ОХС и ХС ЛВП, показатели систолического артериального давления, а также наличие антигипертензивной терапии. При этом СД рассматривается как эквивалент ИБС. Риск классифицируется как высокий при вероятности >20%, промежуточный - 10-20%, низкий - <10% [38]. В 2013 году были представлены обновленные рекомендации по оценке сердечно-сосудистого риска – шкала Pooled Cohort Equations (PCE) [41]. Данная шкала отличается от Фрамингемской шкалы расширенным прогнозом, включающим не только ИМ смерть от ИБС, но также фатальные и нефатальные инсульты. Особенностью этой шкалы является учет наличия СД и этнической принадлежности пациента. Критерии риска определяются следующим образом: ≥7,5% - повышенный риск, <7,5% - низкий риск. В 2023 году был представлен новый способ стратификации риска - шкала PREVENT [39]. Важной особенностью шкалы PREVENT является её применимость, начиная с 30-летнего возраста, что существенно расширяет возможности ранней профилактики сердечно-сосудистых заболеваний. Система способна оценивать риск развития заболеваний как за 10-летний, так и за 30-летний период. Шкала PREVENT, помимо традиционных показателей, таких как курение, систолическое артериальное давление, уровень холестерина, прием гипотензивной терапии и статинов, наличие диабета,

учитывает и дополнительные факторы. К ним относятся скорость клубочковой фильтрации, уровень гликированного гемоглобина, отношение альбумин/креатинин в моче, а также индекс социальной депривации, что позволяет создать более полную картину состояния пациента.

Необходимо отметить, что существующие методики оценки риска не обеспечивают абсолютной точности прогнозирования вероятности развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. При их применении возможны как переоценка, так и недооценка риска. В связи с этим ведутся активные исследования по совершенствованию моделей оценки риска путем включения дополнительных факторов, наряду с традиционными факторами риска.

Факторы риска рано развившейся ИБС в основном являются модифицируемыми [42-44]. По данным проведенных исследований, 97,8% молодых пациентов имели по крайней мере один фактор риска ИБС на момент развития ИМ [43,45].

Раннее развитие ИБС чаще встречается у пациентов мужского пола. С возрастом разница в частоте возникновения ИБС у мужчин и женщин уменьшается [46-48]. Так, в работе Schoenenberger A.W. и соавт. подавляющее большинство (85,1%) пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) младше 45 лет были мужчинами, тогда как среди больных старше 45 лет доля мужчин равнялась 72,3 % [49].

Курение традиционно считается наиболее распространенным фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний и связано с ранним развитием ИБС и ИМ [50,51]. По данным исследования INTERHEART молодые мужчины-курильщики имеют очень высокий риск развития ИБС. Кроме того, курение ассоциировано с более высоким риском возникновения нефатального ИМ в этой возрастной категории по сравнению с некурящими пациентами (ОШ 2,95; 95% ДИ 2,77-3,14, $p<0,0001$), а также наиболее значимо ухудшает выживаемость пациентов [52]. В исследовании Framingham Heart выявили 1,92-кратное и 1,7-кратное повышение риска развития ранней ИБС у курящих мужчин и женщин в возрасте 35–44 лет, соответственно, по сравнению с некурящими мужчинами и женщинами [53].

В кросс-секционном исследовании Haji Aghajani M. и соавт. с использованием регистра CAAR, включающего 330 пациентов с документированной с помощью КАГ ИБС, 49% пациентов с рано возникшей ИБС являлись активными курильщиками, тогда как в группе пожилых пациентов с ИБС доля курящих составила 30,9% [54]. Согласно ретроспективному анализу Qi Liu и соавт., среди лиц с ранним развитием ИБС количество курильщиков было значительно выше, чем в группе пациентов с развитием ИБС в пожилом возрасте (65,7% и 38,9% случаев, соответственно, p<0,001). Доля курящих мужчин была значительно выше, чем женщин (соответственно, в 81,3 и 3,9% случаев, p <0,001) [55]. По информации базы данных ССЗ Университета Дьюка, активное курение или курение в анамнезе было наиболее частым фактором риска (60,8%) развития ранней ИБС [56]. Согласно данным ряда исследований, распространенность курения среди молодых пациентов с ИМ составляет 73-90% [56-62]. В работе Mukherejee D. и соавт. было показано, что курильщиками значительно чаще являются пациенты моложе 45 лет (58,7%), чем пациенты старше 60 лет (43%), p <0,001 [63].

Еще одним значимым фактором риска раннего возникновения ИБС является дислипидемия. Так, согласно данным Qi Lui и соавт., нарушения липидного обмена у пациентов с ранней ИБС встречаются чаще, чем у пожилых пациентов (75,5% и 57,1%, соответственно, p <0,001) [54]. По данным Winter M.P. и соавт. повышенные уровни ХС ЛПНП и ОХС ассоциированы с неблагоприятными исходами у молодых пациентов с ИМ. В то же время уровни ХС ЛНП и ХС ЛВП не влияли на сердечно-сосудистые исходы [64], что подтверждалось в других исследованиях [65,66]. В исследовании L Chen и соавт. оценивался уровень липидов у пациентов с рано возникшей ИБС и у пожилых пациентов с ИБС. Средний уровень ОХС не отличался среди пациентов с рано возникшей ИБС и ИБС, возникшей в более позднем возрасте, и был равен, соответственно, 6,4±1,3 ммоль/л и 6,1±1,2 ммоль/л. Уровень ХС ЛНП был ниже у пациентов с рано возникшей ИБС и равнялся, соответственно, 0,9±0,2 ммоль/л и 1,1±0,4 ммоль/л (p <0,01), а уровень триглицеридов был выше у пациентов с рано возникшей ИБС и равнялся,

соответственно, 2,7±1,3 ммоль/л и 2,1±1,1 ммоль/л (p <0,001) [67]. После сопоставления исходных характеристик уровень ХС ЛНП был выше при рано возникшей ИБС, чем при ИБС, возникшей в более позднем возрасте, и равнялся, соответственно, 2,5 ± 0,96 и 2,17 ± 0,80 ммоль/л (p = 0,019) [68]. В метаанализе Poorzand H. и соавт. было выявлено, что у пациентов с рано возникшей ИБС был значительно более низкий уровень ХС ЛВП и значительно более высокий уровень триглицеридов по сравнению со здоровыми лицами [69].

Повышение уровня липопротеина (а) [ЛП(а)] относится к числу независимых факторов риска ранней ИБС [70-73]. Согласно данным исследования GENESIS-PRAXY, среди пациентов с ОКС в возрасте до 55 лет (n=939) повышенный Лп(а) встречался в 1,55 раз чаще, чем в группе контроля (n=5543) – 31% и 20%, соответственно [74]. По данным исследования Genest J. и соавт., высокий уровень Лп(а) чаще выявлялся у молодых пациентов с ИБС (18,6%), чем у здоровых лиц (12,7%) [75].

Частота АГ при ИБС увеличивается с возрастом. Согласно исследованию Chan M.Y. и соавт., в которое включили 231 пациента с ранним развитием ИМ (до 45 лет) и 1325 больных с ИМ в более позднем возрасте, АГ регистрировалась в 39,5% случаев у пациентов с ИМ до 45 лет, и в 58,4% случаев у пациентов с ИМ после 45 лет [76]. По данным исследования Haji Aghajani M. и соавт., распространенность АГ так же была ниже у пациентов с рано возникшей ИБС, в сравнении с пациентами, у которых ИБС развилась в более позднем возрасте. Среди пациентов с рано возникшей ИБС АГ чаще встречалась у женщин [77]. Большая распространенность АГ у женщин с рано возникшей ИБС была подтверждена в других исследованиях [55,78-81].

Заболеваемость СД, аналогично АГ, также увеличивается с возрастом, и, соответственно, выше среди пациентов с ИБС, возникшей в более позднем возрасте [56,82-84]. По данным Chan M.Y. и соавт. Распространенность СД среди пациентов с ИМ, возникшим в молодом возрасте, достигает 21,7% случаев [85]. Сопоставление с группой лиц аналогичного возраста без ИБС показывает, что СД регистрируется у них значимо реже, чем у больных ИБС [86,87]. Среди молодых

пациентов с ИБС СД у молодых женщин встречается чаще, чем у мужчин (в 26,9% и 19,0% случаев, p=0,001) [77-81].

В исследовании Zeitouni и соавт., включавшем 3655 пациентов моложе 50 лет с ИБС ожирение (индекс массы тела >30 кг/м^2) встречалось у 47,1% пациентов [56]. По данным регистра FOCUS, среди пациентов с рано возникшей ИБС, ожирение чаще встречалось у мужчин, чем у женщин, что также подтверждено в других исследованиях [55,81,88].

Лица молодого возраста с неблагоприятной наследственностью в отношении ИБС особенно подвержены риску развития этого заболевания [89-91]. Среди пациентов с рано возникшей ИБС в сравнении с больными ИБС старшего возраста чаще встречаются пациенты, имеющие отягощенный семейный анамнез, соответственно, в 64% и 43% случаев [92-94]. Смерть от ИБС в молодом возрасте в семейном анамнезе ассоциирована с повышенным риском смерти от ИБС, в том числе преждевременной, у других членов семьи [95].

У молодых пациентов с ИБС причиной ее раннего развития могут быть наследственные заболевания. Так, пациенты с СГХС - носители мутации в гене LDLR имеют в 10 раз более высокий риск преждевременного атеросклеротического ССЗ по сравнению с общей популяцией [96,97].

У женщин осложненное течение беременности (гестационные СД, АГ), по данным исследования van Loon и соавт., повышало риск развития ИБС в молодом возрасте [98,99].

Употребление алкоголя и наркотических веществ также увеличивает риск возникновения ИБС. Так, исследование CARDIA выявило значительную связь между чрезмерным употреблением алкоголя и атеросклерозом у молодых людей, злоупотребляющих алкоголем (в возрасте от 33 до 45 лет): кальцификация коронарных артерий составила 8% у непьющих (n = 1435), 9% при употреблении 1-6 стандартных доз алкоголя в неделю (n = 1023), 13% при 7-13 стандартных доз алкоголя в неделю (n = 341) и 19% при употреблении > или = 14 стандартных доз алкоголя в неделю (n = 238) (p < 0,001) [100]. Доказана связь между употреблением наркотических веществ и ранним возникновением ИБС. В исследовании MIran

опиумная зависимость ассоциировалась с 4-кратным увеличением риска развития ИБС (ОШ 4,3; 95% ДИ 3,0–6,2) [101]. В исследовании Batra V. и соавт. в группе участников моложе 30 лет, употребляющих амфетамин, по сравнению с лицами, не употребляющими его, наблюдалось 12-кратное увеличение риска ранних атеросклеротических ССЗ [102].

У молодых пациентов клинические проявления ИБС имеют отличия от проявлений в пожилом возрасте. В молодом возрасте реже возникает стенокардия и зачастую первым проявлением ИБС становится ИМ с подъёмом сегмента ST [103-106]. Согласно данным исследования Sarda L. и соавт. у пациентов старшего возраста стабильная стенокардия как первое проявление ИБС встречалась чаще, чем у пациентов моложе 45 лет (51% и 24%, соответственно, $p<0,001$). У пациентов молодого возраста первым проявлением ИБС чаще был ИМ (76% и 49% случаев, $p<0,001$ [107]. По результатам исследования Klein L.W. и соавт. ИМ был первым проявлением ИБС у 69% пациентов моложе 40 лет, причем в двух третях случаев он развивался без предшествующей клиники стенокардии [106]. Согласно исследованию GENESIS-PRAXY, включавшему 1015 пациентов моложе 55 лет с ОКС, безболевой инфаркт миокарда чаще встречался у женщин (19 %), чем у мужчин (13,7 %, $p=0,03$) [108]. Дебют ИБС с ИМ у молодых пациентов так же подтверждается рядом других исследований [54,55,78,109].

У пациентов с ранней ИБС многососудистое поражение коронарных артерий встречается редко. В исследовании Chen L. и соавт. у молодых пациентов с ИБС, в сравнении с пациентами старшего возраста, преобладало поражение одной магистральной коронарной артерии, соответственно, в 54% и 36% случаев ($p <0,001$) [67]. По данным исследования Sharma S.K. и соавт., односсудистое поражение наблюдалось у 2060 пациентов (44,1%), двухсосудистое поражение – у 1659 (35,5%), трехсосудистое поражение - у 933 (20%) больных. В большинстве случаев (78,5%) была поражена передняя нисходящая артерия (ПНА) [78]. В исследовании Colkesen A.Y. и соавт. у молодых пациентов с ИМ наблюдалось преобладание односсудистого поражения (69%), в 60% случаев - в бассейне ПНА [110]. Данные о преобладании односсудистого поражения так же подтверждаются

рядом других исследований [111-114].

1.2. Моноциты/макрофаги и атерогенез

В возникновении и прогрессировании атеросклероза принимает участие множество разных клеток, среди которых моноциты/макрофаги относят к фундаментальным участникам. Пусковым моментом возникновения атеросклероза является задержка в субэндотелиальном пространстве и модификация ЛНП с последующим их поглощением макрофагами и преобразованием макрофагов в пенистые клетки. Макрофаги обладают не только способностью поглощать модифицированные ЛНП, но и осуществлять продукцию биологически активных веществ, таких как цитокины, липо- и протеолитические ферменты, свободные радикалы, принимающих важное участие в атерогенезе. Таким образом, функциональное состояние макрофагов играет ключевую роль в этом процессе. Атеросклероз характеризуется наличием локального, хронического, вялотекущего воспаления в стенках артерий, в первую очередь, в предрасположенных к возникновению этого заболевания участках артериального русла. Макрофаги играют ключевую роль в возникновении и поддержании воспаления в сосудистой стенке. Макрофаги, участвуя в атерогенезе, взаимодействуют со всеми находящимися в сосудистой стенки клетками, внеклеточным матриксом и другими клетками иммунной системы. Макрофаги участвуют в росте АСБ и могут способствовать их дестабилизации. Макрофаги также играют ключевую роль в разрешении воспаления.

1.2.1. Общая характеристика моноцитов/макрофагов

Моноциты

Моноциты представляют собой один из типов лейкоцитов и составляют 5-10% от общего количества лейкоцитов, циркулирующих в периферической крови [115]. Моноциты образуются из гемопоэтических клеток красного костного мозга.

Сформировавшиеся в костном мозге моноциты попадают в кровоток. В нем одна часть моноцитов циркулирует в крови, другая часть находится пристеночно, образуя пристеночный пул [116]. Он включает около 60% от находящихся в крови моноцитов. Под влиянием различных факторов, в течение нескольких минут большое количество моноцитов может переходить из пристеночного пула в циркулирующий и возвращаться обратно [117]. Моноциты являются короткоживущими клетками. Под влиянием разных хемотаксических факторов, например, хемокина - моноцитарного хемоаттрактантного протеина 1 (англ. monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1), также известного, как хемокиновый (мотив C-C) лиганд 2 (англ. chemokine C-C motif ligand 2, CCL2), моноциты мигрируют в ткани, где они дифференцируются в макрофаги или дендритные клетки [118]. Моноциты, не мигрирующие в ткани, подвергаются апоптозу [119].

Моноциты являются разнородной группой клеток. В процессе созревания лейкоцитов в них происходит синтез специфических для разных типов лейкоцитов белков. Проточная цитометрия позволяет идентифицировать на поверхности мембран разных типов лейкоцитов специфические молекулы, называемые кластерами дифференцировки (англ. cluster of differentiation, CD). Они являются маркерами, по которым можно одни клетки отличить от других. Тип и степень зрелости клеток определяют то, какие кластеры дифференцировки располагаются на их поверхности. В большинстве своем кластеры дифференцировки выполняют функцию рецепторов. Моноциты человека классифицируют, в зависимости от экспрессии на их поверхности CD14 и CD16 [120,121]. CD14 входит в состав рецепторного комплекса к липосахаридам (ЛПС), являющимся структурным компонентом внешнего слоя наружной мембраны грамотрицательных бактерий [122]. CD16 представляет собой низкоаффинный рецептор для кристаллизующегося фрагмента (Fc-фрагмента) иммуноглобулина G (IgG) [123]. Выделяют 3 основные субпопуляции моноцитов – классические (CD14++CD16-), промежуточные (CD14++CD16+) и неклассические (CD14+CD16++) моноциты (рисунок 1) [124]. Промежуточные и неклассические моноциты образуются последовательно из классических моноцитов [125-127].

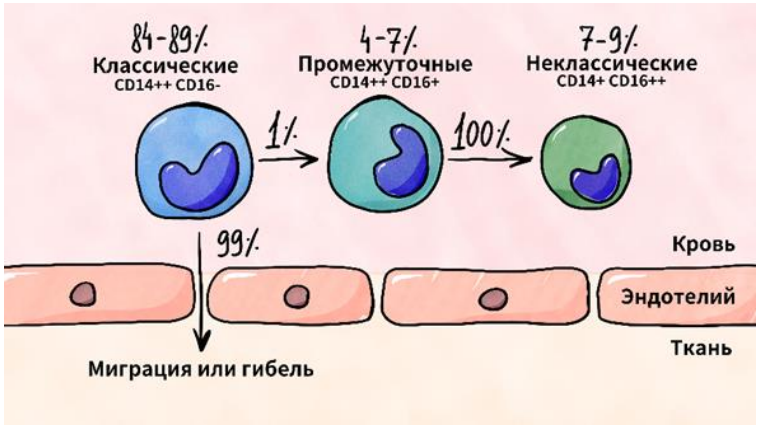


Рисунок 1. Субпопуляции моноцитов человека.

Классические моноциты составляют 84-89% от всех циркулирующих в крови моноцитов [125-130]. В находящимся в устойчивом состоянии (сохраняющем постоянство внутренней среды) организме, мобилизованные из костного мозга классические моноциты пребывают в кровотоке около 24-х часов, после чего 99% из них мигрируют в ткани или погибают. Около 1% классических моноцитов дифференцируются в промежуточные моноциты [125]. Промежуточные моноциты, часто еще называемые провоспалительными моноцитами [131], составляют 4-7% от всех циркулирующих в крови моноцитов [125-130]. Промежуточные моноциты находятся в кровотоке около 4-х дней, после чего они все дифференцируются в неклассические моноциты [125]. Неклассические моноциты имеют меньший, чем классические и промежуточные моноциты, размер [128,129] и составляют 7-9% от всех циркулирующих в крови моноцитов [127-130]. Неклассические моноциты являются более зрелыми и дольше (около 7 дней), в сравнении с моноцитами других субпопуляций, циркулируют в крови [125].

При исследовании функции моноцитов исходно считали, что основная роль этих клеток заключается в реагировании на изменения в окружающей среде, миграции в ткани при получении соответствующих сигналов и дифференцировке в макрофаги. После открытия дендритных клеток была показана возможность дифференцировки моноцитов в этот вид клеток in vitro. По мере накопления информации, было обнаружено, что моноциты имеют разнообразные функции, включая способность осуществлять патрулирование внутренней выстилки сосудов

и фагоцитоз, осуществлять презентацию антигенов Т-лимфоцитам, участвовать в ангиогенезе [132]. Моноциты осуществляют секрецию разнообразных цитокинов и хемокинов, тем самым регулируя воспаление и иммунный ответ. Было так же показано, что моноциты различных субпопуляций выполняют разные функции, которые зависят от того, находится организм в устойчивом состоянии или в нём присутствует патологический процесс.

В здоровом организме классические моноциты постоянно мигрируют в ткани для поддержания в них необходимого уровня макрофагов [133]. Это считают возможной причиной недолгого нахождения классических моноцитов в кровотоке. При возникновении системного воспаления классические моноциты быстро мигрируют в ткани, где они дифференцируются в макрофаги и дендритные клетки [133]. При возникновении локального воспаления классические моноциты первыми из 3-х субпопуляций моноцитов мигрируют в ткани [133]. Вслед за этим в ткани мигрируют промежуточные моноциты. Однако предполагают, что они могут попадать в ткани не в результате миграции, а в результате дифференцировки в тканях из классических моноцитов. В исследовании in vitro было продемонстрировано, что моноциты всех 3-х субпопуляций обладают способностью дифференцироваться, как в классические (M1), так и в альтернативные (M2) макрофаги [134]. При этом макрофаги, образовавшиеся из классических моноцитов, обладали наибольшей фагоцитарной активностью. В этом же исследовании было показано, что классические моноциты являются основным источником дендритных клеток моноцитарного происхождения [134].

Отличительной чертой «поведения» неклассических моноцитов является их способность осуществлять патрулирование внутренней выстилки сосудов [127,134]. Они распознают и удаляют посредством фагоцитоза поврежденные и отмирающие клетки, продукты их распада. В отличие от классических моноцитов, которые перекатываются по эндотелию перед тем, как проникнуть в субэндотелиальное пространство, неклассические моноциты обладают способностью ползать по поверхности эндотелия [129].

Считают, что моноциты являются антигенпрезентирующими клетками [135].

В основном эту функцию приписывают промежуточным моноцитам и во многом связывают с наибольшей, в сравнении с моноцитами других субпопуляций, экспрессией молекул главного комплекса гистосовместимости класса II (англ. major histocompatibility complex class II, MHC-II), участвующих в презентации антигенов Т-лимфоцитам [136]. В эксперименте на животных было показано, что моноциты, мигрируя в ткани, могут не дифференцироваться в макрофаги, а также в дендритные клетки и способны доставлять антиген в лимфатические узлы для презентации наивным Т-клеткам [137]. Однако исследований, которые бы продемонстрировали подобное «поведение» моноцитов в человеческом организме, нет. Предположения об антигенпрезентирующей роли моноцитов, преимущественно основывающиеся на результатах исследований in vitro, требуют дальнейшего подтверждения [132].

Одним из распространенных способов оценки функции моноцитов является изучение их реакции на различные стимулы в культуре клеток, в частности, секреции цитокинов в ответ на стимуляцию ЛПС. Подобные исследования, касающиеся сравнительной оценки различных субпопуляций моноцитов, являются неоднородными и носят противоречивый характер. В часто цитируемой работе Cros J. и соавт. в исследовании in vitro классические моноциты здорового человека в ответ на стимуляцию ЛПС продуцировали большое количество провоспалительных цитокинов – интерлейкина 8 (ИЛ-8), ИЛ-6, хемокина MCP-1 и хемокинового (мотив C-C) лиганда 3 (англ. chemokine C-C motif ligand 3, CCL3) [128]. Одновременно с этим классические моноциты осуществляли умеренную продукцию противовоспалительного цитокина интерлейкина 10 (ИЛ-10). Среди всех популяций моноцитов промежуточным моноцитам принадлежала основная роль в продукции в ответ на стимуляцию ЛПС провоспалительных цитокинов ФНО-α, ИЛ-1β и ИЛ-6. Подобная стимуляция так же приводила к значительной продукции промежуточными моноцитами хемокина CCL3. Промежуточные моноциты продуцировали умеренное количество противовоспалительного цитокина ИЛ-10. В ответ на стимуляцию ЛПС неклассические моноциты продуцировали малое количество провоспалительных цитокинов. Тем не менее,

неклассические моноциты осуществляли продукцию ФНО-α, ИЛ-1β и CCL3 в ответ на стимуляцию вирусными нуклеиновыми кислотами и иммунными комплексами, что может свидетельствовать об участии неклассических моноцитов в борьбе с вирусной инфекцией и в патогенезе аутоиммунных заболеваний. В отличие от исследования Cros J. и соавт. [128], в другом исследовании сообщается о наиболее выраженной, в сравнении с другими субпопуляциями моноцитов, продукции неклассическими моноцитами ФНО-α и ИЛ-1β в ответ на стимуляцию ЛПС [136]. В то же время, продукция ИЛ-6 и ИЛ-8 моноцитами всех 3-х популяций была эквивалентной. Наиболее выраженная продукция ФНО-α неклассическими моноцитами в ответ на стимуляцию ЛПС была так же выявлена Ong S.M. и соавт. [138]. Наибольшая продукция ИЛ-1β и ИЛ-6 классическими моноцитами в ответ на стимуляцию ЛПС была обнаружена в работе Karsulovic C. и соавт. [139]. При этом сообщается об идентичной базальной секреции этих цитокинов моноцитами всех 3-х субпопуляций.

Моноциты имеют на своей мембране толл-подобные рецепторы (англ. Toll-like receptors, TLRs), являющиеся одним из типов образ-распознающих рецепторов (англ. pattern recognition receptors, PRRs) [140]. TLRs распознают молекулярные паттерны (особенности структуры), связанные с патогеном (англ. pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), например, молекулы, обязательно входящие в состав клеточной стенки большинства бактерий, или белок бактериального жгутика. Связывание TLRs с лигандами попавших в организм микробов приводит к продукции цитокинов и прочих молекул, ассоциированных с воспалением. TLRs моноцитов также способны распознавать высвобождаемые из поврежденных или погибших клеток молекулы, получивших название молекулярных фрагментов, связанных с повреждением (англ. damage associated molecular patterns, DAMPs). В ответ на агонисты к TLRs все 3 субпопуляции моноцитов секретируют провоспалительные цитокины ИЛ-1β, ИЛ-6 и ФНО-α [129]. При этом у классических моноцитов обнаружена их наибольшая продукция, за исключением ФНО-α, секреция которого сопоставима у классических и промежуточных моноцитов. Неклассические моноциты в меньшей степени, в сравнении с

моноцитами других субпопуляций, осуществляют продукцию провоспалительных цитокинов в ответ на агонисты к TLRs.

Следует отметить, что исследования in vitro только отчасти отражают то, что происходит в живом организме, где моноциты находятся в совершенно другой среде и разнообразном клеточном окружении. Тем не менее, исследования in vitro дают основания предполагать наличие различий в функциях лейкоцитов разных субпопуляций. Частые расхождения в результатах исследований in vitro по оценке функций лейкоцитов разных субпопуляций вероятно связаны с различными условиями проведенных экспериментов.

Макрофаги

Макрофаги представляют собой крайне разнородную группу клеток. В зависимости от происхождения, выделяют резидентные макрофаги и макрофаги, образующиеся из моноцитов [141,142]. Резидентные макрофаги образуются и расселяются во все ткани в пренатальном периоде. Там они находятся на одном месте и способны к самовоспроизведению на протяжении всей жизни [133,143]. В зависимости от места нахождения, резидентные макрофаги обладают определенными тканеспецифичными характеристиками и имеют разное название (клетки Купфера в печени, альвеолярные макрофаги в легких, клетки Лангерганса в коже, микроглия центральной нервной системы и др.) [144,145]. Резидентные макрофаги являются долгоживущими клетками. Продолжительность их жизни составляет месяцы и годы в зависимости от места нахождения [134]. Макрофаги моноцитарного происхождения образуются из циркулирующих в крови моноцитов после их миграции в ткани. В зависимости от того, в какие ткани моноциты мигрируют, происходит их различная дифференцировка. Моноциты способны дифференцироваться в макрофаги, не отличимые от резидентных [146,147]. Моноциты способны дифференцироваться в любой тип тканеспецифичных макрофагов, за исключением микроглии [148]. В здоровом организме «расход» резидентных макрофагов в тканях в процессе его жизнедеятельности относительно невелик и не требует значительной миграции моноцитов в ткани для поддержания

в них необходимого количества макрофагов. Процесс дифференцировки мигрировавших в ткани моноцитов в резидентные макрофаги является медленным процессом [149]. Поэтому замещение утраченных макрофагов происходит за счет пролиферации находящихся по соседству резидентных макрофагов. При возникновении воспаления происходит прямо зависимое от его выраженности уменьшение числа резидентных макрофагов в связи с их гибелью и быстрое замещение резидентных макрофагов макрофагами моноцитарного происхождения [150]. Последующая пролиферация как резидентных макрофагов, так и макрофагов моноцитарного происхождения, а также их дифференцировка в резидентные макрофаги восстанавливает уровень макрофагов в тканях [151]. Предполагают, что при встрече с патогеном резидентные макрофаги в большей степени настроены не на борьбу с ним, а на привлечение моноцитов, которые, дифференцируясь в макрофаги, начинают активно бороться с патогеном [152]. Так же предполагают, что макрофаги моноцитарного происхождения имеют более высокую фагоцитарную активность в сравнении с резидентными макрофагами [153].

Макрофаги, наряду с гранулоцитами (нейтрофилами, эозинофилами и базофилами) и дендритными клетками, являются «профессиональными» фагоцитами. Способность к фагоцитозу присуща как резидентным макрофагам, так и макрофагам моноцитарного происхождения [142]. Фагоцитозу подвергаются патогенные микроорганизмы, которые макрофаги распознают при помощи PRRs [154]. Наряду с фагоцитозом микроорганизмов, макрофаги осуществляют фагоцитоз и переваривание «ненужных» (погибших и поврежденных) клеток, продуктов их распада, а также различных вредоносных агентов. В связи с разнообразием PRRs, при их взаимодействии с лигандами происходит активация разнообразных сигнальных путей.

Другой важной функцией макрофагов является презентация антигенов Т-лимфоцитам (лимфоцитам тимусного происхождения), которые называют еще Т-клетками [154]. Т-клетки отличает от других типов лимфоцитов наличие на их поверхности Т-клеточных рецепторов (англ. T-cell receptor, TCR), способных распознавать и взаимодействовать с антигенными пептидами, связанными с

молекулами МНС на поверхности антигенпредставляющих клеток [155,156]. В отсутствие подобной связи Т-клетки не распознают антиген. Основными типами Т-клеток являются CD4+Т-клетки и CD8+Т-клетки. Их созревание из клеток предшественников, представляющее многоступенчатый процесс, происходит в вилочковой железе, после чего зрелые наивные (не имевшие контакта с антигеном) Т-клетки покидают тимус и попадают в кровоток. В последующем наивные CD4+Т-клетки и CD8+Т-клетки после контакта в лимфатических узлах с антигенами, связанными, соответственно, с молекулами МНС класса II (МНС-II) и класса I (МНС-I), распознают антигены и активируются. Помимо взаимодействия с антигеном, активация Т-клеток также требует дополнительных костимулирующих сигналов и взаимодействия с цитокинами. В зависимости от того, с какими цитокинами и костимулирующими молекулами, экспрессируемыми на антигенпредставляющих клетках, происходит взаимодействие CD4+Т-клеток, они могут дифференцироваться в разные субпопуляции Т-хелперов (Th1, Th2, Th17 и др.), которые называют еще Th-клетками, а также в регуляторные Т-клетки (англ. Treg-клетки) [155,157]. Основными цитокинами, определяющим образование Th1-клеток, является ИЛ-12 и интерферон гамма (ИФН-γ) [158]. ИЛ-12, секретируемый активированными антигенпредставляющими клетками, осуществляет дифференцировку наивных Т-клеток в эффекторные Th1-клетки посредством активации фактора транскрипции STAT4 [159]. STAT4 индуцирует продукцию Th1-клетками ИФН-γ, который также осуществляет дифференцировку наивных Т-клеток посредством активации факторов транскрипции STAT1 и T-bet, что индуцирует еще большую продукцию ИФН-γ. Таким образом, формируется петля положительной обратной связи, стабилизирующая выработку ИФН-γ. Наряду с ИФН-γ, Th1-клетки осуществляют продукцию других цитокинов, таких как ИЛ-2, ФНО-α, ФНО-β, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) [160]. Основными цитокинами, определяющими образование Th2-клеток, является ИЛ-4 и ИЛ-2 [161]. Активированные Th2-клетки продуцируют ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-9, ИЛ-10, ИЛ-13 [160]. Различие в продукции Th1- и Th2-клетками в первую очередь их ключевых цитокинов, соответственно, ИФН-γ и

ИЛ-4 определяет основную направленность иммунного ответа.

После поглощения макрофагом антигена происходит его расщепление внутри клетки, связывание образующихся антигенных пептидов с молекулами MHC-II и перенос связанных с белком антигенов на мембрану для презентации Th-клеткам с последующим запуском иммунного ответа [155]. Предполагают, что презентация антигенов происходит в нелимфоидных органах [161]. Предполагают так же, что антигены презентуются не наивным Т-клеткам, а уже частично активированным контактом с антигеном в лимфатических узлах Т-клеткам. Взаимодействие эффекторных Th1-клеток с макрофагами приводит к выраженной дополнительной активации макрофагов и наоборот. В том числе, воздействие на макрофаги секретируемого Th1-клетками ИФН-γ приводит к увеличению продукции макрофагами ИЛ-12, что, в свою очередь, приводит к увеличению секреции Th1-клетками ИФН-γ [162]. Предполагают, что секретируемый Th2-клетками ИЛ-4 и ИЛ-13 может способствовать образованию противовоспалительного (M2) фенотипа макрофагов in vivo [163].

Воспаление является важной защитной реакцией организма, направленной на устранение вредоносной субстанции и последствий ее воздействия, а также инициирующей процесс заживления. Макрофаги играют ключевую роль в инициировании, поддержании и разрешении воспаления. Воспалительная реакция начинается при взаимодействии имеющих PRRs клеток, в том числе резидентных макрофагов, с PAMPs или DAMPs. В здоровом организме резидентные неактивированные макрофаги осуществляют фагоцитоз подвергшихся апоптозу клеток, продуцируя незначительное количество медиаторов воспаления [164]. При обнаружении угрожающего организму патогена неактивированные макрофаги (M0 макрофаги) подвергаются классической активации (поляризации) с образованием классического (воспалительного) M1 фенотипа макрофагов, которые начинают продуцировать провоспалительные цитокины (рисунок 2). Появление первых признаков воспаления или повреждения тканей приводит к миграции в них находящихся в крови классических моноцитов и дифференцировке их в M1 макрофаги. Наряду со взаимодействием с патогеном, классическую активацию

моноцитов/макрофагов обуславливает ИФН-γ, секретируемый Th1-клетками при возникновении иммунного ответа. В исследованиях in vitro, в которых культуры моноцитов/макрофагов подвергаются воздействию поляризующих агентов, M1 активацию обычно осуществляют с помощью ИФН-γ с агонистом к TLRs, таким как ЛПС [165-167]. Использование ИФН-γ в определенной степени воспроизводит то, что происходит при взаимодействии макрофагов с активированными Th1-клетками в живом организме. Дифференцировке моноцитов/ неактивированных макрофагов в M1 фенотип макрофагов способствует ГМ-КСФ [129,168,169]. ГМ-КСФ является цитокином, секретируемым активированными клетками иммунной системы в большом количестве при возникновении воспаления [170]. Увеличение экспрессии ГМ-КСФ происходит под влиянием провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1α, ИЛ-1β, ФНО-α и ИЛ-12.

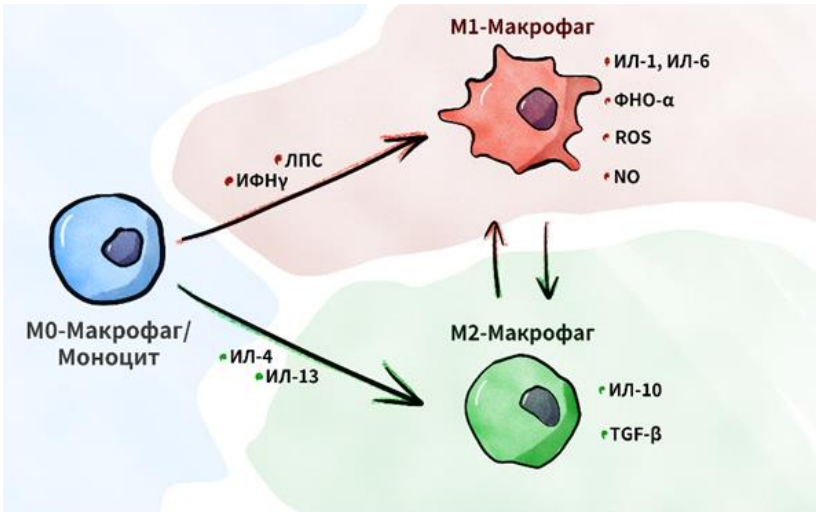


Рисунок 2**.** M1/M2 поляризация макрофагов.

M1 макрофаги секретируют провоспалительные цитокины ИЛ-1β, ИЛ-6 и ФНО-α [171]. Эти цитокины относят к основным провоспалительным цитокинам [172]. Синтез ИЛ-1β в основном осуществляется макрофагами, клетками эндотелия и гладкомышечными клетками (ГМК). В исследованиях на животных было показано, что ингибирование ИЛ-1β замедляет прогрессирование атеросклероза [173]. В исследовании CANTOS у пациентов с инфарктом миокарда в анамнезе, назначение моноклональных антител к ИЛ-1β (препарат канакинумаб) привело к

меньшей частоте возникновения неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, в сравнении с пациентами, получавшими плацебо [26]. Синтез ФНО-α в основном осуществляется макрофагами [173]. ФНО-α и ИЛ-1β индуцируют транскрипцию и трансляцию эндотелиальными клетками Е-селектина и VCAM-1 [174]. Несмотря на многочисленные публикации, в которых говорится о важной роли ФНО-α в атерогенезе, убедительные данные о возможности замедления прогрессирования атеросклероза посредством ингибирования ФНО-α в настоящее время отсутствуют. ИЛ-6 в основном синтезируется в макрофагах, эндотелиальных клетках и фибробластах [173]. ИЛ-6 способствует мобилизации лейкоцитов в очаг воспаления за счет активации эндотелия, в результате чего происходит увеличение им секреции молекул адгезии и хемокинов. Согласно результатам исследования CANTOS, благоприятное влияние канакинумаба на течение атеросклероза в определенной степени обусловлено снижением уровня ИЛ-6 при приеме препарата [175]. Наряду с секрецией провоспалительных цитокинов, М1 макрофаги секретируют CXC-хемокины (англ. C-X-C motif chemokine ligands, CXCLs), такие как CXCL-5, CXCL-9 и CXCL-10 [171], играющие существенную роль в регулировании воспалительного и иммунного ответа [176]. В исследовании с использованием культуры клеток было показано, что оксистеролы, образующиеся при окислении ЛНП, увеличивают продукцию макрофагами хемокина ИЛ-8 [177]. Помимо этого, М1 макрофаги вырабатывают активные формы кислорода (АФК) и оксид азота (NO), участвующие в уничтожении патогенных микроорганизмов [178,179].

Наряду с классической активацией, моноциты/неактивированные макрофаги могут подвергаться альтернативной активации, при которой образуется альтернативный М2 (противовоспалительный) фенотип макрофагов, участвующих в разрешении воспаления и репарации тканей, осуществляющих фагоцитоз клеточного дебриса, регулирующих образование новых кровеносных сосудов, проявляющих иммуносупрессивную активность, играющих ключевую роль в борьбе с гельминтами [142,166]. М2 поляризацию макрофагов обычно осуществляют с помощью ИЛ-4 и/или ИЛ-13 [166,167,180]. Подобный подход в

определенной степени воспроизводит то, что происходит при взаимодействии макрофагов с активированными Th2-клетками в живом организме. Дифференцировке моноцитов/неактивированных макрофагов в М2 фенотип макрофагов способствует макрофагальный колониестимулирующий фактор (М-КСФ) [129,168,169]. В последние годы выделяют 4 основных подтипа противовоспалительных макрофагов: M2a, M2b, M2c и M2d, отличающихся по своей функции и экспрессии специфических молекул на своей поверхности [134,181]. Общим для этих всех подтипов макрофагов является высокая продукция противовоспалительного цитокина ИЛ-10 и трансформирующего фактора роста бета (англ. Transforming growth factor beta, TGF-β), а также низкая продукция ИЛ-12 [182]. ИЛ-10 является ключевым противовоспалительным цитокином, который напрямую ингибирует пролиферацию CD4+Т-клеток и продукцию ими провоспалительных цитокинов [183]. Кроме того, ИЛ-10 уменьшает экспрессию MHC-II и костимулирующих молекул моноцитами/макрофагами, тем самым косвенно влияя на активацию Т-клеток. ИЛ-10 увеличивает экспрессию рецепторов ИЛ-4 на поверхности макрофагов [184], что делает их более чувствительными к нему и, как следствие этого, более чувствительными к М2 активации. TGF-β принимает участие в регулировании таких важных клеточных функций, как пролиферация, дифференцировка, подвижность и апоптоз [185]. Для поддержания гомеостаза тканей необходим баланс между пролиферацией и гибелью клеток – процессах, в которых TGF-β является ключевым регулятором. Этот цитокин способен ингибировать пролиферацию и инициировать апоптоз большинства типов клеток. TGF-β подавляет активность многих иммунокомпетентных клеток. TGF-β ингибирует секрецию макрофагами ФНО-α и NO. М2 макрофаги секретируют СС-хемокины (англ. C-C motif chemokine ligands, CCLs) CCL17, CCL22 и CCL24 [171].

Макрофаги обладают хорошей фенотипической пластичностью. В зависимости от воздействующих на макрофаги факторов они могут менять фенотип М1 на М2 и наоборот [166,186]. Подобная пластичность важна для поддержания необходимого баланса между обоими фенотипами макрофагов в

ответ на изменение условий их нахождения. Возникновение дисбаланса приводит к неблагоприятным последствиям. В том числе, избыточная активность М1 макрофагов может привести к неконтролируемому воспалению [186], а М2 макрофагов – к росту раковых опухолей избыточному фиброзированию, аллергическим реакциям и повышенному риску инфицирования [186].

М1 и М2 макрофаги - 2 противоположных фенотипа макрофагов, образующихся в исследованиях in vitro, в которых культуры макрофагов подвергаются воздействию М1 или М2 поляризующих агентов. В последующем оценивают продукцию макрофагами цитокинов и других биологически активных молекул [165,166,180], изменение клеточных маркеров на поверхности этих клеток [165], а также экспрессии генов [188] в ответ на воздействие поляризующих агентов. Происходящие изменения, например, продукция цитокинов, зависят не только от того, какие агенты и в каком количестве используются, но также и от времени их воздействия [185]. Следует учитывать, что использование одного и того же агента у людей и у животных сопровождается не одним и тем же эффектом [167]. Выделение двух противоположных фенотипов макрофагов является в большой степени условным. В живом организме макрофаги подвергаются воздействию множества различных факторов, поэтому предполагают наличие большего числа фенотипов макрофагов, которые, однако, недостаточно изучены [144].

Дендритные клетки

Дендритные клетки обладают способностью представлять антигенные пептиды Т-лимфоцитам и являются самыми эффективными антигенпредставляющими клетками [154]. Дендритные клетки связывают антигены, прочно фиксируют их на своей поверхности, осуществляют неглубокий эндоцитоз и частичное ферментативное расщепление антигенов. В последующем происходит связывание образующихся антигенных пептидов с молекулами МНС и перенос связанных антигенов на клеточную мембрану. Далее дендритные клетки поступают в циркуляцию и перемещаются в лимфатические узлы для

представления и распознавания антигена Т-лимфоцитами. Дендритные клетки неоднородны по своему составу. Выделяют 3 основных субпопуляции дендритных клеток: плазмоцитоидные дендритные клетки, миелоидные или классические дендритные клетки 1-го типа, миелоидные или классические дендритные клетки 2-го типа [189,190]. Наряду с этими субпопуляциями, выделяют воспалительные дендритные клетки, которые образуются из моноцитов при возникновении воспаления [191]. В исследованиях in vitro ГМ-КСФ в комбинации с другими цитокинами, такими как ИЛ-4, вызывает дифференцировку моноцитов в дендритные клетки [192].

1.2.2. Участие моноцитов/макрофагов в атерогенезе

Поглощение макрофагами в стенке артерий модифицированных ЛНП

Одним из ключевых событий, инициирующих возникновение атеросклероза и связанных с ним осложнений, является проникновение в субэндотелиальное пространство и задержка в нем богатых холестерином, аполипопротеин В (апоВ) содержащих липопротеинов (ЛП) [193,194]. Модель возникновения атеросклероза, в которой основным инициирующим его фактором является задержка апоВ содержащих ЛП, получила название модели «ответа на задержку» (англ. 'response-to-retention' model). На протяжении многих лет ведутся дискуссии о том, каким образом ЛНП проникают в субэндотелий. В последние годы находит подтверждение концепция о преодолении эндотелия ЛНП посредством трансцитоза, являющегося одним из способов трансцеллюлярного транспорта различных макромолекул [195,196]. При трансцитозе транспортируемый объект распознается рецептором, проникает в клетку посредством эндоцитоза, переносится к противоположной стенке клетки внутри везикулы и выходит во внеклеточное пространство посредством экзоцитоза. Небольшие Ω-образные впячивания плазматической мембраны эндотелиальных клеток (кавеолы) с их основным структурным компонентом - белком кавеолином 1, а также рецепторы в них - активино-подобная киназа 1 (англ. Activin-like kinase receptor 1, ALK1) и

рецептор-мусорщик B1 (англ. scavenger receptor B1, SR-B1), которые связываются с ЛНП, являются ключевыми регуляторами их трансцитоза [196-199]. Несмотря на успехи в понимании того, каким образом осуществляется транспорт ЛНП в интиму, непонятно физиологическое значение подобного транспорта [197]. Отсутствует точное понимание того, как гиперхолестеринемия способствует проникновению ЛНП в стенки артерий. Остаются так же невыясненными точные механизмы, ответственные за задержку в интиме апоВ содержащих ЛП. Предполагают, что задержка ЛНП в интиме обусловлена особенностями взаимодействия протеогликанов субинтимального внеклеточного матрикса с компонентом ЛНП апоВ-100 [195,200].

Задерживающиеся в интиме ЛНП подвержены разнообразной окислительной и неокислительной модификации [195,200]. Модифицированные ЛНП являются лигандами для разнообразных рецепторов-мусорщиков (преимущественно CD36, SR-A1, SR-B1, LOX-1 рецепторов), а также для TLRs на поверхности макрофагов [113,201,202]. Взаимодействие этих рецепторов с модифицированными ЛНП приводит к их поглощению макрофагами, где они впоследствии подвергаются лизису. Опосредуемый рецепторами эндоцитоз является доминирующим механизмом поглощения модифицированных ЛНП [203]. Имеются свидетельства того, что взаимодействие рецепторов CD36 и SR-A с модифицированными ЛНП является превалирующим при их поглощении макрофагами [204].

Воспалительная активация макрофагов и их взаимодействие с эндотелием

Активация макрофагов при атеросклерозе происходит посредством активации различных сигнальных путей – цепей последовательных биохимических реакций, возникающих при взаимодействии внутриклеточных молекул при передаче внешнего сигнала от клеточной поверхности в ядро, что приводит к изменению функции макрофагов [171,205]. Такими сигнальными путями являются сигнальный путь активации NLRP3 инфламмасомы, TLR сигнальный путь, HIF-1α сигнальный путь, сигнальный путь JAK/STAT, сигнальный путь TBK/IRF3 и сигнальный путь PI3K-Akt/PKB. Захват модифицированных ЛНП резидентными

макрофагами в большинстве своем приводит к их воспалительной активации [206]. В том числе, захват макрофагами окисленных ЛНП приводит к активации мультимерного цитозольного белкового комплекса - инфламмасомы NLRP3, что обуславливает увеличение секреции макрофагами провоспалительных цитокинов ИЛ-1β и ИЛ-18 [207]. Помимо поглощения окисленных ЛНП, активацию инфламмасомы NLRP3 вызывают содержащиеся в макрофагах кристаллы холестерина, которые могут присутствовать в очагах атеросклероза уже на ранних этапах его развития [208,209]. Ингибирование инфламмасомы NLRP3 подавляет секрецию макрофагами этих цитокинов [205]. Окисленные ЛНП, взаимодействуя с толл-подобным рецептором TLR4, инициируют внутриклеточные процессы, приводящие к увеличению макрофагами секреции ИЛ-6 [210]. Показана активация окисленными ЛНП внутриклеточного сигнального пути, центральным компонентом которого является провоспалительный фактор транскрипции – ядерный фактор «каппа-би» (англ. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF-κB), играющий ключевую роль в регуляции генов, участвующих в воспалительных и иммунных реакциях [211]. Ингибирование NF-κB приводило к уменьшению продукции ФНО-α, ИЛ-18, ИЛ-1β и ИЛ-6. Связывание окисленных ЛНП с рецепторами CD36 увеличивает секрецию макрофагами во внеклеточное пространство виментина – белка промежуточных филаментов (нитевидных структур, являющихся элементом цитоскелета) [212]. Попадая во внеклеточное пространство, виментин индуцирует секрецию макрофагами ФНО-α, а также усиливает опосредованную окисленными ЛНП продукцию ФНО-α и ИЛ-6. Окисленные ЛНП увеличивают в макрофагах экспрессию гена клеточного фермента - рецептор-взаимодействующей протеинкиназы 1 (RIPK1), что запускает в них сигнальный путь с участием NF-κB, обуславливая увеличении секреции ИЛ-1α и ИЛ-1β [213].

Секреция классически активированными макрофагами провоспалительных цитокинов приводит к активации эндотелиальных клеток [214,215]. Связывание секретируемых макрофагами ФНО-α и ИЛ-1β с рецепторами эндотелиальных клеток запускает в них сигнальный путь с участием провоспалительного фактора

транскрипции NF-κB [215]. Наряду с этим, активацию эндотелиальных клеток вызывает связывание окисленных ЛНП с лектин-подобным рецептором-1 для окисленных ЛНП (англ. lectin-type oxidized LDL receptor 1, LOX-1) на поверхности эндотелиальных клеток [216]. В ответ на активирующие стимулы клетки эндотелиальной выстилки начинают секретировать воспалительные хемокины ИЛ-8 (CXCL8), CCL5 (англ. Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted, RANTES) [217] и MCP-1 (CCL2), а также усиливать экспрессию мембранных молекул адгезии, таких как молекула адгезии сосудистых клеток 1 (англ. vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1), молекула межклеточной адгезии 1 типа (англ. intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1), E-селектин, P-селектин; секреции эндотелиальными клетками медиаторов воспаления, таких как провоспалительные цитокины ИЛ-1 и ИЛ-6 [142,216,218]. Важным хемокином, участвующим в привлечении моноцитов в формирующийся очаг воспаления, является секретируемый активированным эндотелием MCP-1 [219]. Взаимодействие MCP-1 с рецепторами к нему на поверхности моноцитов вызывает их рекрутирование к активированному эндотелию (рисунок 3) [220,221]. В последующем взаимодействие селектинов с лигандами на поверхности моноцитов позволяет им, преодолевая силы тока крови, уменьшить скорость своего движения и начать перекатываться по эндотелию («роллинг» моноцитов) [222,223]. P-селектин хранится в тельцах Вейбеля-Паладе эндотелиальных клеток и под действием провоспалительных стимулов может очень быстро перемещаться на поверхность этих клеток. Экспрессия E-селектина эндотелиальными клетками строго регулируется провоспалительными цитокинами, такими как ФНО-α и ИЛ-1β [224]. В отличие от E-селектина, у человека эти цитокины не регулируют активность P-селектина. E-селектин, в сравнении с P-селектином, обеспечивает гораздо меньшую скорость «роллинга» моноцитов. С учетом этих фактов, участие E-селектина в привлечении эффекторных клеток в формирующийся очаг воспаления считают наиболее важным [225].

VCAM-1 и ICAM-1 обеспечивают прочное прилипание (адгезию) моноцитов к эндотелию [223]. VCAM-1 и ICAM-1 являются лигандами для трансмембранных

клеточных рецепторов моноцитов – интегринов. Для связывания VCAM-1 и ICAM-1 с интегринами необходима их активация, которая происходит с помощью иммобилизованных на поверхности эндотелия хемокинов при контакте моноцитов с эндотелием [226]. Предполагают доминирующую роль VCAM-1 в инициировании атеросклероза [227]. Происходящая в дальнейшем миграция моноцитов в субэндотелиальное пространство осуществляется как трансцеллюлярно, так и парацеллюлярно [132]. Связывание ICAM-1 с рецептором моноцитов приводит к фосфорилированию VE-кадгерина – белка клеточной адгезии, локализованного в местах соединения клеток эндотелия, что позволяет мигрировать моноцитам между клетками эндотелия.

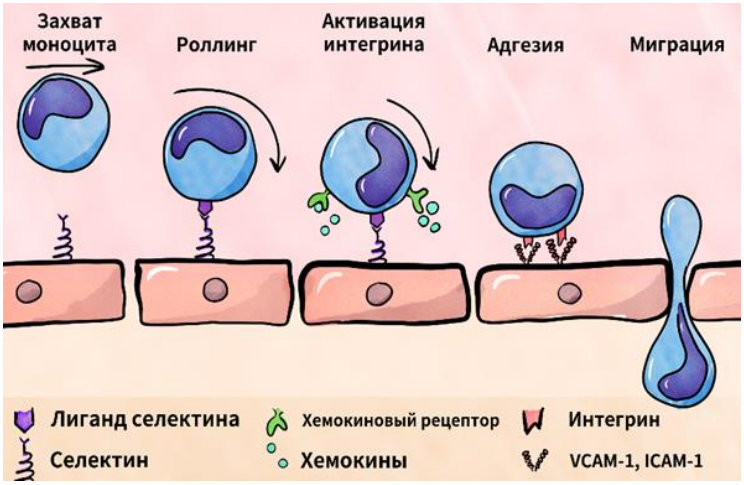


Рисунок 3. Миграция моноцитов в субэндотелиальное пространство.

В большинстве своем моноциты, мигрирующие в субэндотелиальное пространство, являются классическими моноцитами [228]. Попадая в интиму, моноциты дифференцируются в макрофаги или дендритные клетки. В формирующемся очаге воспаления дифференцирующиеся преимущественно в М1 макрофаги моноциты обладают высокой фагоцитарной способностью. Они начинают поглощать модифицированные ЛНП и, как следствие этого, секретировать провоспалительные цитокины, тем самым поддерживая воспалительную реакцию.

На первоначальном этапе формирования атеросклеротического поражения

накопление макрофагов в сосудистой стенке обусловлено рекрутированием моноцитов, находящихся в кровотоке, в то время как со временем накопление макрофагов вызывает их пролиферация [229]. Она во многом, но не полностью, зависит от локальной продукции эндотелиальными и ГМК колониестимулирующего фактора 1 (КСФ1) [230]. Дефицит продукции КСФ1 этими клетками приводил к выраженному снижению пролиферации макрофагов.

Наличие хронического воспаления в пораженных атеросклерозом участках артерий приводит к поэтапной трансформации эндотелиальных клеток в клетки, обладающие фенотипом, характерным для мезенхимальных клеток и, как следствие этого, к возникновению дисфункции эндотелия [231,232]. Этот процесс был назван эндотелиально-мезенхимным переходом. Ключевым фактором, обуславливающим эндотелиально-мезенхимный переход, считают TGF-β [233]. TGF-β является цитокином, выполняющим множество функций, включая клеточную дифференцировку и пролиферацию. Нормальные неактивированные эндотелиальные клетки имеют очень низкую экспрессию рецепторов TGF-β 1-го типа, что делает эти клетки почти полностью резистентными к воздействию TGF-β. Воспаление сосудистой стенки приводит к быстрому увеличению экспрессии рецепторов TGF-β 1-го типа и, как следствие этого, к индуцированию эндотелиально-мезенхимального перехода. Увеличение экспрессии рецепторов TGF-β 1-го типа при воспалении обусловлено тем, что она обратно связана с экспрессией в эндотелиальных клетках рецепторов фактора роста фибробластов 1 (англ. Fibroblast growth factor receptor 1, FGFR1). При атеросклерозе происходит снижение экспрессии рецепторов FGFR1, вызванное воздействием провоспалительных медиаторов - ИФН-γ, ФНО-α и ИЛ-1β. Трансформация эндотелиальных клеток приводит к увеличению проницаемости сосудистой стенки, изменению внеклеточного матрикса, увеличению экспрессии на их поверхности молекул клеточной адгезии – процессов, поддерживающих и усиливающих воспалительную реакцию. Количество эндотелиальных клеток, подвергшихся эндотелиально-мезенхимальному переходу в очаге атеросклеротического поражения, прямо коррелирует с нестабильностью АСБ [234].

Образование пенистых клеток

В макрофагах все компоненты ЛП подвергаются гидролизу ферментами лизосом. Гидролиз эстерифицированного ХС ЛНП приводит к образованию свободного ХС, который в дальнейшем частично реэстерифицируется в эндоплазматическом ретикулуме и депонируется в цитоплазме в виде липидных капель [235]. Остальной свободный ХС выводится из клеток с помощью ABC-транспортеров (англ. ATP-binding cassette (ABC) transporters) – мембранных белков, осуществляющих выведение разнообразных субстратов через клеточные мембраны с помощью энергии, образующейся при гидролизе АТФ [236]. Избыточное накопление липидов в макрофагах приводит к их трансформации в пенистые клетки, количество которых со временем прогрессивно увеличивается. Пенистые клетки является одним из отличительных признаков атеросклероза и входят в состав жировых полосок – первых видимых проявлений атеросклероза. Основным источником образования пенистых клеток являются макрофаги, образующиеся из циркулирующих в крови моноцитов [182] (рисунок 4). Помимо макрофагов, образование пенистых клеток в большом количестве происходит из ГМК сосудистой стенки, которые так же, как и макрофаги, осуществляют захват модифицированных ЛНП. [182,237]. Продемонстрирована способность трансдифференцировки ГМК в макрофагоподобные клетки в процессе атерогенеза [238]. Результаты исследований (в основном in vitro), касающихся продукции пенистыми клетками провоспалительных цитокинов, являются неоднородными [239]. В одних исследованиях была обнаружена продукция подобных цитокинов, тогда как в других – уменьшение их продукции. Продемонстрирована продукция пенистыми клетками матриксных металлопротеиназ (ММП) – ферментов, осуществляющих протеолиз белков внеклеточного матрикса, что может приводить к дестабилизации и разрыву АСБ [240].

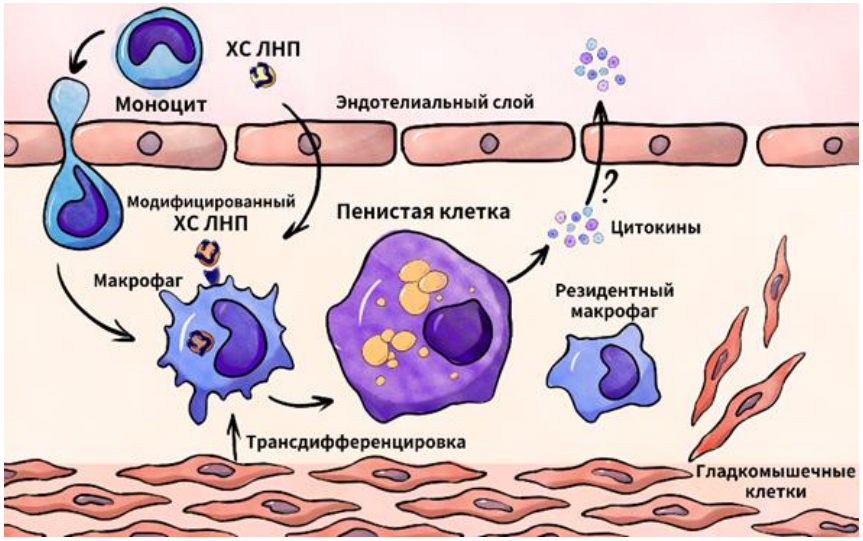


Рисунок 4. Образование пенистых клеток при атеросклерозе.

Формирование атеросклеротической бляшки

При прогрессировании атеросклероза в местах расположения жировых полосок происходит образование АСБ. Сформировавшиеся атероматозные и фиброатероматозные АСБ по структуре представляют локальные образования в стенке артерий, состоящие из липидного ядра, покрытого фиброзной капсулой. В ядре АСБ обнаруживают макрофаги, пенистые клетки, Т-лимфоциты, клеточный дебрис, липиды, кристаллы холестерина, кальций. Фиброзная покрышка состоит из ГМК и внеклеточного матрикса с клеточным инфильтратом, состоящим из лимфоцитов и макрофагов [241]. По мере прогрессирования атеросклероза большое количество пенистых клеток и макрофагов гибнет, участвуя в образовании и росте ядра формирующейся АСБ. Чрезмерное накопление в макрофагах липидов приводит к нарушению их внутриклеточного метаболизма, что обуславливает активацию воспалительных сигнальных путей, стресс эндоплазматического ретикулума и, в конечном итоге, гибель макрофагов. Способы и подробные механизмы гибели макрофагов при атеросклерозе подробно изложены в других обзорах [241-243]. Макрофаги могут подвергаться апоптозу, некроптозу. пироптозу и ферроптозу. Апоптоз – одна из разновидностей программируемой клеточной гибели, которая избавляет организм от «ненужных» клеток. Выделяют 2 основных пути возникновения апоптоза – внешний (рецептор-зависимый) и

внутренний (митохондриальный) путь. В первом случае гибель клеток инициирует связывание лигандов, таких как ФНО-α, TRAIL (англ. TNF-related apoptosis-inducing ligand) и FasL (лиганд для мембранной молекулы Fas) с их рецепторами на клеточной мембране, что запускает внутриклеточные процессы, приводящие к образованию из присутствующих в каждой клеточной цитоплазме неактивных проферментов – прокаспаз активных ферментов – эффекторных каспаз, участвующих в расщеплении клеточных белков [244]. Митохондриальный путь обусловлен нарушением внутриклеточного гомеостаза и реализуется при повышении проницаемости наружной мембраны митохондрий и, как следствие этого, выходе в цитозоль межмембранных митохондриальных белков, в частности цитохрома С, что инициирует внутриклеточные процессы, приводящие к образованию эффекторных каспаз. В митохондриальном пути апоптоза центральную роль играют белки семейства Bcl-2, которые в зависимости от структуры могут как способствовать, так и препятствовать возникновению апоптоза. Повышение проницаемости наружной мембраны митохондрий обуславливает воздействие на нее активированных проаптотических белков Bax и Bak. При апоптозе происходит формирование апоптотических телец, окруженных мембраной, что предотвращает попадание токсических и иммуногенных веществ в межклеточное пространство. Образовавшиеся апоптотические тельца распознаются, поглощается и переваривается макрофагами. Не удаленные апоптотические тельца подвергаются вторичному некрозу.

Апоптоз макрофагов при атеросклерозе вызывают разнообразные факторы, такие как оксидативный стресс, гипоксия, высокая концентрация цитокинов (например, IFNγ) и перенасыщение холестерином [245]. Для возникновения апоптоза воздействие индуцирующего ее фактора должно быть достаточно выраженным и продолжительным. Возникновение апоптоза часто обусловлено не одним фактором, а их комбинацией. Апоптоз макрофагов происходит на всех стадиях образования АСБ [246]. На ранней стадии апоптоз макрофагов в сочетании с фагоцитозом образующихся апоптотических телец и эмиграцией макрофагов из АСБ препятствует увеличению количества макрофагов в очаге поражения, тем

самым противодействуя росту АСБ. На более поздних стадиях апоптоз в сочетании с нарушенным клиренсом апоптотических телец способствует образованию некротического ядра, состоящего из погибших пенистых клеток, макрофагов, ГМК, лимфоцитов и внеклеточного матрикса [247,248]. Содержимое некротического ядра является источником провоспалительных цитокинов, протеаз, а также DAMPs, которые усиливают воспаление. Белок B1 высокомобильной группы (англ. high mobility group box 1, HMGB1) - один из наиболее хорошо изученных DAMPs при атеросклерозе. Макрофаги – один из наиболее значимых источников HMGB1 [249]. Попадая во внеклеточное пространство, он связывается с разными рецепторами, что запускает продукцию макрофагами провоспалительных цитокинов, таких как ФНОα, ИЛ-1, ИЛ-6 и ИЛ-8 [244]. В эксперименте на животных было показано, что нейтрализация HMGB1 ингибирует атерогенез, в частности за счет снижения миграции макрофагов [250].

Наряду с апоптозом, гибель макрофагов происходит в результате других видов программируемой клеточной гибели. Возникновение некроптоза происходит в результате взаимодействия ФНО-α с рецептором TNFR1 на клеточной мембране макрофагов, что приводит к образованию определенного комплекса белков, активирующего внутриклеточные процессы, которые обуславливают формирование некросомного комплекса, состоящего из белков RIPK1 и RIPK3 (рисунок 5) [251]. Некросомный комплекс активирует белок MLKL, который перемещается к плазматической мембране и нарушает ее целостность посредством образования в мембране пор. Это в конечном итоге приводит к гибели макрофагов [241]. Некроптоз также может вызывать активация иных рецепторов, например, TLRs (TLR4 и TLR3) другими триггерами [251]. Некроптоз запускается при ингибировании или инактивации каспаз. При некроптозе происходит выход содержимого клеток во внеклеточное пространство, что сопровождается выраженным воспалительным ответом.

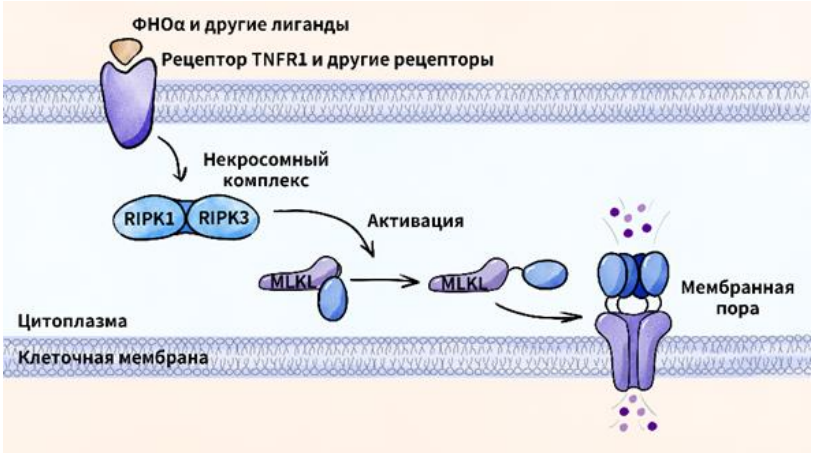


Рисунок 5. Механизмы программируемой клеточной гибели. Некроптоз.

При пироптозе воздействие на клетку вызывающих его факторов приводит к формированию и активации инфламмасомы NLRP3, что, в свою очередь, приводит к активации протеазы каспазы-1 (канонический путь) (рисунок 6) [241,245]. В результате этого происходит образование из молекул-предшественников провоспалительных цитокинов ИЛ-1β и ИЛ-18, а также продукта частичного гидролиза белка гасдермина D – N-домена гасдермина D, вызывающего образование пор в плазматической мембране, обуславливающих осмотическое набухание и гибель клеток. Через поры во внеклеточное пространство выходят цитокины ИЛ-1β и ИЛ-18, а также молекулы DAMPs, что приводит к усилению воспаления. Наряду с инфламмасомой NLRP3, пироптоз может опосредовать белок AIM2. Результаты проведенных исследований позволяют предположить, что пироптоз характерен для зрелых АСБ.

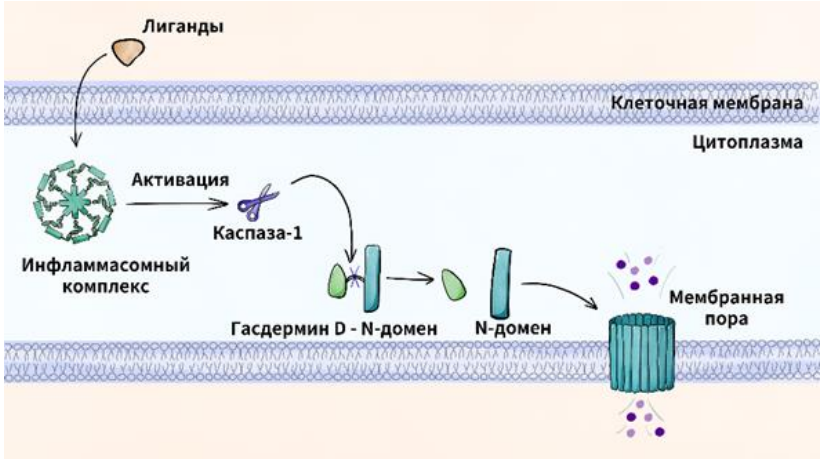


Рисунок 6. Механизмы программируемой клеточной гибели. Пироптоз (канонический путь).

Ферроптоз – вид программируемой клеточной гибели, при которой в присутствии ионов железа в клетке происходит перекисное окисление полиненасыщенных жирных кислот, приводящее к разрыву плазматической мембраны и выходу внутриклеточного содержимого во внеклеточное пространство (рисунок 7) [241,245]. Выделяют ферментативный (канонический) и неферментативный (неканонический) путь перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот через реакцию Фентона. Ферроптоз инициирует нарушение активности фермента глутатионпероксидазы-4 (GPX4), а также накопление ионов двухвалентного железа в лабильном пуле железа в цитоплазме клеток. Последнее может происходить при фагоцитозе эритроцитов макрофагами при возникновении кровоизлияний в АСБ [252].

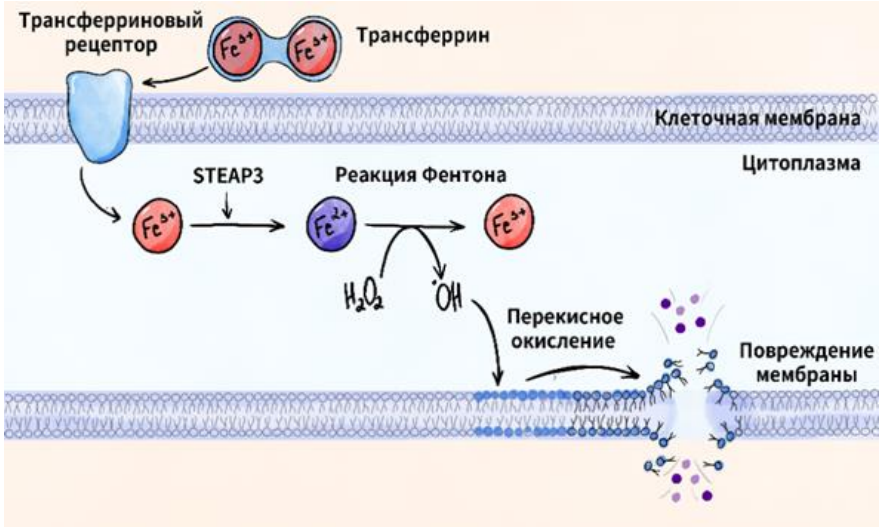


Рисунок 7. Механизмы программируемой клеточной гибели. Ферроптоз (неканонический путь).

Вокруг изначально липидного, а потом некротического ядра АСБ происходит формирование фиброзной оболочки, состоящей из ГМК, расположенных во внеклеточном матриксе с большим содержанием коллагеновых и эластиновых волокон [253]. В человеческом организме оболочка формирующейся АСБ исходно состоит из того же материала, который характерен для оригинальной интимы. По мере прогрессирования заболевания происходит его замещение с формированием более плотной оболочки, насыщенной ГМК и с бóльшим содержанием коллагеновых волокон. По своему происхождению ГМК в оболочке АСБ являются ГМК, мигрировавшими из медии и подвергшимися дифференцировке, в результате которой они теряют возможность присущей этим клеткам экспрессии сократительных белков и приобретают большую способность продуцировать внеклеточный матрикс. ГМК обладают выраженной пластичностью, что позволяет им быстро изменять свой фенотип в зависимости от оказываемого на них воздействия. Предполагают, что на миграцию, дифференцировку и пролиферацию ГМК среди разнообразных факторов может оказывать влияние продукция определенных цитокинов эндотелиальными клетками, макрофагами и Т-лимфоцитами [254].

Фиброзная оболочка стабильной АСБ отделена от просвета артерии

эндотелием. В процессе развития АСБ может возникнуть ее разрыв с образованием окклюдирующего тромбоза. Толщина фиброзной оболочки является наиболее важным фактором, определяющим вероятность ее разрыва. Истончение фиброзной оболочки обычно предшествует разрыву и считаются признаком ее уязвимости. Макрофаги и пенистые клетки являются основным источником ММП – группе ферментов, способных расщеплять практически все компоненты внеклеточного матрикса [255]. Повышенная активность ММП обуславливает уменьшение плотности фиброзной оболочки и, как следствие этого, повышает вероятность ее разрыва [256,257].

Макрофаги и локальный иммунный ответ.

Обнаружение основных иммунокомпетентных клеток - Т-клеток и В-клеток в АСБ привело к предположению о наличии аутоиммунного ответа при атеросклерозе. Среди Т-клеток в АСБ наиболее часто обнаруживают CD4+Т-клетки [155,258]. В связи со способностью вырабатывать особый спектр цитокинов различные субпопуляции CD4+Т-клеток могут оказывать как атерогенное, так и антиатерогенное действие. Th1-клетки являются наиболее часто обнаруживаемой субпопуляцией CD4+Т-клеток в АСБ. Th1[SK2] -клетки осуществляют секрецию провоспалительных цитокинов, таких как ИФН-γ, ФНО-α и ИЛ-2, тем самым способствуя поддержанию хронического воспаления в артериальной стенке [259]. ИФН-γ, главным регулятором секреции которого в Th1-клетках является транскрипционный фактор T-bet, является классическим фактором, активирующим макрофаги. ИФН-γ является индуктором секреции воспалительных цитокинов и цитотоксических молекул макрофагами, и, кроме того, регулирует экспрессию генов, отвечающих за поглощение липидов, а значит оказывает влияние на образование пенистых клеток [258]. ИФН-γ воздействует на эндотелиальные клетки, стимулируя продукцию ими хемокинов и молекул клеточной адгезии, которые обеспечивают рекрутирование моноцитов в интиму. Показано так же, что ИФН-γ может вызывать апоптоз макрофагов и индуцировать этими клетками синтез ММП, тем самым влияя на стабильность АСБ. Предполагают, что

иммунный ответ при атеросклерозе обуславливают аутоантигены, образующиеся в результате модификации, в том числе окисления, апоВ-100 ЛНП, изменения структуры белков внеклеточного матрикса ряда других модификаций белков организма [258,260].

Treg-клетки в отличие от Th1-клеток препятствуют атерогенезу, ингибируя пролиферацию провоспалительных Th-клеток и осуществляя секрецию противовоспалительных цитокинов ИЛ-10 и TGF-β [155,261,262]. Из некоторых Treg-клеток в процессе атерогенеза могут образовываться цитотоксичные и провоспалительные exTregs-клетки [263]. Точные причины подобной трансформации Treg-клеток остаются невыясненными. Роль в атерогенезе других Т-хелперов так же, как и CD8+Т-клеток, менее понятна, а результаты исследований носят противоречивый характер [155,261].

В-клетки играют ключевую роль во врожденном и приобретенном иммунитете благодаря их способности осуществлять продукцию антител и секрецию цитокинов [157,264]. В-клетки отличает от других типов лимфоцитов наличие на их поверхности В-клеточных рецепторов (англ. B-cell receptor, BCR), которые могут распознавать и связывать антигены напрямую. Созревание В-клеток из клеток предшественников включает несколько этапов и завершается в селезенке или региональных лимфоузлах. Роль В-клеток в атерогенезе мало изучена. В отличие от Т-клеток, В-клетки в АСБ обнаруживают в малом количестве. Среди В-клеток в АСБ выделяют 3 основных популяции - В1-клетки, В2-клетки и регуляторные В-клетки (Breg). Их различные субпопуляции играют различную роль в атерогенезе. В1-клетки, среди которых выделяют CD5+B1a- и CD5−B1b-клетки, осуществляют продукцию иммуноглобулина М (IgM), который, связываясь с окисленными ЛНП и апоптотическими клетками, блокируют их поглощение макрофагами, и тем самым, оказывает антиатерогенное действие [265,266]. Среди В2-клеток выделяют фолликулярные В2-клетки и В2-клетки маргинальной зоны (MZ В-клетки). Фолликулярные В2-клетки оказывают атерогенное действие за счет продукции IgG и активации Th1-клеток, обуславливая секрецию этими клетками провоспалительных цитокинов [266,267]. MZ В-клетки оказывают

антиатерогенное действие за счет продукции иммуноглобулина М (IgM) и угнетения Th-клеток [157,266]. Антиатерогенное действие Breg-клеток обусловлено их способностью секретировать противовоспалительный цитокин ИЛ-10 [SK3] и осуществлять индукцию Treg-клеток [157].

Макрофаги и разрешение воспаления.

Воспаление является защитной реакцией организма, направленной на устранение патогена, его вызвавшего. Для адекватного воспалительного ответа требуется строгий контроль, обеспечивающий необходимую интенсивность и продолжительность воспалительного ответа. При достижении пика воспалительного ответа инициируется процесс разрешения воспаления. В идеальном случае это приводит к полному восстановлению структуры и функции поврежденных тканей. Разрешение воспаления является активным, хорошо координируемым процессом, контролируемым специфическими эндогенными сигнальными молекулами, к которым относят разнообразные по химическому строению соединения, обладающие регуляторными свойствами. В основе разрешения воспаления лежит ингибирование миграции полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЯ) в очаг воспаления; апоптоз ПМЯ; эфероцитоз, подвергшихся апоптозу ПМЯ; блокирование миграции моноцитов в очаг воспаления и их дифференцировки в М1 макрофаги; изменение фенотипа макрофагов с М1 на М2; дифференцировка мигрирующих в очаг воспаления моноцитов в М2 макрофаги; катаболизм провоспалительных цитокинов; продукция противовоспалительных медиаторов [268]. В отсутствие эффективного и своевременного разрешения воспаления, оно становится хроническим. Неспособность (нарушение механизмов) разрешения воспаления при атеросклерозе является одним из его ключевых аспектов [217,269].

Макрофаги играют ключевую роль в разрешении воспаления [270,271]. Разрешение воспаления включает эмиграцию макрофагов из воспалительного очага, которая может происходить посредством обратной трансэндотелиальной миграции через находящиеся в адвентиции рядом с воспалительным очагом

лимфатические сосуды [217,272]. Эмиграция макрофагов нарушена при атеросклерозе. Обратная трансэндотелиальная миграция макрофагов может происходить на ранних стадиях атеросклероза, однако она подавляется при прогрессировании заболевания [273]. Получены данные о том, что на эмиграцию макрофагов оказывают негативное влияние молекулы адгезии [274]. Разрешению воспаления препятствуют модифицированные ЛП. Было показано, что окисленные ЛНП, взаимодействуя с рецептором-мусорщиком CD36 макрофагов, инициируют сигнальный путь, в результате чего ингибируется миграционная способность макрофагов [275]. Эффероцитоз – распознавание, поглощение и разрушение внутри себя подвергшихся апоптозу в очаге воспаления клеток является одной из разновидностей фагоцитоза, играющей важную роль в разрешении воспаления [276]. Мертвые клетки поглощаются до того, как нарушается целостность их мембран, что предотвращает выход в ткани внутриклеточного содержимого подвергшихся апоптозу клеток, потенцирующего воспалительный ответ. Макрофаги играют ведущую роль в эффероцитозе. Эффероцитоз приводит к снижению поглотившими мертвые клетки макрофагами продукции провоспалительных цитокинов и хемокинов [277]. Получены свидетельства о том, что при атеросклерозе имеет место нарушение эффероцитоза [278-280].

1.3. Связь мутаций митохондриальной ДНК с атеросклерозом

В последние годы особое внимание уделяется изучению молекулярных механизмов, лежащих в основе митохондриальной дисфункции, а также её роли в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. Детальное понимание этих механизмов формирует основу для рзработки новых подходов к терапии, ориентированной на дисфункцию митохондрий в рамах профилактики атеросклеротических ССЗ. Изучение изменений митохондриального генома как на генетическом, так на эпигенетическом уровне становится одним из приоритетных направлений современной биомедицины.

Митохондрии, помимо обеспечения энергозависимых процессов в клетках за

счет синтеза АТФ, играют ключевую роль в ряде других клеточных процессов, включая апоптоз, воспалительные реакции, образование активных форм кислорода (АФК), а также внутриклеточную передачу сигналов, где ионизированный кальций функционирует как вторичный мессенджер. Современные исследования демонстрируют, что митохондриальная дисфункция является одним из факторов развития и прогрессирования атеросклероза, влияя на функцональное состояние эндотелиальных клеток, процессы апоптоза и пролиферации ГМК, а также на активность макрофагов [9].

Одним из способов выявления нарушений в работе митохондрий является молекулярно-генетическое исследование – это определение мутаций в мтДНК и в ядерных генах, отвечающих за синтез митохондриальных белков. Хотя многочисленные полиморфизмы ядерного генома, считающиеся генетическими факторами риска атеросклероза, объясняют лишь около 3% вариабельности клинических проявлений этого заболевания, патогенетическая роль мутаций митохондриального генома долго оставалась малоизученной. Тем не менее, такие мутации могут играть патогенетическую роль в формировании атеросклеротических изменений артерий человека [281].

Митохондриальная ДНК человека – это кольцевая двухцепочечная молекула, содержащая приблизительно 16 500 пар нуклеотидов и 37 генов, 22 из которых кодируют транспортную рибонуклеиновую кислоту (тРНК), 2 - рибосомальную РНК (рРНК), а остальные 13 - белковые субъединицы комплексов дыхательной цепи [282-284] (риснунок 8). Цепи мтДНК отличаются по составу нуклеотидов: цепь, богатая гуанином, называется тяжелой, а цепь с преобладанием цитозина — легкой. На тяжелой цепи закодировано 28 генов, на легкой — 9. В каждой митохондрии содержится несколько копий мтДНК, и между ними возможны различия. Такие вариации могут встречаться как между копиями внутри одной митохондрии, так и между митохондриями одной клетки, а также между разными клетками и тканями организма.

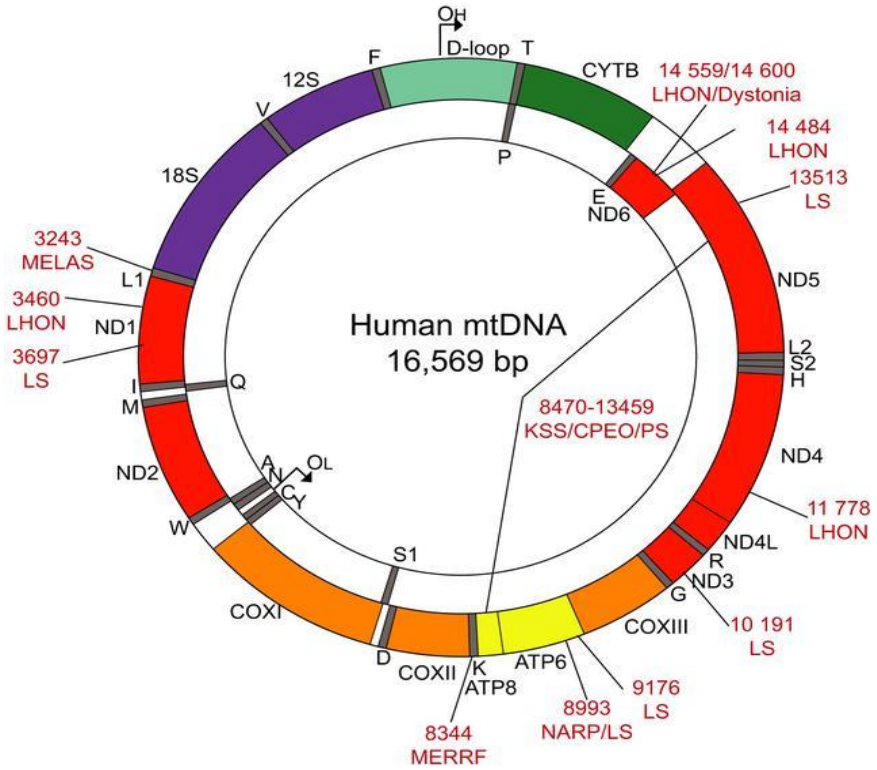


Рисунок 8. Схематическое изображение мтДНК человека. Регуляторная область (D-петля), являющаяся наиболее вариабельным элементом генома митохондрий и содержащая сайт начала репликации Н-цепи ДНК (OH), отмечена бирюзовым цветом. Гены дыхательного комплекса обозначены красным, ген комплекса III — зеленым, гены комплекса IV — оранжевым, гены комплекса V — желтым. тРНК представлены серым, рРНК — фиолетовым цветом. Мутации, делеции и связанные с ними патологические изменения выделены красным шрифтом [285, 286].

На возникновение мутаций мтДНК влияет ряд факторов. Так, мтДНК отличается повышенной чувствительностью к активным формам кислорода (АФК), которые образуются в дыхательной цепи митохондрий [9]. При высоких концентрациях АФК происходит неблагоприятная модификация митохондриальных компонентов, включая мтДНК. Механизмы защиты организма от АФК оказываются менее эффективными для мтДНК, чем для ядерной ДНК, что определяет ее повышенную восприимчивость к окислительным повреждениям [287]. Уязвимость мтДНК обусловлена рядом структурных особенностей митохондриального генома: отсутствием гистонов — белков, обеспечивающих

компактную укладку и защиту ДНК от действия свободных радикалов, а также отсутствием некодирующих участков — интронов, что способствует более эффективному процессу транскрипции, но снижает потенциал восстановления повреждений ДНК. Повреждение мтДНК негативно сказывается на способности митохондрий регулировать продукцию АФК, способствуя формированию деструктивной петли положительной обратной связи, которая может приводить к апоптозу клетки [288]. Кроме того, митохондриальная ДНК-полимераза не обладает функцией коррекции ошибок, что обуславливает высокую частоту ошибок при репликации мтДНК. Ввиду постоянной репликации мтДНК характеризуется нестабильностью, и мутации мтДНК демонстрируют тенденцию к накоплению с возрастом. Совокупность этих факторов способствует высокой вероятности возникновения многочисленных мутаций мтДНК. Все эти факторы могут приводить к возникновению большого количества мутаций мтДНК [9].

Совместное присутствие нормальной и мутантной последовательностей мтДНК определяется как гетероплазмия [289,290]. Поскольку митохондриальный геном наследуется по материнской линии [291], то гетероплазмичные мутации мтДНК, в том числе и патогенные варианты, часто являются наследуемыми. Отдельные формы гетероплазмии ассоциируются с повышенным риском развития сердечно-сосудистых заболеваний, включая атеросклероз [18,19]. В исследовании Botto N. и коллег была установлена более высокая частота мутации мтДНК mtDNA4977 в клетках крови пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) (26,2%), чем у здоровых лиц (4,5%) [292]. Кроме того, согласно данным Собенина И.А. и соавторов, степень выраженности атеросклероза сонных артерий и наличие ИБС напрямую коррелируют с уровнем гетероплазмии мтДНК в лейкоцитах человека по следующим мутациям: m.3256C>T, m.3336T>C, m.12315G>A, m.13513G>A, m.14459G>A, m.14846G>A и m.15059G>A [293].

Замена нуклеотида в позиции m.12315G>A затрагивает 52-й нуклеотид гена транспортной РНК-Leu (кодон, распознающий лейцин), который локализуется в области ножки Т-петли. Образование третичной структуры тРНК происходит по следующим принципам: сближение и стабилизация Т- и D-петель за счет

образования дополнительных водородных связей между комплементарными нуклеотидами. Участвующие в этом взаимодействии нуклеотиды являются высококонсервативными или полуконсервативными. В частности, в молекуле тРНК, кодирующей лейцин, ключевую роль в этом процессе играет гуанин в положении 52. Его функциональная группа (-О) формирует специфическую связь с пуриновым кольцом другого нуклеотида, что необходимо для правильного фолдинга молекулы. Вследствие нуклеотидной замены (гуанин → аденин) карбонильная группа замещается аминогруппой, что приводит к нарушению укладки цепи РНК, конкретно – к нарушенному формированию третичной структуры, и, как результат, к низкой эффективности образования комплексов тРНК-лейцина и ошибкам встраивания аминокислоты в пептидную цепь в процессе трансляции [14,15].

Мутация m.13513G>A взывает замену аспарагиновой кислоты на аспарагин в 393-й позиции 5-й субъединицы НАДН-дегидрогеназы. Этот участок критически важен для переноса электронов от НАДН к убихинону в дыхательной цепи. Замена отрицательно заряженного карбоксилата аспарагиновой кислоты на незаряженную амидную группу аспарагина, предположительно, ведет к увеличению эффективности электронного транспорта. Это может привести к повышению продуктивности функционирования комплекса I дыхательной цепи и усилению выработки энергии. Предполагается, что в результате этой мутации повышается эффективность и стабильность работы НАДН-дегидрогеназы, чья нормальная функция является одним из ключевых механизмов клеточной защиты от процессов, лежащих в основе атеросклероза [14,15,294].

При мутации m.14846G>A происходит замена глицина на серин в молекуле цитохрома B, который входит в состав третьего комплекса дыхательной цепи. В результате мутации в N-концевой области цитохрома B формируется дополнительный сайт фосфорилирования его полипептидной цепи. Этот модифицированный участок обеспечивает закрепление белка в митохондриальной мембране. Согласно литературным данным, при достижении определенного порога в клеточной популяции (накоплении значительной доли мутантных копий мтДНК)

наблюдается уменьшение формирования атеросклеротических бляшек и повышение совместимости мутантных клеток [14-16].

Мутация m.3336T>C расположена в участке мтДНК, который кодирует первую субъединицу НАДН-дегидрогеназы. Эта точечная мутация считается «молчащей», так как не изменяет аминокислотную последовательность белка (замена ATT на ATC, обе кодируют изолейцин). Однако ряд исследований выявил её связь с развитием атеросклероза аорты и сонных артерий [295]. Предположительно, данная мутация тесно сцеплена с пока не выявленными патогенными мутациями данного митохондриального гена, которые и опосредуют проатерогенный эффект.

В исследованиях на животных установлено, что макрофаги, выделенные из атеросклеротических поражений, характеризуются частым повреждением мтДНК, что приводит к развитию митохондриального окислительного стресса. Избыточное образование активных форм кислорода способствует формированию воспалительного М1-фенотипа макрофагов, обладающих способностью продуцировать значительное количество провоспалительных цитокинов. Кроме того, повреждение мтДНК инициирует активацию инфламмасомы NLRP3, что обусловливает повышение секреции макрофагами провоспалительных цитокинов ИЛ-1β и ИЛ-18, а также АФК [9].

Таким образом, мутации митохондриального генома могут играть существенную роль в атерогенезе через такие ключевые механизмы, как нарушение энергетического метаболизма, повышенное образование активных форм кислорода, активацию воспалительных реакций, изменение активности ферментов и белков, а также воздействие на дифференцировку и выживаемость клеток. Данные изменения создают условия для хронического воспаления, накопления токсичных продуктов метаболизма и снижения жизнеспособности клеток сосудистого русла.

1.4. С-реактивный белок и ИБС

СРБ – белок плазмы крови, являющийся представителем семейства пентраксинов [296]. СРБ состоит из 5 идентичных мономерных субъединиц, состоящих из 206 аминокислот. Мономерные субъединицы СРБ нековалентно связываются, образуя пентамерный диск [297]. Каждая субъединица в составе пентамерного диска имеет на одной стороне диска кальций-зависимый участок связывания с лигандами СРБ на внешнем слое мембран повреждённых и активированных клеток, такими как фосфохолин, входящий в состав фосфатидилхолина – основного компонента клеточных мембран. На другой стороне диска расположены участки связывания с Fcγ-рецепторами фагоцитов и с C1q – компонентом комплекса C1 системы комплемента [297,298].

СРБ является белком острой фазы воспаления, уровень которого повышается в плазме крови при любом патологическом процессе, сопровождающемся воспалительной реакцией. СРБ в основном синтезируется в печени, а его выработку стимулируют провоспалительные цитокины, преимущественно ИЛ-6 [299]. При остром воспалении концентрация СРБ в плазме крови может значительно повышаться, достигая пика в течение 48 часов [296]. В легких случаях наблюдается повышение уровня СРБ до 5-10 мг/л в самых тяжелых - до 320–550 мг/л [300,301]. После разрешения воспаления уровень СРБ в плазме возвращается к исходному значению [296]. Уровень СРБ в плазме крови используют, как неспецифичный биомаркер для оценки выраженности воспаления в организме [301].

СРБ присущи свойства опсонинов – особых белков, которые распознают и связываются с подлежащими фагоцитозу чужеродными объектами [298]. В свою очередь, опсонины являются лигандами для рецепторов фагоцитов. Связывание опсонинов с чужеродными объектами (опсонизация) облегчает их распознавание фагоцитами, тем самым усиливая фагоцитоз [302]. СРБ распознает компоненты бактериальной стенки, оболочку вирусов, частицы поврежденных тканей, а также окисленные ЛНП. СРБ так же является инициатором активации системы комплемента по классическому пути посредством связывания с компонентом

комплемента C1q. Считают, что СРБ-индуцированная активация системы комплемента преимущественно направлена на усиление фагоцитоза чужеродных объектов, а не на образование мембраноатакующего комплекса системы комплемента [302].

Уровень СРБ в крови и риск возникновения ИБС и ее осложнений.

Во многих исследованиях было показано, что более высокий уровень СРБ в крови в сравнении с его более низким уровнем связан с более высоким риском возникновения разных форм ИБС у пациентов, не имеющих сердечно-сосудистых заболеваний [303-308]. Уровень СРБ в крови был прямо связан с риском возникновения ИБС независимо от уровня холестерина в крови и других общепринятых факторов риска [308]. Более высокий уровень СРБ в крови так же обуславливает более высокую частоту возникновения неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у больных с ИБС, в том числе у пациентов со стабильной и нестабильной стенокардией [309], перенесших инфаркт миокарда [310], подвергшихся чрескожной коронарной ангиопластике [311] или шунтированию коронарных артерий [312]. В исследовании Retterstol L. и соавт. была показана связь между более высоким уровнем СРБ и неблагоприятным прогнозом пациентов с рано возникшей ИБС [313]. Для оценки риска возникновения сердечно-сосудистых заболеваний, обусловленных атеросклеротическим поражением артериального русла, в зависимости от уровня СРБ с начала 2000-х годов используют высокочувствительный метод его определения (вчСРБ). В отличие от этого метода использовавшийся ранее метод не позволял определять уровень СРБ в крови, если он был менее 5-10 мг/л [1]. Результаты ряда исследований продемонстрировали, что у многих пациентов, находившихся на терапии статинами и у которых был достигнут целевой уровень холестерина, сохранялся риск возникновения неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [314]. Остающийся, несмотря на оптимальную терапию риск, обозначают термином остаточный или резидуальный риск. Остаточный риск, обусловленный наличием воспаления, называют резидуальным воспалительным риском. Использование

уровня вчСРБ ≥2 мг/л в качестве критерия наличия подобного риска было предложено в рекомендациях США по первичной профилактике сердечно-сосудистых заболеваний [25]. В крупных рандомизированных исследованиях PROVE IT-TIMI 22, IMPROVE- IT, JUPITER, CANTOS, COLCOT и LoDoCo2 было показано, что уровень вчСРБ ≥2 мг/л связан с повышенной частотой развития сердечно-сосудистых осложнений, независимо от традиционных факторов риска, в том числе от уровня ХС ЛНП [315].

мСРБ и сердечно-сосудистые заболевания, обусловленные атеросклерозом.

СРБ циркулирует в крови преимущественно в пентамерной форме, а общепринятые методы измерения уровня СРБ в крови определяют содержание этой формы. В местах локального воспаления под влиянием разных факторов, в том числе связывания с активированными тромбоцитами, апоптотическими/некротическими клетками, микрочастицами, пСРБ может подвергаться диссоциации до мономерных субъединиц (мСРБ), которые, участвуя в разнообразных процессах, усиливают воспаление, стимулируют ангиогенез и тромбообразование [28, 296, 316]. В отличие от пСРБ, мСРБ слабо растворим в воде и находится преимущественно в тканях. В крови он циркулирует на поверхности микровезикул, образуемых активированными и поврежденными клетками [317,318].

Измерение уровня мСРБ связано с определенными сложностями. Антигенная специфичность мСРБ обусловлена последовательностью из восьми аминокислот, Phe-Thr-Lys-Pro-Gly-Leu-Trp-Pro, в позициях аа 199-206 С-терминального конца мономерных субъединиц. Последовательность аминокислот в позициях аа 1-198 является общей у мономерной и пентамерной форм СРБ. В составе пентамера СРБ аминокислоты С-терминального конца мономерных субъединиц скрыты в четвертичной структуре диска СРБ [301]. Таким образом, получение антител против пентамерной формы СРБ является рутинной задачей, поскольку такие антитела должны связываться с основной последовательностью аминокислот СРБ в позициях аа 1-198. В то же время, получение антител, распознающих мСРБ и не

распознающих пентамерную форму СРБ осложнено тем, что такие антитела должны быть специфичны именно к С-терминальному октапептиду мСРБ и не распознавать общую для мСРБ и пСРБ аминокислотную последовательность. Кроме того, концентрации пентамерной формы СРБ на три порядка превосходят концентрации мСРБ в плазме крови [319,320,321].

Иммуногистохимически мСРБ выявляется в различных областях АСБ и сосудистых бассейнах: в липидном ядре и периваскулярных зонах неоангиогенеза, участках инфильтрации маркофагами, Т-лимфоцитами и ГМК каротидных, аортальных и бедренных АСБ, а также в облитерированых аутовенозных шунтах [322-326]. Внесосудитое накопление мСРБ регистрируется в очагах ишемического повреждения миокарда и в воспаленных скелетных мышцах, а в тромботических массах – в зонах скопления воспалительных клеток. [327]. Интенсивность отложений мСРБ в АСБ соотносится с плазменной концентрацией СРБ [324]. Вместе с тем, терапия ацетисалициловой кислотой, блокаторами рецепторов ангиотензина и ингибиторами АПФ была ассоциирована со снижением содержания мСРБ в каротидных эндартерэктомических образцах [328]. Важно отметить отсутствие мСРБ в интактных сосудах, а также в фиброзных и кальцинированных АСБ, что подчеркивает связь с активным воспалительным процессом [322-328].

мСРБ также локализуется на циркулирующих микрочастицах, причем их количество возрастает при остром ИМ и атеросклеротическом поражении периферических артерий [329,331]. При стабильном течении ИБС мСРБ в основном располагается на моноцитах и их микрочастицах [331].

Экспериментальные данные указывают на непосредственное участие мСРБ в тромбообразовании. В условиях с высокими скоростями сдвига ($1500c^{-1}$), моделирующими артериальный кровоток, мСРБ, иммобилизованный на коллагене, усиливал адгезию тромбоцитов и укорял рост тромба [332]. Аналогичный протромботический эффект наблюдался при перфузии через проточную камеру, покрытую коллагеном I типа, крови, предварительно инкубированной с мСРБ. Механизм реализуется через активацию рецепторов GP IIb/IIIa, что ведет к усилению агрегации тромбоцитов. При этом пСРБ не оказывал влияния на

тромбообразование и на поверхности адгезированных тромбоцитов диссоциировал до мономерной формы [332,333].

К настоящему времени опубликовано 14 работ, в которых определяли уровень мСРБ при различных патологиях [321]. Связь уровня мСРБ с атеросклерозом исследована в трех работах. В исследовании Wang J. и соавт. определялись уровни мСРБ у пациентов с острым ИМ, нестабильной и стабильной стенокардией и без ИБС. Концентрация мСРБ была достоверно выше у пациентов, умерших в первые 30 дней после ИМ по сравнению с выжившими (36,70 ± 1,43 мкг/л) [334]. Наблюдение, включавшее 80 пациентов с субклиническим каротидным атеросклерозом и умеренным риском сердечно-сосудистых осложнений (медиана наблюдения – 7 лет, гиполипидемическая терапия статинами), показало, что исходно высокий уровень мСРБ сопряжен с увеличением числа и размеров каротидных АСБ. Эта закономерность не объяснялась наличием классических факторов риска, в том числе уровня ХС ЛНП, и уровня вчСРБ, медиана которого в данном исследовании составила 1,05 мг/л [319]. В другом исследовании, в которое вошло 103 пациента с ИБС и без этого заболевания, была продемонстрирована независимая связь уровня мСРБ с наличием ИБС. Эта связь сохранялась и у пациентов с низким резидуальным воспалительным риском сердечно-сосудистых осложнений с уровнем вчСРБ менее 2 мг/л [320]. Клинических исследований по оценке уровня мСРБ, как биомаркера воспаления, позволяющего прогнозировать сердечно-сосудистый риск, до настоящего времени не проводилось.

В иммуногистохимических исследованиях в составе АСБ обнаруживали мСРБ [322-328], но не пСРБ [322,327]. Остается невыясненным, проникает ли мСРБ из кровотока после распада циркулирующей пентамерной формы или синтезируется локально. В большинстве работ не проводилось разделения СРБ на изоформы, что затрудняет однозначную интерпретацию данных о локальном синтезе конкретной формы. В условиях in vitro адипоциты под воздействием воспалительных цитокинов выделяли СРБ [335]. В другом исследовании на поверхности культуры моноцитов наблюдали образование мСРБ и экспрессию

соответствующей мРНК [333]. Макрофаги в культуре под воздействием стимуляции ЛПС синтезировали мСРБ и экспресировали СРБ [334]. В исследовании ex vivo полученные из крови моноциты, стимулированные эндотоксином, экспрессировали мРНК СРБ и осуществляли синтез СРБ [335].

Таким образом, в возникновении и прогрессировании атеросклероза принимает участие множество разных клеток, среди которых моноциты/макрофаги относят к фундаментальным участникам. В связи с этим изучение функционирования моноцитов/макрофагов применительно к атеросклерозу представляет значительный интерес исследователей. Исследования in vitro с использованием клеточных культур внесли значительный вклад в понимание роли цитокинов в межклеточном взаимодействии при атеросклерозе. Такое понимание может может открыть перспективы для разработки новых лекарств и стратегий профилактики атеросклеротических заболеваний. В настоящее время остается неизученным секреция цитокинов моноцитами/макрофагами, полученными от пациентов с ранней ИБС в культуре клеток.

Дисфункция митохондрий рассматривается, как одна из возможных причин нарушенного контроля воспаления участвующими в этом процессе клетками и, как следствие этого, как фактор, участвующий в атерогенезе. Одним из способов оценки дисфункции митохондрий является молекулярно-генетическое исследование - определение мутаций в мтДНК и ядерных генах, которые кодируют митохондриальные белки. Наличие двух или более вариантов мтДНК внутри одной клетки, носит название гетероплазмии. В ряде исследований в моноцитах выявлены мутации мтДНК, ассоциированные с атеросклерозом. Однако связь между наличием митохондриальной гетероплазмии и ранним развитием ИБС остаётся неизученной.

Во многих исследованиях было показано, что более высокий уровень СРБ в крови в сравнении с его более низким уровнем связан с более высоким риском возникновения разных форм ИБС у пациентов, не имеющих сердечно-сосудистых заболеваний. Более высокий уровень СРБ в крови так же обуславливает более высокую частоту возникновения неблагоприятных сердечно-сосудистых событий

у больных с ИБС. СРБ циркулирует в крови преимущественно в пентамерной форме, а общепринятые методы измерения уровня СРБ в крови определяют содержание этой формы. В местах локального воспаления под влиянием разных факторов пСРБ может подвергаться диссоциации до мономерных субъединиц (мСРБ), которые участвуя в разнообразных процессах, усиливают воспаление. Предполагают, что именно мСРБ оказывает выраженное влияние на местный воспалительный ответ. Наряду с диссоциацией пСРБ в местах локального воспаления, предполагается возможность его локального синтеза макрофагами. Исследований по оценке связи уровня мСРБ в крови с наличием рано возникшей ИБС и способности синтеза мСРБ моноцитами из крови пациентов с этим заболеванием не проводилось.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Клиническая характеристика пациентов

Исследование выполнялось в отделе проблем атеросклероза ИКК им. А.Л.Мясникова ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И.Чазова» Минздрава России под руководством член-корр. РАМН, доктора медицинских наук, профессора В.В. Кухарчука;в лаборатории клеточного гемостаза ИЭК им. ак. В.Н. Смирнова ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И.Чазова» Минздрава России под руководством доктора биологических наук З.А. Габбасова и в лаборатории медицинской генетики ИЭК им. ак. В.Н. Смирнова ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И.Чазова» Минздрава России под руководством доктора медицинских наук И.А. Собенина.

В группу пациентов с ранним развитием ИБС были включены 80 пациентов со стабильной ИБС (51 мужчина в возрасте 55 лет и моложе, у которых первые проявления ИБС возникли до 50 лет, и 29 женщин в возрасте до 65 лет с манифестацией ИБС до 60 лет), госпитализировавшихся в отдел проблем атеросклероза с 2022 по 2024гг. У всех пациентов группы с ранним развитием ИБС по данным КАГ выявлялись стенозы коронарных артерий, приводящие к сужению на 50% и более просвета ствола ЛКА и/или МКА (ПНА, ОА, ПКА) и/или ветвей второго порядка с диаметром ≥2 мм. В контрольную группу вошли 63 пациента (32 мужчины в возрасте до 55 лет и 31 женщина в возрасте до 65 лет), у которых не наблюдалось типичных проявлений ИБС, и которые не имели стенозирующего атеросклероза коронарных артерий по результатам КАГ или КТА коронарных артерий. Решение о проведении КАГ и КТА коронарных артерий принимали лечащие врачи пациентов.

В исследование не включали мужчин старше 55 лет и женщин старше 65 лет, пациентов с семейной ГХС; уровнем ХС ЛНП >4,9 ммоль/л; нестабильной стенокардией; после перенесенного ИМ, коронарного шунтирования или

чрескожного коронарного вмешательства менее, чем за 2 месяца до включения в исследование; пациентов с наличием ВИЧ-инфекции, гепатита, сифилиса; больных с клиническими и лабораторными признаками острого инфекционного заболевания в течение 2-х месяцев, предшествующих включению в исследование; пациентов, имеющих злокачественные новообразования; лиц, отказавшихся от подписания информированного согласия на участие в исследовании.

У всех участников исследования проводилась оценка наличия основных факторов риска ИБС: мужской пол, возраст, отягощенный семейный анамнез по ИБС, уровень ХС ЛВП менее 1 ммоль/л у мужчин и менее 1,2 ммоль/л у женщин, уровень ХС ЛНП более 3 ммоль/л, СД, курение и АГ. В группе пациентов с ранней ИБС проводился анализ факторов риска ИБС, первых проявлений заболевания и результаты КАГ.

Семейный анамнез расценивался как отягощенный, если у родственников первой линии (родители, родные братья и сестры, дети) было диагностировано минимум одно ССЗ (ИМ или ОНМК по ишемическому типу) в возрасте >55 лет у мужчин и >65 лет у женщин [24,34]. АГ устанавливали при систолическом АД 140 мм рт. ст. и выше и/или диастолическом АД 90 мм рт. ст. и выше (подтвержденных двумя измерениями в разные дни) или же на основании ранее выставленного диагноза АГ. Степень АГ определялась по максимальным значениям АД: 1-я – 140-159/90-99 мм рт.ст., 2-я – 160-179/100-109 мм рт.ст., 3-я - ≥180/≥110 мм рт.ст [336]. Ожирение диагностировалось при индексе массы тела (ИМТ) ≥30 кг/м^2, согласно формуле Кетле [337]. Статус курения оценивался с расчетом индекса курильщика (ИК) по формуле: [количество сигарет в день × стаж курения]/20. Злостное курение соответствовало ИК≥25 пачка/лет. Отказ от курения за ≥6 месяцев до включения в исследование позволял отнести пациента к категории бывших курильщиков [338]. СД выставлялся при уровне глюкозы в плазме крови натощак ≥7 ммоль/л, либо уровне гликированного гемоглобина 6,5% и более, или же при наличии установленного ранее диагноза СД [339]. Уровень Х ЛВП <1 ммоль/л у мужчин и <1,2 ммоль/л у женщин, и ХС ЛНП > 3 ммоль/л определяли с помощью биохимического анализа крови при включении в исследование или по данным,

полученным из медицинской документации [340].

У 80 пациентов с рано возникшей ИБС и у 63 пациентов контрольной группы была проведена оценка секреции провоспалительных цитокинов в первичной культуре моноцитов/макрофагов, оценена степень гетероплазмии митохондриальной ДНК моноцитов/макрофагов, определена концентрация мСРБ в плазме крови и культуральной жидкости моноцитов/макрофагов, а также проведена оценка взаимосвязи изучаемых показателей с наличием ИБС. Оценена связь между воспалительной активацией моноцитов/макрофагов и классическими факторами риска ИБС (возраст, мужской пол, АГ, СД, отягощенный семейный анамнез по ИБС, уровень ХС ЛВП <1 ммоль/л у мужчин и <1,2 ммоль/л у женщин, уровень ХС ЛНП >3 ммоль/л).

Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России (протокол № 284 от 28 ноября 2022 г.) и выполнено в соответствии с положениями Хельсинкской декларации 1964 г. У всех пациентов получено письменное информированное согласие.

2.2. Исследование провоспалительной активации моноцитов

Исследование проводилось с.н.с. лаборатории медицинской генетики ИЭК им. ак. В.Н. Смирнова ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И.Чазова» Минздрава России, кандидата медицинских наук Т.В. Кириченко. Для оценки провоспалительной активации моноцитов у всех участников проводился забор крови из локтевой вены в вакуумные пробирки BD Vacutainer (Becton Dickinson, США), содержащие этилендиаминуксусную кислоту (1,6 мг на 1 мл крови) и ингибитор протеаз апротинин (50 КМЕ на 1 мл крови). Все эксперименты производились в течение двух часов после забора крови. В первичной культуре моноцитов/макрофагов больных с рано возникшей ИБС и пациентов контрольной группы оценивали уровень базальной и стимулированной секреции воспалительных цитокинов: ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8 и МСР-1.

Фракцию мононуклеарных клеток периферической крови получали из

цельной крови всех участников исследования методом градиентного центрифугирования в растворе фиколла с плотностью 1,077 г/см3 (ПанЭко, Россия) (рисунок 9). CD14+ клетки выделяли с помощью колонок для иммуномагнитной сепарации и парамагнитных наночастиц (Miltenyi Biotec, США). Оценку чистоты выделенной клеточной популяции проводили методом проточной цитометрии на анализаторе MACSQuant 10 (Miltenyi Biotec, Германия). В качестве маркера использовали флуоресцентные моноклональные антитела, меченные фикоэритрином CD13-PE (Elabscience, США). Доля CD+ клеток составила не менее 95%. Полученные данные анализировали с помощью программного обеспечения FlowJo.

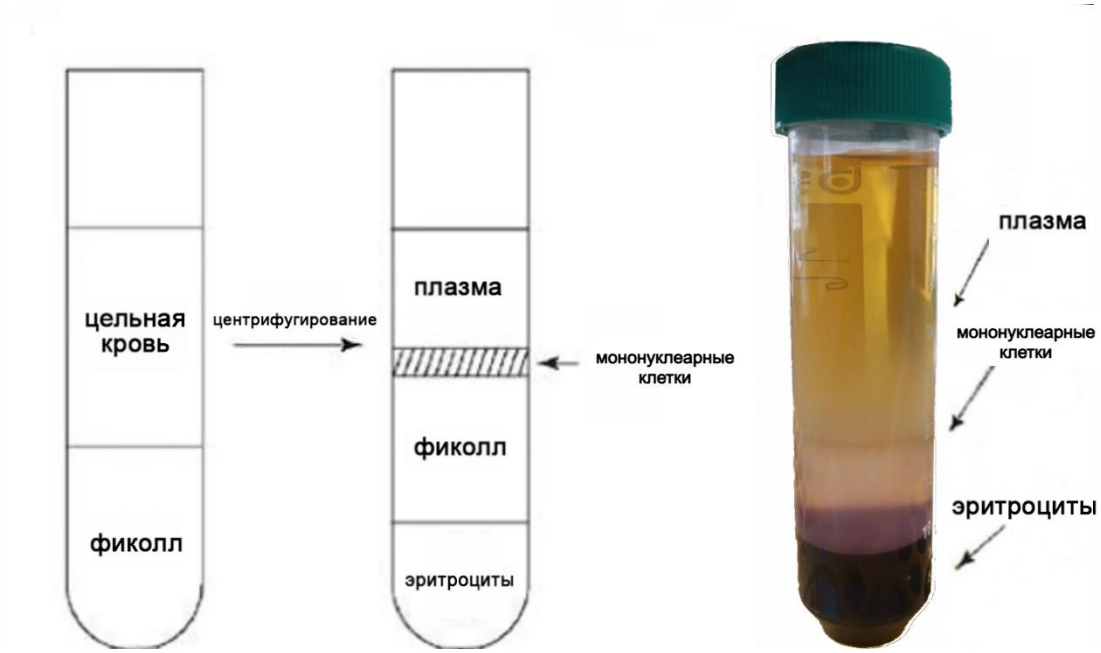


Рисунок 9. Пробирка с цельной кровью, центрифугированной в градиенте фиколла.

Выделенные CD14+ клетки каждого образца крови сажали в две лунки культурального планшета (лунка 1, лунка 2): в каждую по 500 000 клеток в 0,5 мл культуральной среды X-VIVO (Lonza, Германия) с добавлением макрофагального колониестимулирующего фактора мКСФ (ООО «СайСторЛаб», Россия) в концентрации 50 нг/мл. Для стимулирования воспалительного ответа в лунку 2 добавляли ЛПС в концентрации 1 мкг/мл. Далее проводилось культивирование в CO_2-инкубаторе при температуре 37°С. Через 24 часа отбирали образцы

культуральной жидкости из лунки 1 - для анализа спонтанной секреции (базальный уровень) воспалительных цитокинов моноцитами, а из лунки 2 - стимулированной ЛПС секреции цитокинов. Так же через 24 часа культуральную среду в обеих лунках заменяли на среду без ЛПС. Клетки продолжали инкубировать при тех же условиях в течение 5 суток. После пяти дней «отдыха» клетки в лунке 2 повторно стимулировали ЛПС. Через следующие 24 часа инкубации отбирались образцы культуральной жидкости для определения уровня воспалительных цитокинов на 6 сутки культивирования. Из лунки 1 – для оценки базальной секреции, из лунки 2 – для анаализа клеточного ответа на повторную стимуляцию и оценки толерантности иммунного ответа макрофагов (рисунок 10).

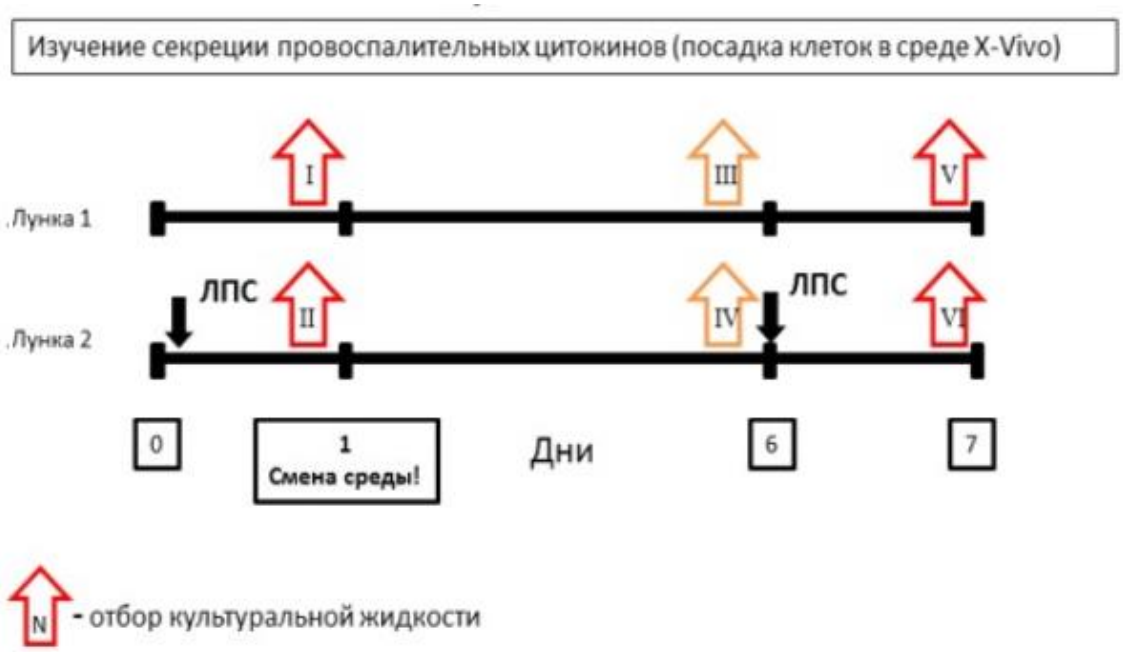


Рисунок 10. Методика отбора проб из культуры моноцитов/макрофагов.

Концентрацию воспалительных цитокинов ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, MCP-1 в образцах культуральной жидкости определяли с помощью ИФА с использованием коммерческих наборов Human TNF-α/TNFSF1A, Human IL-1β/IL-1F2, Human IL-6, Human CXCL8/IL-8, Human CCL2/MCP-1 DuoSet ELISA (R&D Systems, США).

На 7-е сутки инкубации жизнеспособность клеток оценивали методом

витального окрашивания трипановым синим. Доля жизнеспособных клеток составила более 95%. Затем клетки открепляли с помощью трипсина и считали по ранее описанной методике (Freshney, R. I. (2010). Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications. (John Wiley & Sons, Inc.)). Количество клеток в лунке на 7-е сутки эксперимента составило в среднем 450 тыс., то есть 90% от исходного количества клеток (500 тыс. клеток в каждой лунке).

2.3. Оценка митохондриальной гетероплазмии

Исследование проводилось с.н.с. лаборатории медицинской генетики ИЭК им. ак. В.Н. Смирнова ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И.Чазова» Минздрава России, кандидата медицинских наук Т.В. Кириченко. Для оценки митохондриальной гетероплазмии полученные методом иммуномагнитной сепарации CD14+ моноциты ресуспендировали в фосфатно-солевом буфере (Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Миссури, США) и хранили при температуре –70 °С для последующего выделения ДНК. Общая ДНК была выделена согласно стандартному протоколу с использованием фенол-хлороформной экстракции [341].

Протокол выделения ДНК:

1. К клеткам в пробирке объемом 1,5-2,0 мл добавляли лизирующий буфер (усиленный протеиназой К – 2 µl на 100 µl буфера), буфер в объеме 200 µl на пробу
2. Нагревали и ставили пробы в термостат до 56°С на 12-18 часов
3. Инактивировали протеиназу К на 95°С 20-25 мин
4. Остужали пробы до комнатной температуры
5. Добавляли нейтрализующий буфер 200 мкл
6. Вортексировали, затем откручивали на микроспине
7. Добавляли 2 объема водонасыщенного фенола pH 8,0, перемешивали
8. Добавляли смесь хлороформ/изоамиловый спирт (50:1), в отношении 3 объема фенола на 1 объем хлороформа
9. Откручивали на центрифуге 14000 об. – 15-25 мин.

10. Отбирали верхнюю водную фракцию в чистую пробирку 1,5-2,0 мл
11. Добавляли 2 объема хлороформа ХЧ
12. Откручивали на центрифуге 14000 об. – 15-25 мин.
13. Отбирали верхнюю водную фракцию в чистую пробирку 1,5-2,0 мл.
14. Добавляли 2 объема изопропанола, перемешивали переворачиванием при комнатной температуре.
15. Ставили пробы на -80 – 60 мин, -20 – 180 мин, жидкий азот – 1 мин
16. Откручивали на центрифуге с охлаждением при +4℃ при 14 тыс. об. 25-30 мин
17. Сливали надосадочную жидкость, капли отбирали водоструйным насосом
18. Добавляли 700µl 75% этанола
19. Откручивали на центрифуге при +4℃ на 14 тыс. об. 25-30 мин
20. Сливали надосадочную жидкость, отбирали капли водоструйным насосом
21. Сушили при 37-55 ℃ ≈ 15-20 мин
22. Заливали 20 µl ТЕ буфера
23. Оставляли при комнатной температуре на 2-3 ч.

Концентрация и чистота ДНК, выделенной из CD14++ моноцитов, измерялась на спектрофотометре (NanoPhotometer, Implen GmbH, Мюнхен, Германия). Для последующего ПЦР-анализа уровня гетероплазмии мтДНК образцы были доведены до рабочей концентрации 6 нг/мкл.

2.4. ПЦР-анализ

Для ПЦР-анализа были отобраны следующие мутации митохондриального генома, связанные с митохондриальной дисфункцией (m.12315G>A, m.13513G>A, m.14459G>A, m.14846G>A, m.15059G>A, m.1555A>G, m.3256C>T, m.3336T>C, m.5178C>A), ранее описанные как ассоциированные с атеросклерозом.

Таблица 1 - Характеристика мутаций митохондриальной ДНК

Мутация	Локализация	Характеристика	Эффект
m.12315G>A	ген тРНК лейцина 2	замена гуанина на аденин	дисфункция транспортной РНК-лейцина с последующим снижением уровня синтеза митохондриальных белков на рибосоме.
m.13513G>A	ген 5 субъединицы NADH-дегидрогеназного комплекса	замена гуанина на аденин	нарушение функции I комплекса дыхательной цепи
m.14459G>A	ген 6 субъединицы NADH-дегидрогеназного комплекса	замена гуанина на аденин	нарушение функции I комплекса дыхательной цепи
m.14846G>A	ген цитохрома б	замена гуанина на аденин	нарушение функции III комплекса дыхательной цепи
m.15059G>A	ген цитохрома б	замена гуанина на аденин	нарушение функции III комплекса дыхательной цепи
m.1555A>G	ген 12S рРНК	замена аденина на гуанин	нарушение процесса трансляции→ влияние на синтез белка и функции клетки
m.3256C>T	ген тРНК лейцина 1	замена цитозина на тимин	дисфункция транспортной РНК-лейцина с последующим снижением уровня синтеза митохондриальных белков на рибосоме.
m.3336T>C	ген 1 субъединицы NADH-дегидрогеназного комплекса	замена тимина на цитозин	нарушение функции I комплекса дыхательной цепи
m.5178C>A	ген 2 субъединицы NADH-дегидрогеназного комплекса	замена цитозина на аденин	нарушение функции I комплекса дыхательной цепи

Эти мутации были проанализированы с помощью ПЦР в режиме реального времени. Для измерения уровня относительной экспрессии ДНК были отобраны праймеры, специфичные к транскриптам соответствующих генов, с помощью Primer-BLAST (Национальный центр биотехнологической информации, NIH, Бетесда, Мэриленд, США). Праймеры для ПЦР были заказаны в компании Evrogen (Евроген, Москва, Россия) и приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Праймеры для ПЦР

Мутация	Праймер
m.12315G>A	TGGTCTTAGGCCCCAAAAATTTTAG TTAGGGAAGTCAGGGTTAGGGT
m.13513G>A	CAGGTTTCTACTCCAAAGAC CAGGTTTCTACTCCAAAAAC
m.14459G>A	CTCCTCAATAGCCATCGCT CTCCTCAATAGCCATCACT
m.14846G>A	CATTATTCTCGCACGGACT GCTATAGTTGCAAGCAGGAG
m.15059G>A	GGGCGAGGCCTATATTACAG CCAATGTATGGGATGGCGGA
m.1555A>G	TAGGTCAAGGTGTAGCCCATGAGGTGGCAA GTAAGGTGGAGTGGGTTTGGG
m.3256C>T	GAGCCCGGTAATCGCAT GAGCCCGGTAATCGTAT
m.3336T>C	TGGCCAACCTCCTACTCCTCATCGT GAAGGGTTGTAGTAGCCCG
m.5178C>A	TCTCGCACCTGAAACAAGATA GGAGGGTGATGGTGGCTATG

В таблице 2 представлены праймеры к гену дикого типа *(wt)* и мутантному гену *(mut)*. Реверсные последовательности комплементарны нативной оксфордской последовательности мтДНК, представленной в NCBI Blast. Уровень гетероплазмии мтДНК для выбранных мутаций был определен с помощью ПЦР в режиме реального времени по следующему протоколу:

Протокол постановки ПЦР в реальном времени:

Протокол реакции ПЦР на амплификаторе:

1. Денатурация - 94 °С - 6 минут
2. Цикловая денатурация - 94 °С - 20 сек
3. Отжиг праймеров + элонгация – табл. °С - 1 минута 30 секунд
4. Количество циклов шаг 2 и 3 - 34 цикла
5. Построить кривую плавления 55 °С - 95 °С

Схема нанесения образцов на планшет:

В реакцию ПЦР включаются следующие контроли:

- Контроль эффективности амплификации – митохондриальная ДНК дикого типа в последовательных разведениях от 50 до 0,5 нг матрицы на 25 мкл реакционной смеси с праймерами к D-loop. В качестве мтДНК дикого типа использовали ДНК из клеток линии THP-1, которая характеризуется постоянством ядерного и митохондриального геномов.

Количество матрицы на лунку, нг:

1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*	*10*
50	*30*	*20*	*10*	*7*	*5*	*2,5*	*1,5*	*0,75*	*0,5*

- Две калибровочные кривые для праймеров дикого типа и мутантного гена с соответствующими плазмидами в качестве матрицы (с геном дикого типа (*wt*) и мутантным геном (*mut*)) в последовательных разведениях от 50 до 0,5 нг. Плазмиды были собраны из искусственно синтезированных олигонуклеотидов и клонированы в упаковочную плазмиду pJet1.2 (Termo Fisher, США).

Количество матрицы на лунку, нг:

1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*	*10*
50	*30*	*20*	*10*	*7*	*5*	*2,5*	*1,5*	*0,75*	*0,5*

- Две калибровочные кривые для конкурентной амплификации смеси

плазмид *wt*/*mut* в различных соотношениях 1/1, 1/2, 1/4, 1/8 … с праймерами к гену дикого типа и мутантному гену (суммарно 50 нг ДНК).

- Исследуемые образцы в серии повторений с праймерами к гену дикого типа
- Исследуемые образцы в серии повторений с праймерами к мутантному гену

При проведении ПЦР использовалась следующая температура отжига:

- для мутации m.5178C>A — 63 °C;
- для мутаций m.12315G>A и m.1555A>G — 64 °C;
- для мутации m.3336T>C — 61 °C
- для мутаций m.13513G>A, m.15059G>A и m.14846G>A — 58 °C
- для мутации m.3256C>T и m.14459G>A — 62 °C.

2.5. Оценка уровня мСРБ

Исследование проводилось н.с. лаборатории клеточного гемостаза ИЭК им. ак. В.Н.Смирнова НМИЦК им. ак. Е.И.Чазова Минздрава России И.С. Мельниковым. Для определения уровня мСРБ в плазме крови проводили забор венозной крови у всех участников утром натощак, после двенадцатичасового голодания, из локтевой вены в цитратные пробирки (S-Monovette, Saestendt), содержащие 3,8% раствор цитрата натрия (соотношение антикоагулянт:кровь – 1:9). С целью получения бедной тромбоцитами плазмы (БТП) образцы центрифугировали при 2000 g в течение 20 минут (комнатная температура), после чего супернатант аликвотировали и замораживали при -70°C. Перед определением концентрации мСРБ аликвоты размораживали на водяной бане при 37°C.

Для определения мСРБ в плазме крови и в культуральной среде первичных культур моноцитов/макрофагов использовали мышиные моноклональные антитела клона CRP-8 (Sigma-Aldrich, США), специфичные к мономерной форме СРБ (Schwedler et al., 2003, Melnikov et al. 2022). Антитела CRP-8 конъюгировали с

полистироловыми микросферами Becton-Dickinson Cytometric Bead Array (Becton-Dickinson, США). Конъюгацию моноклональных антител с функциональными микросферами проводили с использованием дитиотретиола, сульфосукцинимидил-4-(N-малеимидометил)-циклогексан-1-карбоксилата, N-этилмалеида, диметилсульфоксида компании Thermofisher, США. В качестве детектирующего агента к человеческому СРБ (GAHCrp, ИмТек, Россия), конъюгированные с флуоресцеинизотиоцианатом. Для построения калибровки использовали рекомбинантный мСРБ (Yi Wu, Китай) в фосфатно-буферном растворе с добавлением 0,1% бычьего сывороточного альбумина. Для измерения концентрации мСРБ 50 мкл каждого образца инкубировали с антителами CRP-8, иммобилизованными на микросферах, в течение 40 минут при комнатной температуре в темноте. После этого добавляли детектирующие антитела GAHCRp и продолжали инкубацию в аналогичных условиях еще 40 минут. В контроле вместо образца плазмы или культуральной жидкости использовали 50 мкл 0,1М фосфатного буфера (pH=7,2), содержащего 0,1% БСА. Измерения выполняли на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (Becton-Dickinson, США).

2.6. Методика определения биохимических показателей

Венозную кровь у пациентов обеих групп брали утром натощак из локтевой вены в пробирки S-Monovette (Sarstedt, Германия). Биохимические показатели липидного спектра (ОХС, ТГ, ХС ЛВП) проводили в лаборатории клинической биохимии ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России с использованием анализатора Hitachi 912 System (Roche, Швейцария) и Architect C-8000 (Abbott, США). Уровень ХС ЛНП рассчитывали по формуле Фридвальда: ХС ЛНП = ОХС – ХС ЛВП – ТГ / 2,2 ммоль/л. Контроль качества проводили с использованием контрольных сывороток Precinorm и Precipat (Roche-Diagnostics, Швейцария).

2.7. Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных проводилась м.н.с. Лаборатории стволовых клеток человека ИЭК им. ак. В.Н.Смирнова НМИЦК им. ак. Е.И.Чазова Минздрава России С.А. Базановичем. Полученные в процессе исследования количественные данные были представлены в виде среднего значения с указанием стандартного отклонения и в виде медианы с квартилями (25-й и 75-й процентили). Для проверки гипотез о типе распределения данных применялся критерий Шапиро-Уилка W. При сравнительном анализе данных пациентов из двух групп использовались методы непараметрической статистики: точный критерий Фишера и критерий χ^2 с поправкой Йетса - для сравнения качественных признаков; U-критерий Манна-Уитни - для сравнения количественных признаков в двух независимых группах; критерий Краскела-Уоллиса — для сравнения количественных признаков в трёх и более независимых группах; критерий Вилкоксона - для сравнения количественных признаков в двух зависимых группах. Логистический регрессионный анализ позволял выявить независимые факторы риска, связанные с повышенной вероятностью развития ИБС у мужчин до 55 лет и у женщин до 65 лет. Этот метод рассчитывает вероятность наступления исхода в зависимости от значений независимых переменных. Вероятность наступления события для некоторого случая рассчитывается по формуле 1:

$$F(z) = \frac{1}{1+e^{-z}} \quad (1)$$

$Z = b_1 * x_1 + b_2 * x_2 + \ldots + b_n * x_n + C;$

b_1, b_2, b_n – коэффициенты, расчет которых является задачей бинарной логистической регрессии;

x_1, x_2, x_3 – значения независимых переменных;

C – константа.

Включаемые в регрессионную модель показатели определяли при помощи критерия Вальда. Для оценки качества модели использовали критерий согласия Хосмера-Лемешева, R2 Нэйджелкерка и ROC-анализ. Результаты проведенного ROC-анализа, а также критерий Юдена использовали для вычисления оптимальной точки отсечения. Уровень значимости p был установлен равным 0,05. Все

вычисления осуществлялись с использованием пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 27.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Исследование секреции провоспалительных цитокинов в первичной культуре моноцитов/макрофагов

Клиническая характеристика участников исследования, у которых была оценена секреция провоспалительных цитокинов в первичной культуре моноцитов/макрофагов, представлена в таблице 4. Медиана возраста пациентов с ранним развитием ИБС составила 54 [49; 57] года. 51 (64%) пациентов были мужчинами, 26 (36%) – женщинами. Отягощенный семейный анамнез в отношении ИБС имели 62 (77%) пациентов. Общее количество активных и бывших курильщиков составило 67%, в том числе 44 (55%) пациентов были активными, 10 (12%) больных – бывшими курильщиками. Ожирение было диагностировано у 29 (36%) пациентов, медиана ИМТ составила 28 [27; 32] кг/м^2. СД имели 18 (23%) больных. АГ была диагностирована у 73 (91%) пациентов. У 22% больных была АГ 2-й степени, у 61% пациентов – АГ 3-й степени. Уровень ХС ЛНП более 3 ммоль/л был выявлен у 62 (78%) пациентов, низкий уровень ХС ЛВП (<1 ммоль/л у мужчин и <1,2 ммоль/л у женщин) – у 31 (39%) пациентов.

В контрольной группе медиана возраста пациентов составила 53 [47; 57] года. Отягощенный семейный анамнез по ИБС имел место у 38 (60%) пациентов. Курильщиками (активными и бывшими) являлись 31% пациентов, в том числе 16 (25%) пациентов были активными, 4 (6%) пациента – бывшими курильщиками. Ожирение было выявлено у 17 (27%) пациентов. Медиана ИМТ составила 27 [25; 30] кг/м². СД был диагностирован у 2 (3%) участников контрольной группы. АГ имели 36 (57%) пациентов. У 8% пациентов была АГ 1-й степени, у 11% пациентов – 2-й степени и у 38% пациентов – 3-й степени. Уровень ХС ЛНП превышал 3 ммоль/л у 44 (70%) участников, низкий уровень ХС ЛВП имели 15 (24%) пациентов.

Таблица 4. Характеристика пациентов

Показатель	С ранним развитием ИБС (n =80)	Контрольная группа (n =63)	p
Возраст, лет	54 [49; 57]	53 [47; 57]	0,317
Мужчины/женщины	51(64%)/29 (36%)	32(50%)/31(49%)	0,120
Артериальная гипертония	73 (91%)	36 (57%)	**<0,001**
Сахарный диабет	18 (23%)	2 (3%)	**<0,001**
Курение	44 (55%)	16 (25%)	**<0,001**
Курение в анамнезе	10 (12%)	4 (6%)	0,220
Индекс курильщика пачка/лет	25 [15; 35]	20 [17; 30]	0,063
Неблагоприятная наследственность в отношении ИБС	60 (75%)	38 (60%)	0,061
ХС ЛНП >3 ммоль/л	62 (78%)	44 (70%)	0,300
ХС ЛВП <1 ммоль/л у мужчин и <1,2 ммоль/л у женщин	31 (39%)	15 (24%)	0,058
Ожирение	29 (36%)	17 (27%)	0,239
ИМТ, кг/м^2	28 [27; 32]	27 [25; 30]	**0,033**

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца, ХС – холестерин, ЛНП – липопротеиды низкой плотности, ЛВП – липопротеиды высокой плотности, ИМТ – индекс массы тела. Данные представлены в виде медианы и первого и третьего квартилей (Me [Q1; Q3]), n (%).

При сравнении пациентов обеих групп выявлено, что у пациентов с ранней ИБС чаще встречались курение, СД и АГ, а также отмечался более высокий ИМТ,

чем в контрольной группе. По возрасту, наличию отягощенной наследственности по ИБС, ожирению, количеству пациентов с ХС ЛВП более 3 ммоль/л и низким уровнем ХС ЛВП различий между группами не наблюдалось.

Показатели липидного профиля пациентов группы с ранним развитием ИБС и группы контроля представлены в таблице 5. Уровень ОХС не различался у пациентов обеих групп и составил, соответственно, 4,08 [3,39; 4,81] и 4,52 [3,85; 5,12] ммоль/л. Уровень ХС ЛНП так же не различался у пациентов обеих групп и равнялся, соответственно, 2,25 [1,57; 3,25] и 3,52 [1,78; 3,2] ммоль/л. Уровень триглицеридов был выше среди больных с рано возникшей ИБС в сравнении с контролем (1,83 [1,32; 2,41] и 1,46 [0,95; 2] ммоль/л, соответственно). Уровни ХС ЛВП не различались у пациентов обеих групп и был равен, соответственно, 1,13 [0,95; 1,4] и 1,34 [1,03; 1,8] ммоль/л.

Таблица 5. Показатели липидного профиля

Показатель	С ранним развитием ИБС (n =80)	Контрольная группа (n =63)	p
Общий ХС, ммоль/л	4,08 [3,39; 4,81]	4,52 [3,85; 5,12]	0,119
Триглицериды, ммоль/л	1,83 [1,32; 2,41]	1,46 [0,95; 2]	**0,028**
ХС ЛНП, ммоль/л	2,25 [1,57; 3,25]	3,52 [1,78; 3,2]	0,527
ХС ЛВП, ммоль/л	1,13 [0,95; 1,4]	1,34 [1,03; 1,8]	0,08

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца, ХС – холестерин, ЛНП – липопротеиды низкой плотности, ЛВП – липопротеиды высокой плотности. Данные представлены в виде медианы и квартилей первого и третьего (Me [Q1; Q3]).

Среди пациентов с ранней ИБС 57 (71,3%) перенесли ИМ к моменту включения в исследование, в том числе ИМ с подъемом сегмента ST (ИМпST) – 39 (48,8%) больных, ИМ без подъема сегмента ST (ИМбпST) – 11 (13,8%) пациентов (таблица 6). 65 (81,3%) больных имели в анамнезе стентирование, 2 (2,5%) больных – шунтирование коронарных артерий. У мужчин чаще, чем у женщин, встречался

ИМ – в 82,3% и 51,7% случаев, соответственно, ИмпST – в 61% и 38% случаев, соответственно, а также стентирование коронарных артерий – в 91% и 58,6%, случаев, соответственно. У мужчин и у женщин не было выявлено различий в частоте встречаемости ИМбпST, а также коронарного шунтирования.

Таблица 6. Инфаркт миокарда и реваскуляризация миокарда в анамнезе у пациентов с рано возникшей ИБС

Показатель	С ранним развитием ИБС (n =80)	Мужчины (n = 51)	Женщины (n = 29)	P
Инфаркт миокарда	57 (71,3%)	42 (82,3%)	15 (51,7%)	**0,004**
ИМпST	39 (48,8%)	31 (61%)	11 (38%)	**0,040**
ИМбпST	11 (13,8%)	9 (17,6%)	2 (6,9%)	0,180
Стентирование	65 (81,3%)	46 (91%)	17 (58,6%)	**<0,001**
Шунтирование	2 (2,5%)	3 (5,9%)	0 (0%)	0,184

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИМпST - инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST, ИМбпST - инфаркт миокарда без подъема сегмента ST.

Медиана возраста манифестации ИБС в основной группе составила 54 [49; 57] года. У мужчин первые клинические проявления возникли в 48 [45;50] лет, у женщин – в 55 [52;60] лет. ИМ был первым проявлением ИБС в 46% случаев, стенокардия напряжения – в 51% (таблица 7).

Таблица 7. Клинические проявления ИБС

Первое проявление ИБС	С ранним развитием ИБС (n =80)	Мужчины (n = 51)	Женщины (n = 29)	p
Возраст	54 [49; 57]	48 [45; 50]	55 [52; 60]	**<0,001**
Инфаркт миокарда	37 (46%)	25 (49%)	12 (41%)	0,510
Стенокардия	41 (51%)	25 (49%)	16 (56%)	0,597

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИМ - инфаркт миокарда

Результаты КАГ у пациентов с ранним развитием ИБС представлены в таблице 8. Гемодинамически значимое поражение ствола ЛКА встречалось у 9 (11%), ПНА – у 47 (59%), ОА – у 36 (45%), ПКА – у 46 (58%) пациентов. Гемодинамически значимое поражение одной МКА имели 9 (11%), двух МКА – 24 (30%), трех МКА – 27 (34%) пациентов. У мужчин гемодинамически значимое поражение ПНА встречалось чаще, чем у женщин (в 75% и 34% случаев, соответственно). Не было обнаружено различий в частоте гемодинамически значимых стенозов в других коронарных артериях у мужчин и женщин.

Все пациенты обеих групп (80 человек основной группы и 63 пациента контрольной группы) получали терапию статинами. Наиболее часто назначаемым препаратом был аторвастатин. Его получали 48 (60%) пациентов с ранней ИБС и 49 (78%) лиц контрольной группы. Терапия розувастатином проводилась у 29 (36%) больных основной группы и у 14 (22%) – в контроле.

Таблица 8. Результаты КАГ у пациентов с ранним развитием ИБС

Показатель	Пациенты (n=80)	Мужчины (n=51)	Женщины (n=29)	p
ствол ЛКА	9 (11%)	7 (14%)	2 (7%)	0,353
ПНА	47 (59%)	38 (75%)	10 (34%)	**<0,001**
ОА	36 (45%)	26 (51%)	10 (34%)	0,154
ПКА	46 (58%)	34 (66%)	13 (45%)	0,06
1 МКА	9 (11%)	6 (12%)	3 (11%)	0,847
2 МКА	24 (30%)	16 (32%)	6 (22%)	0,304
3 МКА	27 (34%)	22 (43%)	6 (22%)	0,063
Ствол ЛКА + ≥1 МКА	11 (14%)	9 (18%)	2(7%)	0,180

Примечание. ЛКА – левая коронарная артерия, ПНА – передняя нисходящая артерия, ПКА – правая коронарная артерия, ОА – огибающая артерия, МКА – магистральная коронарная артерия.

В таблице 9 представлены результаты измерения концентрации ФНО-α в первичной культуре моноцитов/макрофагов пациентов с ранним развитием ИБС и пациентов контрольной группы. Медиана базальной секреции ФНО-α в группе пациентов с ранним развитием ИБС равнялась 223 [210; 241] пг/мл, ЛПС-стимулированной секреции – 3310 [2355; 5224] пг/мл, повторно ЛПС-стимулированной секреции – 230 [192; 325] пг/мл. В контрольной группе медиана базальной секреции ФНО-α составила 178 [131; 213] пг/мл, ЛПС-стимулированной секреции на вторые и шестые сутки – 3142 [2374; 4554] и 182 [151; 206] пг/мл, соответственно. Базальная секреция ФНО-α была выше у пациентов с ранним развитием ИБС по сравнению с пациентами контрольной группы (рисунок 11). ЛПС-стимулированная секреция ФНО-α на вторые сутки не различалась у пациентов обеих групп (рисунок 12). ЛПС-стимулированная секреция ФНО-α на

шестые сутки была выше у пациентов с ранним развитием ИБС, чем у пациентов группы контроля (рисунок 13).

Таблица 9. Секреция ФНО-α культивируемыми моноцитами

Концентрация цитокина в среде культивирования, пг/мл		С ранним развитием ИБС (n = 80)	Контрольная группа (n = 63)	p
ФНО -α	Базальная секреция	223 [210; 241]	178 [131; 213]	**<0,001**
	1 стимуляция ЛПС (2 сутки)	3310 [2355; 5224]	3142 [2374; 4554]	0,159
	2 стимуляция ЛПС (6 сутки)	230 [192; 325]	182 [151; 206]	**<0,001**

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца, ФНО-α – фактор некроза опухоли альфа, Данные представлены в виде медианы и первого и третьего квартилей (Me [Q1; Q3]).

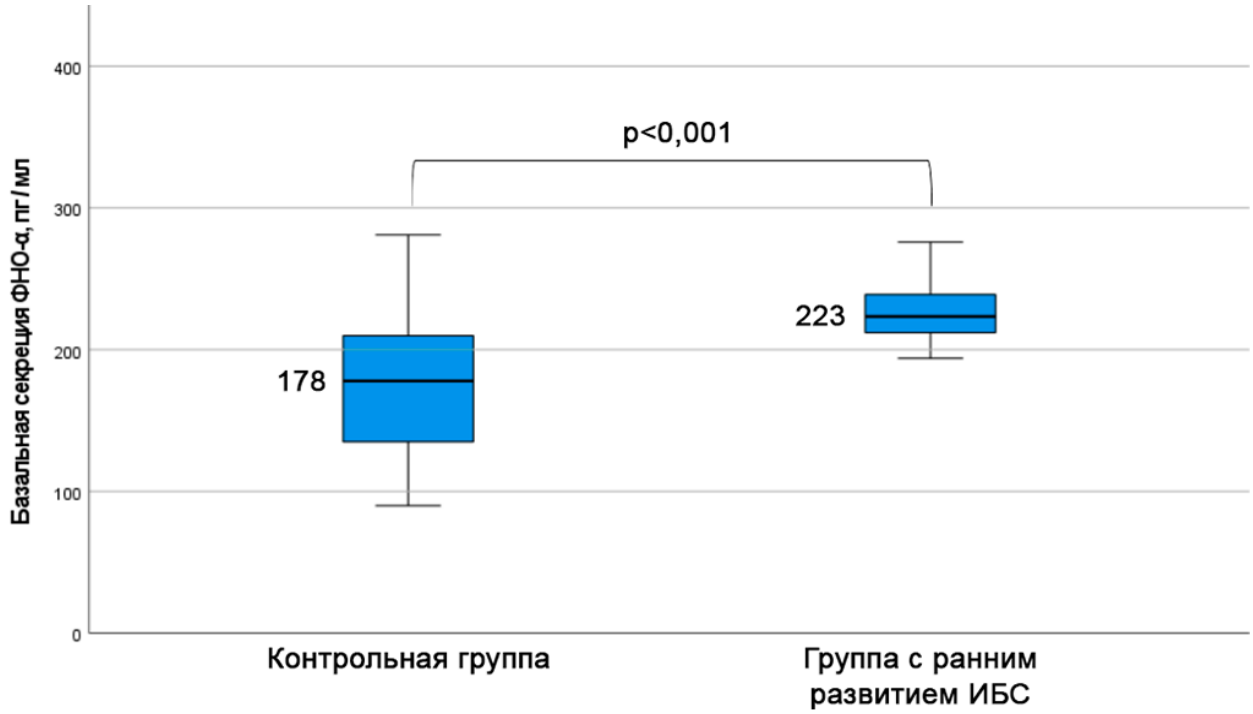


Рисунок 11. Концентрация ФНО-α у пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы в среде культивирования моноцитов (базальная секреция).

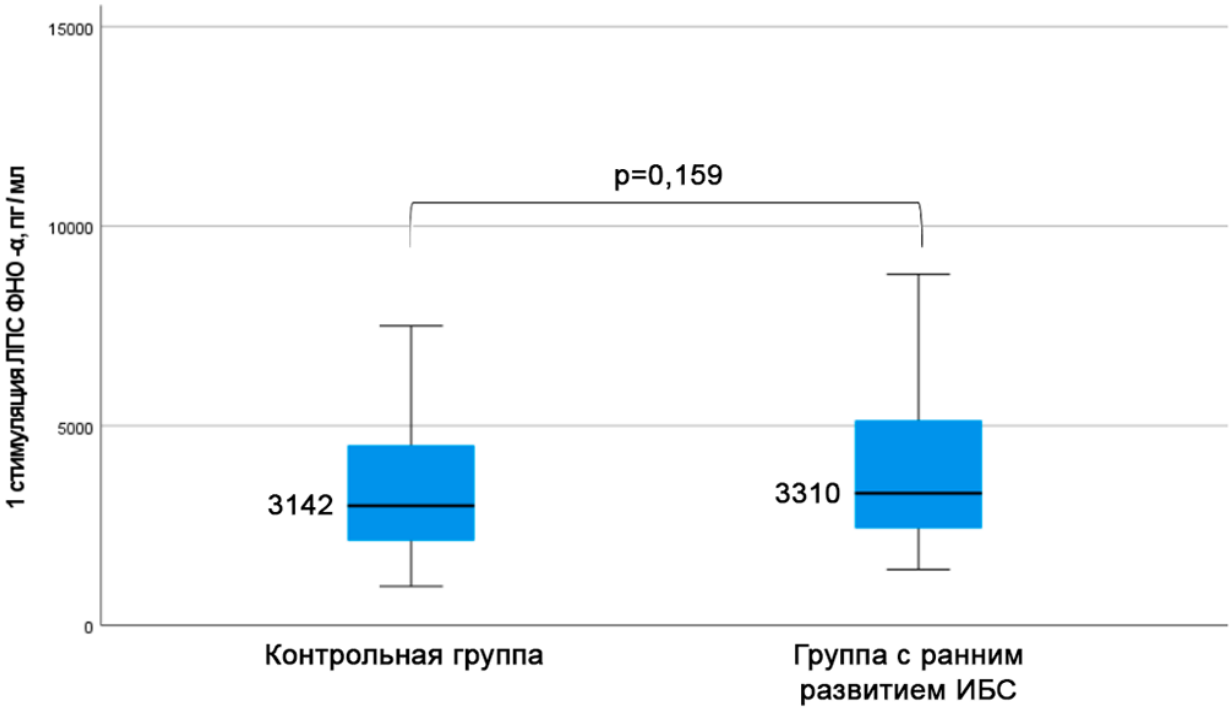


Рисунок 12. Концентрация ФНО-α у пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы в среде культивирования моноцитов (1 стимуляция ЛПС).

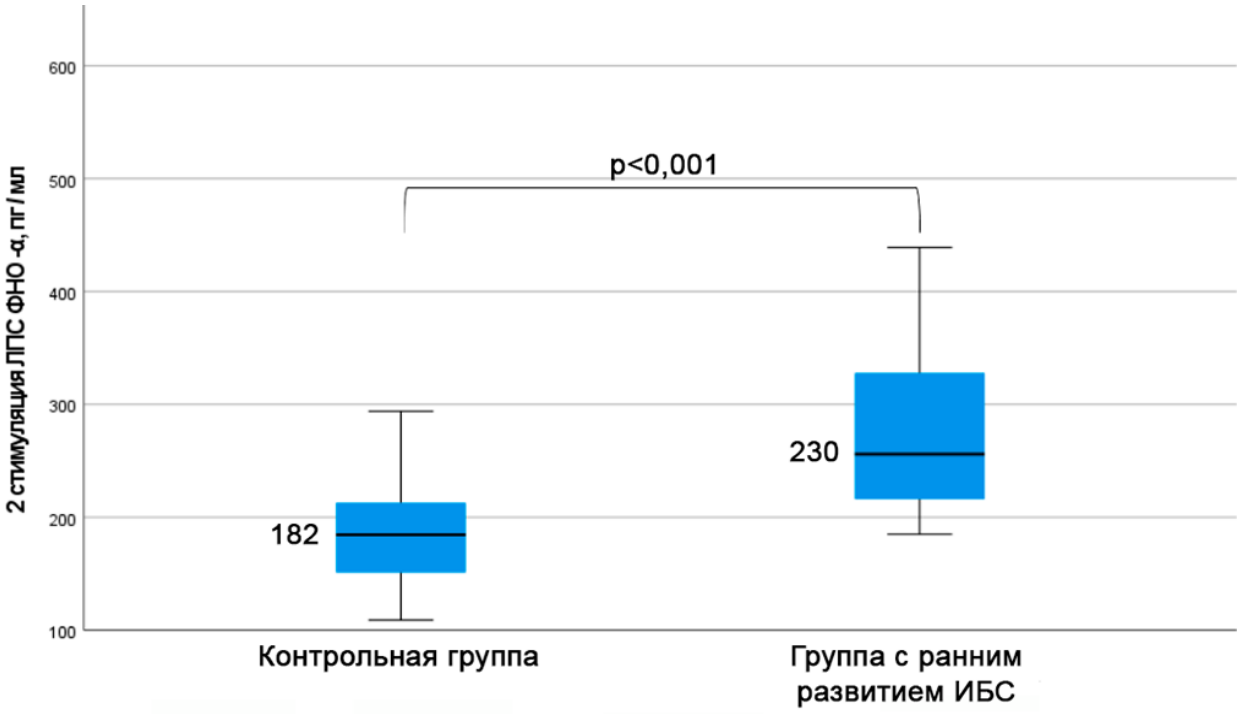


Рисунок 13. Концентрация ФНО-α у пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы в среде культивирования моноцитов (2 стимуляция ЛПС).

В таблице 10 представлены результаты измерения концентрации ИЛ-1β в первичной культуре моноцитов/макрофагов пациентов с ранним развитием ИБС и пациентов контрольной группы. Медиана базальной секреции ИЛ-1β пациентов группы с ранним развитием ИБС была выше, чем в контрольной группе и равнялась 164 [100; 190] и 112 [97; 168] пг/мл, соответственно. Медиана ЛПС-стимулированной секреции ИЛ-1β на вторые сутки равнялась 1373 [841; 1789] пг/мл в группе с ранним развитием ИБС, [674: 1142] пг/мл – в контрольной группе 904, на шестые сутки – 112 [99; 149] пг/мл в группе с ранним развитием ИБС и 94 [76; 118] пг/мл в группе контроля (рисунки 14-16). Концентрации ИЛ-1β в среде культивирования без стимуляции, при первой и повторной стимуляции ЛПС на вторые и шестые сутки культивирования моноцитов у больных с ИБС были более высокими по сравнению с пациентами контрольной группы.

Таблица 10. Секреция ИЛ-1β культивируемыми моноцитами

Концентрация цитокина в среде культивирования, пг/мл		С ранним развитием ИБС (n = 80)	Контрольная группа (n = 63)	p
ИЛ-1β	Базальная секреция	164 [100; 190]	112 [97; 168]	**0,018**
	1 стимуляция ЛПС (2 сутки)	1373 [841; 1789]	904 [674: 1142]	**<0,001**
	2 стимуляция ЛПС (6 сутки)	112 [99; 149]	94 [76; 118]	**<0,001**

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИЛ-1β – интерлейкин-1β. Данные представлены в виде медианы и первого и третьего квартилей (Me [Q1; Q3]).

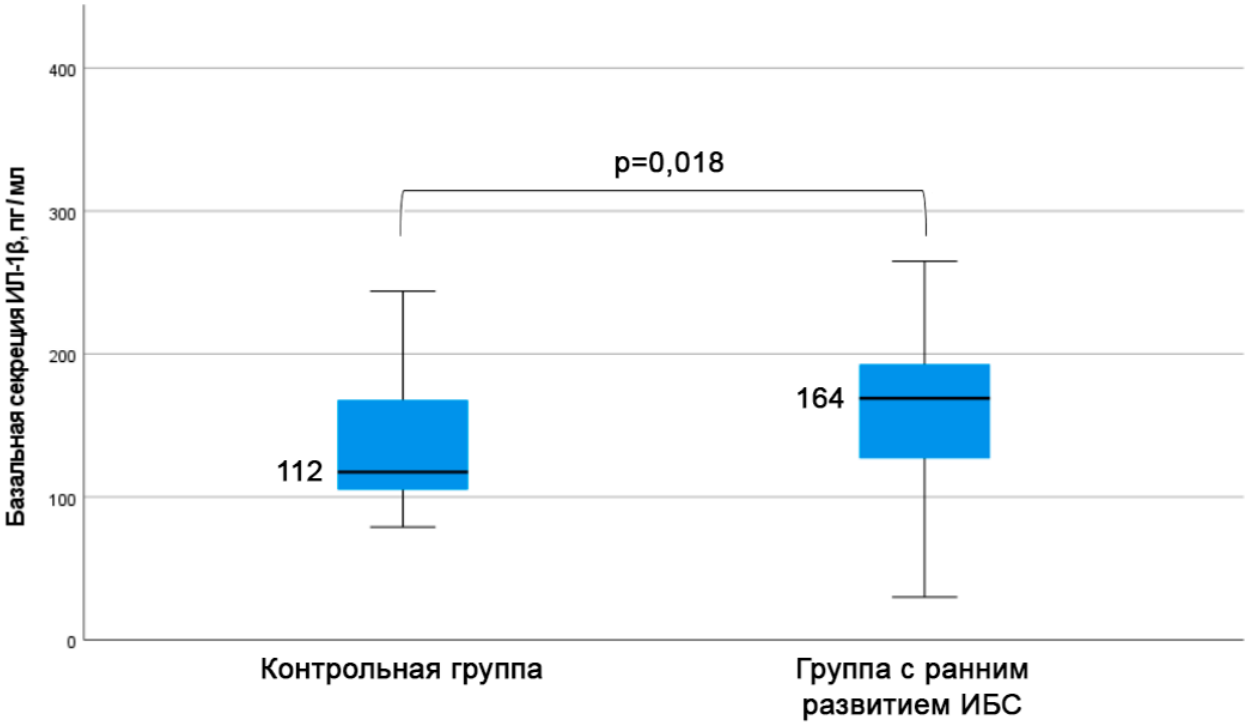


Рисунок 14. Концентрация ИЛ-1β у пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы в среде культивирования моноцитов (базальная секреция).

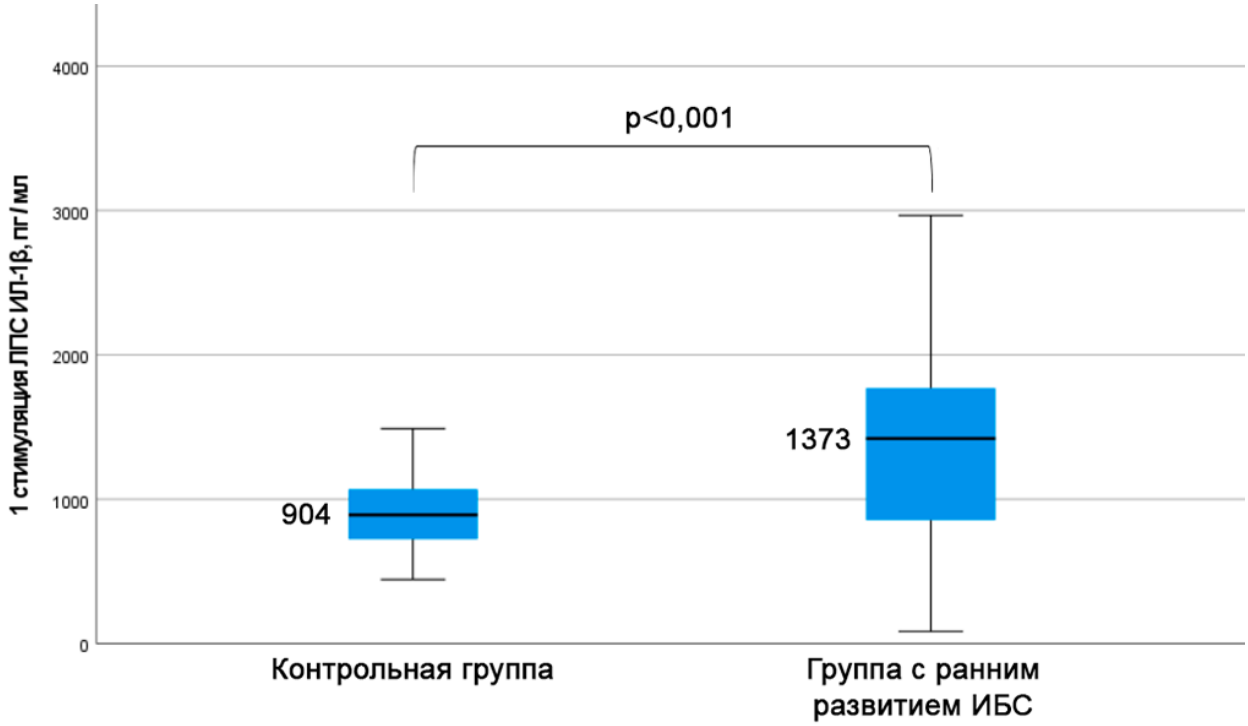


Рисунок 15. Концентрация ИЛ-1β у пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы в среде культивирования моноцитов (1 стимуляция ЛПС).

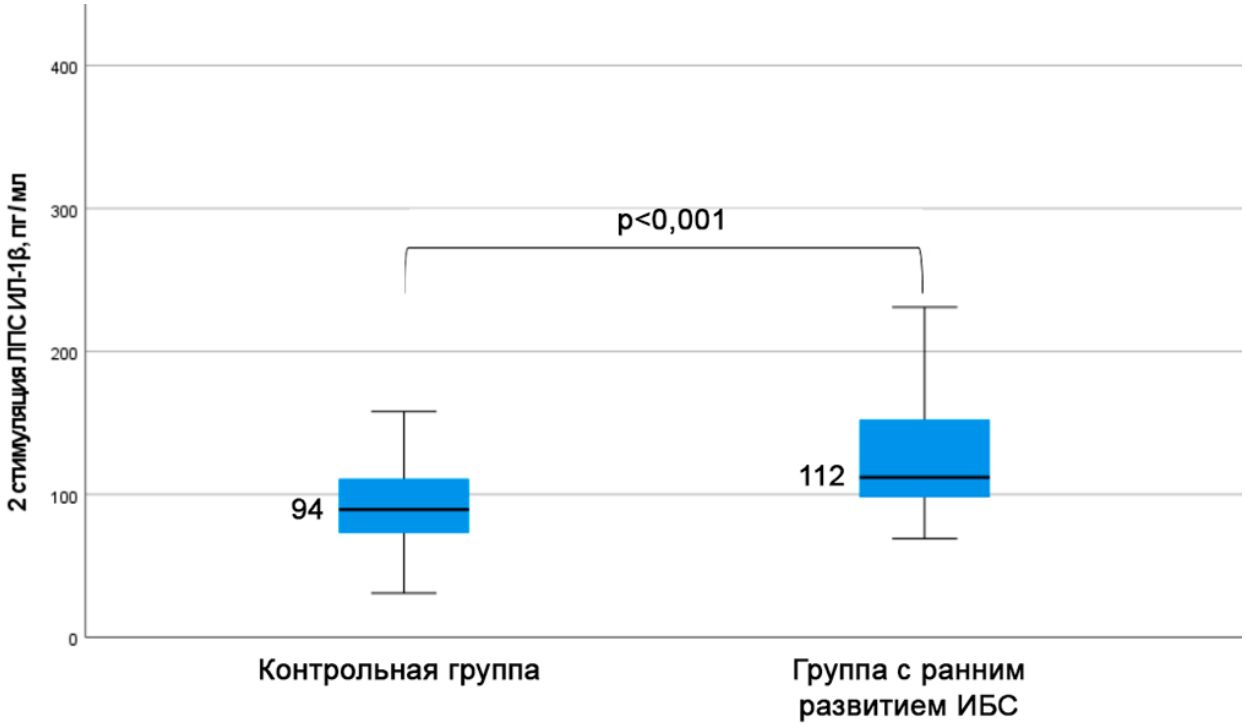


Рисунок 16. Концентрация ИЛ-1β у пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы в среде культивирования моноцитов (2 стимуляция ЛПС).

В таблице 11 представлены результаты измерения концентрации ИЛ-6 в первичной культуре моноцитов/макрофагов пациентов с ранним развитием ИБС и пациентов контрольной группы. Базальная секреция ИЛ-6 моноцитами различалась между группами. В группе больных ИБС она составила 327 [303; 451] пг/мл, в группе контроля – 300 [271; 374] пг/мл. Уровни ЛПС-стимулированной секреции ИЛ-6 в основной и контрольной группах не различались и равнялись 27879 [8674; 40646] и 31207 [25054; 36885] пг/мл, соответственно. Уровень повторно стимулированной секреции ИЛ-6 так же не имел различий у пациентов обеих групп и равнялся 1234 [1120; 2113] пг/мл у пациентов с ИБС, 1419 [1043; 2061] пг/мл – у пациентов контрольной группы (рисунки 17-19).

Таблица 11. Секреция ИЛ-6 культивируемыми моноцитами

Концентрация цитокина в среде культивирования, пг/мл		С ранним развитием ИБС (n = 80)	Контрольная группа (n = 63)	p
ИЛ-6	Базальная секреция	327 [303; 451]	300 [271; 374]	**0,005**
	1 стимуляция ЛПС (2 сутки)	27879 [8674; 40646]	31207 [25054; 36885]	0,208
	2 стимуляция ЛПС (6 сутки)	1234 [1120; 2113]	1419 [1043; 2061]	0,804

Примечание: ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИЛ-6 – интерлейкин-6. Данные представлены в виде медианы и первого и третьего квартилей (Me [Q1; Q3]).

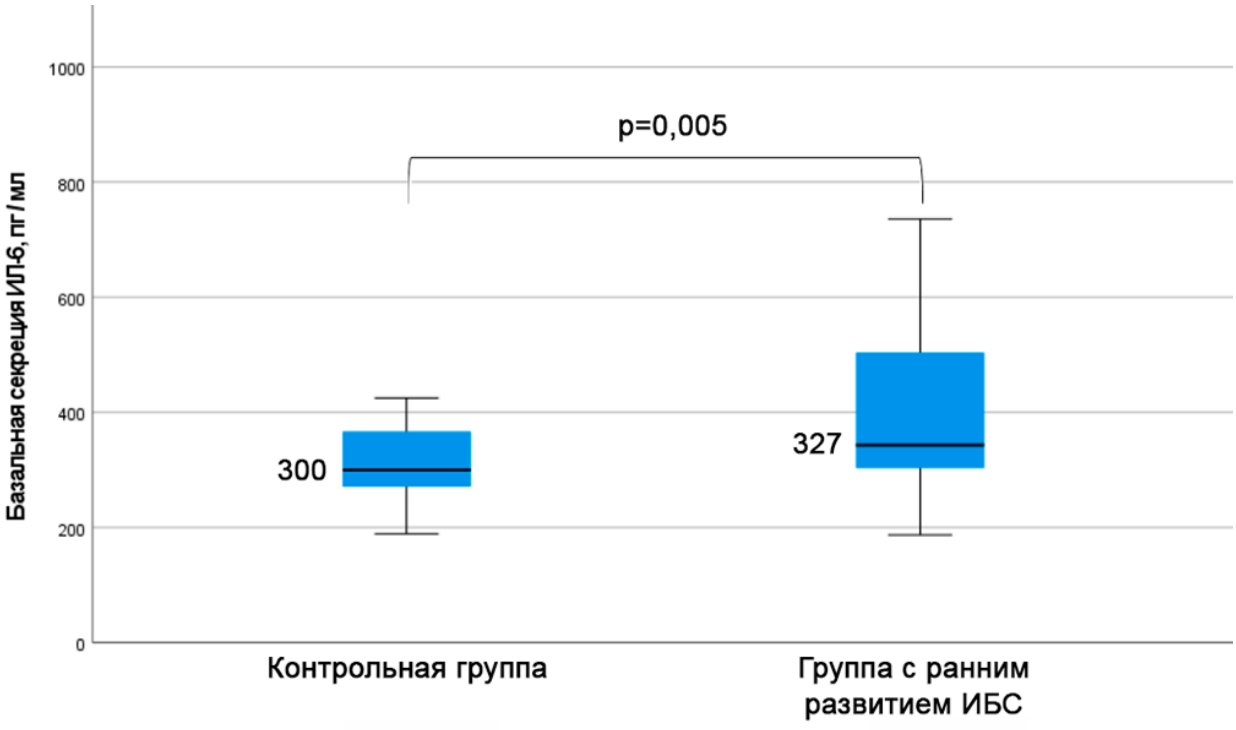


Рисунок 17. Концентрация ИЛ-6 у пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы в среде культивирования моноцитов (базальная секреция).

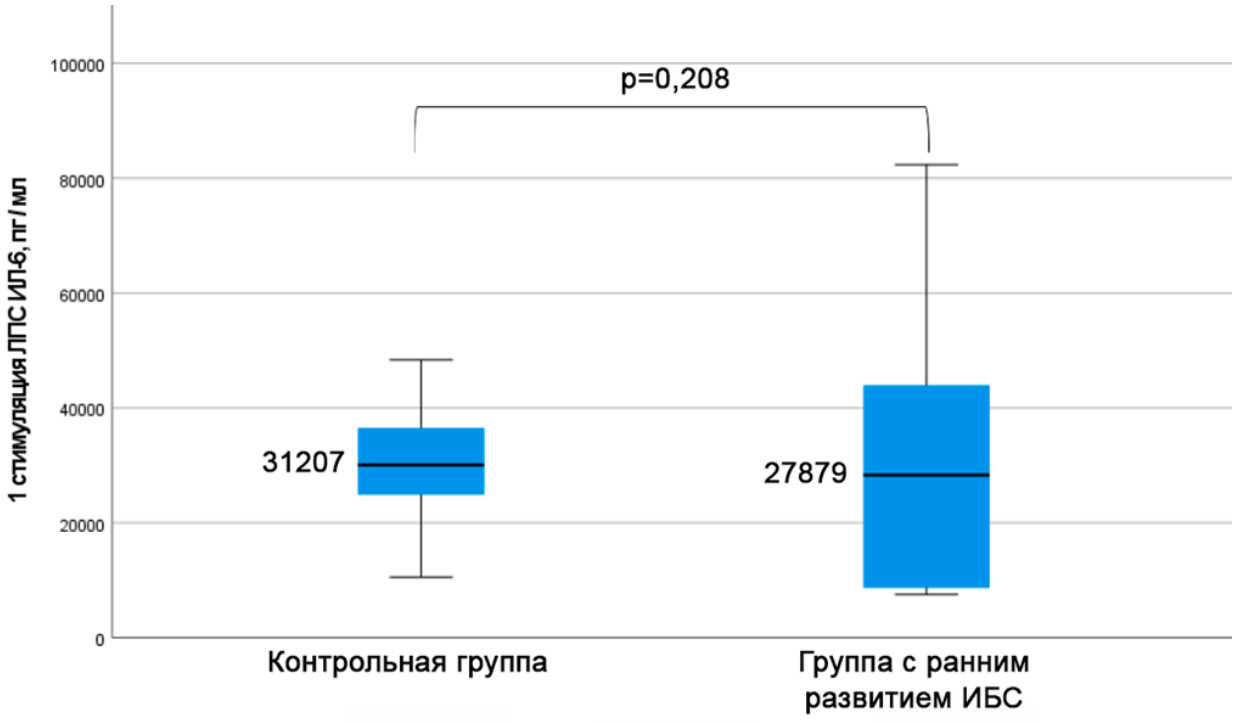


Рисунок 18. Концентрация ИЛ-6 у пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы в среде культивирования моноцитов (1 стимуляция ЛПС).

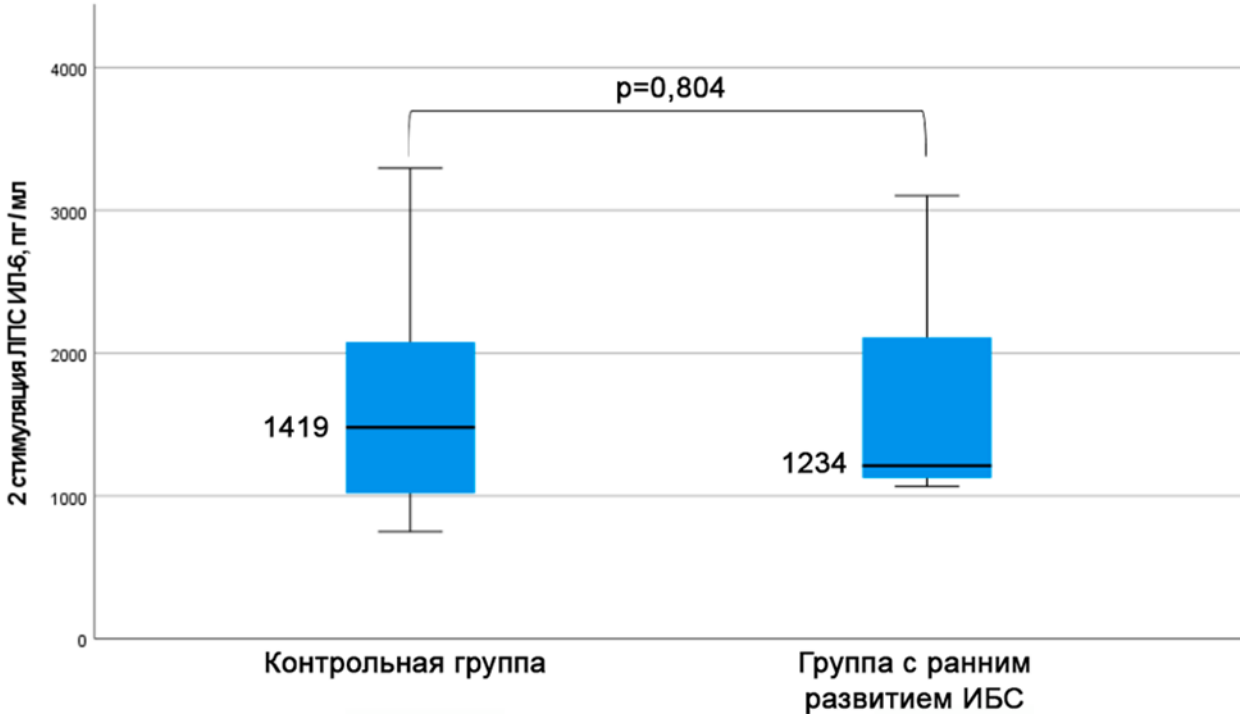


Рисунок 19. Концентрация ИЛ-6 у пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы в среде культивирования моноцитов (2 стимуляция ЛПС).

В таблице 12 и на рисунках 20-22 представлены результаты измерения концентрации ИЛ-8 в первичной культуре моноцитов/макрофагов пациентов с ранним развитием ИБС и пациентов группы контроля. Медиана базальной секреции ИЛ-8 в группе пациентов с ранним развитием ИБС составила 7057 [4840; 9102] пг/мл, в контрольной группе – 5783 [4600; 7706] пг/мл. Медиана ЛПС-стимулированной секреции ИЛ-8 у пациентов с ИБС равнялась 202035 [182065; 212726] пг/мл, в группе контроля – 162826 [147134; 209523] пг/мл. Медиана повторно стимулированной секреции ИЛ-8 моноцитами пациентов с ИБС и контрольной групп составила, соответственно, 20111 [12130; 23951] и 20217 [12769; 28073] пг/мл. Ни базальная, ни стимулированная секреция ИЛ-8 не имели различий у пациентов обеих групп.

Таблица 12. Секреция ИЛ-8 культивируемыми моноцитами

Концентрация цитокина в среде культивирования, пг/мл		С ранним развитием ИБС (n = 80)	Контрольная группа (n = 63)	p
ИЛ-8	Базальная секреция	7057 [4840; 9102]	5783 [4600; 7706]	0,177
	1 стимуляция ЛПС (2 сутки)	202035 [182065; 212726]	162826 [147134; 209523]	0,084
	2 стимуляция ЛПС (6 сутки)	20111 [12130; 23951]	20217 [12769; 28073]	0,649

Примечание: ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИЛ-8 – интерлейкин-8. Данные представлены в виде медианы и первого и третьего квартилей (Me [Q1; Q3]).

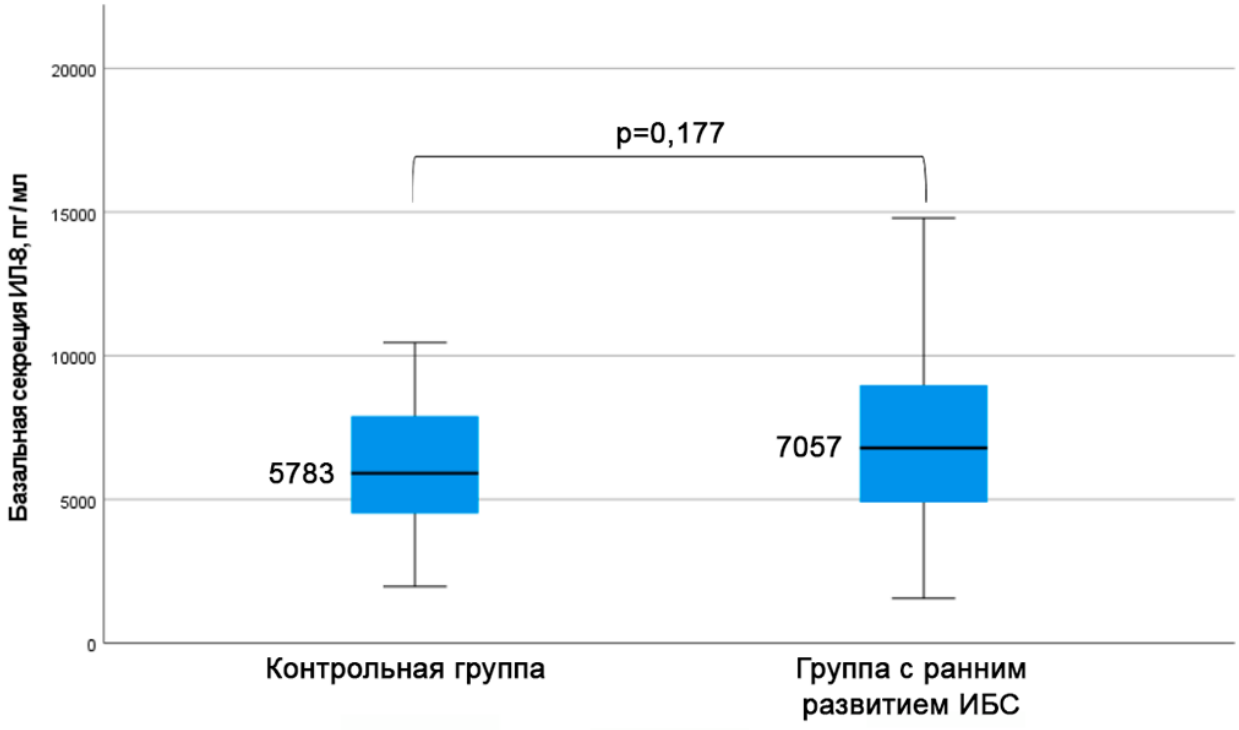


Рисунок 20. Концентрация ИЛ-8 у пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы в среде культивирования моноцитов (базальная секреция).

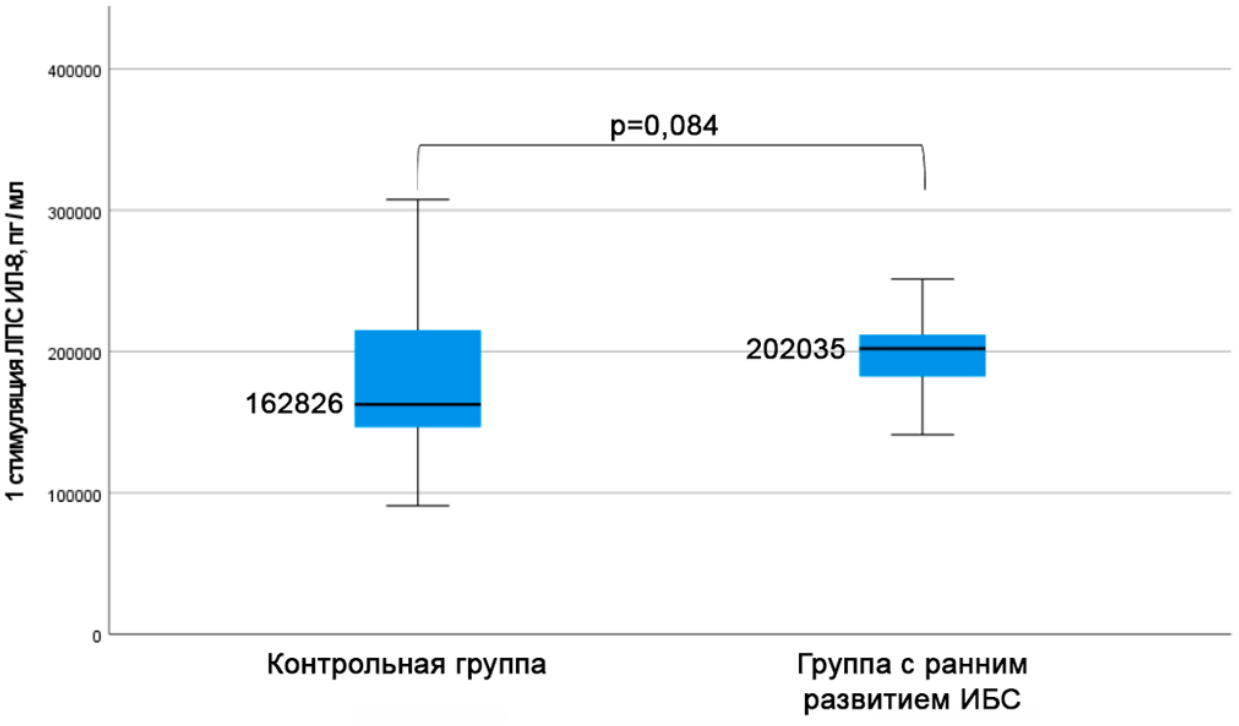


Рисунок 21. Концентрация ИЛ-8 у пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы в среде культивирования моноцитов (1 стимуляция ЛПС).

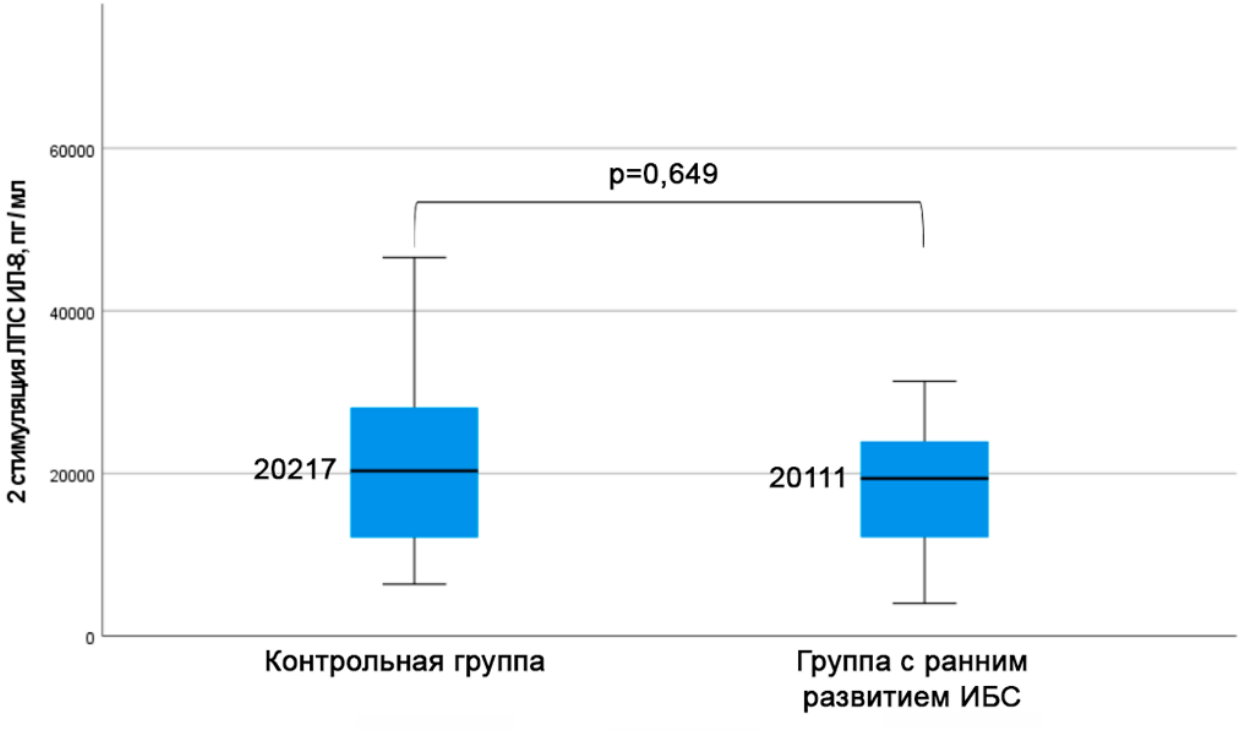


Рисунок 22. Концентрация ИЛ-8 у пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы в среде культивирования моноцитов (2 стимуляция ЛПС).

В таблице 13 представлены результаты измерения концентрации MCP-1 в первичной культуре моноцитов/макрофагов пациентов с ранним развитием ИБС и пациентов контрольной группы. Базальная секреция MCP-1 в группе с ранним развитием ИБС была более высокой по сравнению с пациентами контрольной группы – 3063 [1915; 4595] пг/мл и 2303 [1539;3153] пг/мл, соответственно (рисунок 23). ЛПС-стимулированная секреция на вторые сутки не отличалась среди больных с ИБС и пациентов контрольной группы и составляла, соответственно, 38368 [19271; 56240] пг/мл и 30622 [19771; 51967] пг/мл (рисунок 24). Повторно стимулированная секреция MCP-1 на шестые сутки была выше среди больных с ИБС, чем у пациентов контрольной группы и равнялась, соответственно, 10173 [3541; 23221] пг/мл и 3567 [2056; 8110] пг/мл, (рисунок 25).

Таблица 13. Секреция MCP-1 культивируемыми моноцитами

Концентрация цитокина в среде культивирования, пг/мл		С ранним развитием ИБС (n = 80)	Контрольная группа (n = 63)	p
MCP-1	Базальная секреция	3063 [1915; 4595]	2303 [1539; 3153]	**<0,001**
	1 стимуляция ЛПС (2 сутки)	38368 [19271; 56240]	30622 [19771; 51967]	0,502
	2 стимуляция ЛПС (6 сутки)	10173 [3541; 23221]	3567 [2056; 8110]	**<0,001**

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца, MCP-1 - моноцитарный хемотаксический протеин-1. Данные представлены в виде медианы и первого и третьего квартилей (Me [Q1; Q3]).

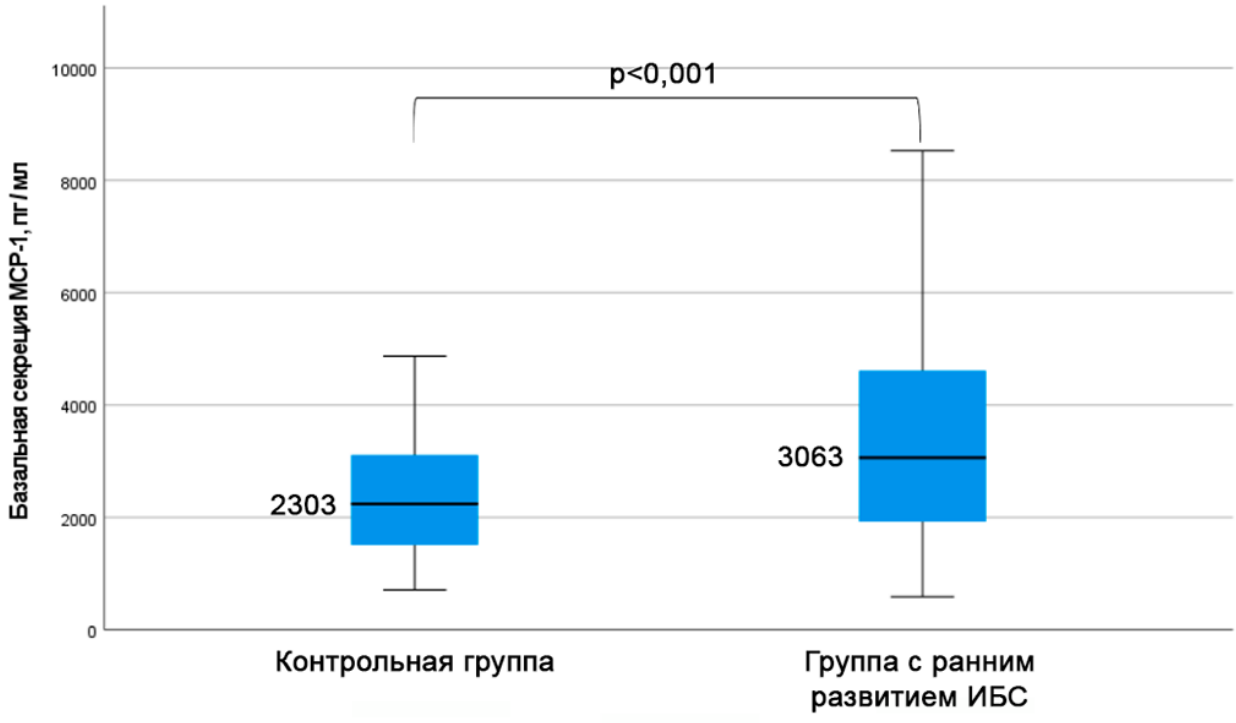


Рисунок 23. Концентрация MCP-1 у пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы в среде культивирования моноцитов (базальная секреция).

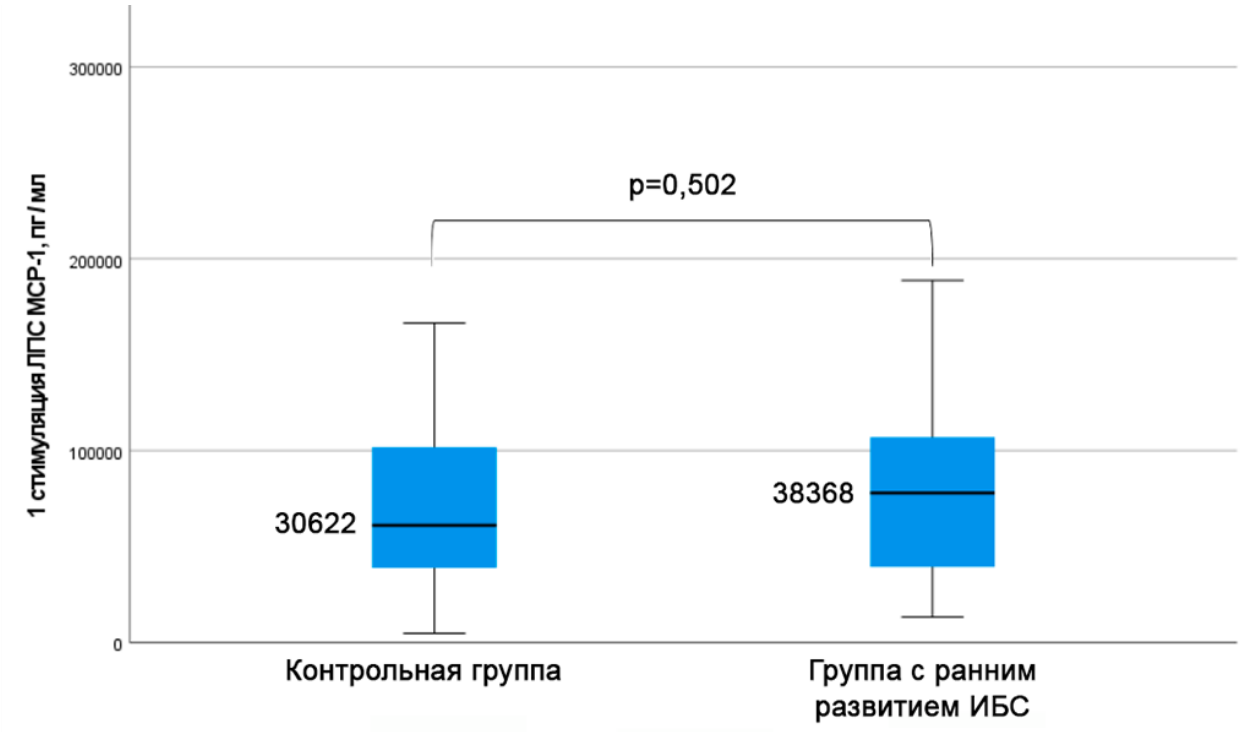


Рисунок 24. Концентрация MCP-1 у пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы в среде культивирования моноцитов (1 стимуляция ЛПС).

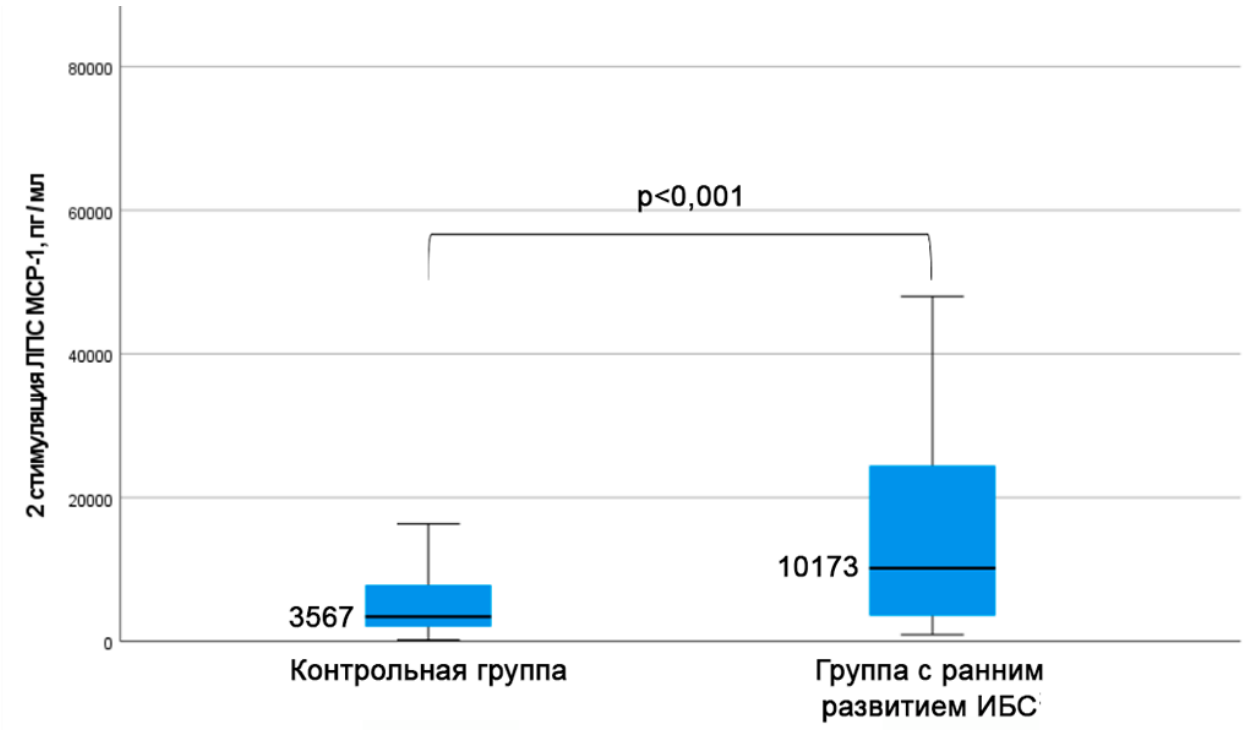


Рисунок 25. Концентрация MCP-1 у пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы в среде культивирования моноцитов (2 стимуляция ЛПС).

Таблица 14. Однофакторный логистический регрессионный анализ для оценки связи факторов с наличием ИБС у мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет

Показатель	Отношение шансов	95% доверительный интервал	p
ФНО-α базальная секреция	1,002	0,998 - 1,006	0,267
ФНО-α стимуляция на 6 сутки	1,016	1,008 - 1,023	**<0,001**
ИЛ-1β базальная секреция	1,005	0,999 - 1,011	0,079
ИЛ-1β стимуляция на 2 сутки	1,001	1,000 - 1,001	**0,039**
ИЛ-1β стимуляция на 6 сутки	1,013	1,004 - 1,022	**0,006**
ИЛ-6 базальная секреция	1,006	1,001-1,011	0,054
MCP-1 базальная секреция	1,000	1,000 -1,000	0,844
MCP-1 стимуляция на 6 сутки	1,000	1,000 -1,000	**<0,001**

Примечание. ФНО-α – фактор некроза опухоли альфа, ИЛ-1β – интерлейкин 1β, ИЛ-6 – интерлейкин 6, MCP-1 - моноцитарный хемотаксический протеин-1.

Для поиска параметров, которые связаны с наличием ИБС, использовали бинарную (однофакторную) логистическую регрессию. В логистическую регрессионную модель включались показатели секреции цитокинов, которые

статистически значимо различались у пациентов обеих групп. При проведении однофакторного анализа параметры стимулированной секреции ИЛ-1β на вторые сутки, базальной и стимулированной секреции MCP-1 в соответствии с методологическими требованиями к построению регрессионной модели были исключены из дальнейшего многофакторного анализа, поскольку 95%ДИ для отношения шансов пересекает значение 1. В результате проведенного однофакторного анализа для дальнейшего исследования выбраны параметры повторно стимулированной секреции ФНО-α и ИЛ-1β. Результаты представлены в таблице 14, нескорректированное отношение шансов указано на каждый пг/мл увеличения концентрации цитокинов.

Таким образом, зафиксировав гиперреактивность моноцитов in vitro, мы предположили, что в основе данного феномена могут лежать глубинные субклеточные нарушения, в частности — митохондриальная дисфункция. Для проверки этой гипотезы следующий этап работы был посвящен анализу гетероплазмии мтДНК.

3.2. Определение вариантов мутаций митохондриальной ДНК

Результаты оценки уровня гетероплазмии мтДНК в образцах крови участников исследования представлены в таблице 15. Уровень гетероплазмии мутации m.3336T>C был выше у пациентов с ранним развитием ИБС, в сравнении с пациентами группы контроля. Уровень гетероплазмии остальных мутаций не различался у пациентов обеих групп.

Таблица 15. Уровень гетероплазмии мутаций мтДНК у пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы

Переменная	С ранним развитием ИБС (n = 80)	Контрольная группа (n = 63)	p
m.1555A>G	34 [29; 53]	37 [30; 56]	0,293
m.5178C>A	9 [3; 18]	6 [3; 18]	0,734
m.12315G>A	31 [13; 43]	31 [14; 41]	0,939
m.3336T>C	12 [9; 19]	9 [7; 15]	**0,018**
m.15059G>A	32 [22; 78]	46 [25; 74]	0,996
m.13513G>A	72 [54; 78]	60 [49; 76]	0,168
m3256C>T	20 [14; 28]	22 [15; 76]	0,859
m.14459G>A	3 [3; 4]	4 [3; 5]	0,07
m.14846G>A	16 [8; 23]	19 [11; 25]	0,206

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца. Данные представлены в виде медианы и квартилей первого и третьего (Me [Q1; Q3]).

Для поиска связи митохондриальных полиморфизмов с наличием ИБС был проведен однофакторный анализ, в результате которого не было выявлено ассоциации между уровнем мутаций мтДНК и наличием ИБС. Результаты однофакторного анализа приведены в таблице 16.

Таблица 16. Результаты однофакторного анализа ассоциации мутаций митохондриальной ДНК с наличием ИБС

Переменная	Отношение шансов	95% доверительный интервал	p
m.1555A>G	0,989	0,967 - 1,012	0,356
m.5178C>A	1,013	0,964 - 1,064	0,613
m.12315G>A	1,004	0,988 - 1,020	0,650
m.3336T>C	1,037	0,984 - 1,092	0,176
m.15059G>A	1,000	0,988 - 1,012	0,989
m.13513G>A	1,010	0,990 - 1,031	0,312
m.3256C>T	1,000	0,964 - 1,036	0,981
m.14459G>A	0,983	0,919 - 1,050	0,603
m.14846G>A	0,981	0,954 - 1,010	0,197

Установив отсутствие независимого вклада исследованных мутаций мтДНК в поддержание провоспалительного статуса, логично сфокусировать внимание на финальном, гуморальном звене воспалительного каскада — локальном и системном уровне мономерного С-реактивного белка.

3.3. Оценка секреции мСРБ моноцитами

Результаты оценки уровня базальной и стимулированной секреции мСРБ в первичной культуре моноцитов/макрофагов больных с ИБС и пациентов контрольной группы представлены в таблице 17. Ни базальная, ни стимулированная секреция мСРБ не отличалась у пациентов обеих групп. Уровень пентамерного СРБ во всех образцах культуральной жидкости был ниже порога определения, равного 0,28 мг/л (СРБ-Тест, ИмТек, Россия).

Таблица 17. Анализ уровня мСРБ в культуральной жидкости моноцитов

Секреция мСРБ, мкг/л	С ранним развитием ИБС (n = 80)	Контрольная группа (n = 63)	p
Базальная секреция мСРБ	2,3 [1,53; 3,28]	2,10 [1,30; 2,95]	0,806
Стимулированная секреция мСРБ	2,8 [2,25; 4,05]	2,2 [1,23; 3,95]	0,336

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца, мСРБ - мономерная форма С-реактивного белка. Данные представлены в виде медианы и квартилей первого и третьего (Me [Q1; Q3]).

3.4 Оценка уровня мСРБ в крови

Результаты определения уровней мСРБ и вчСРБ в крови пациентов обеих групп представлены в таблице 18. У пациентов в группе с ранним развитием ИБС уровень мСРБ был выше, чем у пациентов без этого заболевания (6,84 [4,20;13,78] мкг/л и 2,57 [0,32; 5,66] мкг/л, соответственно).

Уровень вчСРБ в крови не имел различий у пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы и составил, соответственно, 0,99 (0,59; 3,10) мг/л и 0,63 (0,35; 1,85) мг/л.

Таблица 18. Анализ уровня мСРБ и вчСРБ в крови пациентов с ранним развитием ИБС и контрольной группы

Показатель	С ранним развитием ИБС (n = 80)	Контрольная группа (n = 63)	p
Уровень мСРБ в крови, мкг/л	6,84 [4,20; 13,78]	2,57 [0,32; 5,66]	**<0,001**
Уровень вчСРБ в крови, мг/л	0,99 [0,59; 3,10]	0,63 [0,35; 1,85]	0,067

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца, мСРБ – мономерная форма С-реактивного белка, вчСРБ – СРБ, измеренный высокочувствительным методом. Данные представлены в виде медианы и квартилей первого и третьего (Me [Q1; Q3]).

3.5. Сравнительный анализ факторов, связанных с рано возникшей ИБС

Согласно однофакторному логистическому регрессионному анализу, СД, АГ, курение, повторно стимулированная секреция ФНО-α, ИЛ-1β и уровень мСРБ в крови являлись факторами, связанными с вероятностью выявления ИБС у мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет (таблица 19).

В результате проведенного анализа для дальнейшего исследования выбраны следующие параметры: курение, АГ, СД и стимулированная секреция ИЛ-1β, уровень мСРБ в крови. Параметр ФНО-α имеет слабую, но значимую корреляцию с АГ и СД, что говорит о том, что параметры зависимы между собой и поэтому он был исключен из дальнейшего анализа. Параметры липидного профиля, несмотря на значимость предикторов, исключены из дальнейшего анализа, поскольку имеет место терапия, влияющая на их уровень. Корреляционная матрица представлена в таблице 20.

Таблица 19. Однофакторный логистический регрессионный анализ для оценки связи факторов с вероятностью выявления ИБС у мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет

Показатель	Отношение шансов	95% доверительный интервал	p
Возраст	1,024	0,970 - 1,081	0,388
Неблагоприятная наследственность в отношении ИБС	1,691	0,856 - 3,341	0,130
Курение	3,903	1,862 - 8,180	**<0,001**
ИМТ	1,055	0,979 - 1,137	0,158
Артериальная гипертония	7,216	2,850 - 18,269	**<0,001**
Сахарный диабет	8,647	1,911 - 39,114	**0,005**
Холестерин общий	0,416	0,292 - 0,592	**<0,001**
ХС ЛНП	0,533	0,380 - 0,749	**<0,001**
ХС ЛВП	0,320	0,145 - 0,703	**0,005**
Триглицериды	1,474	1,022 - 2,125	**0,038**
ФНО-α 6 сутки	1,016	1,008 - 1,023	**<0,001**
ИЛ-1β 6 сутки	1,013	1,004 - 1,022	**0,006**
Уровень мСРБ в крови	1,19	1,090 – 1,310	**<0,001**

Примечание. ИМТ – индекс массы тела, ХС ЛНП – холестерин липопротеидов низкой плотности, ХС ЛВП – холестерин липопротеидов высокой плотности, ФНО-α – фактор некроза опухоли альфа, ИЛ-1β – интерлейкин 1β, мСРБ – мономерная форма С- реактивного белка.

Таблица 20. Корреляционный анализ традиционных факторов риска ИБС, уровней секреции цитокинов и мутации m.3336T>C

Параметры	ИБС	Курение	АГ	СД	ФНО-α 6 сутки	ИЛ-1β 6 сутки	МСР-1 6 сутки	m.3336T>C	мСРБ
Курение	0,317**								
АГ	0,386**	0,307**							
СД	0,278**	0,131	0,179*						
ФНО-α 6 сутки	0,460**	0,125	0,301**	0,322**					
ИЛ-1β 6 сутки	0,337**	0,052	0,169	0,154	0,228*				
МСР-1 6 сутки	0,374**	-0,117	0,041	-0,054	0,069	0,247**			
m.3336T>C	0,221*	-0,061	0,185*	0,046	0,174	-0,106	0,172		
мСРБ в крови	0,410**	0,123	0,244*	0,253*	0,333**	0,279**	-0,115	0,267*	

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца, АГ – артериальная гипертония, СД –сахарный диабет, ФНО-α – фактор некроза опухоли альфа, ИЛ-1β – интерейкин 1β, МСР - моноцитарный хемоаттрактантный белок-1. ** - корреляция значима на уровне 0,01 (двухсторонняя), * - корреляция значима на уровне 0,05 (двухсторонняя).

Для определения показателей, независимо связанных с наличием ИБС, и оценки выраженности такой связи применили метод бинарной (многофакторной) логистической регрессии. В результате отбора, согласно критерию Вальда (p <0,05), в регрессионную модель вошли следующие параметры (таблица 21). Оценка качества полученной регрессионной модели проводилась с использованием теста Хосмера-Лемешева (таблица 22). Тест Хосмера-Лемешева показывает, что наблюдаемая частота событий соответствует ожидаемой частоте событий в подгруппах модельной популяции.

Таблица 21. Переменные в уравнении регрессии

Переменные уравнения	Отношение шансов	95% доверительный интервал	P
Курение	5,005	1,702-14,717	**0,003**
АГ	4,031	1,120-14,506	**0,033**
мСРБ в крови	1,137	1,033-1,250	**0,009**
ИЛ-1β 6 сутки	1,011	1,001-1,022	**0,035**
Константа	0,020	-	**<0,001**

Примечание. АГ – артериальная гипертония, мСРБ – мономер С-реактивного белка, ИЛ-1β – интерейкин 1β, МСР - моноцитарный хемоаттрактантный белок-1.

Таблица 22. Оценка качества регрессионной модели

Параметр	Проверка согласия Хосмера-Лемешева
Значение	0,643

Для оценки диагностической эффективности данных факторов в прогнозировании развития ИБС выполнен ROC-анализ. На рисунке 26 приведены кривые для каждого из включенных в модель показателей в отдельности и для всей

модели. ROC-анализ полученной модели продемонстрировал площадь под кривой (AUC) 0,829 ± 0,038 (95% ДИ 0,755 - 0,904; p <0,001). Модель верно классифицировала 78% пациентов с чувствительностью 74,5% и специфичностью 87,2% при пороге отсечения 0,61. Параметры анализа представлены в таблицах 23 и 24.

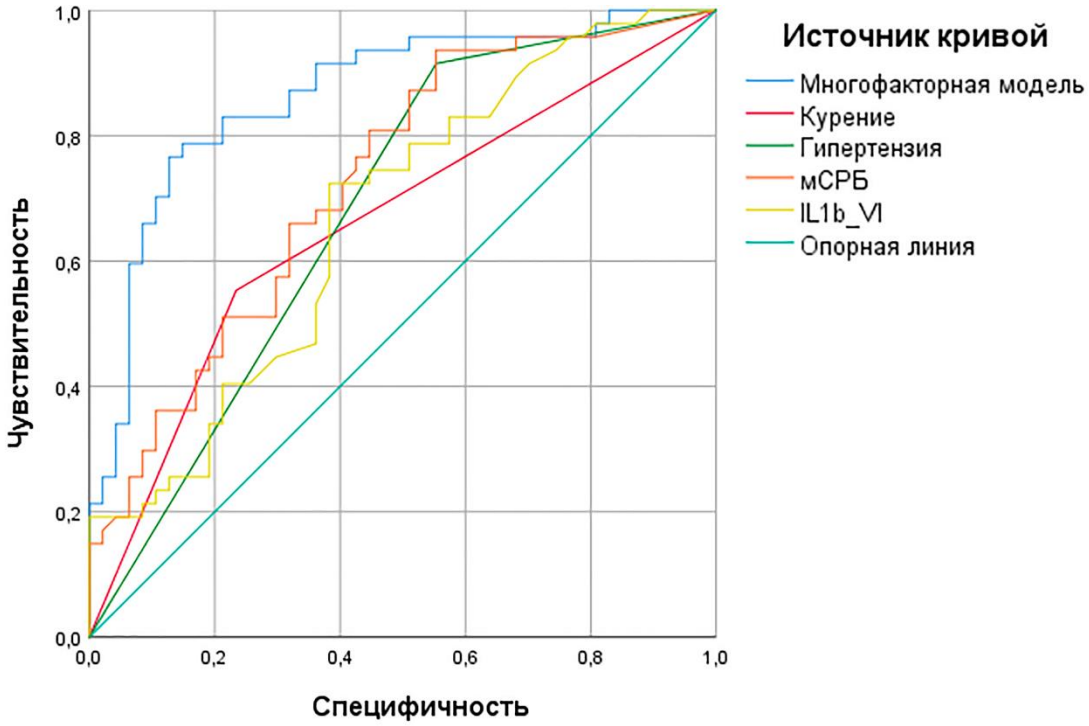


Рисунок 26. ROC-анализ многофакторной логистической регрессионной модели.

Таблица 23. Параметры ROC-анализа

Переменные результата проверки: предсказанная вероятность				
Факторы риска	Площадь под кривой	Стандартная ошибка	95% доверительный интервал	p
Модель предсказания	0,865	0,038	0,790-0,940	**<0,001**
Курение	0,660	0,057	0,548-0,771	**0,008**
АГ	0,681	0,056	0,571-0,790	**0,003**
мСРБ в крови	0,727	0,052	0,626-0,828	**<0,001**
ИЛ-1β 6 сутки	0,669	0,056	0,560-0,778	**0,005**

Примечание: АГ – артериальная гипертония, СД – сахарный диабет, ИЛ-1β – интерлейкин 1β

Таблица 24. Классификация регрессионной модели

	Предсказанные исходы		
Наблюдаемые исходы	Нет ИБС	Есть ИБС	Верно классифицированные
Нет ИБС	50	9	87,2%
Есть ИБС	18	43	74,5%
Общий процент верно предсказанных исходов			78%

Примечание. При F(z) ≥0,612055 (точка отсечения) вероятно наличие ИБС (Чувствительность – 74,5%; Специфичность – 87,2 %.

Построенная многофакторная логистическая регрессионная модель (AUC 0,865) носит преимущественно эксплораторный (поисковый) характер. Ее главная задача — не создание рутинного диагностического калькулятора, а математическое доказательство того факта, что выявленные нами клеточные изменения сохраняют свою независимую значимость даже с поправкой на мощные классические факторы риска (курение, АГ). Расчет дополнительных метрик (NRI, IDI) представляется перспективным для будущих валидационных исследований на расширенных выборках.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Согласно данным ряда исследований, доля пациентов с ранним развитием ИБС в общей популяции больных ИБС составляет от 1,3% до 6% [342-343]. По данным Gupta A. и соавт., с 2001 по 2010 г. число госпитализаций пациентов по поводу ОИМ в возрасте 30-54 лет не претерпевает снижения [346]. Следовательно, с целью расширения возможностей профилактики ИБС в этой возрастной категории крайне актуальным является коррекция уже известных и поиск новых факторов, способствующих развитию данного заболевания.

В настоящее исследование включались мужчины с возникновением клинических проявлений ИБС в возрасте ≤55 лет и женщины с возникновением клинических проявлений ИБС в возрасте ≤65 лет. Анализ литературы выявил существенные различия в подходах к отбору пациентов в исследования, посвященные рано возникшей ИБС. Многие авторы используют при отборе возрастной диапазон 35-65 лет вне зависимости от пола пациентов, тем самым игнорируя факт, что критерии рано возникшей ИБС у мужчин и у женщин различны. Такое различие осложняет сравнение результатов этих исследований с работами, где данный факт учитывался. Кроме того, большинство исследований, посвященных ранней ИБС, сосредоточены на пациентах с ОКС или ИМ, а пациенты со стабильной стенокардией часто исключались из анализа.

Результаты настоящего исследования показали, что среди пациентов с ранним развитием ИБС количество мужчин почти в два раза превышает количество женщин, что согласуется с данными других работ [47-49, 347]. В группе пациентов с ранним развитием ИБС наиболее распространенными факторами риска были АГ (91% случаев), отягощенная наследственность по ИБС (77%) и курение (55%). Полученные значения распространенности СД, отягощенного семейного анамнеза и курения оказались сопоставимы с литературными данными, где курение отмечалось у 49-92,5% пациентов [4, 54-62, 348], неблагоприятная

наследственность – у 19,8-62,3% [76, 347], а СД – у 21,7-26,9% [86, 349]. Частота АГ в настоящем исследовании (91%) оказалось выше, чем в предшествующих публикациях (39,5-75,9%) [51, 64]. Данные о распространенности дислипидемии (ХС ЛНП>3 ммоль/л и низкий уровень ХС ЛВП) в ранее проведенных исследованиях остаются противоречивыми. В исследовании Chen L и соавт. уровень ХС ЛНП у пациентов с рано возникшей ИБС (0,9±0,2 ммоль/л) был ниже, в сравнении с его уровнем у больных ИБС старшего возраста (1,1±0,4 ммоль/л) [67]. В то же время, в исследовании Xie J и соавт. уровень ХС ЛНП у пациентов с рано возникшей ИБС (2,5 ± 0,96 ммоль/л) был выше, чем его уровень у пациентов с ИБС возникшей в более позднем возрасте (2,17 ± 0,80 ммоль/л) [68]. Сравнительный анализ распространенности факторов риска среди пациентов с ранней ИБС осложняет отсутствие унифицированных критериев отбора в различных исследованиях. Хотя частота артериальной гипертензии и сахарного диабета увеличивается с возрастом и потому ниже у молодых пациентов, большинство опубликованных данных подтверждает, что ведущими факторами риска в этой группе остаются курение и мужской пол. В данном исследовании инфаркт миокарда был первым проявлением ИБС в 46% случаев, причем у мужчин его частота была гораздо выше (83%), чем у женщин (51,8%). Полученные данные соответствуют диапазону значений (36-76%), описанному в литературе [105, 106, 341, 350], где также отмечается связь вероятности инфаркта как первого события с возрастом пациента на момент дебюта заболевания [105].

В данном исследовании частота поражения двух и трех коронарных артерий у пациентов с ранним развитием ИБС была сопоставимой. В ряде предшествующих работ чаще регистрировалось односсудистое поражение (44-54% случаев) [67, 78].

Различие в результатах, вероятно, связано с разным дизайном исследований: в других работах анализировали пациентов на этапе первичной манифестации ИБС, а в настоящей работе изучали больных через несколько лет после дебюта ИБС.

В настоящем исследовании была изучена секреция провоспалительных цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, MCP-1/CCL2 и ФНО-α) в первичной культуре моноцитов из крови пациентов с рано возникшей ИБС [351,352]. ИЛ-1β является

одним из основных секретируемых макрофагами и участвующих в атерогенезе провоспалительных цитокинов, к которым относят так же ИЛ-6, ФНО-α и MCP-1/CCL2 [172,343]. Наряду с макрофагами, синтез ИЛ-1β в основном так же осуществляется клетками эндотелия и ГМК. Участие ИЛ-1β в атерогенезе и связанных с атеросклерозом заболеваниях было продемонстрировано во многих клинических и экспериментальных исследованиях. ИЛ-1β участвует атерогенезе, способствуя адгезии лейкоцитов к клеткам эндотелия, а также увеличивая активность и пролиферацию ГМК [353,354]. Селективное подавление синтеза ИЛ-1β методом генной инженерии у мышей подавляло образование АСБ [355]. В исследовании CANTOS было продемонстрировано, что моноклональные антитела к ИЛ-1β снижают риск возникновения неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у лиц, перенесших ИМ [26].

Синтез ИЛ-6 происходит главным образом в моноцитах/макрофагах, эндотелиоцитах, гладкомышечных клетках и фибробластах [177,356]. Его роль в развитии воспаления реализуется через ряд механизмов, включая подавление апоптоза Т-лимфоцитов, обеспечение миграции лейкоцитов в воспалительный очаг, супрессия дифференцировки Т-лимфоцитов в Treg-клетки и т.п. [356,357]. Во многих исследованиях было показано, что более высокий уровень ИЛ-6 связан с возникновением и неблагоприятным прогнозом заболеваний, обусловленных атеросклерозом [356,358]. В проспективном исследовании, в которое вошли около 15000 относительно здоровых мужчин, повышенный уровень ИЛ-6 был увеличивал риск возникновения ИМ [359, 360]. Согласно результатам исследования CANTOS, благоприятное влияние канакинумаба на течение атеросклероза в определенной степени обусловлено снижением уровня ИЛ-6 при приеме препарата [175].

ФНО-α - один из ключевых цитокинов, участвующих в атерогенезе. ФНО-α в основном продуцируется моноцитами/макрофагами, Th1-клетками и дендритными клетками [361]. ФНО-α участвует в разнообразных процессах, сопутствующих атерогенезу. Связывание секретируемых макрофагами ФНО-α с рецепторами эндотелиальных клеток запускает в них сигнальный путь с участием провоспалительного фактора транскрипции NF-κB [215]. ФНО-α индуцируют

транскрипцию и трансляцию эндотелиальными клетками E-селектина и VCAM-1 [174]. При атеросклерозе происходит снижение экспрессии рецепторов FGFR1, вызванное, в том числе, воздействием ФНО-α. Это приводит к увеличению экспрессии рецепторов TGF-β 1-го типа и, как следствие этого, к эндотелиально-мезенхимному переходу. Трансформация эндотелиальных клеток приводит к увеличению проницаемости сосудистой стенки и изменению внеклеточного матрикса [233]. В определенных условиях связывание ФНО-α с рецепторами на клеточной мембране запускает внутриклеточные процессы, приводящие к апоптозу [244].

Миграция моноцитов крови в субэндотелиальное пространство является одним из важных ранних этапов атерогенеза, который контролируется главным образом MCP-1 [362]. Его продукция осуществляется разнообразными клетками, включая моноциты/макрофаги, клетки эндотелия и ГМК [363]. При этом моноциты/макрофаги являются одним из основных источников продукции MCP-1. MCP-1, секретируемый активированным эндотелием, является важным хемокином, участвующим в привлечении моноцитов в формирующийся очаг воспаления [219]. Секреция MCP-1 макрофагами и ГМК приводит к еще большему привлечению циркулирующих в крови моноцитов в очаг воспаления. В экспериментах на животных было показано, что дефицит MCP-1 замедляет прогрессирование атеросклероза, тогда как его избыточная продукция к увеличению его прогрессирования [344]. Генетическая предрасположенность к повышенному уровню MCP-1 в крови связана с повышенным риском инсульта, ИБС и ИМ [364]. Более высокие значения уровня MCP-1 в крови связаны с неблагоприятным прогнозом независимо от других факторов риска у пациентов с острым коронарным синдромом [363].

ИЛ-8 (CXCL8) представляет собой хемокин, продуцируемый различными типами клеток, включая эндотелиальные клетки, моноциты/макрофаги, ГМК и Т-клетки [365]. При этом моноциты/макрофаги являются одним основным источником продукции ИЛ-8 [366]. ИЛ-8 участвует в атерогенезе, привлекая циркулирующие в крови моноциты и нейтрофилы в очаг воспаления [367],

индуцируя образование внеклеточных ловушек нейтрофилов [368], стимулируя пролиферацию и миграцию ГМК [368]. В исследовании Apostolopoulos J. И соавт. было показано, что макрофаги из атеросклеротических бляшек пациентов демонстрируют повышенную способность продуцировать ИЛ-8 по сравнению с моноцитами крови этих же пациентов [369]. В проспективном исследовании EPIC-Norfolk у здоровых мужчин и женщин более высокий уровень ИЛ-8 в крови был связан с риском возникновения ИБС (ОШ 1,77; 95%ДИ 1,21-2,60; p=0,001) [370]. В других исследованиях было показано, что более высокие значения уровня ИЛ-8 являлся независимым предиктором возникновения неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов со стабильной ИБС [371] и острым коронарным синдромом [365]. Тем не менее имеются исследования, в которых более высокие значения уровня ИЛ-8 оказывали обратный эффект. Так в исследовании Stockholm Heart Epidemiology Program более высокие значения уровня ИЛ-8 в крови уменьшали риск возникновения ИМ у женщин [370].

Настоящее исследование выявило провоспалительную активацию моноцитов/макрофагов у пациентов с рано возникшей ИБС, которая заключается в увеличении базальной и стимулированной секреции провоспалительных цитокинов ФНО-α, ИЛ-1β, MCP-1 и базальной секреции ИЛ-6. Результаты логистического регрессионного анализа показали, что уровень секреции ИЛ-1β является независимым предиктором наличия ИБС, наряду с курением, АГ и СД.

Исследования, касающиеся изучения цитокинов у пациентов с рано возникшей ИБС, немногочисленны и носят противоречивый характер. Согласно результатам исследования Cho S. и соавт., учет в дополнении к традиционным факторам риска ИБС уровня вчСРБ и ИЛ-6 в крови лучше предсказывает риск возникновения рано возникшей ИБС [6]. В большинстве исследований уровень цитокинов оценивался в сыворотке крови, где на их концентрацию оказывает влияние множество различных факторов, таких как инфекционные, воспалительные, аутоиммунные заболевания и ряд других заболеваний. Кроме того, в исследованиях, посвященных связи уровня цитокинов с ИБС, чаще всего принимали участие пациенты с ИМ, а не стабильной ИБС. При остром ИМ

происходит массивный выброс цитокинов в ответ на некроз кардиомиоцитов и развитие воспалительной реакции в зоне повреждения, что приводит к значительному повышению уровня провоспалительных цитокинов в крови.

Исследования, касающиеся изучения секреции цитокинов моноцитами/макрофагами пациентов с рано возникшей ИБС в культуре клеток, малочисленны. В работе Nikiforov N.G. и соавт., в которую были включены пациенты с ИБС, средний возраст которых равнялся 58 годам, была показана более высокая базальная и ЛПС-стимулированная секреция ИЛ-1β моноцитами этих больных в сравнении с секрецией ИЛ-1β моноцитами пациентов без атеросклероза коронарных артерий. Наряду с этим авторы исследования обнаружили более высокую секрецию MCP-1 макрофагами больных ИБС при повторной стимуляции макрофагов ЛПС на 7-е сутки [8]. Было так же показано, что повышенная способность к секреции провоспалительных цитокинов культивируемыми моноцитами, полученными из крови больных с субклиническим атеросклерозом, связана с выраженностью атеросклеротического поражения сонных артерий [7]. В исследовании Liuzzo G. и соавт. ЛПС-стимулированная секреция ИЛ-6 моноцитами, полученными из крови пациентов с нестабильной стенокардией, была выше у тех пациентов, у которых при проспективном наблюдении возник ИМ или повторный эпизод нестабильной стенокардии, в сравнении с больными, у которых подобных эпизодов обострения заболевания не было, а также в сравнении с пациентами со стабильной стенокардией и здоровыми пациентами [372].

По результатам настоящего исследования, у пациентов с рано возникшей ИБС в сравнении с пациентами контрольной группы было выявлено различие в уровне гетероплазмии мтДНК в моноцитах по мутации m.3336T>C. Эта точечная мутация считается «молчащей», так как не изменяет аминокислотную последовательность белка (замена ATT на ATC, обе кодируют изолейцин). Ряд исследований выявил её связь с развитием атеросклероза сонных артерий и ИБС [20,296]. Предположительно, данная мутация тесно сцеплена с пока не выявленными патогенными мутациями данного митохондриального гена, которые и опосредуют проатерогенный эффект. Однако согласно результатам проведенного

в настоящем исследовании однофакторного дисперсионного анализа, различие в уровне гетероплазмии мтДНК в моноцитах по мутации m.3336T>C у пациентов с рано возникшей ИБС и у пациентов контрольной группы оказалось незначимым.

Большинство обнаруженных мутаций мтДНК непатогенны. Однако в сочетании с иными факторами они потенциально могут способствовать развитию клинических проявлений заболевания. Это связано с феноменом гетероплазмии. Именно от уровня гетероплазмии зависит тяжесть митохондриальной патологии. Для проявления клинических симптомов конкретного заболевания необходимо, чтобы количество мутантной ДНК превысило пороговый эффект. Критическим для манифестации митохондриального заболевания условно считают значение 60–90% копий мтДНК с мутацией. Для изучения связи с рано возникшей ИБС в настоящем исследовании был отобран ряд мутаций мтДНК (m.1555A>G, m.5178C>A, m.12315G>A, m.3336T>C, m.15059G>A, m.13513G>A, m.3256C>T, m.14459G>A, m.14846G>A), которые, как было показано ранее, ассоциированы с заболеваниями, обусловленными атеросклерозом артериального русла. Так в исследовании Собенина И.А. и соавт. была изучена связь гетероплазмии различных мутаций мтДНК в лейкоцитах человека с выраженностью атеросклероза сонных артерий и наличием ИБС [293]. Авторами исследования было показано, что уровень гетероплазмии мтДНК по мутациям m.3256C>T, m.3336T>C, m.12315G>A, m.13513G>A, m.14459G>A, m.14846G>A и m.15059G>A был прямо связан, как с выраженностью атеросклероза сонных артерий, так и с наличием ИБС. В других исследовании был выявлен более высокий уровень гетероплазмии мтДНК по мутациям m.1555A>G, m.3256C>T, m.3336T>C, m.13513G>A, m.15059G>A, m.12315G>A и m.5178C>A в пораженных атеросклерозом участках интимы аорты в сравнении с непораженными участками [287,374,375]. Тем не менее, в настоящем исследовании различий в уровне гетероплазмии мтДНК в моноцитах пациентов с ранним развитием ИБС и пациентов без этого заболевания ни по одной из выбранных для изучения мутаций не было выявлено.

Исследования митохондриальной гетероплазмии у пациентов с ранним развитием ИБС немногочисленные. В исследовании Lorca R. и соавт. был

осуществлен поиск мутаций мтДНК, ассоциированных с ранним возникновением ИБС [19]. В исследование были включены 188 пациентов с рано возникшей ИБС, проявившейся ИМ с подъемом сегмента ST и 271 пациент без ИБС аналогичного возраста контрольной группы. Согласно результатам исследования, уровень гетероплазмии мтДНК по мутации m.16223C>T был выше у пациентов с рано возникшей ИБС.

В настоящем исследовании не было выявлено различий в базальной и стимулированной секреции мСРБ моноцитами/макрофагами пациентов с рано возникшей ИБС и пациентов контрольной группы. Концентрация мСРБ в плазме крови была выше в группе пациентов с ранним развитием ИБС в сравнении с группой контроля. При этом уровень вчСРБ в обеих группах не отличался. Согласно однофакторному логистическому регрессионному анализу, уровень мСРБ в крови являлся фактором, связанным с вероятностью выявления ИБС у мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет. Различие в уровне мСРБ в крови и культуральной жидкости может быть связано с тем, что СРБ синтезируется преимущественно в гепатоцитах, а также в ГМК, эндотелиальных клетках, лимфоцитах и адипоцитах. Вероятно, что повышенный уровень мСРБ в периферической крови у пациентов с ранним развитием ИБС обусловлен преимущественно внемоноцитарными источниками его синтеза.

Работ, посвященных изучению связи между уровнем мСРБ и ранним развитием ИБС, не проводилось. Исследования, оценивающие корреляцию мСРБ с атеросклеротическими сердечно-сосудистыми заболеваниями, немногочисленны. В исследовании Wang J. и соавт., было показано, что среди пациентов с ОИМ, нестабильной и стабильной стенокардией максимальная концентрация мСРБ выявлялась в плазме крови у больных с ОИМ. У пациентов со стабильной стенокардией уровень мСРБ, напротив, был ниже порога обнаружения [334]. В работе Wu K.-L. и соавт. было показано, что среди пациентов с системным васкулитом, связанным с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами, уровень мСРБ был выше у пациентов с острым ИМ, чем у тех, у кого его не было [376]. Согласно данным исследования Мельникова И.С. и соавт., у пациентов с

прогрессирующей формой каротидного атеросклероза плазменная концентрация мСРБ была выше, чем у больных со стабильной формой заболевания. Корреляции между уровнями вчСРБ и мСРБ обнаружено не было [319].

Факторами, связанными с наличием рано возникшей ИБС, согласно результатам проведенного логистического регрессионного анализа, являлись в порядке убывания курение (ОШ 5,005; 95%ДИ 1,702-14,717, p=0,003), АГ (ОШ 4,031; 95%ДИ 1,120-14,506, p=0,033), уровень мСРБ в крови (ОШ 1,137; 95%ДИ 1,033-1250, p=0,009), стимулированная секреция моноцитами/макрофагами ИЛ-1β (ОШ 1,011; 95%ДИ 1,001-1,022, p=0,035), Учет секреции ИЛ-1β моноцитами/макрофагами и уровня мСРБ в крови, наряду с традиционными факторами риска ИБС (курение, АГ, СД, отягощенная наследственность в отношении ИБС), позволяет повысить предсказующую ценность модели прогнозирования наличия рано возникшей ИБС.

Следует отметить, что, несмотря на наличие статистически значимых различий (сдвиг медианы) в уровнях стимулированной секреции ИЛ-1β, наблюдается определенное перекрытие межквартильных размахов в исследуемых группах. Это свидетельствует о том, что данный показатель отражает не дихотомический признак (болен/здоров), а непрерывный патогенетический континуум. Выявленная статистически значимая тенденция подтверждает фундаментальную роль гиперреактивности моноцитов на популяционном уровне, даже если на индивидуальном уровне экспрессия цитокинов попадает в «серую зону». В связи с этим данный параметр следует рассматривать прежде всего как патогенетический маркер, а не как изолированный диагностический критерий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе было проведено изучение секреторной активности моноцитов/макрофагов, степени гетероплазмии мутаций их мтДНК, а также уровня мСРБ у пациентов с ранним развитием ИБС. Проведена оценка уровня провоспалительных цитокинов в культуральной жидкости моноцитов (ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-6, МСР-1, ИЛ-8) и их связи с наличием этого заболевания. Было выявлено, что у пациентов с ранним развитием ИБС по сравнению с пациентами контрольной группы наблюдается более высокая базальная секреция ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-6 и МСР-1, стимулированная секреция ИЛ-1β и повторно стимулированная секреция ФНО-α, ИЛ-1β и МСР-1. В рамках исследования были проанализированы мутации мтДНК: m.1555A>G, m.5178C>A, m.12315G>A, m.3336T>C, m.15059G>A, m.13513G>A, m.3256C>T, m.14459G>A, m.14846G>A. По результатам настоящей работы, степень гетероплазмии мутации m.3336T>C была выше в группе с ранним развитием ИБС. Однако в результате однофакторного анализа не было выявлено связи между этим показателем и наличием рано возникшей ИБС. Исследование уровня базальной и стимулированной секреции мСРБ моноцитами не выявило различий у пациентов обеих групп, однако в крови пациентов с ранним развитием ИБС уровень мСРБ был выше, чем у пациентов контрольной группы.

Так же в настоящем исследовании проводилась оценка связи между секрецией моноцитами/макрофагами провоспалительных цитокинов, уровнем мСРБ в крови и традиционными факторами риска. Было установлено, что у мужчин до 55 лет и женщин до 65 лет повторно ЛПС-стимулированная секреция ИЛ-1β и уровень мСРБ в крови являются независимыми факторами риска развития ИБС, наряду с курением (ОШ 5,005) и АГ (ОШ 4,031). Проведенный ROC-анализ продемонстрировал высокую диагностическую ценность разработанной модели прогнозирования наличия ИБС. Площадь под кривой (AUC) составила 0,865 ± 0,038 (95% ДИ 0,790-0,940), при этом модель верно классифицировала 78% пациентов. Достигнутые показатели чувствительности (74,5%) и специфичности (87,2%) при пороге отсечения

0,61 подтверждают высокую прогностическую значимость модели.

ВЫВОДЫ

1. Пациенты с ранним развитием ИБС, по сравнению с пациентами без этого заболевания, имеют в культуре клеток моноцитов/макрофагов более высокую базальную секрецию ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-6, МСР-1, стимулированную секрецию ИЛ-1β и повторно стимулированную секрецию ФНО-α, ИЛ-1β и МСР-1.

2. Уровень гетероплазмии мтДНК в моноцитах по мутациям m.1555A>G, m.5178C>A, m.12315G>A, m.3336T>C, m.15059G>A, m.13513G>A, m.3256C>T, m.14459G>A, m.14846G>A не отличается у пациентов с ранним развитием ИБС и пациентов без этого заболевания.

3. Уровень мСРБ в крови выше у пациентов с ранним развитием ИБС по сравнению с пациентами контрольной группы, в то время как уровень вчСРБ в крови не отличается у пациентов обеих групп. Уровень мСРБ в крови не связан с базальной и стимулированной секрецией мСРБ в первичной культуре моноцитов у пациентов с ранним развитием ИБС и пациентов без этого заболевания.

4. У мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет ЛПС-стимулированная секреция моноцитами ИЛ-1β (ОШ 1,011; 95% ДИ 1,001-1,022; p=0,035) и уровень мСРБ в крови (ОШ 1,137; 95% ДИ 1,033-1,250; p=0,009) вне зависимости от традиционных факторов риска связаны с повышенной вероятностью наличия ИБС.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Выявленный фенотип гиперреактивности моноцитов (с максимизацией выброса ИЛ-1β после двукратной стимуляции) и измерение уровня мСРБ в крови целесообразно использовать в условиях научно-исследовательских институтов и специализированных кардиологических центров третьего уровня. Оценка стимулированной секреции ИЛ-1β in vitro и измерение уровня мСРБ в крови может применяться для создания пациент-специфичных клеточных моделей, прогнозирования величины "остаточного воспалительного риска" у лиц с рано возникшей ИБС при отсутствии классических модифицируемых факторов, а также для стратификации пациентов перед включением в клинические исследования таргетной противовоспалительной терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gulati R. Acute Myocardial Infarction in Young Individuals / Gulati R., Behfar A., Narula J. et al. // Mayo Clin Proc. – 2020. – №95. – P. 136–156.

2. Morillas P. Characteristics and outcome of acute myocardial infarction in young patients. The PRIAMHO II study / Morillas P., Bertomeu V., Pabón P. et al. // Cardiology. – 2007. – №107. – P. 217–225.

3. Maroszyńska-Dmoch E. M. Clinical and angiographic characteristics of coronary artery disease in young adults: a single centre study / Maroszyńska-Dmoch E. M., Wożakowska-Kapłon B. // Kardiol Pol. – 2016. – №74. – P. 320–321.

4. Qureshi W. T. Comparison of Prevalence, Presentation, and Prognosis of Acute Coronary Syndromes in ≤35 years, 36 - 54 years, and ≥ 55 years Patients / Qureshi W. T., Kakouros N., Fahed J., Rade J. J. // Am J Cardiol. – 2021. – №140. – P. 1–6.

5. Козлов С. Г. и соавт. Моноциты/макрофаги и атерогенез. Часть 1. Классификация и функция моноцитов/макрофагов / С. Г. Козлов, Т. В. Рязанцева, С. Д. Охота, И. С. Мельников, О. С. Сабурова, К. Г. Гурия, Л. В. Прокофьева, З. А. Габбасов // Атеросклероз и дислипидемии. – 2025. – № 3 (60). – С. 5–15.

6. Cho S. et al. The additive value of multiple biomarkers in prediction of premature coronary artery disease / Cho S., Lee S.H., Park S., Jee S.H., Hong M.K., Chung N., Cho S.Y., Jang Y. // Acta Cardiol. – 2015. – Vol. 70, № 2. – P. 205–210. doi: 10.1080/ac.70.2.3073512.

7. Nikiforov N. G. et al. Impaired LPS tolerance in monocytes of coronary atherosclerosis patients is associated with the intermediate subset / N. G. Nikiforov, E. S. Chegodaev, S. S. Verkhova, E. A. Pudova, M. A. Popov, A. V. Tvorogova, A. D. Zhuravlev, R. A. Maslennikov, A. V. Snezhkina, A. V. Kudryavtseva, E. E. Yegorov, A. V. Omelchenko, D. D. Borodko, D. I. Zybin, D. V. Shumakov, A. N. Orekhov // Journal of Leukocyte Biology. – 2025. – Vol. 117, № 5. – Art. qiaf060.

8. Nikiforov N. G. Trained Circulating Monocytes in Atherosclerosis: Ex Vivo Model

Approach / Nikiforov N. G., Wetzker R., Kubekina M. V., Petukhova A. V., Kirichenko T. V., Orekhov A. N. // Front Pharmacol. – 2019. – №10. – P. 725.

9. Peng W. Mitochondrial Dysfunction in Atherosclerosis / Peng W., Cai G., Xia Y. et al. // DNA Cell Biol. – 2019. – №38(7). – P. 597–606.

10. Sobenin I. A. Mutation C3256T of mitochondrial genome in white blood cells: novel genetic marker of atherosclerosis and coronary heart disease / Sobenin I. A., Sazonova M. A., Ivanova M. M. et al. // PLoS One. – 2012. – №7(10). – P. e46573.

11. Masingue M. Highly asymmetrical distribution of muscle wasting correlates to the heteroplasmy in a patient carrying a large-scale mitochondrial DNA deletion: A novel pathophysiological mechanism for explaining asymmetry in mitochondrial myopathies / Masingue M., Rucheton B., Bris C., Romero N. B., Procaccio V., Eymard B. // Neuromuscul Disord NMD. – 2022. – №32. – P. 923–930.

12. Heidari M. M. A novel heteroplasmic mutation in mitochondrial tRNAArg gene associated with non-dystrophic myotonias / Heidari M. M., Keshmirshekan A., Bidakhavidi M., Khosravi A., Bandari Z., Khatami M., Nafissi S. // Acta Neurol Belg. – 2020. – №120. – P. 573–580.

13. Yan C. Mitochondrial DNA: Distribution, Mutations, and Elimination / Yan C., Duanmu X., Zeng L., Liu B., Song Z. // Cells. – 2019. – №8. – P. 379.

14. Sazonova M. A. Role of Mitochondrial Genome Mutations in Pathogenesis of Carotid Atherosclerosis / Sazonova M. A., Sinyov V. V., Ryzhkova A. I., Galitsyna E. V., Khasanova Z. B., Postnov A. Y., Yarygina E. I., Orekhov A. N., Sobenin I. A. // Oxid Med Cell Longev. – 2017. – №2017. – P. 6934394.

15. Sazonova M. Studies of the human aortic intima by a direct quantitative assay of mutant alleles in the mitochondrial genome / Sazonova M., Budnikov E., Khasanova Z., Sobenin I., Postnov A., Orekhov A. // Atherosclerosis. – 2009. – №204. – P. 184–190.

16. Sobenin I. A. Quantitative assessment of heteroplasmy of mitochondrial genome: Perspectives in diagnostics and methodological pitfalls / Sobenin I. A., Mitrofanov K. Y., Zhelankin A. V., Sazonova M. A., Postnov A. Y., Revin V. V., Bobryshev Y. V., Orekhov A. N. // Biomed Res Int. – 2014. – №2014. – P. 292017.

17. Wang J. Analysis of mitochondrial DNA point mutation heteroplasmy by ARMS

quantitative PCR / Wang J., Venegas V., Li F., Wong L. J. // Curr Protoc Hum Genet. – 2011. – №68. – P. 19.6.

18. Mohammadi P. Comparative Analysis of Denaturing Gradient Gel Electrophoresis and Temporal Temperature Gradient Gel Electrophoresis Profiles as a Tool for the Differentiation of Candida Species / Mohammadi P., Hamidkhani A., Asgarani E. // Jundishapur J Microbiol. – 2015. – №8.

19. Lorca R. Mitochondrial Heteroplasmy as a Marker for Premature Coronary Artery Disease: Analysis of the Poly-C Tract of the Control Region Sequence / Lorca R., Aparicio A., Gómez J., Álvarez-Velasco R., Pascual I., Avanzas P., González-Urbistondo F., Alen A., Vázquez-Coto D., González-Fernández M. et al. // J Clin Med. – 2023. – №12. – P. 2133.

20. Sazonova M. A. Association of mutations in the mitochondrial genome with the subclinical carotid atherosclerosis in women / Sazonova M. A., Chicheva M. M., Zhelankin A. V., Sobenin I. A., Bobryshev Y. V., Orekhov A. N. // Exp Mol Pathol. – 2015. – №99. – P. 25–32.

21. Matam K. et al. Evidence for the presence of somatic mitochondrial DNA mutations in right atrial appendage tissues of coronary artery disease patients / Matam K., Shaik N. A., Aggarwal S., Diwale S., Banaganapalli B., Al-Aama J. Y. et al. // Molecular Genetics and Genomics: MGG. – 2014. – №289. – P. 533–540.

22. Orekhov A. N. et al. Genetics of Arterial-Wall-Specific Mechanisms in Atherosclerosis: Focus on Mitochondrial Mutations / Orekhov A. N., Ivanova E. A., Markin A. M., Nikiforov N. G., Sobenin I. A. // Current Atherosclerosis Reports. – 2020. – №22. – P. 54.

23. Zhang Z. et al. Maternally inherited coronary heart disease is associated with a novel mitochondrial tRNA mutation / Zhang Z., Liu M., He J., Zhang X., Chen Y., Li H. // BMC Cardiovascular Disorders. – 2019. – №19. – P. 293.

24. Liu H. et al. Mitochondrial DNA Is a Vital Driving Force in Ischemia-Reperfusion Injury in Cardiovascular Diseases / Liu H., Liu X., Zhou J., Li T. // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2022. – №2022. – P. 6235747.

25. Arnett D. K. et al. 2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of

Cardiovascular Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines / Arnett D. K., Blumenthal R. S. et al. // Circulation. – 2019. – №140. – P. e596–e646.

26. Ridker P. M. et al. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease / Ridker P. M., Everett B. M., Thuren T. et al. // N Engl J Med. – 2017. – №377(12). – P. 1119–1131.

27. Braig D. et al. Transitional changes in the CRP structure lead to the exposure of proinflammatory binding sites / Braig D., Nero T. L., Koch H.-G. et al. // Nature Communications. – 2017. – Vol. 8, № 1. – P. 14188.

28. McFadyen J. D. et al. Dissociation of C-Reactive Protein Localizes and Amplifies Inflammation: Evidence for a Direct Biological Role of C-Reactive Protein and Its Conformational Changes / McFadyen J. D., Kiefer J., Braig D. et al. // Front Immunol. – 2018. – №9. – P. 1351.

29. Molins B. et al. C-reactive protein isoforms differ in their effects on thrombus growth / Molins B., Peña E., Vilahur G. et al. // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2008. – №28. – P. 2239–2246.

30. Eisenhardt S. U. et al. Dissociation of Pentameric to Monomeric C-Reactive Protein on Activated Platelets Localizes Inflammation to Atherosclerotic Plaques / Eisenhardt S. U., Habersberger J., Murphy A. et al. // Circulation Research. – 2009. – Vol. 105. – P. 128–137.

31. Thiele J. R. et al. Dissociation of Pentameric to Monomeric C-Reactive Protein Localizes and Aggravates Inflammation: In Vivo Proof of a Powerful Proinflammatory Mechanism and a New Anti-Inflammatory Strategy / Thiele J. R., Habersberger J., Braig D. et al. // Circulation. – 2014. – Vol. 130. – P. 35–50.

32. Kolb-Bachofen V., Puchta-Teudt N., Egenhofer C. Expression of Membrane-Associated C-Reactive Protein by Human Monocytes: Indications for a Selectin-like Activity Participating in Adhesion // Glycoconjugate J. – 1995. – Vol. 12. – P. 122–127.

33. Ciubotaru I., Potempa L. A., Wander R. C. Production of Modified C-Reactive Protein in U937-Derived Macrophages // Exp Biol Med (Maywood). – 2005. – Vol. 230. – P. 762–770.

34. Michos E. D., Choi A. D. Coronary Artery Disease in Young Adults: A Hard Lesson But a Good Teacher // J Am Coll Cardiol. – 2019. – №74(15). – P. 1879–1882.

35. Virani S. S. et al. 2023 AHA/ACC/ACCP/ASPC/NLA/PCNA Guideline for the Management of Patients With Chronic Coronary Disease: A Report of the American Heart Association/American College of Cardiology Joint Committee on Clinical Practice Guidelines / Virani S. S., Newby L. K., Arnold S. V. et al. // Circulation. – 2023. – №148(9). – P. e9–e119.

36. Vrints C. et al. 2024 ESC Guidelines for the management of chronic coronary syndromes / Vrints C., Andreotti F., Koskinas K. C. et al.; ESC Scientific Document Group // Eur Heart J. – 2024. – №45(36). – P. 3415–3537.

37. SCORE2 working group and ESC Cardiovascular risk collaboration. SCORE2 risk prediction algorithms: new models to estimate 10-year risk of cardiovascular disease in Europe // European Heart Journal. – 2021. – №42(25). – P. 2439–2454.

38. D'Agostino R. B. et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham heart study / D'Agostino R. B., Vasan R. S., Pencina M. J., Wolf P. A., Cobain M., Massaro J. M. et al. // Circulation. – 2008. – №117. – P. 743–753.

39. Khan S. S. et al. Novel Prediction Equations for Absolute Risk Assessment of Total Cardiovascular Disease Incorporating Cardiovascular-Kidney-Metabolic Health: A Scientific Statement From the American Heart Association / Khan S. S., Coresh J., Pencina M. J., Ndumele C. E., Rangaswami J., Chow S. L. et al. // Circulation. – 2023. – №148(24).

40. Conroy R. M. et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project / Conroy R. M., Pyörälä K., Fitzgerald A. P., Sans S., Menotti A., De Backer G. et al. // Eur Heart J. – 2003. – №24(11). – P. 987–1003.

41. Karmali K. et al. A Systematic Examination of the 2013 ACC/AHA Pooled Cohort Risk Assessment Tool for Atherosclerotic Cardiovascular Disease / Karmali K., Goff D., Ning H. et al. // JACC. – 2014. – №64(10). – P. 959–968.

42. Ortvøit J. et al. Incidence, risk factors and outcome of young patients with myocardial infarction / Ortvøit J., Pripp A. H., Langørgen J., Halvorsen S. // Heart. – 2020. – №106. – P. 1420–1426.

43. Yandrapalli S. et al. Modifiable risk factors in young adults with first myocardial infarction / Yandrapalli S., Nabors C., Goyal A., Aronow W. S., Frishman W. H. // J Am Coll Cardiol. – 2019. – №73. – P. 573–584.

44. Dugani S. B. et al. Risk factors for premature myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis of 77 studies / Dugani S. B., Hydoub Y. M., Ayala A. P., Reka R., Nayfeh T., Ding J. F. et al. // Mayo Clin Proc Innov Qual Outcomes. – 2021. – №5. – P. 783–794.

45. Liu Q. et al. Risk factors, clinical features, and outcomes of premature acute myocardial infarction / Liu Q., Shi R.-J., Zhang Y.-M., Cheng Y.-H., Yang B.-S., Zhang Y.-K., Huang B.-T., Chen M. // Frontiers in Cardiovascular Medicine. – 2022. – №9.

46. Araki T. et al. Visualization of coronary plaque in type 2 diabetes mellitus patients using a new 40 MHz intravascular ultrasound imaging system / Araki T., Nakamura M., Utsunomiya M., Sugi K. // J Cardiol. – 2012. – №59(1). – P. 42–49.

47. Ann S. H. et al. Gender differences in plaque characteristics of culprit lesions in patients with ST elevation myocardial infarction / Ann S. H., De Jin C., Singh G. B. et al. // Heart Vessels. – 2016. – №31(11). – P. 1767–1775.

48. Qian J. et al. Impact of gender and age on in vivo virtual histology-intravascular ultrasound imaging plaque characterization (from the global Virtual Histology Intravascular Ultrasound [VH-IVUS] registry) / Qian J., Maehara A., Mintz G. S. et al. // Am J Cardiol. – 2009. – №103(9). – P. 1210–1214.

49. Schoenenberger A. W. et al. Acute coronary syndromes in young patients: presentation, treatment and outcome / Schoenenberger A. W., Radovanovic D., Stauffer J. C. et al. // Int J Cardiol. – 2011. – №148. – P. 300–304.

50. Hoit B. D. et al. Myocardial infarction in young patients: an analysis by age subsets / Hoit B. D., Gilpin E. A., Henning H., Maisel A. A., Dittrich H., Carlisle J., Ross J. Jr. // Circulation. – 1986. – №74. – P. 712–721.

51. Kennelly B. M. Etiology and risk factors in young patients with recent acute myocardial infarction // S Afr Med J. – 1982. – №61. – P. 503–507.

52. Teo K. K. et al. Tobacco use and risk of myocardial infarction in 52 countries in the INTERHEART study: a case-control study / Teo K. K., Ounpuu S., Hawken S. et al.

// The Lancet. – 2006. – №368(9536). – P. 647–658.

53. D'Agostino R. B. et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study / D'Agostino R. B. et al. // Circulation. – 2008. – №117(6). – P. 743–753.

54. Haji Aghajani M. et al. Is the prevalence of risk factors, clinical presentations and severity of coronary artery diseases (CAD) in patients with very early and premature CAD are different from mature CAD patients?: A registry- based cross-sectional study / Haji Aghajani M., Taherpour N., Parsa Mahjoob M. et al. // Glob Epidemiol. – 2024. – №8. – P. 100148.

55. Liu Q. et al. Risk factors, clinical features, and outcomes of premature acute myocardial infarction / Liu Q., Shi R. J., Zhang Y. M., Cheng Y. H., Yang B. S., Zhang Y. K., Huang B. T., Chen M. // Front Cardiovasc Med. – 2022. – №9.

56. Zeitouni M. et al. Risk Factor Burden and Long-Term Prognosis of Patients With Premature Coronary Artery Disease / Zeitouni M., Clare R. M., Chiswell K., Abdulrahim J., Shah N., Pagidipati N. P. et al. // J Am Heart Assoc. – 2020. – №9(24). – P. e017712.

57. Moret P. et al. Coronary Artery Disease in Young Adults Under 35 Years Old: Risk Factors (Swiss Survey) / P. Moret, F. Gutzwiller, B. Junod // Myocardial Infarction at Young Age / ed. by H. Roskamm. – Berlin, Heidelberg : Springer, 1981. – P. 35–47.

58. Gohlke H. et al. Coronary Angiographic Findings and Risk Factors in Postinfarction Patients Under the Age of 40 / H. Gohlke, P. Stürzenhofecker, A. Thilo, C. Droste, L. Görnandt, H. Roskamm // Myocardial Infarction at Young Age / ed. by H. Roskamm. – Berlin, Heidelberg : Springer, 1981. – P. 95–113.

59. Nüssel E. et al. Myocardial Infarction in Young Men in the Heidelberg Register Area / E. Nüssel, L. Buchholz, R. Scheidt // Myocardial Infarction at Young Age / ed. by H. Roskamm. – Berlin, Heidelberg : Springer, 1981. – P. 21–33.

60. Sheldon W. C. et al. Coronary Arteriographic Findings in Younger Survivors of Acute Myocardial Infarction Including Those with Normal Coronary Arteries / W. C. Sheldon, M. Razavi, Y. J. Lim // Myocardial Infarction at Young Age / ed. by H. Roskamm. – Berlin, Heidelberg : Springer, 1981. – P. 75–92. – DOI: 10.1007/978-3-642-68294-0_8.

61. Roth O., Berki A., Wolff G. D. Long range observations in fifty-three young patients with myocardial infarction // Am J Cardiol. – 1967. – №19. – P. 331–338.

62. Kennelly B. M. Etiology and risk factors in young patients with recent acute myocardial infarction // S Afr Med J. – 1982. – №61. – P. 503–507.

63. Mukherjee D. et al. Risk factors for premature coronary artery disease and determinants of adverse outcomes after revascularization in patients less than 40 years old / Mukherjee D., Hsu A., Moliterno D. J., Lincoff A. M., Goormastic M., Topol E. J. // Am J Cardiol. – 2003. – №92. – P. 1465–1467.

64. Winter M. P. et al. Lipid profile and long-term outcome in premature myocardial infarction / Winter M. P., Wiesbauer F., Blessberger H., Pavo N., Sulzgruber P., Huber K. et al. // Eur J Clin Invest. – 2018. – №48. – P. e13008.

65. Goliasch G. et al. Premature myocardial infarction is strongly associated with increased levels of remnant cholesterol / Goliasch G., Wiesbauer F., Blessberger H., Demyanets S., Wojta J., Huber K. et al. // J Clin Lipidol. – 2015. – №9. – P. 801–806.

66. Goliasch G. et al. Relative importance of different lipid risk factors for the development of myocardial infarction at a very young age (≤ 40 years of age) / Goliasch G., Oravec S., Blessberger H., Dostal E., Hoke M., Wojta J. et al. // Eur J Clin Invest. – 2012. – №42. – P. 631–636.

67. Chen L., Chester M., Kaski J. C. Clinical factors and angiographic features associated with premature coronary artery disease // Chest. – 1995. – №108. – P. 364.

68. Xie J. et al. Coronary plaque tissue characterization in patients with premature coronary artery disease / Xie J., Qi J., Mao H., Wang N., Ye X., Zhou L. et al. // Int J Cardiovasc Imaging. – 2020. – №36(6). – P. 1003–1011.

69. Poorzand H. et al. Risk factors of premature coronary artery disease in Iran: A systematic review and meta-analysis / Poorzand H., Tsarouhas K., Hozhabrossadati S. A. et al. // Eur J Clin Invest. – 2019. – №49(7). – P. e13124.

70. Catapano A. L. et al. 2016 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias / Catapano A. L., Graham I., De Backer G. et al. // European heart journal. – 2016. – №37. – P. 2999–3058.

71. Tsimikas S. et al. NHLBI Working Group Recommendations to Reduce

Lipoprotein(a) Mediated Risk of Cardiovascular Disease and Aortic Stenosis / Tsimikas S., Fazio S., Ferdinand K. C. et al. // J Am Coll Cardiol. – 2018. – №71. – P. 177–192.

72. Kamstrup P. R., Tybjaerg-Hansen A., Steffensen R., Nordestgaard B. G. Genetically elevated lipoprotein(a) and increased risk of myocardial infarction // Jama. – 2009. – №301. – P. 2331–2339.

73. Gragnano F. et al. Impact of lipoprotein(a) levels on recurrent cardiovascular events in patients with premature coronary artery disease / Gragnano F., Fimiani F., Di Maio M. et al. // Intern Emerg Med. – 2019. – №14. – P. 621–625.

74. Afshar M. et al. Lipoprotein(a) Interactions With Low-Density Lipoprotein Cholesterol and Other Cardiovascular Risk Factors in Premature Acute Coronary Syndrome (ACS) / Afshar M., Pilote L., Dufresne L., Engert J. C., Thanassoulis G. // J Am Heart Assoc. – 2016. – Vol. 5, № 4. – P. e003012.

75. Genest J. et al. Familial lipoprotein disorders in patients with premature coronary artery disease / Genest J., Martin-Munley S. S., McNamara J. R. et al. // Circulation. – 1992. – №85(6). – P. 2025–2033.

76. Chan M. Y. et al. Antecedent risk factors and their control in young patients with a first myocardial infarction / Chan M. Y., Woo K. S., Wong H. B. et al. // Singapore Med J. – 2006. – №47. – P. 27–30.

77. Haji Aghajani M. et al. Is the prevalence of risk factors, clinical presentations and severity of coronary artery diseases (CAD) in patients with very early and premature CAD are different from mature CAD patients?: A registry-based cross-sectional study / Haji Aghajani M., Taherpour N., Parsa Mahjoob M. et al. // Glob Epidemiol. – 2024. – №8. – P. 100148.

78. Sharma S. K. et al. Premature coronary artery disease, risk factors, clinical presentation, angiography and interventions: hospital based registry / Sharma S. K., Makkar J. S., Bana A. et al. // Indian Heart J. – 2022. – №74(5). – P. 391–397.

79. Choi J. et al. Sex- and gender-related risk factor burden in patients with premature acute coronary syndrome / Choi J., Daskalopoulou S. S., Thanassoulis G. et al. // Canadian Journal of Cardiology. – 2014. – №30(1). – P. 109–117.

80. Pelletier R. et al. A composite measure of gender and its association with risk

factors in patients with premature acute coronary syndrome / Pelletier R., Ditto B., Pilote L. // Psychosomatic Medicine. – 2015. – №77(5). – P. 517–526.

81. Qu Y. Gender-Related Differences in Clinical Characteristics and Outcomes of Premature Coronary Artery Disease: Insight from the FOCUS Registry / Qu Y., Yang J., Zhang F. et al. // J Interv Cardiol. – 2019. – P. 6762089.

82. Qureshi W. T. et al. Comparison of Prevalence, Presentation, and Prognosis of Acute Coronary Syndromes in ≤35 years, 36-54 years, and ≥55 years Patients / Qureshi W. T., Kakouros N., Fahed J., Rade J. J. // Am J Cardiol. – 2021. – №140. – P. 1–6.

83. Zgheib H. et al. Comparison of outcomes in ST-elevation myocardial infarction according to age / Zgheib H., Al Souky N., El Majzoub I. et al. // Am J Emerg Med. – 2020. – №38. – P. 485–490.

84. Chen T. S. et al. The demographic profile of young patients (<45 years-old) with acute coronary syndromes in Queensland / Chen T. S., Incani A., Butler T. C. et al. // Heart Lung Circ. – 2014. – №23(1). – P. 49–55.

85. Chan M. Y. et al. Antecedent risk factors and their control in young patients with a first myocardial infarction / Chan M. Y., Woo K. S., Wong H. B. et al. // Singapore Med J. – 2006. – №47. – P. 27–30.

86. Ruiz Pizarro V. et al. ST-Elevation Myocardial Infarction in Patients ≤35 Years of Age / Ruiz Pizarro V., Palacios-Rubio J., Cruz-Utrilla A. et al. // Am J Cardiol. – 2019. – №123. – P. 889–893.

87. Milionis H. J. et al. Metabolic syndrome and risk of acute coronary syndromes in patients younger than 45 years of age / Milionis H. J., Kalantzi K. J., Papathanasiou A. J. et al. // Coron Artery Dis. – 2007. – №18. – P. 247–252.

88. Otaki Y. et al. Gender differences in the prevalence, severity, and composition of coronary artery disease in the young: a study of 1635 individuals undergoing coronary CT angiography from the prospective, multinational confirm registry / Otaki Y., Gransar H., Cheng V. Y. et al. // European Heart Journal - Cardiovascular Imaging. – 2015. – №16(5). – P. 490–499.

89. Knuuti J. et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes / Knuuti J., Wijns W., Saraste A. et al.; ESC Scientific Document

Group // Eur Heart J. – 2020. – №41(3). – P. 407–477.

90. Cardiovascular diseases [Электронный ресурс]. – World Health Organization (WHO), 2020. – URL: https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases/#tab=tab_1 (дата обращения: 15.10.2023).

91. Noncommunicable diseases [Электронный ресурс]. – World Health Organization (WHO), 2018. – URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases (дата обращения: 15.10.2023).

92. Zimmerman F. H. et al. Myocardial infarction in young adults: Angiographic characterization, risk factors and prognosis (Coronary Artery Surgery Study Registry) / Zimmerman F. H., Cameron A., Fisher L. D. et al. // J Am Coll Cardiol. – 1995. – №26(3). – P. 654–661.

93. Cole J. H. et al. Long-term follow-up of coronary artery disease presenting in young adults / Cole J. H., Miller J. I., Sperling L. S., Weintraub W. S. // J Am Coll Cardiol. – 2003. – №41(4). – P. 521–528.

94. Hoit B. D. et al. Myocardial infarction in young patients: An analysis by age subsets / Hoit B. D., Gilpin E. A., Henning H. et al. // Circulation. – 1986. – №74(4). – P. 712–721.

95. Bachmann J. M. et al. Association between family history and coronary heart disease death across long-term follow-up in men: The cooper center longitudinal study / Bachmann J. M., Willis B. L., Ayers C. R. et al. // Circulation. – 2012. – №125(25). – P. 3092–3098.

96. Brunham L. R. et al. Canadian cardiovascular society position statement on familial hypercholesterolemia: Update 2018 / Brunham L. R. et al. // Can J Cardiol. – 2018. – №34(12). – P. 1553–1563.

97. Abul-Husn N. S. et al. Genetic identification of familial hypercholesterolemia within a single U.S. health care system / Abul-Husn N. S. et al. // Science. – 2016. – Vol. 354, № 6319. – P. aaf7000.

98. van Loon J. E. et al. Prognostic markers in young patients with premature coronary heart disease / van Loon J. E., de Maat M. P., Deckers J. W. et al. // Atherosclerosis. – 2012. – №224(1). – P. 213–217.

99. Aggarwal A. et al. Newer perspectives of coronary artery disease in young / Aggarwal A., Srivastava S., Velmurugan M. // World Journal of Cardiology. – 2016. – №8(12). – P. 728–734.

100. Pletcher M. J. et al. Alcohol consumption, binge drinking, and early coronary calcification: findings from the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study / Pletcher M. J., Varosy P., Kiefe C. I. et al. // Am J Epidemiol. – 2005. – №161(5). – P. 423–433.

101. Maino A. et al. Opium as a risk factor for early-onset coronary artery disease: Results from the Milano-Iran (MIran) study / Maino A., Sadeghian S., Mancini I. et al. // PLoS One. – 2023. – №18(4). – P. e0283707.

102. Batra V. et al. Early onset cardiovascular disease related to methamphetamine use is most striking in individuals under 30: a retrospective chart review / Batra V. et al. // Addict Behav Rep. – 2022. – №15. – P. 100435.

103. Doughty M. et al. Acute myocardial infarction in the young – The University of Michigan experience / Doughty M., Mehta R., Bruckman D. et al. // Am Heart J. – 2002. – №143(1). – P. 56–62.

104. Chen L., Chester M., Kaski J. C. Clinical factors and angiographic features associated with premature coronary artery disease // Chest. – 1995. – №108(2). – P. 364–369.

105. Fournier J. A. et al. Myocardial Infarction in Men Aged 40 Years or Less: A Prospective Clinical-Angiographic Study / Fournier J. A., Sanchez A., Quero J. et al. // Clin Cardiol. – 1996. – №19. – P. 631–636.

106. Klein L. W. et al. Prognosis of symptomatic coronary artery disease in young adults aged 40 years or less / Klein L. W., Agarwal J. B., Herlich M. B. et al. // Am J Cardiol. – 1987. – №60(16). – P. 1269–1272.

107. Sarda L. et al. Myocarditis in patients with clinical presentation of myocardial infarction and normal coronary angiograms / Sarda L., Colin P., Boccara F. et al. // J Am Coll Cardiol. – 2001. – №37(3). – P. 786–792.

108. Pilote L., Karp I. GENESIS-PRAXY (GENdEr and Sex determInantS of cardiovascular disease: From bench to beyond-Premature Acute Coronary SYndrome) //

American Heart Journal. – 2012. – №163(5). – P. 741–746.e2.

109. Soleimani A. et al. Comparison of coronary artery disease risk factors between patients below and above 45 years old / A. Soleimani, S. Dastgiri, A. Yaghoubi, B. Golestan, S. Imani, N. Hemmati, K. Naieni // Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research. – 2012. – Vol. 9, № 3. – P. 13–22.

110. Colkesen A. Y. et al. Coronary lesion type, location, and characteristics of acute ST elevation myocardial infarction in young adults under 35 years of age / A. Y. Colkesen, T. Acil, S. Demircan, A. T. Sezgin, H. Muderrisoglu // Coron Artery Dis. – 2008. – Vol. 19, № 5. – P. 345–347.

111. Tewari S. et al. Premature coronary artery disease in North India: an angiography study of 1971 patients / Tewari S., Kumar S., Kapoor A. et al. // Indian Heart J. – 2005. – №57. – P. 311–318.

112. Prajapati J. et al. Novel atherosclerotic risk factors and angiographic profile of young Gujarati patients with acute coronary syndrome / Prajapati J., Jain S., Virpariya K. et al. // J Assoc Phys India. – 2014. – №62. – P. 584–588.

113. Sinha S. K. et al. Acute myocardial infarction in very young adults: a clinical presentation, risk factors, hospital outcome index and their angiographic characteristics in North India- AMIYA study / Sinha S. K., Krishna V., Thakur R. et al. // ARYA Atheroscler. – 2017. – №13. – P. 79–87.

114. Michos E. D., Choi A. D. Coronary artery disease in young adults: a hard lesson but a good teacher // J Am Coll Cardiol. – 2019. – №74(15). – P. 1879–1882.

115. Tacke F., Randolph G. J. Migratory fate and differentiation of blood monocyte subsets // Immunobiology. – 2006. – №211(6-8). – P. 609–618.

116. van Furth R., Sluiter W. Distribution of blood monocytes between a marginating and a circulating pool // J Exp Med. – 1986. – №163(2). – P. 474–479.

117. Klonz A. et al. The marginal blood pool of the rat contains not only granulocytes, but also lymphocytes, NK-cells and monocytes: a second intravascular compartment, its cellular composition, adhesion molecule expression and interaction with the peripheral blood pool / Klonz A., Wonigeit K., Pabst R., Westermann J. // Scand J Immunol. – 1996. – №44(5). – P. 461–469.

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

119. Parihar A., Eubank T. D., Doseff A. I. Monocytes and macrophages regulate immunity through dynamic networks of survival and cell death // J Innate Immun. – 2010. – №2(3). – P. 204–215.

120. Passlick B., Flieger D., Ziegler-Heitbrock H. W. Identification and characterization of a novel monocyte subpopulation in human peripheral blood // Blood. – 1989. – №74(7). – P. 2527–2534.

121. Ziegler-Heitbrock L. Monocyte subsets in man and other species // Cell. Immunol. – 2014. – №289. – P. 135–139.

122. Dong H. et al. Structural insight into lipopolysaccharide transport from the Gram-negative bacterial inner membrane to the outer membrane / Dong H., Tang X., Zhang Z., Dong C. // Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids. – 2017. – №1862(11). – P. 1461–1467.

123. Thomas G. D. et al. Human Blood Monocyte Subsets: A New Gating Strategy Defined Using Cell Surface Markers Identified by Mass Cytometry / Thomas G. D., Hamers A. A. J., Nakao C. et al. // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2017. – №37(8). – P. 1548–1558.

124. Ziegler-Heitbrock L. et al. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood / Ziegler-Heitbrock L., Ancuta P., Crowe S. et al. // Blood. – 2010. – №116(16). – P. e74–e80.

125. Patel A. A. et al. The fate and lifespan of human monocyte subsets in steady state and systemic inflammation / Patel A. A., Zhang Y., Fullerton J. N. et al. // J Exp Med. – 2017. – №214(7). – P. 1913–1923.

126. Sugimoto C. et al. Differentiation kinetics of blood monocytes and dendritic cells in macaques: insights to understanding human myeloid cell development / Sugimoto C., Hasegawa A., Saito Y. et al. // J Immunol. – 2015. – №195(4). – P. 1774–1781.

127. Williams H. et al. Monocyte Differentiation and Heterogeneity: Inter-Subset and Interindividual Differences / Williams H., Mack C., Baraz R. et al. // Int J Mol Sci. –

2023. – №24(10). – P. 8757.

128. Cros J. et al. Human CD14dim monocytes patrol and sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8 receptors / Cros J., Cagnard N., Woollard K. et al. // Immunity. – 2010. – №33(3). – P. 375–386.

129. Boyette L. B. et al. Phenotype, function, and differentiation potential of human monocyte subsets / Boyette L. B., Macedo C., Hadi K. et al. // PLoS One. – 2017. – №12(4). – P. e0176460.

130. Tak T. et al. Circulatory and maturation kinetics of human monocyte subsets in vivo / Tak T., Drylewicz J., Conemans L. et al. // Blood. – 2017. – №130(12). – P. 1474–1477.

131. Belge K. U. et al. The proinflammatory CD14+CD16+DR++ monocytes are a major source of TNF / Belge K. U., Dayyani F., Horelt A. et al. // J Immunol. – 2002. – №168(7). – P. 3536–3542.

132. Wong K. L. et al. The three human monocyte subsets: implications for health and disease / Wong K. L., Yeap W. H., Tai J. J. et al. // Immunol Res. – 2012. – №53(1-3). – P. 41–57.

133. Patel A. A. et al. Monocytes, macrophages, dendritic cells and neutrophils: an update on lifespan kinetics in health and disease / Patel A. A., Ginhoux F., Yona S. // Immunology. – 2021. – №163(3). – P. 250–261.

134. Thomas G. et al. Nonclassical patrolling monocyte function in the vasculature / Thomas G., Tacke R., Hedrick C. C., Hanna R. N. // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2015. – №35(6). – P. 1306–1316.

135. Jakubzick C. V. et al. Monocyte differentiation and antigen-presenting functions / Jakubzick C. V., Randolph G. J., Henson P. M. // Nat Rev Immunol. – 2017. – №17(6). – P. 349–362.

136. Wong K. L. et al. Gene expression profiling reveals the defining features of the classical, intermediate, and nonclassical human monocyte subsets / Wong K. L., Tai J. J., Wong W. C. et al. // Blood. – 2011. – №118(5). – P. e16–e31.

137. Jakubzick C. et al. Minimal differentiation of classical monocytes as they survey steady-state tissues and transport antigen to lymph nodes / Jakubzick C., Gautier E. L.,

Gibbings S. L. et al. // Immunity. – 2013. – №39(3). – P. 599–610.

138. Ong S. M. et al. The pro-inflammatory phenotype of the human non-classical monocyte subset is attributed to senescence / Ong S. M., Hadadi E., Dang T. M. et al. // Cell Death Dis. – 2018. – №9(3). – P. 266.

139. Karsulovic C. et al. In vitro Phenotype Induction of Circulating Monocytes: CD16 and CD163 Analysis / Karsulovic C., Tempio F., Lopez M. et al. // J Inflamm Res. – 2021. – №14. – P. 191–198.

140. Wang K. et al. Toll-like receptors in health and disease / Wang K., Huang H., Zhan Q., Ding H., Li Y. // MedComm. – 2024. – №5(5). – P. e549.

141. Hashimoto D. et al. Tissue-resident macrophages self-maintain locally throughout adult life with minimal contribution from circulating monocytes / Hashimoto D., Chow A., Noizat C. et al. // Immunity. – 2013. – №38(4). – P. 792–804.

142. Susser L. I. Through the layers: how macrophages drive atherosclerosis across the vessel wall / Susser L. I., Rayner K. J. // J Clin Invest. – 2022. – №132(9). – P. e157011.

143. Hoeffel G., Ginhoux F. Fetal monocytes and the origins of tissue-resident macrophages // Cell Immunol. – 2018. – №330. – P. 5–15.

144. Strizova Z. et al. M1/M2 macrophages and their overlaps - myth or reality? / Strizova Z., Benesova I., Bartolini R. et al. // Clin Sci (Lond). – 2023. – №137(15). – P. 1067–1093.

145. Murray P. J., Wynn T. A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets // Nat Rev Immunol. – 2011. – №11. – P. 723–737.

146. Guilliams M., Scott C. L. Does niche competition determine the origin of tissue-resident macrophages? // Nat Rev Immunol. – 2017. – №17. – P. 451–460.

147. Mildner A., Kim K. W., Yona S. Unravelling monocyte functions: from the guardians of health to the regulators of disease // Discov Immunol. – 2024. – №3(1). – P. kyae014.

148. Sieweke M. H., Allen J. E. Beyond stem cells: self-renewal of differentiated macrophages // Science. – 2013. – №342(6161). – P. 1242974.

149. Williams J. W. et al. Macrophage Biology, Classification, and Phenotype in Cardiovascular Disease: JACC Macrophage in CVD Series (Part 1) / Williams J. W.,

Giannarelli C., Rahman A. et al. // J Am Coll Cardiol. – 2018. – №72(18). – P. 2166–2180.

150. Barth M. W. et al. Review of the macrophage disappearance reaction / Barth M. W., Hendrzak J. A., Melnicoff M. J., Morahan P. S. // J Leukoc Biol. – 1995. – №57(3). – P. 361–367.

151. Guilliams M. et al. Establishment and Maintenance of the Macrophage Niche / Guilliams M., Thierry G. R., Bonnardel J., Bajenoff M. // Immunity. – 2020. – №52(3). – P. 434–451.

152. Italiani P., Boraschi D. Development and Functional Differentiation of Tissue-Resident Versus Monocyte-Derived Macrophages in Inflammatory Reactions // Results Probl Cell Differ. – 2017. – №62. – P. 23–43.

153. Uribe-Querol E., Rosales C. Phagocytosis: Our Current Understanding of a Universal Biological Process // Front Immunol. – 2020. – №11. – P. 1066.

154. Hirayama D., Iida T., Nakase H. The Phagocytic Function of Macrophage-Enforcing Innate Immunity and Tissue Homeostasis // Int J Mol Sci. – 2017. – №19(1). – P. 92.

155. Saigusa R., Winkels H., Ley K. T cell subsets and functions in atherosclerosis // Nat Rev Cardiol. – 2020. – №17(7). – P. 387–401.

156. Sun L. et al. T cells in health and disease / Sun L., Su Y., Jiao A. et al. // Signal Transduct Target Ther. – 2023. – №8(1). – P. 235.

157. Liu T. et al. Immune cell-mediated features of atherosclerosis / Liu T., Chen Y., Hou L. et al. // Front Cardiovasc Med. – 2024. – №11. – P. 1450737.

158. Guerriero J. L. Macrophages: Their Untold Story in T Cell Activation and Function // Int Rev Cell Mol Biol. – 2019. – №342. – P. 73–93.

159. Luckheeram R. V. et al. $CD4^+$T cells: differentiation and functions / Luckheeram R. V., Zhou R., Verma A. D., Xia B. // Clin Dev Immunol. – 2012. – №2012. – P. 925135.

160. Raphael I. et al. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases / Raphael I., Nalawade S., Eagar T. N., Forsthuber T. G. // Cytokine. – 2015. – №74(1). – P. 5–17.

161. Italiani P., Boraschi D. From Monocytes to M1/M2 Macrophages: Phenotypical

vs. Functional Differentiation // Front Immunol. – 2014. – №5. – P. 514.

162. Korchagina A. A. et al. Innate Lymphoid Cells in Response to Intracellular Pathogens: Protection Versus Immunopathology / Korchagina A. A., Koroleva E., Tumanov A. V. // Front Cell Infect Microbiol. – 2021. – №11. – P. 775554.

163. Keegan A. D. et al. Recent advances in understanding the role of IL-4 signaling / Keegan A. D., Leonard W. J., Zhu J. // Fac Rev. – 2021. – №10. – P. 71.

164. Kierdorf K., Dionne M. S. The Software and Hardware of Macrophages: A Diversity of Options // Dev Cell. – 2016. – №38(2). – P. 122–125.

165. Unuvar Purcu D. et al. Effect of stimulation time on the expression of human macrophage polarization markers / Unuvar Purcu D., Korkmaz A., Gunalp S. et al. // PLoS One. – 2022. – №17(3). – P. e0265196.

166. Tarique A. A. et al. Phenotypic, functional, and plasticity features of classical and alternatively activated human macrophages / Tarique A. A., Logan J., Thomas E. et al. // Am J Respir Cell Mol Biol. – 2015. – №53(5). – P. 676–688.

167. Mia S. et al. An optimized protocol for human M2 macrophages using M-CSF and IL-4/IL-10/TGF-β yields a dominant immunosuppressive phenotype / Mia S., Warnecke A., Zhang X. M. et al. // Scand J Immunol. – 2014. – №79(5). – P. 305–314.

168. Maksimova A. A. et al. M-CSF and GM-CSF determine the fibromodulating activity of polarized human macrophages / Maksimova A. A., Shevela E. Ya., Sakhno L. V. et al. // Medical Immunology. – 2022. – №24(5). – P. 931–942.

169. Orekhov A. N. et al. Monocyte differentiation and macrophage polarization / Orekhov A. N., Orekhova V. A., Nikiforov N. G. et al. // Vessel Plus. – 2019. – №3. – P. 10.

170. Ushach I., Zlotnik A. Biological role of granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) on cells of the myeloid lineage // J Leukoc Biol. – 2016. – №100(3). – P. 481–489.

171. Wu J. et al. Macrophage polarization states in atherosclerosis / Wu J., He S., Song Z. et al. // Front Immunol. – 2023. – №14. – P. 1185587.

172. Turner M. D. et al. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease / Turner M. D., Nedjai B., Hurst T., Pennington D. J. // Biochim

Biophys Acta. – 2014. – №1843(11). – P. 2563–2582.

173. Ma J. et al. Cytokines associated with immune response in atherosclerosis / Ma J., Luo J., Sun Y., Zhao Z. // Am J Transl Res. – 2022. – №14(9). – P. 6424–6444.

174. Collins T. et al. Transcriptional regulation of endothelial cell adhesion molecules: NF-kappa B and cytokine-inducible enhancers / Collins T., Read M. A., Neish A. S. et al. // FASEB J. – 1995. – №9(10). – P. 899–909.

175. Ridker P. M. et al. Modulation of the interleukin-6 signalling pathway and incidence rates of atherosclerotic events and all-cause mortality: analyses from the Canakinumab Anti-Inflammatory Thrombosis Outcomes Study (CANTOS) / Ridker P. M., Libby P., MacFadyen J. G. et al. // Eur Heart J. – 2018. – №39(38). – P. 3499–3507.

176. Zhou C. et al. The role of CXCL family members in different diseases / Zhou C., Gao Y., Ding P., Wu T., Ji G. // Cell Death Discov. – 2023. – №9(1). – P. 212.

177. Liu Y., Hultén L. M., Wiklund O. Macrophages isolated from human atherosclerotic plaques produce IL-8, and oxysterols may have a regulatory function for IL-8 production // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 1997. – №17(2). – P. 317–323.

178. Rasheed A., Rayner K. J. Macrophage Responses to Environmental Stimuli During Homeostasis and Disease // Endocr Rev. – 2021. – №42(4). – P. 407–435.

179. Li C. et al. Macrophage polarization and meta-inflammation / Li C., Xu M. M., Wang K. et al. // Transl Res. – 2018. – №191. – P. 29–44.

180. Awad F. et al. Impact of human monocyte and macrophage polarization on NLR expression and NLRP3 inflammasome activation / Awad F., Assrawi E., Jumeau C. et al. // PLoS One. – 2017. – №12(4). – P. e0175336.

181. Chaintreuil P. et al. The generation, activation, and polarization of monocyte-derived macrophages in human malignancies / Chaintreuil P., Kerreneur E., Bourgoin M. et al. // Front Immunol. – 2023. – №14. – P. 1178337.

182. Fang F. et al. Tuning macrophages for atherosclerosis treatment / Fang F., Xiao C., Li C., Liu X., Li S. // Regen Biomater. – 2022. – №10. – P. rbac103.

183. Stanley A. C. et al. Recycling endosome-dependent and -independent mechanisms for IL-10 secretion in LPS-activated macrophages / Stanley A. C., Lieu Z. Z., Wall A. A. et al. // J Leukoc Biol. – 2012. – №92(6). – P. 1227–1239.

184. Lang R. et al. Shaping gene expression in activated and resting primary macrophages by IL-10 / Lang R., Patel D., Morris J. J. et al. // J Immunol. – 2002. – №169(5). – P. 2253–2263.

185. Deng Z. et al. TGF-β signaling in health, disease, and therapeutics / Deng Z., Fan T., Xiao C. et al. // Signal Transduct Target Ther. – 2024. – №9(1). – P. 61.

186. Hu T. et al. The Activation of M1 Macrophages is Associated with the JNK-m6A-p38 Axis in Chronic Obstructive Pulmonary Disease / Hu T., Pang N., Li Z. et al. // Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. – 2023. – №18. – P. 2195–2206.

187. Mills C. D. M1 and M2 Macrophages: Oracles of Health and Disease // Crit Rev Immunol. – 2012. – №32(6). – P. 463–488.

188. Xue J. et al. Transcriptome-based network analysis reveals a spectrum model of human macrophage activation / Xue J., Schmidt S. V., Sander J. et al. // Immunity. – 2014. – №40(2). – P. 274–288.

189. Patente T. A. et al. Human Dendritic Cells: Their Heterogeneity and Clinical Application Potential in Cancer Immunotherapy / Patente T. A., Pinho M. P., Oliveira A. A. et al. // Front Immunol. – 2019. – №9. – P. 3176.

190. Collin M., Bigley V. Human dendritic cell subsets: an update // Immunology. – 2018. – №154(1). – P. 3–20.

191. Segura E., Amigorena S. Inflammatory dendritic cells in mice and humans // Trends Immunol. – 2013. – №34(9). – P. 440–445.

192. Hiasa M. et al. GM-CSF and IL-4 induce dendritic cell differentiation and disrupt osteoclastogenesis through M-CSF receptor shedding by up-regulation of TNF-alpha converting enzyme (TACE) / Hiasa M., Abe M., Nakano A. et al. // Blood. – 2009. – №114(20). – P. 4517–4526.

193. Williams K. J., Tabas I. The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 1995. – №15(5). – P. 551–561.

194. Williams K. J., Tabas I. The response-to-retention hypothesis of atherogenesis reinforced // Curr Opin Lipidol. – 1998. – №9(5). – P. 471–474.

195. Scipione C. A., Cybulsky M. I. Early atherogenesis: new insights from new approaches // Curr Opin Lipidol. – 2022. – №33(5). – P. 271–276.

196. Zhang X., Fernández-Hernando C. Transport of LDLs into the arterial wall: impact in atherosclerosis // Curr Opin Lipidol. – 2020. – №31(5). – P. 279–285.

197. Jang E. et al. Transendothelial transport of lipoproteins / Jang E., Robert J., Rohrer L. et al. // Atherosclerosis. – 2020. – №315. – P. 111–125.

198. Парфенова Н. С., Танянский Д. А. Концепция эндотелиального трансцитоза как теоретическая предпосылка для разработки профилактики и лечения атеросклероза // Медицинский академический журнал. – 2023. – Т. 23, № 1. – С. 41–51.

199. Luchetti F. et al. LDL receptors, caveolae and cholesterol in endothelial dysfunction: oxLDLs accomplices or victims? / Luchetti F., Crinelli R., Nasoni M. G. et al. // Br J Pharmacol. – 2021. – №178(16). – P. 3104–3114.

200. Chistiakov D. A. et al. How do macrophages sense modified low-density lipoproteins? / Chistiakov D. A., Melnichenko A. A., Orekhov A. N., Bobryshev Y. V. // Int J Cardiol. – 2017. – №230. – P. 232–240.

201. Sukhorukov V. N. Lipid Metabolism in Macrophages: Focus on Atherosclerosis / Sukhorukov V. N., Khotina V. A., Chegodaev Y. S. et al. // Biomedicines. – 2020. – №8(8). – P. 262.

202. Sanmarco L. M. et al. New Insights into the Immunobiology of Mononuclear Phagocytic Cells and Their Relevance to the Pathogenesis of Cardiovascular Diseases / Sanmarco L. M., Eberhardt N., Ponce N. E. et al. // Front Immunol. – 2018. – №8. – P. 1921.

203. Gruber E. J. et al. Macrophage uptake of oxidized and acetylated low-density lipoproteins and generation of reactive oxygen species are regulated by linear stiffness of the growth surface / Gruber E. J., Aygun A. Y., Leifer C. A. // PLoS One. – 2021. – №16(12). – P. e0260756.

204. Kunjathoor V. V. et al. Scavenger receptors class A-I/II and CD36 are the principal receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages / Kunjathoor V. V., Febbraio M., Podrez E. A. et al. // J Biol Chem. – 2002. – №277(51). – P. 49982–49988.

205. Bartlett B. et al. Macrophages and T cells in atherosclerosis: a translational

perspective / Bartlett B., Ludewick H. P., Misra A. et al. // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2019. – №317(2). – P. H375–H386.

206. Orekhov A. N. et al. Role of Phagocytosis in the Pro-Inflammatory Response in LDL-Induced Foam Cell Formation; a Transcriptome Analysis / Orekhov A. N., Nikiforov N. G., Sukhorukov V. N. et al. // Int J Mol Sci. – 2020. – №21(3). – P. 817.

207. Bäck M. et al. Inflammation and its resolution in atherosclerosis: Mediators and therapeutic opportunities / Bäck M., Yurdagul A., Jr., Tabas I. et al. // Nat Rev Cardiol. – 2019. – №16. – P. 389–406.

208. Baumer Y. et al. Cholesterol crystals and atherosclerosis / Baumer Y., Mehta N. N., Dey A. K. et al. // Eur Heart J. – 2020. – №41(24). – P. 2236–2239.

209. Duewell P. et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals / Duewell P., Kono H., Rayner K. J. et al. // Nature. – 2010. – №464(7293). – P. 1357–1361.

210. Bae Y. S. et al. Macrophages generate reactive oxygen species in response to minimally oxidized low-density lipoprotein: toll-like receptor 4- and spleen tyrosine kinase-dependent activation of NADPH oxidase 2 / Bae Y. S., Lee J. H., Choi S. H. et al. // Circ Res. – 2009. – №104(2). – P. 210–218.

211. Zhu C. et al. TRIM64 promotes ox-LDL-induced foam cell formation, pyroptosis, and inflammation in THP-1-derived macrophages by activating a feedback loop with NF-κB via IκBα ubiquitination / Zhu C., Chen W., Cui H. et al. // Cell Biol Toxicol. – 2023. – №39(3). – P. 607–620.

212. Kim S. et al. Oxidized LDL induces vimentin secretion by macrophages and contributes to atherosclerotic inflammation / Kim S., Cho W., Kim I. et al. // J Mol Med (Berl). – 2020. – №98(7). – P. 973–983.

213. Karunakaran D. et al. RIPK1 Expression Associates With Inflammation in Early Atherosclerosis in Humans and Can Be Therapeutically Silenced to Reduce NF-κB Activation and Atherogenesis in Mice / Karunakaran D., Nguyen M. A., Geoffrion M. et al. // Circulation. – 2021. – №143(2). – P. 163–177.

214. Zhou X., Hansson G. K. Detection of B cells and proinflammatory cytokines in atherosclerotic plaques of hypercholesterolaemic apolipoprotein E knockout mice //

Scand J Immunol. – 1999. – №50(1). – P. 25–30.

215. Theodorou K., Boon R. A. Endothelial Cell Metabolism in Atherosclerosis // Front Cell Dev Biol. – 2018. – №6. – P. 82.

216. Zhang J. Biomarkers of endothelial activation and dysfunction in cardiovascular diseases // Rev Cardiovasc Med. – 2022. – №23(2). – P. 73.

217. Moore K. J. et al. Macrophage Trafficking, Inflammatory Resolution, and Genomics in Atherosclerosis: JACC Macrophage in CVD Series (Part 2) / Moore K. J., Koplev S., Fisher E. A. et al. // J Am Coll Cardiol. – 2018. – №72(18). – P. 2181–2197.

218. Gimbrone M. A. Jr., García-Cardeña G. Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis // Circ Res. – 2016. – №118(4). – P. 620–636.

219. Drechsler M., Duchene J., Soehnlein O. Chemokines control mobilization, recruitment, and fate of monocytes in atherosclerosis // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2015. – №35(5). – P. 1050–1055.

220. McAlpine C. S., Swirski F. K. Circadian Influence on Metabolism and Inflammation in Atherosclerosis // Circ Res. – 2016. – №119(1). – P. 131–141.

221. Medrano-Bosch M. et al. Monocyte-endothelial cell interactions in vascular and tissue remodeling / Medrano-Bosch M., Simón-Codina B., Jiménez W. et al. // Front Immunol. – 2023. – №14. – P. 1196033.

222. Gerhardt T., Ley K. Monocyte trafficking across the vessel wall // Cardiovasc Res. – 2015. – №107(3). – P. 321–330.

223. Silva M. et al. E-Selectin Ligands in the Human Mononuclear Phagocyte System: Implications for Infection, Inflammation, and Immunotherapy / Silva M., Videira P. A., Sackstein R. // Front Immunol. – 2018. – №8. – P. 1878.

224. Zhang J. et al. E-selectin in vascular pathophysiology / Zhang J., Huang S., Zhu Z. et al. // Front Immunol. – 2024. – №15. – P. 1401399.

225. Crijns H., Vanheule V., Proost P. Targeting Chemokine-Glycosaminoglycan Interactions to Inhibit Inflammation // Front Immunol. – 2020. – №11. – P. 483.

226. Graham G. J., Handel T. M., Proudfoot A. E. I. Leukocyte Adhesion: Reconceptualizing Chemokine Presentation by Glycosaminoglycans // Trends Immunol. – 2019. – №40(6). – P. 472–481.

227. Cybulsky M. I. et al. A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis / Cybulsky M. I., Iiyama K., Li H. et al. // J Clin Invest. – 2001. – №107(10). – P. 1255–1262.

228. Swirski F. K. et al. Ly-6Chi monocytes dominate hypercholesterolemia-associated monocytosis and give rise to macrophages in atheromata / Swirski F. K., Libby P., Aikawa E. et al. // J Clin Invest. – 2007. – №117(1). – P. 195–205.

229. Robbins C. S. et al. Local proliferation dominates lesional macrophage accumulation in atherosclerosis / Robbins C. S., Hilgendorf I., Weber G. F. et al. // Nat Med. – 2013. – №19(9). – P. 1166–1172.

230. Sinha S. K. et al. Local M-CSF (Macrophage Colony-Stimulating Factor) Expression Regulates Macrophage Proliferation and Apoptosis in Atherosclerosis / Sinha S. K., Miikeda A., Fouladian Z. et al. // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2021. – №41(1). – P. 220–233.

231. Xu S. et al. Endothelial Dysfunction in Atherosclerotic Cardiovascular Diseases and Beyond: From Mechanism to Pharmacotherapies / Xu S., Ilyas I., Little P. J. et al. // Pharmacol Rev. – 2021. – №73(3). – P. 924–967.

232. Chen P. Y., Schwartz M. A., Simons M. Endothelial-to-Mesenchymal Transition, Vascular Inflammation, and Atherosclerosis // Front Cardiovasc Med. – 2020. – №7. – P. 53.

233. Howe K. L., Fish J. E. Transforming endothelial cells in atherosclerosis // Nat Metab. – 2019. – №1(9). – P. 856–857.

234. Evrard S. M. et al. Endothelial to mesenchymal transition is common in atherosclerotic lesions and is associated with plaque instability / Evrard S. M., Lecce L., Michelis K. C. et al. // Nat Commun. – 2016. – №7. – P. 11853.

235. Juhl A. D., Wüstner D. Pathways and Mechanisms of Cellular Cholesterol Efflux-Insight From Imaging // Front Cell Dev Biol. – 2022. – №10. – P. 834408.

236. Chistiakov D. A., Bobryshev Y. V., Orekhov A. N. Macrophage-mediated cholesterol handling in atherosclerosis // J Cell Mol Med. – 2016. – №20(1). – P. 17–28.

237. Pryma C. S. et al. Pathways of smooth muscle foam cell formation in atherosclerosis / Pryma C. S., Ortega C., Dubland J. A., Francis G. A. // Curr Opin

Lipidol. – 2019. – №30. – P. 117–124.

238. Feil S. et al. Transdifferentiation of vascular smooth muscle cells to macrophage-like cells during atherogenesis / Feil S., Fehrenbacher B., Lukowski R. et al. // Circ Res. – 2014. – №115(7). – P. 662–667.

239. Guerrini V., Gennaro M. L. Foam Cells: One Size Doesn't Fit All // Trends Immunol. – 2019. – №40(12). – P. 1163–1179.

240. Melaku L., Dabi A. The cellular biology of atherosclerosis with atherosclerotic lesion classification and biomarkers // Bull Natl Res Cent. – 2021. – №45. – P. 225.

241. Puylaert P. et al. Regulated Necrosis in Atherosclerosis / Puylaert P., Zurek M., Rayner K. J. et al. // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2022. – №42(11). – P. 1283–1306.

242. de Souza A. W. et al. HMGB1 in vascular diseases: Its role in vascular inflammation and atherosclerosis / de Souza A. W., Westra J., Limburg P. C. et al. // Autoimmun Rev. – 2012. – №11(12). – P. 909–917.

243. Woo Y. et al. Regulated Necrotic Cell Death in Alternative Tumor Therapeutic Strategies / Woo Y., Lee H. J., Jung Y. M., Jung Y. J. // Cells. – 2020. – №9(12). – P. 2709.

244. Kavurma M. M., Tan N. Y., Bennett M. R. Death receptors and their ligands in atherosclerosis // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2008. – №28(10). – P. 1694–1702.

245. De Meyer G. R. Y. et al. Programmed death of macrophages in atherosclerosis: mechanisms and therapeutic targets / De Meyer G. R. Y., Zurek M., Puylaert P., Martinet W. // Nat Rev Cardiol. – 2024. – №21(5). – P. 312–325.

246. Seimon T., Tabas I. Mechanisms and consequences of macrophage apoptosis in atherosclerosis // J Lipid Res. – 2009. – №50 Suppl. – P. S382–S387.

247. Tabas I. et al. Macrophage Apoptosis in Advanced Atherosclerosis / Tabas I., Seimon T., Timmins J., Li G., Lim W. // Ann N Y Acad Sci. – 2009. – №1173(Suppl 1). – P. E40–E45.

248. Yurdagul A. Jr. et al. Mechanisms and Consequences of Defective Efferocytosis in Atherosclerosis / Yurdagul A. Jr., Doran A. C., Cai B., Fredman G., Tabas I. A. // Front Cardiovasc Med. – 2018. – №4. – P. 86.

249. Kalinina N. et al. Increased expression of the DNA-binding cytokine HMGB1 in

human atherosclerotic lesions: role of activated macrophages and cytokines / Kalinina N., Agrotis A., Antropova Y. et al. // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2004. – №24(12). – P. 2320–2325.

250. Kanellakis P. et al. High-mobility group box protein 1 neutralization reduces development of diet-induced atherosclerosis in apolipoprotein e-deficient mice / Kanellakis P., Agrotis A., Kyaw T. S. et al. // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2011. – №31(2). – P. 313–319.

251. Kaiser W. J. et al. Toll-like Receptor 3-mediated Necrosis via TRIF, RIP3, and MLKL / Kaiser W. J. et al. // J Biol Chem. – 2013. – №288. – P. 31268–31279.

252. Youssef L. A. et al. Increased erythrophagocytosis induces ferroptosis in red pulp macrophages in a mouse model of transfusion / Youssef L. A., Rebbaa A., Pampou S. et al. // Blood. – 2018. – №131(23). – P. 2581–2593.

253. Alonso-Herranz L., Albarrán-Juárez J., Bentzon J. F. Mechanisms of fibrous cap formation in atherosclerosis // Front Cardiovasc Med. – 2023. – №10. – P. 1254114.

254. Ramji D. P., Davies T. S. Cytokines in atherosclerosis: Key players in all stages of disease and promising therapeutic targets // Cytokine Growth Factor Rev. – 2015. – №26(6). – P. 673–685.

255. Bentzon J. F. et al. Mechanisms of plaque formation and rupture / Bentzon J. F., Otsuka F., Virmani R., Falk E. // Circ Res. – 2014. – №114(12). – P. 1852–1866.

256. Decano J. L., Aikawa M. Dynamic Macrophages: Understanding Mechanisms of Activation as Guide to Therapy for Atherosclerotic Vascular Disease // Front Cardiovasc Med. – 2018. – №5. – P. 97.

257. Olejarz W., Łacheta D., Kubiak-Tomaszewska G. Matrix Metalloproteinases as Biomarkers of Atherosclerotic Plaque Instability // Int J Mol Sci. – 2020. – №21(11). – P. 3946.

258. Milioti N. et al. Antigen-induced immunomodulation in the pathogenesis of atherosclerosis / Milioti N., Bermudez-Fajardo A., Penichet M. L., Oviedo-Orta E. // Clin Dev Immunol. – 2008. – №2008. – P. 723539.

259. Chen J. et al. The emerging role of Th1 cells in atherosclerosis and its implications for therapy / Chen J., Xiang X., Nie L. et al. // Front Immunol. – 2023. – №13. – P.

1079668.

260. Voloshyna I., Littlefield M. J., Reiss A. B. Atherosclerosis and interferon-γ: new insights and therapeutic targets // Trends Cardiovasc Med. – 2014. – №24(1). – P. 45–51.

261. Назаренко М. С., Слепцов А. А., Пузырёв В. П. Т-клеточный иммунный ответ в инициации, прогрессии и дестабилизации атеросклеротического процесса: обзор // Российский кардиологический журнал. – 2024. – №29(11S). – P. 6017.

262. Spitz C. et al. Regulatory T cells in atherosclerosis: critical immune regulatory function and therapeutic potential / Spitz C., Winkels H., Bürger C. et al. // Cell Mol Life Sci. – 2016. – №73(5). – P. 901–922.

263. Foks A. C., Lichtman A. H., Kuiper J. Treating atherosclerosis with regulatory T cells // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2015. – №35(2). – P. 280–287.

264. Freuchet A. et al. Identification of human exTreg cells as CD16+CD56+ cytotoxic CD4+ T cells / Freuchet A., Roy P., Armstrong S. S. et al. // Nat Immunol. – 2023. – №24(10). – P. 1748–1761.

265. Adamo L., Rocha-Resende C., Mann D. L. The Emerging Role of B Lymphocytes in Cardiovascular Disease // Annu Rev Immunol. – 2020. – №38. – P. 99–121.

266. Hörkkö S. et al. Monoclonal autoantibodies specific for oxidized phospholipids or oxidized phospholipid-protein adducts inhibit macrophage uptake of oxidized low-density lipoproteins / Hörkkö S., Bird D. A., Miller E. et al. // J Clin Invest. – 1999. – №103(1). – P. 117–128.

267. Smeets D. et al. The Spectrum of B Cell Functions in Atherosclerotic Cardiovascular Disease / Smeets D., Gisterå A., Malin S. G., Tsiantoulas D. // Front Cardiovasc Med. – 2022. – №9. – P. 864602.

268. Tay C. et al. Follicular B Cells Promote Atherosclerosis via T Cell-Mediated Differentiation Into Plasma Cells and Secreting Pathogenic Immunoglobulin G / Tay C., Liu Y. H., Kanellakis P. et al. // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2018. – №38(5). – P. e71–e84.

269. Sugimoto M. A. et al. Mediators of the Resolution of the Inflammatory Response / Sugimoto M. A., Vago J. P., Perretti M., Teixeira M. M. // Trends Immunol. – 2019. – №40(3). – P. 212–227.

270. Nathan C., Ding A. Nonresolving inflammation // Cell. – 2010. – №140(6). – P. 871–882.

271. Watanabe S. et al. The role of macrophages in the resolution of inflammation / Watanabe S., Alexander M., Misharin A. V., Budinger G. R. S. // J Clin Invest. – 2019. – №129(7). – P. 2619–2628.

272. Vannella K. M., Wynn T. A. Mechanisms of Organ Injury and Repair by Macrophages // Annu Rev Physiol. – 2017. – №79. – P. 593–617.

273. Randolph G. J. Emigration of monocyte-derived cells to lymph nodes during resolution of inflammation and its failure in atherosclerosis // Curr Opin Lipidol. – 2008. – №19(5). – P. 462–468.

274. Llodrá J. et al. Emigration of monocyte-derived cells from atherosclerotic lesions characterizes regressive, but not progressive, plaques / Llodrá J., Angeli V., Liu J. et al. // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2004. – №101(32). – P. 11779–11784.

275. Park Y. M., Febbraio M., Silverstein R. L. CD36 modulates migration of mouse and human macrophages in response to oxidized LDL and may contribute to macrophage trapping in the arterial intima // J Clin Invest. – 2009. – №119(1). – P. 136–145.

276. Ge Y., Huang M., Yao Y. M. Efferocytosis and Its Role in Inflammatory Disorders // Front Cell Dev Biol. – 2022. – Vol. 10. – P. 839248.

277. Doran A. C., Yurdagul A. Jr., Tabas I. Efferocytosis in health and disease // Nat Rev Immunol. – 2020. – №20(4). – P. 254–267.

278. Kojima Y., Weissman I. L., Leeper N. J. The Role of Efferocytosis in Atherosclerosis // Circulation. – 2017. – №135(5). – P. 476–489.

279. Schrijvers D. M. et al. Phagocytosis of apoptotic cells by macrophages is impaired in atherosclerosis / Schrijvers D. M., De Meyer G. R., Kockx M. M. et al. // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2005. – №25(6). – P. 1256–1261.

280. Thorp E., Tabas I. Mechanisms and consequences of efferocytosis in advanced atherosclerosis // J Leukoc Biol. – 2009. – №86(5). – P. 1089–1095.

281. Sobenin I. A. et al. Mutation C3256T of mitochondrial genome in white blood cells: novel genetic marker of atherosclerosis and coronary heart disease / Sobenin I. A., Sazonova M. A., Ivanova M. M. et al. // PLoS One. – 2012. – №7(10). – P. e46573.

282. Sharma P., Sampath H. Mitochondrial DNA Integrity: Role in Health and Disease // Cells. – 2019. – №8. – P. 100.

283. Reynolds J. C., Bwiza C. P., Lee C. Mitonuclear genomics and aging // Hum Genet. – 2020. – №139. – P. 381–399.

284. Lee S. R., Han J. Mitochondrial Mutations in Cardiac Disorders // Adv Exp Med Biol. – 2017. – №982. – P. 81–111.

285. Nissanka N., Moraes C. T. Mitochondrial DNA damage and reactive oxygen species in neurodegenerative disease // FEBS Lett. – 2018. – №592(5). – P. 728–742.

286. Mostafa Mtairag E. et al. Effects of interleukin-10 on monocyte/endothelial cell adhesion and MMP-9/TIMP-1 secretion / Mostafa Mtairag E., Chollet-Martin S., Oudghiri M. et al. // Cardiovasc Res. – 2001. – №49. – P. 882–890.

287. Sobenin I. A. et al. Mitochondrial mutations are associated with atherosclerotic lesions in the human aorta / Sobenin I. A., Sazonova M. A., Postnov A. Y. et al. // Clin Dev Immunol. – 2012. – №2012. – P. 832464.

288. Hefti E., Blanco J. G. Mitochondrial DNA heteroplasmy in cardiac tissue from individuals with and without coronary artery disease // Mitochondrial DNA A. – 2018. – №29(4). – P. 587–593.

289. Nissanka N., Moraes C. T. Mitochondrial DNA heteroplasmy in disease and targeted nuclease-based therapeutic approaches // EMBO Rep. – 2020. – №21. – P. e49612.

290. Gupta R. et al. Nuclear genetic control of mtDNA copy number and heteroplasmy in humans / Gupta R., Kanai M., Durham T. J., Tsuo K., McCoy J. G., Kotrys A. V., Zhou W., Chinnery P. F., Karczewski K. J., Calvo S. E. et al. // Nature. – 2023. – №620. – P. 839–848.

291. Muller H. J. The relation of recombination to mutational advantage // Mutat. Res. – 1964. – Vol. 1. – P. 2–9.

292. Botto N. et al. Detection of mtDNA with 4977bp deletion in blood cells and atherosclerotic lesions of patients with coronary artery disease / Botto N., Berti S., Manfredi S. et al. // Mutat Res. – 2005. – №570(1). – P. 81–88.

293. Sobenin I. A. et al. Association of mitochondrial genetic variation with carotid

atherosclerosis / Sobenin I. A., Sazonova M. A., Postnov A. Y. et al. // PLoS One. – 2013. – №8(7). – P. e68070.

294. Nissanka N., Minczuk M., Moraes C. T. Mechanisms of Mitochondrial DNA Deletion Formation // Trends Genet TIG. – 2019. – №35. – P. 235–244.

295. Kirichenko T. V. et al. Data on association of mitochondrial heteroplasmy with carotid intima-media thickness in subjects from Russian and Kazakh populations / Kirichenko T. V., Ragino Y. I., Voevoda M. I., Urazalina S. J., Khasanova Z. B., Orekhova V. A., Sinyov V. V., Sazonova M. A., Orekhov A. N., Sobenin I. A. // Data in Brief. – 2020. – №29. – P. 105320.

296. Zhou H. H., Tang Y. L., Xu T. H., Cheng B. C-reactive protein: structure, function, regulation, and role in clinical diseases // Front Immunol. – 2024. – Vol. 15. – P. 1425168. – DOI: 10.3389/fimmu.2024.1425168.

297. Thompson D., Pepys M. B., Wood S. P. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine // Structure. – 1999. – №7. – P. 169–177.

298. Du Clos T. W., Mold C. Pentraxins (CRP, SAP) in the process of complement activation and clearance of apoptotic bodies through Fcγ receptors // Curr Opin Organ Transplant. – 2011. – №16. – P. 15–20.

299. Ngwa D. N., Pathak A., Agrawal A. IL-6 regulates induction of C-reactive protein gene expression by activating STAT3 isoforms // Mol Immunol. – 2022. – №146. – P. 50–56.

300. Clyne B., Olshaker J. S. The C-reactive protein // J Emerg Med. – 1999. – №17. – P. 1019–1025.

301. Melnikov I. et al. Monomeric C-Reactive Protein in Atherosclerotic Cardiovascular Disease: Advances and Perspectives / Melnikov I., Kozlov S., Saburova O. et al. // Int J Mol Sci. – 2023. – №24. – P. 2079.

302. Noone D. P. et al. Structural basis for surface activation of the classical complement cascade by the short pentraxin C-reactive protein / Noone D. P., Isendoorn M. M. E., Hamers S. M. W. R., Keizer M. E., Wulffelé J., van der Velden T. T., Dijkstra D. J., Trouw L. A., Filippov D. V., Sharp T. H. // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2024. –

Vol. 121, № 37. – P. e2404542121.

303. Emerging Risk Factors Collaboration. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis / Kaptoge S., Di Angelantonio E., Lowe G. et al. // Lancet. – 2010. – №375. – P. 132–140.

304. Ridker P. M. et al. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men / Ridker P. M., Cushman M., Stampfer M. J. et al. // N Engl J Med. – 1997. – №336. – P. 973–979.

305. Sakkinen P., Abbott R. D., Curb J. D., Rodriguez B. L., Yano K., Tracy R. P. C-reactive protein and myocardial infarction // J Clin Epidemiol. – 2002. – Vol. 55, № 5. – P. 445–451.

306. Ridker P. M. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention // Circulation. – 2003. – Vol. 107, № 3. – P. 363–369.

307. Albert C. M., Ma J., Rifai N., Stampfer M. J., Ridker P. M. Prospective study of C-reactive protein, homocysteine, and plasma lipid levels as predictors of sudden cardiac death // Circulation. – 2002. – Vol. 105, № 22. – P. 2595–2599.

308. Ridker P. M., Glynn R. J., Hennekens C. H. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction // Circulation. – 1998. – Vol. 97, № 20. – P. 2007–2011.

309. Haverkate F. et al. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group / Haverkate F., Thompson S. G., Pyke S. D., Gallimore J. R., Pepys M. B. // Lancet. – 1997. – №349(9050). – P. 462–466.

310. Ridker P. M. et al. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators / Ridker P. M., Rifai N., Pfeffer M. A., Sacks F. M., Moye L. A., Goldman S., Flaker G. C., Braunwald E. // Circulation. – 1998. – Vol. 98, № 9. – P. 839–844.

311. de Winter R. J. et al. C-reactive protein and coronary events following percutaneous coronary angioplasty / de Winter R. J., Koch K. T., van Straalen J. P., Heyde G., Bax M., Schotborgh C. E., Mulder K. J., Sanders G. T., Fischer J., Tijssen J. G., Piek

J. J. // Am J Med. – 2003. – Vol. 115, № 2. – P. 85–90.

312. Milazzo D. et al. Elevated levels of C-reactive protein before coronary artery bypass grafting predict recurrence of ischemic events / Milazzo D., Biasucci L. M., Luciani N., Martinelli L., Canosa C., Schiavello R., Maseri A., Possati G. // Am J Cardiol. – 1999. – Vol. 84, № 4. – P. 459–461.

313. Retterstol L. et al. C-reactive protein predicts death in patients with previous premature myocardial infarction – a 10-year follow-up study / Retterstol L., Eikvar L., Bohn M., Bakken A., Erikssen J., Berg K. // Atherosclerosis. – 2002. – Vol. 160, № 2. – P. 433–440.

314. Aday A. W., Ridker P. M. Targeting Residual Inflammatory Risk: A Shifting Paradigm for Atherosclerotic Disease // Front Cardiovasc Med. – 2019. – Vol. 6. – P. 16.

315. Ridker P. M. Anticytokine Agents: Targeting Interleukin Signaling Pathways for the Treatment of Atherothrombosis // Circ Res. – 2019. – Vol. 124, № 3. – P. 437–450.

316. Zhang C.-M. et al. Intra-subunit Disulfide Determines the Conversion and Structural Stability of CRP Isoforms / Zhang C.-M., Tan Y.-B., Zhou H.-H. et al. // Inflammation. – 2020. – №43. – P. 466–477.

317. Rajab I. M. et al. How C-Reactive Protein Structural Isoforms With Distinctive Bioactivities Affect Disease Progression / Rajab I. M., Hart P. C., Potempa L. A. // Front Immunol. – 2020. – №11. – P. 2126.

318. Melnikov I. et al. CRP Is Transported by Monocytes and Monocyte-Derived Exosomes in the Blood of Patients with Coronary Artery Disease / Melnikov I., Kozlov S., Saburova O., Zubkova E., Guseva O., Domogatsky S., Arefieva T., Radyukhina N., Zvereva M., Avtaeva Y., Buryachkovskaya L., Gabbasov Z. // Biomedicines. – 2020. – Vol. 8, № 10. – P. 435.

319. Melnikov I. et al. The monomeric C-reactive protein level is associated with the increase in carotid plaque number in patients with subclinical carotid atherosclerosis / Melnikov I., Kozlov S., Pogorelova O., Tripoten M., Khamchieva L., Saburova O., Avtaeva Y., Zvereva M., Matroze E., Kuznetsova T., Prokofieva L., Balakhonova T., Gabbasov Z. // Front Cardiovasc Med. – 2022. – Vol. 9. – P. 968267.

320. Melnikov I. et al. Higher monomeric C-reactive protein levels are associated with

premature coronary artery disease / Melnikov I., Kozlov S., Okhota S., Saburova O., Avtaeva Y., Kuznetsova T., Guria K., Prokofieva L., Riazantseva T., Ji S. R., Wu Y., Gabbasov Z. // Front Immunol. – 2025. – Vol. 15. – P. 1501125.

321. Мельников И. С. и соавт. Связь повышенного уровня мономерной и пентамерной форм С-реактивного белка с наличием преждевременной ишемической болезни сердца / И. С. Мельников, С. Г. Козлов, С. Д. Охота, О. С. Сабурова, Ю. Н. Автаева, Т. В. Кузнецова, К. Г. Гурия, Л. В. Прокофьева, Т. В. Рязанцева, З. А. Габбасов // Атеросклероз и дислипидемии. – 2025. – № 1 (58). – С. 42–49.

322. Eisenhardt S. U. et al. Dissociation of Pentameric to Monomeric C-Reactive Protein on Activated Platelets Localizes Inflammation to Atherosclerotic Plaques / Eisenhardt S. U., Habersberger J., Murphy A. et al. // Circulation Research. – 2009. – Vol. 105, № 2. – P. 128–137.

323. Krupinski J. et al. Endogenous Expression of C-Reactive Protein Is Increased in Active (Ulcerated Noncomplicated) Human Carotid Artery Plaques / Krupinski J. et al. // Stroke. – 2006. – Vol. 37, № 5. – P. 1200–1204.

324. Kobayashi S. et al. Interaction of Oxidative Stress and Inflammatory Response in Coronary Plaque Instability: Important Role of C-Reactive Protein / Kobayashi S. et al. // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2003. – Vol. 23, № 8. – P. 1398–1404.

325. Vainas T. et al. C-reactive protein in peripheral arterial disease: Relation to severity of the disease and to future cardiovascular events / Vainas T. et al. // Journal of Vascular Surgery. – 2005. – Vol. 42, № 2. – P. 243–251.

326. Jabs W. J. et al. Local Generation of C-Reactive Protein in Diseased Coronary Artery Venous Bypass Grafts and Normal Vascular Tissue / Jabs W. J. et al. // Circulation. – 2003. – Vol. 108, № 12. – P. 1428–1431.

327. Thiele J. R. et al. Dissociation of Pentameric to Monomeric C-Reactive Protein Localizes and Aggravates Inflammation: In Vivo Proof of a Powerful Proinflammatory Mechanism and a New Anti-Inflammatory Strategy / Thiele J. R., Habersberger J., Braig D. et al. // Circulation. – 2014. – Vol. 130, № 1. – P. 35–50.

328. Sattler K. J. E. et al. Concurrent Treatment with Renin-Angiotensin System

Blockers and Acetylsalicylic Acid Reduces Nuclear Factor NB Activation and C-Reactive Protein Expression in Human Carotid Artery Plaques / Sattler K. J. E. et al. // Stroke. – 2005. – Vol. 36, № 1. – P. 14–20.

329. Habersberger J. et al. Circulating microparticles generate and transport monomeric C-reactive protein in patients with myocardial infarction / Habersberger J. et al. // Cardiovascular Research. – 2012. – Vol. 96, № 1. – P. 64–72.

330. Crawford J. R. et al. Plasma Levels of Endothelial Microparticles Bearing Monomeric C-reactive Protein are Increased in Peripheral Artery Disease / Crawford J. R. et al. // Journal of Cardiovascular Translational Research. – 2016. – Vol. 9, № 3. – P. 184–193.

331. Molins B. et al. C-Reactive Protein Isoforms Differ in Their Effects on Thrombus Growth / Molins B. et al. // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2008. – Vol. 28, № 12. – P. 2239–2246.

332. Molins B. et al. Monomeric C-reactive protein is prothrombotic and dissociates from circulating pentameric C-reactive protein on adhered activated platelets under flow / Molins B. et al. // Cardiovascular Research. – 2011. – Vol. 92, № 2. – P. 328–337.

333. Wang J. et al. Increased monomeric CRP levels in acute myocardial infarction: A possible new and specific biomarker for diagnosis and severity assessment of disease / Wang J., Tang B., Liu X. et al. // Atherosclerosis. – 2015. – №239. – P. 343–349.

334. Calabro P. et al. Release of C-Reactive Protein in Response to Inflammatory Cytokines by Human Adipocytes: Linking Obesity to Vascular Inflammation / Calabro P. et al. // Journal of the American College of Cardiology. – 2005. – Vol. 46, № 6. – P. 1112–1113.

335. Haider D. G. et al. C-reactive protein is expressed and secreted by peripheral blood mononuclear cells / Haider D. G. et al. // Clin Exp Immunol. – 2006. – Vol. 146, № 3. – P. 533–539.

336. Кобалава Ж. и соавт. Артериальная гипертензия у взрослых. Клинические рекомендации 2020 / Кобалава Ж., Конради А., Недогода С. и др. // Российский кардиологический журнал. – 2020. – № 25(3). – С. 149–218.

337. Барбараш О. и соавт. Стабильная ишемическая болезнь сердца. Клинические

рекомендации 2020 / Барбараш О., Карпов Ю., Кашталап В. и др. // Российский кардиологический журнал. – 2020. – № 25(3). – С. 201–250.

338. Авдеев С. Н. и соавт. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ 2024). Клинические рекомендации (краткая версия) / С. Н. Авдеев, И. В. Лещенко, З. Р. Айсанов // Респираторная медицина. – 2025. – Т. 1, № 2. – С. 5–16.

339. Cosentino F. и соавт. 2019 Рекомендации ESC/EASD по сахарному диабету, предиабету и сердечно-сосудистым заболеваниям / Cosentino F., Grant P., Aboyans V. и др. // Российский кардиологический журнал. – 2020. – № 25(4). – С. 3839.

340. Кухарчук В. и соавт. Клинические рекомендации евразийской ассоциации кардиологов (ЕАК)/Национального общества по изучению атеросклероза (НОА, Россия) по диагностике и коррекции нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза (2020) / Кухарчук В., Ежов М., Сергиенко И. и др. // Евразийский кардиологический журнал. – 2020. – № 1. – С. 6–29.

341. Fournier J. A. et al. Long-term prognosis of patients having acute myocardial infarction when ≤40 years of age / Fournier J. A., Cabezón S., Cayuela A. et al. // Am J Cardiol. – 2004. – №94. – P. 989–992.

342. Maroszyńska-Dmoch E. M., Wożakowska-Kapłon B. Clinical and angiographic characteristics of coronary artery disease in young adults: a single centre study // Kardiol Pol. – 2016. – №74. – P. 314–321.

343. Zeitouni M. et al. Risk Factor Burden and Long-Term Prognosis of Patients With Premature Coronary Artery Disease / Zeitouni M., Clare R. M., Chiswell K. et al. // J Am Heart Assoc. – 2020. – №9. – P. e017712.

344. Jalowiec D. A., Hill J. A. Myocardial infarction in the young and in women // Cardiovasc Clin. – 1989. – №20. – P. 197–206.

345. Sharma S. K. et al. Premature coronary artery disease, risk factors, clinical presentation, angiography and interventions: Hospital based registry / Sharma S. K., Makkar J. S., Bana A. et al. // Indian Heart J. – 2022. – №74. – P. 391–397.

346. Gupta A. et al. Trends in acute myocardial infarction in young patients and differences by sex and race, 2001 to 2010 / Gupta A., Wang Y., Spertus J. A. et al. // J Am Coll Cardiol. – 2014. – №64. – P. 337–345.

347. Chan C. M. et al. Circadian variation of acute myocardial infarction in young people / Chan C. M., Chen W. L., Kuo H. Y. et al. // Am J Emerg Med. – 2012. – №30. – P. 1461–1465.

348. Larsen G. K. et al. The ongoing importance of smoking as a powerful risk factor for ST segment elevation myocardial infarction in young patients / Larsen G. K., Seth M., Gurm H. S. // JAMA Intern Med. – 2013. – №173. – P. 1261–1262.

349. Lakka H.-M. et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men / Lakka H.-M., Laaksonen D. E., Lakka T. A. et al. // JAMA. – 2002. – №288. – P. 2709–2716.

350. Collet J. P. et al. Long-Term Evolution of Premature Coronary Artery Disease / Collet J. P., Zeitouni M., Procopi N. et al. // J Am Coll Cardiol. – 2019. – №74. – P. 1868–1878.

351. Blokhina T. V. et al. Features of the Monocyte Inflammatory Response in Patients with Premature Coronary Artery Disease / T. V. Blokhina, T.V. Kirichenko, Y.V. Markina, U.S. Khovantseva, I.S. Melnikov, O. Guseva, S.A. Bazanovich, S.G. Kozlov, A. N. Orekhov // Biophysical Reports. – 2 Newton 2025. – Vol. 11. – № 1. – P. 12–17.

352. Блохина Т. В. и соавт. Особенности воспалительного ответа моноцитов у пациентов с ранним развитием ИБС / Т. В. Блохина, Т. В. Кириченко, Ю. В. Маркина, У. С. Хованцева, С. Г. Козлов, И. С. Мельников, С. А. Базанович // Атеросклероз и дислипидемии. – 2024. – № 3 (56). – С. 65–72.

353. Khan R., Rheaume E., Tardif J. C. Examining the Role of and Treatment Directed at IL-1β in Atherosclerosis // Curr Atheroscler Rep. – 2018. – Vol. 20, № 11. – P. 53.

354. Mai W., Liao Y. Targeting IL-1β in the Treatment of Atherosclerosis // Front Immunol. – 2020. – Vol. 11. – P. 589654.

355. Kirii H. et al. Lack of interleukin-1beta decreases the severity of atherosclerosis in ApoE-deficient mice / Kirii H., Niwa T., Yamada Y., Wada H., Saito K., Iwakura Y., Asano M., Moriwaki H., Seishima M. // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2003. – Vol. 23, № 4. – P. 656–660.

356. Zhang H., Dhalla N. S. The Role of Pro-Inflammatory Cytokines in the

Pathogenesis of Cardiovascular Disease // Int J Mol Sci. – 2024. – Vol. 25, № 2. – P. 1082.

357. Cau R., Saba L. Interlinking pathways: a narrative review on the role of IL-6 in cancer and atherosclerosis // Cardiovasc Diagn Ther. – 2024. – Vol. 14, № 6. – P. 1186–1201.

358. Mehta N. N., deGoma E., Shapiro M. D. IL-6 and Cardiovascular Risk: A Narrative Review // Curr Atheroscler Rep. – 2024. – Vol. 27, № 1. – P. 12.

359. Ridker P. M. et al. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men / Ridker P. M., Rifai N., Stampfer M. J., Hennekens C. H. // Circulation. – 2000. – №101. – P. 1767–1772.

360. Рязанцева Т. В. и соавт. Молекулярные маркеры воспаления в диагностике и прогнозировании исходов ишемической болезни сердца: современное состояние проблемы / Т. В. Рязанцева, И. С. Мельников, С. Г. Козлов, О. С. Сабурова, Ю. Н. Автаева, С. Д. Охота, Т. В. Кузнецова, К. Г. Гурия, Л. В. Прокофьева, З. А. Габбасов // Атеросклероз и дислипидемии. – 2025. – № 2 (59). – С. 5–10.

361. Evans B. R. et al. Inflammatory Mediators in Atherosclerotic Vascular Remodeling / Evans B. R., Yerly A., van der Vorst E. P. C., Baumgartner I., Bernhard S. M., Schindewolf M., Döring Y. // Front Cardiovasc Med. – 2022. – Vol. 9. – P. 868934.

362. Amasyali B. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 in acute coronary syndromes: complex vicious interaction / Amasyali B., Kose S., Kursaklioglu H., Barcin C., Kilic A. // Int J Cardiol. – 2009. – №136. – P. 356–357.

363. Deshmane S. L. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview / Deshmane S. L., Kremlev S., Amini S., Sawaya B. E. // J Interf Cytokine Res. – 2009. – №29. – P. 313–326.

364. Georgakis M. K. et al. Genetically Determined Levels of Circulating Cytokines and Risk of Stroke / Georgakis M. K., Gill D., Rannikmäe K. et al. // Circulation. – 2019. – №139. – P. 256–268.

365. Cavusoglu E. et al. Elevated baseline plasma IL-8 levels are an independent predictor of long-term all-cause mortality in patients with acute coronary syndrome /

Cavusoglu E., Marmur J. D., Yanamadala S. et al. // Atherosclerosis. – 2015. – №242(2). – P. 589–594.

366. Apostolakis S., Vogiatzi K., Amanatidou V., Spandidos D. A. Interleukin 8 and cardiovascular disease // Cardiovasc Res. – 2009. – Vol. 84, № 3. – P. 353–360.

367. An Z. et al. Neutrophil extracellular traps induced by IL-8 aggravate atherosclerosis via activation NF-κB signaling in macrophages / An Z., Li J., Yu J., Wang X., Gao H., Zhang W., Wei Z., Zhang J., Zhang Y., Zhao J., Liang X. // Cell Cycle. – 2019. – Vol. 18, № 21. – P. 2928–2938.

368. Lv G. et al. Inhibition of IL-8-mediated endothelial adhesion, VSMCs proliferation and migration by siRNA-TMEM98 suggests TMEM98's emerging role in atherosclerosis / Lv G., Zhu H., Li C., Wang J., Zhao D., Li S., Ma L., Sun G., Li F., Zhao Y., Gao Y. // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8, № 50. – P. 88043–88058.

369. Apostolopoulos J., Davenport P., Tipping P. G. Interleukin-8 production by macrophages from atheromatous plaques // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 1996. – Vol. 16, № 8. – P. 1007–1012.

370. Boekholdt S. M. et al. IL-8 plasma concentrations and the risk of future coronary artery disease in apparently healthy men and women / Boekholdt S. M., Peters R. J. G., Hack C. E. et al. // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 2004. – №24(8). – P. 1503–1508.

371. Inoue T. et al. Interleukin-8 as an independent predictor of long-term clinical outcome in patients with coronary artery disease / Inoue T., Komoda H., Nonaka M. et al. // International Journal of Cardiology. – 2008. – №124(3). – P. 319–325.

372. Velásquez I. M. et al. Association of interleukin 8 with myocardial infarction: results from the Stockholm heart epidemiology program / Velásquez I. M., Frumento P., Johansson K. et al. // International Journal of Cardiology. – 2014. – №172(1). – P. 173–178.

373. Liuzzo G. et al. Enhanced response of blood monocytes to in vitro lipopolysaccharide-challenge in patients with recurrent unstable angina / Liuzzo G., Angiolillo D. J., Buffon A. et al. // Circulation. – 2001. – №103(18). – P. 2236–2241.

374. Sobenin I. A. et al. Changes of mitochondria in atherosclerosis: possible

determinant in the pathogenesis of the disease / Sobenin I. A., Sazonova M. A., Postnov A. Y. et al. // Atherosclerosis. – 2013. – №227(2). – P. 283–288.

375. Sazonova M. A. et al. Mosaicism of mitochondrial genetic variation in atherosclerotic lesions of the human aorta / Sazonova M. A., Sinyov V. V., Barinova V. A. et al. // Biomed Res Int. – 2015. – №2015. – P. 825468.

376. Wu K. L. et al. The plasma level of mCRP is linked to cardiovascular disease in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis / Wu K. L., Liang Q. H., Huang B. T., Ding N., Li B. W., Hao J. // Arthritis Res Ther. – 2020. – Vol. 22, № 1. – P. 228.