

Ассоциация факторов эндотелиальной дисфункции с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях

Рагино Ю. И.¹, Стрюкова Е. В.¹, Мурашов И. С.², Полонская Я. В.¹, Волков А. М.², Каштанова Е. В.¹, Кургузов А. В.², Чернявский А. М.²

Цель. Изучить некоторые факторы эндотелиальной дисфункции с целью поиска их ассоциаций с факторами свертывания крови, маркерами воспаления и с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях у мужчин с коронарным атеросклерозом.

Материал и методы. У мужчин с коронарным атеросклерозом без острого коронарного синдрома исследовали в крови концентрации факторов эндотелиальной дисфункции (эндотелин 1, моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1 типа (MCP-1), адгезивные молекулы sVCAM-1, асимметричный диметиларгинин, гомоцистеин, ингибитор активатора плазминогена 1 типа), факторов свертывания крови (фактор II, фактор VII, фактор XII, антитромбин III), биомаркеров воспаления (фактор некроза опухоли альфа, интерлейкины (ИЛ-1-бета, ИЛ-6, ИЛ-8), С-реактивный белок).

Результаты. Наличие у пациентов в коронарных артериях (КА) нестабильных атеросклеротических бляшек ассоциировалось с повышенным уровнем в крови MCP-1 (выше в 1,9 раз; $p < 0,05$) и сниженной концентрацией sVCAM-1 (ниже в 1,4 раза; $p < 0,05$) по сравнению с мужчинами, у которых, согласно гистологическому заключению при анализе материалов энarterиэктомии, в коронарных артериях не было нестабильных бляшек. Наибольшее число корреляционных связей выявлено между уровнем в крови MCP-1 и концентрациями фактора VII, антитромбина III, ИЛ-8, С-реактивный белок, ИЛ-1-бета и наличием у мужчин нестабильных атеросклеротических бляшек в КА.

Заключение. Полученные результаты показали, что относительный риск наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек связан с повышенным уровнем в крови MCP-1.

Российский кардиологический журнал. 2019;24 (5):26–29
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2019-5-26-29>

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1 типа, адгезивные молекулы sVCAM-1, стабильные и нестабильные атеросклеротические бляшки в коронарных артериях, кровь.

Конфликт интересов: не заявлен.

Финансирование. Работа выполнена в рамках бюджетной темы по Государственному заданию № 0324-2018-0002, бюджетной темы по поддержке био-

ресурсных коллекций по Государственному заданию № 0324-2017-0048 и при финансовой поддержке Гранта РФФИ № 17-04-02120а.

¹НИИ терапии и профилактической медицины — филиал ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск; ²ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр им. академика Е. Н. Мешалкина Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Рагино Ю. И.* — д.м.н., член-корр. РАН, руководитель лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, ORCID: 0000-0002-4936-8362, Стрюкова Е. В. — аспирантка лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, ORCID: 0000-0001-5316-4664, Мурашов И. С. — н.с. лаборатории патоморфологии, ORCID: 0000-0002-3712-1258, Полонская Я. В. — к.б.н., с.н.с. лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, ORCID: 0000-0002-3538-0280, Волков А. М. — д.м.н., профессор, зав. лабораторией патоморфологии, ORCID: 0000-0001-9697-7091, Каштанова Е. В. — д.б.н., с.н.с. лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, ORCID: 0000-0003-2268-4186, Кургузов А. В. — н.с. Центра хирургии аорты, коронарных и периферических артерий, ORCID: 0000-0003-1345-2199, Чернявский А. М. — д.м.н., профессор, руководитель Центра хирургии аорты, коронарных и периферических артерий, ORCID: 0000-0001-9818-8678.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): ragino@mail.ru

ADMA — асимметричный диметиларгинин, ИЛ — интерлейкин, КА — коронарные артерии, ОКС — острый коронарный синдром, СРБ — С-реактивный белок, ФНО- α — фактор некроза опухоли альфа, ЭД — эндотелиальная дисфункция, MCP-1 — моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1 типа, PAI-1 — ингибитор активатора плазминогена 1 типа.

Рукопись получена 12.02.2019

Рецензия получена 18.03.2019

Принята к публикации 25.03.2019



Association of endothelial dysfunction factors with the presence of unstable atherosclerotic plaques in the coronary arteries

Ragino Yu. I.¹, Stryukova E. V.¹, Murashov I. S.², Polonskaya Ya. V.¹, Volkov A. M.², Kashtanova E. V.¹, Kurguzov A. V.², Chernyavsky A. M.²

Aim. To study factors of endothelial dysfunction in order to find their associations with coagulation factors, inflammatory markers and unstable atherosclerotic plaques in the coronary arteries in men with coronary atherosclerosis.

Material and methods. The study included men with coronary atherosclerosis without acute coronary syndrome. We assessed blood concentrations of endothelial dysfunction factors (endothelin 1, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), adhesion molecules sVCAM-1, asymmetric dimethylarginine, homocysteine, plasminogen activator inhibitor-1) blood coagulation (factor II, factor VII, factor XII, antithrombin III), biomarkers of inflammation (tumor necrosis factor alpha, interleukins (IL-1-beta, IL-6, IL-8), C-reactive protein).

Results. The presence of unstable atherosclerotic plaques was associated with an increased blood level of MCP-1 (1.9 times higher; $p < 0,05$) and a reduced concentration of sVCAM-1 (1.4 times lower; $p < 0,05$) compared with men who without unstable plaques in the coronary arteries. The largest number of correlations was found between the level of MCP-1 in blood, concentrations of factor VII, antithrombin III, IL-8, C-reactive protein, IL-1 beta and the presence of unstable atherosclerotic plaques in men.

Conclusion. The results showed that the relative risk of unstable atherosclerotic plaques in the coronary arteries is associated with an increased level of MCP-1 in the blood.

Russian Journal of Cardiology. 2019;24 (5):26–29
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2019-5-26-29>

Key words: endothelial dysfunction, monocyte chemoattractant protein-1, adhesive molecules sVCAM-1, stable and unstable atherosclerotic plaques in the coronary arteries, blood.

Conflicts of Interest: nothing to declare.

Funding. The work was carried out within the framework of State tasks № 0324-2018-0002, № 0324-2017-0048 and with the financial support of the RFBR Grant № 17-04-02120а.

¹Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk; ²E. N. Meshalkin National Research Medical Center, Novosibirsk, Russia.

Ragino Yu. I. ORCID: 0000-0002-4936-8362, Stryukova E. V. ORCID: 0000-0001-5316-4664, Murashov I. S. ORCID: 0000-0002-3712-1258, Polonskaya Ya. V.

ORCID: 0000-0002-3538-0280, Volkov A. M. ORCID: 0000-0001-9697-7091, Kashtanova E. V. ORCID: 0000-0003-2268-4186, Kurguzov A. V. ORCID: 0000-0003-1345-2199, Chernyavsky A. M. ORCID: 0000-0001-9818-8678.

Received: 12.02.2019 Revision Received: 18.03.2019 Accepted: 25.03.2019

Несмотря на значительные достижения в области неинвазивной диагностики и инвазивного лечения ишемической болезни сердца, ее клинические проявления, включая острый коронарный синдром (ОКС) и сердечную недостаточность, остаются основными причинами смертности, как в Западных странах, так и в России [1].

Известно, что на начальном этапе развития атеросклеротической бляшки важную роль играют эндотелиальная дисфункция (ЭД) и окислительные изменения, в то время как на стадии развития нестабильной бляшки ярко выражена активность воспалительно-деструктивных процессов [2, 3-5]. Дисфункция и деструкция эндотелиоцитов приводит к повышенной секреции ими адгезивных молекул, хемоаттрактантов, к высвобождению в кровь эндотелина-1, фактора Виллебранда, снижению синтеза и секреции NO. Нарушения системы гемостаза сопровождают практически все этапы развития атеросклеротического очага [5, 6].

В последние годы проводится много исследований по поиску и изучению разных этиопатогенетических биомаркеров коронарного атеросклероза и его осложнений, особенно, ОКС [7-9]. Настоящее исследование было посвящено изучению некоторых факторов эндотелиальной дисфункции (эндотелин 1, моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1 типа (MCP-1), адгезивные молекулы sVCAM-1, ассиметричный диметиларгинин (ADMA), гомоцистеин, ингибитор активатора плазминогена 1 типа (PAI-1) с целью поиска их ассоциаций с факторами свертывания крови (фактор II, фактор VII, фактор XII, антитромбин III) и воспаления (фактор некроза опухоли альфа (ФНО- α), интерлейкины — ИЛ-1-бета, ИЛ-6, ИЛ-8, С-реактивный белок (СРБ)) и с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях (КА) у мужчин с коронарным атеросклерозом.

Материал и методы

Исследование проведено в рамках Программы совместных научно-исследовательских работ НИИТПМ — филиал ИЦиГ СО РАН и ФГБУ “НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина” Минздрава России. Проведение исследования было одобрено Этическими комитетами обоих учреждений. Исследование было выполнено в рамках бюджетной темы по Государственному заданию № 0324-2018-0002, бюджетной темы по поддержке биоресурсных кол-

лекций по Государственному заданию № 0324-2017-0048 и при финансовой поддержке Гранта РФФИ № 17-04-02120а. Всеми пациентами заполнялась форма Информированного согласия на участие в исследовании.

В исследование были включены 94 мужчины 40-71 лет без ОКС со стабильной стенокардией напряжения II-III ФК, которые поступили на операцию коронарного шунтирования в Клинику ФГБУ “НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина” Минздрава России. У всех пациентов по данным коронароангиографии был подтвержден коронарный атеросклероз. Гистологический анализ полученного в ходе операции материала эндартериэктомии, содержащего интима/медиа коронарных артерий, после стандартной окраски гематоксилин-эозином и по методу Ван Гизона проводился на бинокулярном микроскопе Axiostar Plus (C. Zeiss) с цифровым фотовыходом. Согласно гистологическому заключению, все обследованные пациенты были разделены нами на 2 группы: группа 1-39 мужчин (41%) со стабильными атеросклеротическими бляшками в КА; группа 2-55 мужчин (59%), у которых в КА наряду со стабильными бляшками были также и нестабильные.

Для проведения биохимических исследований методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием стандартных тест-систем ELISAs на анализаторе Multiscan EX (Финляндия) до операции коронарного шунтирования у всех мужчин однократно утром натощак проводился забор крови из вены для получения плазмы и сыворотки.

В сыворотке крови определяли факторы эндотелиальной дисфункции: гомоцистеин (Axis-Shield), MCP-1 (Bender Medsystems), эндотелин 1 (Biomedica), АДМА (Immundiagnostik), PAI-1 (Technoclone), адгезивные молекулы sVCAM-1 (Bender Medsystems). В плазме крови определяли следующие факторы свертывания крови: фактор II, фактор VII, фактор XII, антитромбин III (тест-системы AssayPro). В сыворотке крови определяли воспалительные биомаркеры: ФНО- α , интерлейкины — ИЛ-1-бета, ИЛ-6, ИЛ-8 (Bender Medsystems), СРБ (Biomerica).

Статистическую обработку результатов проводили в лицензионной версии программы SPSS for Windows с применением корреляционного, логистически-регрессионного и One-Way ANOVA анализов с использованием критерия Даннета для множественного сравнения.

Результаты и обсуждение

У пациентов с наличием в КА нестабильных атеросклеротических бляшек отмечен повышенный уровень в крови МСР-1 (выше в 1,9 раз; $p < 0,05$) и сниженный sVCAM-1 (ниже в 1,4 раза; $p < 0,05$) по сравнению с мужчинами, у которых, согласно гистологическому заключению при анализе материалов образцов интима/меди КА, в коронарных артериях не было нестабильных бляшек (табл. 1). По уровню в крови других изученных нами факторов эндотелиальной дисфункции различий между двумя группами мужчин не было.

Полученные нами результаты относительно МСР-1 не противоречат данным других исследований. Так, в исследовании Cho KY, et al. было выявлено, что у пациентов с инфарктом миокарда в нестабильных атеросклеротических бляшках повышено содержание МСР-1 и ИЛ-6 [10]. Hoogeveen RC, et al. в своей работе заключили, что повышенный уровень в крови МСР-1 связан не только с риском развития атеросклероза, но и с риском развития инфаркта миокарда [11]. Полученные нами результаты относительно sVCAM-1 не противоречат нашим данным, полученным ранее [3], однако не согласуются

с результатами некоторых других исследований. Так, Lu HH, et al. заключили, что VCAM-1, наряду с другими адгезивными молекулами и маркерами воспаления повышены в нестабильных атеросклеротических бляшках и в крови у пациентов с тяжелым, в том числе осложненным коронарным атеросклерозом [12]. Согласно результатам Wekesa AL, et al., VCAM-1 являются предикторами развития нестабильных атеросклеротических бляшек [13].

Результаты корреляционного анализа исследуемых показателей представлены в таблице 2. Наибольшее число корреляционных связей выявлено для МСР-1. Так, показана связь между уровнем в крови МСР-1 и концентрациями фактора VII, антитромбина III, ИЛ-8, СРБ, ИЛ-1-бета и наличием у мужчин нестабильных атеросклеротических бляшек в КА. Обнаружены также корреляции между эндотелином-1 и СРБ, между АДМА и ИЛ-8 и ФНО- α (отрицательная связь), между PAI-1 и антитромбином III и ИЛ-1-бета (отрицательная связь), между sVCAM-1 и ИЛ-8 (отрицательная связь). Эти результаты отражают полученные нами более ранние данные о том, что повышенное содержание ФНО- α , ИЛ-1-бета и sVCAM-1, в том числе в крови, характерно не для нестабильных атеросклеротических бляшек в КА, а для стабильных [2, 3, 7].

Все исследуемые нами факторы эндотелиальной дисфункции были включены в Модель логистического регрессионного анализа в качестве независимых переменных, а наличие нестабильных бляшек в КА — в качестве зависимой переменной (табл. 3).

Результаты показали, что относительный риск наличия в КА нестабильных атеросклеротических бляшек связан с повышенным уровнем в крови МСР-1. Исследование содержания МСР-1 на разных стадиях формирования атеросклеротического очага показало его постепенное нарастание от неизменной ткани интимы до нестабильной бляшки [2]. Deo

Таблица 1

Факторы функции эндотелия у мужчин с коронарным атеросклерозом (M \pm σ)

Факторы эндотелиальной дисфункции в крови	Группа 1 n=39	Группа 2 n=55	P
Гомоцистеин (мкм/л)	18,1 \pm 5,5	18,4 \pm 7,6	0,556
МСР-1 (пг/мл)	521,1 \pm 188,8	990,6 \pm 709,4*	0,029
Эндотелин-1 (пМ/л)	0,7 \pm 0,6	1,3 \pm 0,9	0,959
АДМА (мкм/л)	1,4 \pm 0,3	1,3 \pm 0,5	0,578
PAI-1 (нг/мл)	395,5 \pm 116,3	398,0 \pm 96,2	0,819
sVCAM-1 (нг/мл)	1007,3 \pm 577,1	731,5 \pm 245,0*	0,045

Примечание: * — при $p < 0,05$.

Таблица 2

Корреляционные связи факторов ЭД с факторами гемостаза, факторами воспаления и показателями нестабильности атеросклеротических бляшек в КА (r Спирмена)

Факторы гемостаза и воспаления	Факторы ЭД	Гомоцистеин	МСР-1	Эндотелин-1	АДМА	PAI-1	sVCAM-1
Фактор II		нд	нд	нд	нд	нд	нд
Фактор VII		нд	0,242*	нд	нд	нд	нд
Фактор XII		нд	нд	нд	нд	нд	нд
Антитромбин III		нд	0,406**	нд	нд	0,325**	нд
ИЛ-6		нд	нд	нд	нд	нд	нд
ИЛ-8		нд	0,260*	нд	0,371**	нд	-0,228*
СРП		нд	0,229*	0,381**	нд	нд	нд
ФНО-альфа		нд	нд	нд	-0,377**	нд	нд
ИЛ-1 бета		нд	-0,477**	нд	нд	-0,444**	нд
Наличие нестабильных бляшек в КА		нд	0,247*	нд	нд	нд	нд

Примечание: * — при $p < 0,05$, ** — при $p < 0,01$, нд — недостоверно.

Таблица 3

**Логистический регрессионный анализ
относительного риска наличия
в КА нестабильных атеросклеротических бляшек,
связанного с факторами ЭД**

Факторы ЭД	Exp(B)	95,0% С.И. для Exp(B)		P
		Нижний	Верхний	
Гомоцистеин	0,864	0,708	1,055	0,153
МСП-1	1,008	1,002	1,013	0,004
Эндотелин-1	1,599	0,678	3,774	0,284
АДМА	0,985	0,856	1,021	0,277
РАI-1	0,997	0,987	1,007	0,562
sVCAM-1	0,996	0,992	1,001	0,129

R, et al. считают, что повышенный уровень МСП-1 в атеросклеротических бляшках, в том числе с кальцинозом, ассоциирован с нестабильностью бляшек [14]. Ma Y, et al. заключили, что повышенные уровни в крови МСП-1 и металлопротеиназы 9 типа являются ключевыми для определения с высокой долей вероятности наличия у пациентов с атеросклерозом нестабильных бляшек [15]. В связи с этим, полученные нами результаты, во-первых, о корреляции уровня в крови МСП-1 с наличием у мужчин с коронарным атеросклерозом гистологически верифицированных нестабильных бляшек в КА и, во-вторых, о связи повышенного уровня в крови МСП-1 с относительным риском наличия в КА нестабильных атеросклеротических бляшек, не только не противоречат данным литературы, но и свидетельствуют о том, что повышенный уровень в крови МСП-1 может быть новым потенциальным биомаркером вероятности наличия нестабильных атеросклеротических бляшек в КА.

Финансирование. Работа выполнена в рамках бюджетной темы по Государственному заданию № 0324-

2018-0002, бюджетной темы по поддержке биоресурсных коллекций по Государственному заданию № 0324-2017-0048 и при финансовой поддержке Гранта РФФИ № 17-04-02120а.

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

- Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2018 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2018;20;137 (12): e67-e492. doi:10.1161/CIR.0000000000000558.
- Ragino Yul, Chernyavskij AM, Volkov AM, et al. Factors and mechanisms of atherosclerotic plaque instability. Novosibirsk: Nauka, 2008.p. 88. (In Russ.) Рагино Ю.И., Чернявский А.М., Волков А.М. и др. Факторы и механизмы нестабильности атеросклеротической бляшки. Новосибирск: Наука, 2008 p.88. ISBN 978-5-02-023256-3.
- Ragino Yul, Chernyavskij AM, Polonskaya YaV, et al. Oxidative and endothelial-dysfunctional biomarkers of atherosclerotic plaque instability. *Vascular wall and blood tests. Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2012;153 (3):308-13. (In Russ.) Рагино Ю.И., Чернявский А.М., Полонская Я.В. и др. Окислительные и эндотелиально-дисфункциональные биомаркеры нестабильности атеросклеротических бляшек. Исследования сосудистой стенки и крови. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012;153 (3):308-13.
- Virmani R, Burke AP, Farb A, et al. Pathology of the vulnerable plaque. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2006;47 (8 Suppl): C13-C18. doi:10.1016/j.jacc.2005.10.065.
- Niccoli G, Liuzzo G, Montone RA, et al. Advances in mechanisms, imaging and management of the unstable plaque. *Atherosclerosis*. 2014;233 (2):467-77. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2014.01.036.
- Fishbein MC. The vulnerable and unstable atherosclerotic plaque. *Cardiovasc. Pathol*. 2010;19 (1):6-11. doi:10.1016/j.carpath.2008.08.004.
- Ragino Yul, Chernyavskij AM, Volkov AM, et al. Factors and mechanisms of coronary atherosclerosis development. Novosibirsk: Nauka, 2011.p. 168. (In Russ.) Рагино Ю.И., Чернявский А.М., Волков А.М., и др. Факторы и механизмы развития коронарного атеросклероза. Новосибирск: Наука, 2011 p. 168. ISBN 978-5-02-018975-1.
- Jenny NC, Olson NC, Allison MA, et al. Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis: Biomarkers of key biological pathways in cardiovascular disease. *Glob Heart*. 2016;11 (3):327-36. doi:10.1016/j.gheart.2016.07.003.
- Koenig W, Khuseynova N. Biomarkers of atherosclerotic plaque instability and rupture. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2007;27:15-26. doi:10.1161/01.ATV.0000251503.35795.4f.
- Cho KY, Miyoshi H, Kuroda S, et al. The phenotype of infiltrating macrophages influences arteriosclerotic plaque vulnerability in the carotid artery. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis*. 2013;22 (7):910-8. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2012.11.020.
- Hoogeveen RC, Morrison A, Boerwinkle E, et al. Plasma MCP-1 level and risk for peripheral arterial disease and incident coronary heart disease: Atherosclerosis Risk in Communities study. *Atherosclerosis*. 2005;183 (2):301-7. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2005.03.007.
- Lu HH, Sheng ZQ, Wang Y, et al. Levels of soluble adhesion molecules in patients with various clinical presentations of coronary atherosclerosis. *Chin. Med. J. (Engl)*. 2010;123 (21):3123-6.
- Wekesa AL, Cross KS, O'Donovan O, et al. Predicting carotid artery disease and plaque instability from cell-derived microparticles. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg*. 2014;48 (5):489-95. doi:10.1016/j.ejvs.2014.08.007.
- Deo R, Khera A, McGuire DK, et al. Association among plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1, traditional cardiovascular risk factors, and subclinical atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2004;44 (9):1812-8. doi:10.1016/j.jacc.2004.07.047.
- Ma Y, Yabluchanskiy A, Hall ME, et al. Using plasma matrix metalloproteinase-9 and monocyte chemoattractant protein-1 to predict future cardiovascular events in subjects with carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2014;232 (1):231-3. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2013.09.013.