

*Петелина Т.И., Мусихина Н.А., Гапон Л.И., Дементьева Н.В., Такканд А.Г., Осипова И.В., Белослудцева О.Е.*

## **Характеристика маркеров воспалительной реакции и дисфункции эндотелия у пациентов с гемодинамически незначимым коронарным стенозом при исходно стабильной и нестабильной стенокардии**

Филиал ФГБУ НИИ кардиологии СО РАМН «Тюменский кардиологический центр», Тюмень

*Petelina T.I., Musihina N.A., Gapon L.I., Dement'eva N.V., Takkand A.G., Osipova I.V., Belosludceva O.E.*

## **Characteristics of the inflammatory response and markers of endothelial dysfunction in patients with hemodynamically insignificant coronary stenosis at baseline stable and unstable angina**

### **Резюме**

Обследовано 48 пациентов (мужского и женского пола) в возрасте  $60,1 \pm 10,7$  лет с ишемической болезнью сердца (ИБС). Согласно данным селективной коронарной ангиографии, выделена группа пациентов с гемодинамически незначимым коронарным стенозом. У пациентов вне связи с клиническим течением ИБС (стабильная и нестабильная стенокардия) выявлены признаки умеренной дислипидемии, активации системного воспалительного ответа, представленного повышенным содержанием ФНО- $\alpha$  и дисфункции эндотелиальной системы в виде гиперпродукции плазменного эндотелина-1. В группе пациентов с нестабильной стенокардией отмечена тенденция к повышению hs-CRP, гомоцистеина и достоверное повышение MMP-9, что, характеризуя повышенный уровень воспалительного ответа, отражает патогенетические механизмы провокации нестабильности гемодинамически незначимой атеросклеротической бляшки.

**Ключевые слова:** ишемическая болезнь сердца, гемодинамически незначимый стеноз коронарных артерий, воспалительные маркеры, эндотелиальная дисфункция

### **Summary**

Were examined 48 patients ( male and female ) aged  $60,1 \pm 10,7$  years with coronary heart disease (CHD). According to selective coronary angiography, isolated group of patients with hemodynamically insignificant coronary stenosis. In groups (stable and unstable angina) equally showed signs of dyslipidemia moderate activation of systemic inflammatory response (increase in the level of TNF - $\alpha$ ) and endothelial dysfunction (overproduction of endothelin -1). In the group of patients with unstable angina showed a tendency to increased hs-CRP, homocysteine and a significant increase in MMP- 9 , which reflects the pathogenetic mechanisms of instability of atherosclerotic plaques .

**Keywords:** CAD, hemodynamically insignificant coronary artery stenosis, lipid profile, inflammatory markers

### **Введение**

Несмотря на достигнутые за последнее десятилетие значительные успехи в профилактике и лечении ИБС, она по-прежнему доминирует в структуре заболеваемости и причин смертности. Ежегодно в Российской Федерации диагностируют ИБС у 2,8-5,8 миллионов человек, при этом смертность в среднем составляет 431,5 человек на 100 тысяч в год. [1, 2] В настоящее время происходит критический пересмотр многих представлений о причинах, механизмах развития и принципах лечения

как ИБС в целом, так и ОКС в частности. [3] Доказано, что атеросклероз обуславливает примерно половину всех смертельных случаев и около 1/3 летальных исходов у лиц в возрасте 35–65 лет. Изучение проблем патогенеза атеросклероза в последние годы позволило существенно расширить представления о механизмах возникновения заболевания, однако, сегодня понимание патогенеза атеросклероза вышло далеко за пределы оценки значимости гиперхолестеринемии как ведущего механизма процесса. Установлено, что воспаление стенки сосуда является

ся одним из основных механизмов формирования и прогрессирования его атеросклеротического повреждения. Большинство атеросклеротических бляшек у пациентов с ИБС стабильны в течение длительного времени, однако, некоторые из них трансформируются в нестабильные, то есть склонные к разрыву. Большое значение в этом превращении имеет воспаление. Истончение фиброзной крышки и увеличение липидного ядра – важные факторы дестабилизации атеросклеротической бляшки, обуславливающие возникновение тромботических осложнений. [4]

В течение последних десятилетий стало очевидным, что эндотелиальные клетки выполняют многие физиологические функции, включая регуляцию сосудистого тонуса, регуляцию гемостаза и фибринолиза, регуляцию воспалительных процессов и поддержание барьера проницаемости для обеспечения обмена и активного транспорта субстанций в артериальную стенку. Нарушение барьерной функции эндотелия вызывает миграцию макрофагов и пролиферацию гладкомышечных клеток (ГМК). Миграция, пролиферация и активация ГМК определяет увеличение размеров бляшки, синтез протеогликанов и коллагена, влияя на стабильность бляшки. [5]

Лучшее понимание природы воспалительных реакций и эндотелиновой дисфункции в развитии нестабильности коронарных процессов может обеспечить основу для новых методов диагностики и терапии сосудистых коронарных патологий.

**Цель исследования** - провести сравнительный анализ маркеров воспалительной реакции и дисфункции эндотелия у пациентов ИБС с гемодинамически незначимым стенозом коронарных артерий (ГНЗКС) при исходно стабильной (СС) и нестабильной стенокардии (НС).

## Материалы и методы

Из общего количества пациентов с ГНЗКС (n=48) выделены 2 группы пациентов в зависимости от варианта течения ИБС на исходном этапе исследования: СС (n=31) и НС (n=17). Объем диагностических мероприятий для пациентов включал клиническое обследование, лабораторную биохимическую диагностику и инструментальные методы оценки состояния коронарного кровообращения - ЭКГ в 12 стандартных отведениях и селективную коронарографию.

Диагностика формы ИБС и сопутствующей патологии проводилась в соответствии с рекомендациями Всероссийского научного общества кардиологов.

Критериями исключения явились: наличие в анамнезе в течение последних 6 месяцев острого нарушения мозгового кровообращения; хронической сердечной недостаточности (ХСН) функционального класса (ФК) IV (по NYHA); состояние декомпенсации сахарного диабета (СД); наличие онкологических заболеваний.

Коронарную ангиографию выполняли из феморального доступа по стандартной методике M. Judkins (1967 г.) с помощью ангиографических комплексов «Diagnost ARC A», «Poly diagnost C», «Integris Allura»-Phillips-Голландия. Оценивали максимальный процент стенози-

рования пораженных коронарных артерий (КА). Гемодинамически незначимое поражение коронарных артерий считалось при стенозе менее 75% просвета сосуда по данным селективной КАГ.

Биохимический спектр параметров липидного обмена определяли в сыворотке крови на автоматическом анализаторе Cobas Integra 400 plus (Швейцария). Определяли уровни общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), липопротеинов высокой, низкой плотностей (ЛПВП, ЛПНП) - энзиматическим колориметрическим методом; концентрации аполипопротеинов А-I (Апо А-I), аполипопротеинов В (Апо В), липопротеинов а (Лп (а)) - методом иммунотурбидиметрии с помощью аналитических наборов «Roche Diagnostics Gmb» (Германия).

В качестве биохимических маркеров воспаления определяли концентрацию высокочувствительного С-реактивного белка (hs-СРБ) - иммунотурбидиметрическим методом, с использованием аналитических наборов «C-reactive protein hs» (BioSystem, Испания), на полуавтоматическом анализаторе открытого типа «Clima MC-15» (Испания); интерлейкин-1β (ИЛ-1β), интерлейкин-6 (ИЛ-6), интерлейкин-8 (ИЛ-8), фактор некроза опухоли - α (ФНО-α) и гомоцистеин - методом твердофазного хемилюминисцентного иммуноферментного анализа на аналитических наборах: ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, TNF-α, homocystein, на анализаторе «IMMULITE 1000» (Siemens Diagnostics, США), методом «иммуноферментного сэндвича» - растворимый CD40 - лиганд (sCD40 L) с использованием наборов Human sCD40L Elisa на анализаторе Bender MedSystems, матриксную металлопротеиназу MMP-9, и ингибитор активности матриксной металлопротеиназы TIMP-1 на наборах фирмы «Bender MedSystems and Bioscience company».

Расчетным путем были определены: холестерин липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП)=ТГ/2,2; индекс атерогенности (ИА) = ОХС - ЛПВП/ЛПВП; коэффициент атерогенности (КА) = Апо В/Апо А-I.

Оценка показателей функциональной активности эндотелия в сыворотке крови включала определение уровня нитритов на биохимическом анализаторе «Humalyzer 2000 Hupal» (Германия) и эндотелина-1 - на иммуноферментном полуавтоматическом анализаторе «Dynatech» (Германия).

Забор крови осуществляли из периферической вены локтевого сгиба исходно - перед КАГ.

Все пациенты 1-ой и 2-ой групп до поступления в стационар находились на стандартной терапии: нитраты пролонгированного действия, ингибиторы АПФ, β-блокаторы, дезагреганты, блокаторы кальциевых каналов, диуретики и статины.

Группы пациенты с ГНЗКС вне зависимости от варианта ИБС на исходном этапе исследования оказались сопоставимы по ряду клинико-анамнестических параметров. Так, мужской пол, факт табакокурения, дислипидемия, отягощенная наследственность по АГ и ИБС, наличие перенесенного ИМ, СД 2 типа, ХСН в рамках II ФК (NYHA), ожирения I степени не имели достоверных различий для пациентов СС и НС.

Таблица 1. Характеристика параметров липидного спектра пациентов ГНЗКС исходно со СС и НС

Показатель	Группа СС (n=31)	Группа НС (n=17)
ОХС (ммоль/л)	4,93±1,18	4,53±1,18
ЛПВП (ммоль/л)	1,18±0,26	1,06±0,23*
ЛПНП (ммоль/л)	2,77±0,96	2,55±0,94
ЛПОНП (ммоль/л)	0,71±0,3	0,74±0,21
ТГ (ммоль/л)	2,1±1,13	1,95±0,57
ИА	3,52±1,28	3,56±0,99
Апо В (мг/дл)	85,16±23,32	83,91±20,83
Апо А-1 (мг/дл)	160,18±20,92	147,68±21,55*
Апо В/Апо А-1	0,54±0,23	0,55±0,18
ЛП (а) (мг/дл)	24,21±20,03	31,23±22,8

Примечание: n - количество пациентов, достоверность различий пациентов с ГНЗКС между группами с исходно СС и НС: \* p<0,05.

Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета прикладных программ Statistica (SPSS Inc, ver 11.5). Для оценки нормальности распределения применялся критерий Колмогорова - Смирнова. Между группами использовался t-критерий Стьюдента для обнаружения различий в количественных переменных нормального распределения, непараметрический критерий Манна - Уитни - для сравнения качественных и количественных величин, не являющихся нормальными. Сравнение групп между собой проводили с помощью критерия Вилкоксона для парных измерений. Данные представлены в виде M±SD. Достоверность различий выявляли при p<0,05. Оценка взаимосвязи признаков проводилась с использованием коэффициентов ранговой корреляции Пирсона и Спирмена, соответственно.

## Результаты и обсуждение

Многочисленные исследования, проведенные в течение последних 50 лет, не оставляют сомнений по поводу влияния нарушений липидного спектра крови на развитие атеросклероза, заболеваемость и смертность от ИБС. [6]

Сравнительная характеристика параметров липидного спектра в обеих группах представлена в таблице 1.

Данные, представленные в таблице 1, свидетельствуют о наличии умеренно выраженной дислипидемии в виде увеличения атерогенных фракций плазмы крови: ОХС, ЛПНП, ЛПОНП, ТГ в обеих группах пациентов. При этом пациенты с НС на исходном этапе отличались тенденцией к повышению уровня ЛП (а), что отличает эту группу пациентов повышенным риском вероятности развития сердечно-сосудистых катастроф.

Имеются свидетельства о том, что высокий уровень ЛП (а) – независимый фактор риска атерогенеза и тромбогенеза. Так, каждый пятый здоровый человек в общей популяции имеет повышенный уровень ЛП (а). По Российским данным, а также по данным Национального Института сердца, легких и крови США, у больных, относящихся к категории высокого риска, в частности, у больных ИБС, повышенный уровень ЛП (а) встречается в 37-40% случаев, тогда как среди лиц из категории низкого риска – только в 14% случаев.

Согласно мнению Американской кардиологической ассоциации, повышенные уровни ЛП (а) повышают риск

Таблица 2. Характеристика параметров воспалительных маркеров пациентов с ГНЗКС в группах с исходно СС и НС

Показатель	Группа со СС (n=31)	Группа с НС (n=17)
CD 40 (нг/мл)	88,93±30,12	84,79±32,14
sCD 40L (нг/мл)	3,37±1,15	3,51±0,93
CD 40/sCD 40L	27,88±9,31	26,45±12,05
TIMP-1 (нг/мл)	83,27±15,23	98,1±17,49
MMP-9 (нг/мл)	92,57±32,99	112,31±23,01*
ИЛ-1β (пг/мл)	4,45±1,61	4,46±1,18
ИЛ-6 (пг/мл)	3,63±2,84	3,5±2,4
ИЛ-8 (пг/мл)	16,63±13,06	14,9±9,81
ФНО-α (пг/мл)	10,04±4,52	9,86±3,05
hs-CRP (мг/л)	2,93±1,24	3,1±1,14
гомоцистеин (мкмоль/л)	12,42±5,63	13,69±4,61

Примечание: n - число пациентов, достоверность различий пациентов с ГНЗКС между группами с исходно СС и НС: \* p<0,05.

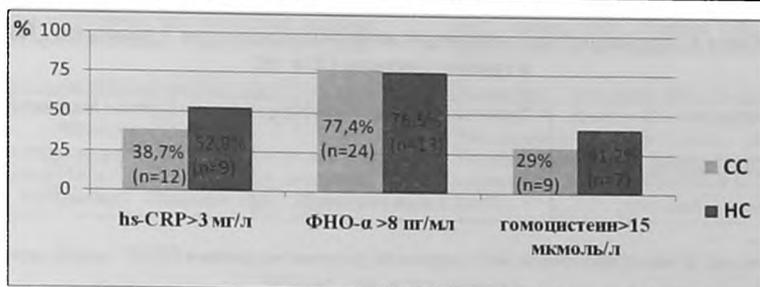


Рисунок 1. Частота встречаемости воспалительных маркеров hs-CRP > 3 мг/л, ФНО-α > 8 пг/мл, гомоцистеина > 15 мкмоль/л у пациентов ГНЗК в группах с исходно СС и НС.

Примечание: n - число пациентов; % - процент от общего числа исследуемых в группе.

острых коронарных событий на 70%. Структурное сходство ЛП (а) с плазминогеном, позволяет рассматривать его как конкурентного антагониста последнего, что ассоциируется с повышенным риском возникновения тромбоза коронарных артерий. [7]

Показатели антиатерогенных фракций находились в пределах нормативного диапазона, однако, у пациентов с исходной СС уровни ЛПВП и Апо А-1 были достоверно более высокими.

Сравнительная характеристика воспалительных маркеров в группах пациентов с исходно СС и НС представлена в таблице 2.

Согласно представленным данным в таблице 2, выявлено, что системный воспалительный ответ достоверно не различимый между группами с исходно СС и НС, характеризовался пограничным уровнем значений hs-CRP с тенденцией к активации у пациентов с НС.

В современных представлениях о неоднозначной роли провоспалительных маркеров неоднократно показано, что hs-CRP может иметь самостоятельное патогенетическое значение в процессах атерогенеза, дестабилизации атеросклеротической бляшки и последующего тромбообразования, а не только отражать тяжесть системного воспаления. Возможность hs-CRP связываться с ЛПНП, особенно с модифицированными ЛПНП, и накапливаться в местах атеросклеротического поражения артерий, установлена и подтверждена экспериментальными данными. [8]

Среди показателей цитокинового каскада, сигнальной системы CD40/sCD40L, гомоцистеина зарегистрирована равнозначная активация. Однако, достоверное увеличение MMP-9 и уровня TIMP-1 у пациентов с НС подтверждает наличие выраженной склонности воспалительной реакции к процессу дестабилизации атеросклеротической бляшки.

В группах с исходно СС и НС гиперпродукция воспалительных маркеров, представленная избыточным содержанием hs-CRP > 3 мг/л, ФНО-α > 8 пг/мл и гомоцистеина > 15 мкмоль/л, отражена на рисунке рисунок 1.

Среди различных провоспалительных цитокинов ФНО-α обладает наиболее выраженным атерогенным действием. Несмотря на то, что патогенетический механизм проатерогенного эффекта ФНО-α до конца не изучен, установлено, что этому цитокину принадлежит ве-

дущая роль в увеличении степени активности воспаления при атерогенезе. [9]

Роль гомоцистеина состоит в том, что он подвергается аутоокислению с образованием свободных радикалов, повреждающих эндотелий сосудов, с последующим развитием эндотелиальной дисфункции, которая запускает сложный каскад ферментативных реакций, приводящих к индукции синтеза ОХС и окислению ЛПНП, что стимулирует процессы атерогенеза и подтверждает наличие тесной связи эндотелиальной дисфункции с процессами воспалительного ответа. [9] Механизмы действия hs-CRP и гомоцистеина на сосудистую стенку и дальнейшие ферментативные реакции практически выражаются в подавлении продукции эндотелиального оксида азота, индукции экспрессии молекул адгезии и усиления поглощения ЛПНП макрофагами. [10]

Определение уровня продукта метаболизма NO - нитритов при атерогенных нарушениях липидного спектра проводилось в немногочисленных исследованиях, при этом получены противоречивые результаты. Большинство авторов при гиперхолестеринемии определили снижение концентрации нитритов с наличием их отрицательной корреляции с уровнем ОХС и ЛПНП (Tanaka S. et al., 1997). Наиболее низкие уровни метаболитов NO определены у лиц с атеросклеротически измененными сосудами. [11]

Сравнительная характеристика параметров дисфункции эндотелия у пациентов ГНЗК в группе со СС и НС представлена в таблице 3.

Согласно данным в таблице 3, сходной чертой у пациентов в обеих группах являлась равнозначная гиперпродукция плазменного эндотелина-1. Достоверным отличием группы пациентов исходно СС являлся дефицит уровня нитритов.

Эндотелиальная дисфункция, поддерживая регуляцию воспалительных процессов и вызывая нарушение барьерной функции эндотелия, усиливает миграцию макрофагов и пролиферацию гладкомышечных клеток (ГМК). Активация макрофагов вызывает возрастание активности матриксных металлопротеиназ, экспрессию провоспалительных цитокинов и хемокинов, активацию оксидантного стресса и гибель ГМК. Повышение активности макрофагов в бляшке сопровождается активацией локального воспаления с разрушением соединительной

Таблица 3. Характеристика параметров дисфункции эндотелия у пациентов ГНЗКС в группах с исходно СС и НС

Показатель	Группа с исходной СС (n=31)	Группа с исходной НС (n=17)
нитриты (нмоль/мл)	2,69±1,23	3,33±1,28*
эндотелин-1 (фмоль/л)	1,01±0,41	0,87±0,37

Примечание: n- число пациентов; достоверность различий пациентов ГНЗКС между группами с исходно СС и НС: \* p<0,05.

канного матрикса и покрышки бляшки, возрастанием угрозы нарушения ее целостности и развития ОКС. Нестабильная атеросклеротическая бляшка характеризуется высоким содержанием липидов и макрофагов, низким - ГМК и коллагена, тогда как в стабильной бляшке преобладают ГМК, секретирующие коллаген и матриксные белки. [12]

По полученным данным в нашей работе, у пациентов с ГНЗКС вне связи с клиническим течением ИБС выявлены признаки умеренной дислипидемии, активации системного воспалительного ответа, представленных избыточным содержанием ФНО-α и эндотелиальной дисфункции в виде гиперпродукции плазменного эндотелина-1. В группе с НС исходно отмечен повышенный уровень hs-CRP, гомотистина, ММР-9, что свидетельствует о наличии выраженного воспалительного ответа на фоне дисфункции эндотелия, который выступает инициатором провокации состояния нестабильности в гемодинамически незначимой атеросклеротической бляшке.

## Заключение

Результаты исследования подтверждают необходимость в динамическом лабораторном контроле липидных и воспалительных маркеров у пациентов с ГНЗКС, обосновывая важность достижения высокой комплаентности пациентов к рекомендуемой терапии. ■

*Петелина Татьяна Ивановна, д.м.н., старший на-*

*учный сотрудник отделения артериальной гипертензии и коронарной недостаточности научного отдела клинической кардиологии филиала ФГБУ НИИ кардиологии СО РАМН «Тюменский кардиологический центр», г. Тюмень; Мусихина Наталья Алексеевна, к.м.н., научный руководитель отделения неотложной кардиологии научного отдела клинической кардиологии филиала ФГБУ НИИ кардиологии СО РАМН «Тюменский кардиологический центр», г. Тюмень; Гапон Людмила Ивановна, руководитель научного отдела клинической кардиологии филиала ФГБУ НИИ кардиологии СО РАМН «Тюменский кардиологический центр», профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, г. Тюмень; Дементьева Наталья Владимировна, врач кардиологического отделения №1 филиала ФГБУ НИИ кардиологии СО РАМН «Тюменский кардиологический центр», г. Тюмень; Таканд Анастасия Глебовна, врач кардиологического отделения №1 филиала ФГБУ НИИ кардиологии СО РАМН «Тюменский кардиологический центр», г. Тюмень; Осипова Ирина Владимировна, очный аспирант филиала ФГБУ НИИ кардиологии СО РАМН «Тюменский кардиологический центр», г. Тюмень; Белослудцева Ольга Евгеньевна, врач кардиологического отделения №1 ФГБУ НИИ кардиологии СО РАМН «Тюменский кардиологический центр», г. Тюмень; Автор, ответственный за переписку - Петелина Татьяна Ивановна, 625026, г. Тюмень, ул. Мельникайте, 111. Тел. сот. 8-922-263-33-62 e-mail: petelina@cardio.tmn.ru*

## Литература:

1. Шальнова С.А. Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и факторы риска в России // Кардиология. Национальное руководство. - М.: ГЭОТАР-Медиа. - 2007. - С.37-52.
2. Бокерия Л.А., Гудкова Р.Г. Сердечно-сосудистая хирургия. Болезни и врожденные аномалии системы кровообращения. - Москва. - 2005. - С. 4-29.
3. Братусь В.В., Талаева Т.В. Воспаление как патогенетическая основа атеросклероза. // Национальный научный центр "Институт кардиологии им. Н.Д. Стражеско" АМН Украины. - Киев. - 2007.
4. Титов В.Н. Общность атеросклероза и воспаления: специфичность атеросклероза как воспалительного процесса. // Биохимия, 2000. - ч 4. - С. 3-10.
5. Киприна Е.С. Лабораторные маркеры эндотелиальной дисфункции в прогнозировании неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у больных острым коронарным синдромом. // Автореферат. - Москва. - 2011. - С. 3-6.
6. Орлова Н.В., Чукаева, И.И., Солошенкова О.О., Алешкин В.А., Ярных Е.В., Новикова Л.И., Соловьева М.В. Изучение взаимосвязи уровней острофазных белков и нарушений липидного обмена у больных ИБС с поражением коронарных артерий. // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2008; ч7 (6), приложение 1 - С.271.
7. Lipoprotein(a) Further Increases the Risk of Coronary Events in Men With High Global Cardiovascular Risk / Eckardstein A., Schulte H., Cullen P. et al. // J. Am. Coll. Cardiol. - 2001; 37 (2): - P. 434 - 439.
8. Шишкин В.В., Поляков А.Е. С-реактивный белок как прогностический фактор у больных с ишемической болезнью сердца. // Украинский кардиологический журнал. -2006. - ч 1.- С. 14-17.
9. Гусев Д.Е., Потиевский Б.Г., Райчевин Н., Сыркин

- А.Л. Маркеры воспаления при различных формах ишемической болезни сердца. // Кардиология.- 2012.- ц 4.- С.4-8.
10. Гипергомоцистеинемия как фактор риска развития ИБС и ее коррекция // Украинский кардиологический журнал. - 2005. - ц 5. - С. 33-41.
11. Значение определения нитритов - нитратов как маркеров дисфункции эндотелия при сердечно-сосудистой патологии. / Лапшина Л.А., Кравчун П.Г., Титова А.Ю., Глебова О.В. // Харьковский национальный медицинский университет. - 2009.- С. 49-52.
12. Зыков К.А., Нуралиев Э.Ю., Казначеева Е.И., Кузнецова Т.В., Яровая Е.Б., Масенко В.П., Кухарчук В.В. Динамика воспалительного процесса у больных с острым коронарным синдромом и стабильной стенокардией. // Кардиологический вестник.-2011; 1: - С. 23-33.