

# ИММУНОЛОГИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

## ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА С+3953Т ГЕНА IL-1 $\beta$ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ У ЖИТЕЛЕЙ ХАКАСИЯ

Агеева Е.С., Саранчина Ю.В., Берсенёва О.А.,  
Россова Н.А., Килина О.Ю., Штыгашева О.В.

Хакасский государственный университет им. Н.Ф.  
Катанова, Абакан, Россия

**Введение.** Метаболический синдром (МС) является одной из приоритетных проблем медицины и характеризуется широкой распространенностью (25-35 %) среди населения развитых стран. В развитии МС значительную роль играет хроническое воспаление. Известно, что жировая ткань секретирует провоспалительные цитокины (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, хемокины, MCP-1, RANTES), усиливающие действие факторов риска. Данный факт делает актуальным поиск ДНК-маркеров, определяющих риск развития МС и/или его компонентов. **Целью исследования** являлось выявление иммуногенетических особенностей патогенеза МС у коренного (хакасов) и пришлого (европеоидов) населения Республики Хакасии.

**Материал и методы.** Исследование выполнено у 85 человек (мужчины и женщины), из них 79 хакасов и 37 европеоидов. Средний возраст обследованных составил 49,9 $\pm$ 12,3 лет (от 18 до 85 лет). Критерием включения в исследование было наличие абдоминального ожирения. МС верифицировали согласно классификации ВОЗ (2008) с применением критериев Европейского Общества Кардиологов (2007) и Международной Федерации Диабета (2005). Для оценки типа отложения жира использовали соотношение окружностей талии и бедер (ОТ/ОБ). Ожирение расценивалось как абдоминальное при соотношении ОТ/ОБ свыше 0,85 у женщин и свыше 1,0 у мужчин. Наличие избыточной массы тела (ИМТ) и степени ожирения верифицировали согласно индексу Кетле, учитывающего массу тела в кг и рост в м<sup>2</sup>. Нарушения углеводного обмена в виде нарушения толерантности к глюкозе (НТГ) и СД 2 типа верифицировали на основании классификации ВОЗ (1999). Нарушенную гликемию натощак устанавливали при уровне глюкозы в капиллярной крови натощак  $\geq$  5,6 ммоль/л и  $<$  6,1 ммоль/л и при уровне гликемии  $<$  7,8 ммоль/л через 2 часа после проведения глюкозотолерантного теста. Общее лабораторное исследование включало биохимический анализ крови (сахар, общий холестерин, триглицериды, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП, расчет индекса атерогенности, мочевины, креатинина, мочевого кислоты). Концентрацию IL-1 $\beta$  в сыворотке крови определяли с помощью иммуноферментного анализа. Полиморфизм С+3953Т гена IL-1 $\beta$  определяли с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени. Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 8.0. Данные представлены

в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (25-й и 75-й процентиля). Достоверность различий оценивали по критерию Манна-Уитни. Анализ ассоциаций полиморфизмов с заболеванием рассчитывали с помощью критерия отношения шансов OR (Odds Ratio) с расчетом для него 95 % доверительного интервала CI (Confidence Intervals).

**Результаты и обсуждение.** При изучении концентрации цитокина в сыворотке крови было показано, что у хакасов пациентов с МС уровень IL-1 $\beta$  был ниже, по сравнению с группой контроля [0,20 (0,0-1,9) и 2,77 (0,0-15,24) пг/мл, соответственно,  $p=0,0170$ ]. В группе европеоидов наблюдалась аналогичная тенденция изменений, хотя различия не были статистически значимыми [0,16 (0,0-2,11) 1,98 (0,21-11,75) пг/мл, соответственно,  $p=0,4797$ ]. При межпопуляционном сравнении концентрации IL-1 $\beta$  так же не было обнаружено статистически значимых различий, как в группе пациентов с МС ( $p=0,4883$ ), так и в группе контроля ( $p=0,6879$ ).

При изучении характера распределения полиморфизма С+3953Т гена IL-1 $\beta$  было обнаружено, что у хакасов в группе здоровых доноров наиболее частым генотипом был СС – 72,0 %, доля СТ составила 28,0 %. Аналогичная тенденция сохранялась и в группе пациентов с МС. При сравнительном анализе выявлено, что при МС у хакасов чаще встречался генотип СТ (45,0 %), реже СС (55,0 %),  $\chi^2=6,20$ ;  $p=0,01$ . У европеоидов доминирующим генотипом в обеих группах являлись гомозиготы СС (у пациентов с МС – 71,0 %, в группе здоровых доноров – 70,0 %). Доля гетерозигот СТ была статистически значимо ниже в группе больных МС, по сравнению со здоровыми донорами (18,0 и 30,0 %,  $\chi^2=3,93$ ;  $p<0,05$ , соответственно). Генотип ТТ +3953 IL-1 $\beta$  в нашем исследовании был выявлен только у пациентов с МС представителей европеоидной популяции (11,0 %). Межпопуляционный анализ частоты встречаемости генотипов у пациентов с МС показал, что у хакасов генотип СС был статистически значимо выше, чем у европеоидов ( $\chi^2=3,78$ ;  $p=0,001$ ), в то время как СТ – ниже ( $\chi^2=5,78$ ;  $p=0,0002$ ).

Учитывая значение критерия отношения шансов, можно сделать вывод о положительной ассоциации генотипа СТ +3953Т гена IL-1 $\beta$  с риском развития МС у хакасов (OR=2,10 при 95 % CI 1,13-3,96).

**Заключение.** Таким образом, нами выявлено, что при МС характер распределения генотипов отличался у хакасов и европеоидов. Показано, что роль конкретных генотипов в механизмах развития МС также различалась. Установлено, что у хакасов возможное влияние на риск развития МС связано с наличием генотипа СТ +3953 IL-1 $\beta$  (OR=2,10).

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках базовой части государственного задания.

### СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АКТИВНОСТИ МАРКЕРОВ ИММУННОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ НЕБЛАГОПРИЯТНОМ ИСХОДЕ ОСТРОГО Q-ОБРАЗУЮЩЕГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

Бекенова Д.З., Демидов А.А., Сагитова Г.Р.,  
Давлетова Г.З.

ГБОУ ВПО «Астраханский ГМУ» Минздрава России,  
Астрахань, Россия

**Введение:** Раннее выявление предвестников острой сердечной недостаточности при инфаркте миокарда, своевременная адекватная ее коррекция, является весьма актуальной задачей в настоящее время. В последние годы произошла переоценка ключевых положений патогенеза атеросклероза и коронарной болезни сердца с позиций развития иммунного воспаления в сосудистой стенке. Большую роль в формировании патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний играет нарушение баланса цитокинов (Богова Т.Е., 2003). Некроз миокардиоцитов и выброс протеиназ в циркуляцию приводят к развитию воспалительной реакции, сопровождающейся активацией синтеза провоспалительных цитокинов. Биомаркеров, которые могут обнаружить довольно рано ишемию миокарда, а также определить риск будущих событий с высокой чувствительностью и специфичностью по-прежнему не хватает. (Tousoulis D., 2012).

**Цель и задачи:** изучить прогностическое значение цитокинового статуса у больных с различным исходом острого Q-образующего инфаркта миокарда.

**Материалы и методы:** Для достижения поставленной цели нами было обследовано 45 пациентов мужского пола с острым Q-образующим ИМ, поступивших на лечение в палату интенсивной терапии и отделение неотложной кардиологии городской клинической больницы №3 им. С.М.Кирова г. Астрахань. Для сравнения характеристик исследуемых показателей оценивалась группа контроля – 20 лиц со стабильной стенокардией. Все обследованные пациенты были мужчины. Средний возраст составил 60,51±12,48 лет. Пациенты с Q-образующим ИМ были разделены на две группы: I группа – 25 больных с благоприятным исходом заболевания, II группа – 20 пациентов с летальным исходом. Всем пациентам проводились общепринятые клинические, лабораторные и инструментальные методы обследования. Кроме того было проведено количественное определение в сыворотке крови уровней провоспалительных цитокинов – ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО-α с помощью иммуноферментного анализа.

**Основные результаты:** Анализ полученных нами данных показал, что у больных с Q-образующим ИМ, умерших от острой сердечной недостаточности в течение первых трех суток госпитализации, показатели цитокинов существенно отличались в сравнении с выжившими пациентами. Так, на 1-е сутки развития острого Q-образующего ИМ уровень ИЛ-6 был достоверно выше (в 2,2 раза) у пациентов с летальным исходом заболевания по сравнению с выжившими пациентами (75,4±3,43 пг/мл против 34,86±4,59 пг/мл, p<0,05) и в 23 раза выше показателя контрольной группы (3,32±0,37 пг/мл, p<0,05). Показатель ИЛ-8 был достоверно более высоким у умерших пациентов по сравнению с благоприятным исходом заболевания на 26,4% (60,5±4,17 пг/мл против 44,53±3,4 пг/мл, p<0,05), что может указывать на более выраженный воспалительный процесс у больных с летальным исходом. Нами так же обнаружено что уровень ФНО-α в

2,3 раза достоверно выше у умерших больных по сравнению с выжившими пациентами (28,13±1,14 пг/мл против 12,14±1,27 пг/мл, p<0,05) и в 18 раз выше показателя контрольной группы (1,53±0,53, p<0,05).

**Заключение:** У пациентов с летальным исходом острого Q-образующего инфаркта миокарда изначально определяются достоверно более высокие показатели ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО-α, что свидетельствует о более выраженном воспалительном процессе в острую стадию инфаркта миокарда по сравнению с выжившими больными. Полученные данные могут быть использованы для определения пациентов с высоким риском развития неблагоприятных исходов заболевания, нуждающихся в современном антитромботическом лечении, реваскуляризации миокарда и тщательном наблюдении.

### ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОТИПИЧЕСКОГО СОСТАВА Т-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ПЕРИТОНИТОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСХОДА ЗАБОЛЕВАНИЯ

Беленюк В.Д.<sup>1</sup>, Мошев А.И.<sup>1</sup>, Савченко А.А.<sup>1</sup>,  
Борисов А.Г.<sup>1</sup>, Черданцев Д.В.<sup>2</sup>, Первова О.В.<sup>2</sup>,  
Шапкина В.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
медицинских проблем Севера», Красноярск, Россия  
<sup>2</sup> ИПО ГБОУ ВПО «Красноярский государственный  
медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-  
Ясенецкого», Красноярск, Россия

Распространенный гнойный перитонит (РГП) является одной из самых серьезных проблем абдоминальной хирургии. Летальность при РГП колеблется на уровне от 11 до 40%, а в случае генерализации инфекции и развития полиорганной недостаточности может достигать 80%. Тяжесть течения перитонита, а так же характер и особенности развития различных осложнений, как правило, определяются не только тяжестью основного патологического процесса и адекватностью проводимого лечения, но и во многом зависит от изменений, происходящих в системе иммунитета. В своем исследовании мы сделали акцент на оценку состояния Т-клеточного звена иммунитета, так как Т-лимфоциты принимают непосредственное участие в развитии иммунного ответа. Они обеспечивают распознавание и уничтожение клеток, несущих чужеродные антигены, усиливают действие моноцитов, НК-клеток, а также принимают участие в переключении изотипов продуцируемых В-клетками иммуноглобулинов.

**Целью данного исследования** явилась оценка популяционного состава Т-лимфоцитов периферической крови, как одного из факторов определяющих вероятностный исход заболевания при развитии РГП.

**Материалы и методы.** Было обследовано 32 пациента с острыми хирургическими заболеваниями и травмами органов брюшной полости, осложнившимися РГП, в возрасте 30-65 лет. Все пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от исхода: 1 группа – больные с благоприятным исходом (n=21); 2 группа – больные с неблагоприятным исходом (n=11). В качестве контроля обследовано 40 относительно здоровых людей аналогичного возрастного диапазона. Гематологическое исследование проводилось на автоматическом анализаторе «ХЕ-5000» (Sysmex, Япония). Оценку популяционного состава Т-лимфоцитов периферической крови осуществляли методом проточной цитофлуориметрии с использованием

цитометра «FC-500» (Beckman Coulter, США), с применением готовых моноклональных антител. Пробоподготовку осуществляли по стандартной методике. В каждой пробе анализировали не менее 50000 лимфоцитов. Статистический анализ проводили в пакете прикладных программ Statistica 8.0.

**Результаты и обсуждение.** Было отмечено значимое снижение количества общих лимфоцитов в обеих группах с РГП ( $p < 0,001$ ). Количество Т-лимфоцитов в группах с РГП сильно варьировалось. В первой группе было обнаружено достоверное повышение количества Т-клеток ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы. Во второй группе достоверных отличий в концентрации Т-клеток, относительно контроля, обнаружено не было. Подобная картина может объясняться процессами, связанными с изменением популяционного состава Т-клеток. Исследование количества Т-киллеров ни в первой группе, ни во второй достоверных отличий не выявило, однако их количество было заметно ниже, контрольных значений. В первой группе было отмечено повышенное количество Т-хелперов ( $p < 0,001$ ), относительно контрольных значений. Во второй группе достоверных отличий в количестве Т-хелперов обнаружено не было. В первой группе отмечено повышение количества Т-рег ( $p < 0,001$ ). Во второй группе количество Т-рег было заметно ниже чем в контрольной группе, хотя достоверных различий обнаружено не было.

**Заключение.** В ходе исследования были обнаружены достоверные изменения популяционного состава Т-лимфоцитов крови. Было показано, что у больных с благоприятным исходом более выражены процессы, связанные с общей активацией иммунного ответа, на это указывает повышение количества Т-лимфоцитов и в частности Т-хелперов и Т-рег. В то же время, у больных с неблагоприятным исходом, на раннем этапе наблюдения, значимых изменений в системе иммунитета, относительно контрольной группы, зафиксировано не было, что может указывать на замедление активационных процессов и как следствие неспособность иммунной системы адекватно бороться с заболеванием. Несмотря на весьма схожие по этиологии и проводимому лечению случаи, зачастую именно первоначальное состояние иммунной системы, на момент начала развития патологии, играет наибольшее значение в вопросе выживаемости.

#### **ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАСТВОРИМЫХ МОЛЕКУЛ АДГЕЗИИ sICAM-1 И sVCAM-1 ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА**

Белокопытова И.С., Москалец О.В.

*МНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия*

Как известно, ИБС обычно сопровождается признаками хронической воспалительной реакции. В настоящее время достаточно подробно описана роль неспецифических маркеров воспалительного процесса в генезе атеросклероза и ИБС (СРБ, фибриноген и др.). В то же время, один из наиболее ранних этапов атеросклеротического воспаления характеризуется прилипанием моноцитов к активированным клеткам эндотелия вследствие чрезмерной экспрессии на их поверхности молекул адгезии молекулы адгезии ICAM-1 и VCAM-1. Растворимые формы данных молекул (sICAM-1 и sVCAM-1) были обнаружены в сыворотке здоровых лиц, а их повышенный уровень встречается при многих заболеваниях.

В ряде исследований было установлено, что при остром инфаркте миокарда, остром коронарном синдроме (ОКС), нестабильной стенокардии уровень sICAM-1 и sVCAM-1 может возрастать.

**Целью данного фрагмента исследования** явилось уточнение диагностической и прогностической ценности определения sICAM-1, sVCAM-1 при ОКС без подъема ST.

**Материалы и методы.** Оценка состояния пациентов и прогрессирования ИБС проводилась с помощью опросника, ЭКГ, эхоКГ, суточного мониторирования ЭКГ по Холтеру, велэргометрии, тредмил теста и коронароангиографии. Рутинные лабораторные исследования включали общий и биохимический анализ крови (креатинин, печеночные ферменты, глюкоза, липиды крови, СРБ). Определение уровня sICAM-1, sVCAM-1 в сыворотке крови проводилось методом твердофазного ИФА с использованием тест-системы фирмы «Bender Medsystems» (Австрия).

**Результаты и обсуждение.** Обследован 81 пациент со стенокардией, в том числе 64 – со стенокардией III-IV функционального класса, из них 22 – с ОКС без подъема ST. Группа сравнения включала 23 чел. без атеросклероза коронарных артерий. Повышение уровня sVCAM-1 зарегистрировано у 3/22 больных с ОКС и лишь у 1 пациента со стенокардией без ОКС. Уровень sICAM-1 повышался значительно чаще (16/22 и 34/42 соответственно) и коррелировал с таким классическим маркером воспаления как СРБ. В группе сравнения оба показателя были в пределах нормальных значений. Повышение обоих показателей было расценено как высокий уровень риска повторных ишемических атак.

**Выводы.** Таким образом, при ОКС без подъема ST нередко встречается повышение уровня sICAM, однако учитывая то, что данный маркер достаточно часто повышен у лиц со стенокардией напряжения без ОКС, нельзя считать, что он является прогностическим у этого контингента лиц. Вероятно, более информативное определение данного показателя одновременно с СРБ. Кроме того, перспективно использовать мониторинг концентрации sICAM в процессе лечения, однако для этого требуются дальнейшие исследования. В то же время, учитывая результаты исследований, указывающих на достоверное снижение уровней sICAM-1 и sVCAM-1 на фоне применения иАПФ и статинов, можно констатировать, что необходимо дальнейшее изучение уровней молекул адгезии у больных ИБС в зависимости от медикаментозной терапии.

#### **РОЛЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АДИПОНЕКТИНА И ПРОВСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ЖИРОВОЙ ТКАНИ У ЖЕНЩИН С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ, АССОЦИИРОВАННОМ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА**

Василенко М.А.<sup>1</sup>, Кириенкова Е.В.<sup>1</sup>, Фаттахов Н.С.<sup>1</sup>, Скуратовская Д.А.<sup>1</sup>, Аксенова Н.Н.<sup>1</sup>, Затолокин П.А.<sup>2</sup>, Литвинова Л.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия*

<sup>2</sup> *Областная клиническая больница Калининградской области, Калининград, Россия*

**Введение.** Примерно 20% людей во всем мире имеют метаболический синдром (МС) (Alberti KG, 2006). При МС наблюдается увеличение продукции медиаторов воспаления в жировой ткани (ЖТ), приводящее к метабо-

лическому субклиническому воспалению (Lehr S, 2012). Это воспаление влияет на метаболические и секреторные функции ЖТ и играет ведущую роль в развитии ожирения и СД 2, сопровождающее МС (Hirabara SM, 2012). Основным источником провоспалительных медиаторов в этом процессе являются CD14+ клетки (Mathis D, 2012).

Висцеральная ЖТ и подкожная ЖТ различаются по производству биологически активных веществ. Детальное изучение профилей экспрессии генов интерлейкина-6 (IL-6), фактора некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), ядерного фактора каппа-B NF-kB и адипонектина в жировой ткани является важным для оценки вклада этих трех типов жировой ткани в хроническое субклиническое воспаление при МС, ассоциированном с СД 2 типа.

**Цель и задачи.** Оценка уровней экспрессии мРНК генов IL-6, TNF- $\alpha$ , и адипонектина в ЖТ разной локализации (в висцеральной (большой сальник - БС, брыжейка тонкой кишки - БТК) и подкожной - ПЖТ) при МС, ассоциированном с СД 2 у женщин.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования служила ЖТ разной локализации от 23 женщин с МС (ИМТ  $45,6 \pm 9,8$  кг/м<sup>2</sup>;  $50,7 \pm 4,5$  лет), ассоциированном с СД 2 типа (НОМА-IR  $11,5(9,5-27,2$  усл.ед.) и 10 здоровых женщин ( $40,6 \pm 8,7$  лет). Уровни экспрессии мРНК генов определяли методом количественной полимеразной реакции в режиме реального времени (ПЦР). Определение числа CD14+ клеток в периферической крови (ПК) и концентрацию адипонектина в плазме крови проводили методом проточной флуориметрии; сывороточных концентраций IL-6 и TNF- $\alpha$  – методом иммуноферментного анализа.

**Основные результаты.** Выявлено 3-х-кратное снижение уровней экспрессии гена адипонектина в БС у больных МС по сравнению с контролем. Экспрессия генов IL-6, TNF- $\alpha$  и NF-kB в БС не изменялась. Уровни относительной экспрессии мРНК изучаемых генов в ПЖТ были сопоставимы с контролем. В БТК регистрировалось повышение уровней экспрессии IL-6 в 5, TNF- $\alpha$  - в 4 раза в сравнении с нормой. Сывороточные концентрации IL-6 и TNF- $\alpha$  у больных МС с СД 2 типа значимо превышали контроль (в 4 и 9 раз). Количество адипонектина в плазме крови у больных МС было снижено относительно контроля (в 2 раза). У пациентов с МС обнаружено увеличение содержания CD14+ клеток в ПК по сравнению с контролем. Позитивная взаимосвязь ( $r=0,55$ ,  $p<0,05$ ) между числом CD14+ клеток и уровнем экспрессии гена IL-6 в БС свидетельствуют об ассоциации между этими показателями.

**Заключение.** Таким образом, провоспалительные свойства ЖТ зависят от ее локализации. У женщин с МС, ассоциированном с СД 2-типа экспрессия провоспалительных генов (IL-6, TNF- $\alpha$  и NF-kB) в ЖТ брыжейки тонкой кишки повышена по сравнению с контролем, тогда как уровень экспрессии гена адипонектина в ЖТ большого сальника снижен. Эти результаты позволяют сделать вывод, что ЖТ брыжейки тонкой кишки принимает более активное участие в хроническом воспалении ЖТ, чем подкожная ЖТ. Понимание молекулярных механизмов нарушения энергетического гомеостаза позволит проводить индивидуальную целевую терапию на основе молекулярной подписи маркеров воспаления ЖТ.

## ВРОЖДЕННЫЙ ИММУНИТЕТ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ ПРИ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ; СПОСОБЫ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ

Гаврилюк Е.В., Гаврилюк В.П., Конопля А.И.

Курский государственный медицинский университет,  
Курск, Россия

**Введение.** В отношении механизмов развития эссенциальной артериальной гипертонии (ЭАГ) в настоящее время получено огромное количество фактических данных, которые становится все сложнее увязать в рамках единой патогенетической теории. В последние годы большой интерес вызывает роль воспаления в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Напряжение сосудистой стенки, дисфункция эндотелия инициируют продукцию широкого спектра цитокинов, миграцию и накопление клеток воспаления, что является одним из звеньев патогенеза артериальной гипертонии и атеросклероза.

**Цель.** Установление взаимосвязи нарушений системы цитокинов, комплемента и эндотелиальной дисфункцией при ЭАГ II стадии и выявление возможностей коррекции изменений включением в стандартную фармакотерапию галавита.

**Материалы и методы.** Под постоянным наблюдением на базе ОБУЗ «Курская городская клиническая больница скорой медицинской помощи» находилось 42 пациента в возрасте  $35,2 \pm 5,6$  лет с верифицированным, согласно рекомендациям ВОЗ/МОГ (1999), диагнозом ЭАГ II стадии, основанном на данных комплекса клинико-инструментальных методов обследования. Контрольная группа состояла из 15 доноров того же возраста. Количественная оценка уровней ФНО, ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-2, ИЛ-8, ИЛ-10, рецепторного антагониста ИЛ-1 (РАИЛ), С3, С4, С3а, С5, С5а-компонентов системы комплемента, фактора Н, С1-ингибитора и неоптерина в плазме крови проводилась с помощью тест-систем методом твердофазного иммуноферментного анализа. Выраженность эндотелиальной дисфункции оценивалась путем создания реактивной гиперемии для оценки эндотелийзависимой вазодилатации плечевой артерии путем определения прироста ее диаметра в ответ на механический стимул. Всем пациентам проводилась стандартная терапия, включающая иАПФ (эналаприл) и диуретик (гидрохлоротиазид), 22 пациента дополнительно получали галавит (75 мг/сут подъязычно 10 дней).

**Основные результаты.** У пациентов с ЭАГ на момент поступления в стационар в плазме крови выявлено повышение концентрации провоспалительных (ФНО, ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-8), противовоспалительных (ИЛ-10, РАИЛ) и ИЛ-2 цитокинов. Использование стандартной фармакотерапии у данной категории пациентов позволило к моменту выписки из стационара снизить, но не до уровня нормы, концентрацию ФНО, ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-8, ИЛ-10 и РАИЛ при дальнейшем повышении содержания ИЛ-2. При поступлении в клинику у пациентов с ЭАГ в плазме крови выявлено повышение концентрации С4, С5а-компонентов системы комплемента, фактора Н, снижение уровня С3-компонента. Применение стандартной терапии у данной категории пациентов к моменту выписки из стационара нормализовало концентрацию фактора Н, еще в большей степени повысило содержание С5а-компонента системы комплемента. Назначение больным ЭАГ дополнительно к стандартной фармакотерапии галавита позволило снизить до уровня нормы в плазме крови концентрацию провоспалительных цитокинов – ФНО

и ИЛ-1 $\alpha$ , неоптерина, корректировать концентрацию ИЛ-2, ИЛ-8 и ИЛ-10 и нормализовать уровень изучаемых компонентов системы комплемента. Относительное расширение плечевой артерии при проведении пробы с реактивной гиперемией у больных ЭАГ было достоверно меньше, чем в контрольной группе. На фоне использования стандартной фармакотерапии данный показатель корректировался, но не до уровня нормы, тогда как применение дополнительно галавита позволило нормализовать данный показатель.

**Заключение.** Отсутствие очевидных воспалительных процессов при ЭАГ II стадии делает проблему иммунологических нарушений в некоторой степени спорной. Однако увеличение концентрации провоспалительных цитокинов, компонентов системы комплемента, неоптерина, свидетельствует о важности данного звена гомеостаза в патогенезе гипертонической болезни. Развитие эндотелиальной дисфункции непосредственно обусловлено развитием иммунологических нарушений у пациентов с ЭАГ, тогда как коррекция последних на данной стадии ЭАГ использованием галавита, вероятно, позволило нивелировать ее развитие у данной категории пациентов.

#### СООТНОШЕНИЕ IFN- $\gamma$ / IL-4 КАК КРИТЕРИЙ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ СТЕНОЗА КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

Гольдерова А.С., Ефремова С.Д., Николаев В.М., Винокурова Ф.В., Томский М.И.

Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, Якутск, Россия

Доказано, что атеросклероз связан с иммунопатологическим механизмом, в основе которого лежит дисбаланс между активностью Th-1 и Th-2 иммунокомпетентных клеток с преобладанием клеток Th1-типа [Tegui A., Mallat Z., 2006]. Для прогрессирующей, язвливой и нестабильной атеросклеротической бляшки иммунная реакция Th1-типа характерна в еще большей степени и, возможно, определяет менее благоприятное течение атеросклероза и развитие сосудистых катастроф. Целью исследования явилась оценка взаимосвязи уровня цитокинов со степенью коронаросклероза при стабильной стенокардии. Были исследованы 220 мужчин, которым по клиническим показаниям была проведена селективная коронароангиография по общепринятой методике Judkins на аппарате «Axiom.Artis BA» (Siemens, Германия). Цитокиновый профиль (IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) и С-реактивный белок были оценены иммуноферментным методом. Для каждого больного был рассчитан так называемый «суммарный показатель стеноза». Например, если у больного выявлено трехсосудистое поражение, то суммируются все три максимальных значения стеноза каждого сосуда: 50% + 20% + 15% = 85%.

Проведенный нами корреляционный анализ между концентрацией всех исследованных цитокинов и значением «суммарного показателя стеноза», установил только одну прямую корреляционную связь - с соотношением IFN- $\gamma$ /IL-4 ( $r=0,262$ ;  $p=0,002$ ), отражающего баланс Th1/Th2-клеток. Корреляционных связей с другими цитокинами не выявлено. Среднее значение IFN- $\gamma$ /IL-4 в группе больных с минимальными стенозами от 0% -19% была равна  $5,07 \pm 1,52$ ; со стенозами 20% до 99% -  $6,08 \pm 1,26$ ; со стенозами от 100% до 199% -  $7,28 \pm 1,32$ ; со стенозами от 200% до 299% -  $10,52 \pm 2,02$  и в группе больных с сум-

марным показателем стеноза более 300% равнялась  $14,03 \pm 3,52$ .

Таким образом, соотношение IFN- $\gamma$ /IL-4, отражающего баланс Th1/Th2-клеток может служить важным критерием оценки тяжести атеросклеротического процесса коронарных артерий и его высокое значение возможно маркером неблагоприятного прогноза.

#### ЦИТОКИНЫ ПРИ ОСТРОМ КОРОНАРНОМ СИНДРОМЕ

Дружинина Ю.Г.<sup>1</sup>, Рыжикова С.Л.<sup>1</sup>, Жукова Ю.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Новосибирская муниципальная клиническая больница скорой медицинской помощи №2, Новосибирск, Россия

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) является одним из наиболее распространенных заболеваний и в настоящее время занимает первое место среди причин смертности населения всего мира. До настоящего времени у больных ИБС, в том числе с ее наиболее социально-значимыми проявлениями в виде острого коронарного синдрома (ОКС), включающего нестабильную стенокардию (НС) и острый инфаркт миокарда (ОИМ), исследовали концентрацию данных цитокинов преимущественно в сыворотке крови.

**Цель настоящей работы** – изучение спонтанной и индуцированной продукции цитокинов мононуклеарами периферической крови у больных ОКС и оценка их значимости.

**Материалы и методы.** Обследовано 27 пациентов, госпитализированных с диагнозом ОКС и после дополнительного клинического обследования разделенных на 2 группы. Первая группа включала 15 больных с ОИМ: 8 женщин (средний возраст 67 лет) и 7 мужчин (средний возраст 54 года), вторая – 12 пациентов с НС: 6 женщин и 6 мужчин (средний возраст женщин 65 лет, мужчин – 58 лет).

Оценку способности мононуклеаров к продукции цитокинов проводили с помощью набора «Цитокин-Стимул-Бест». Для определения концентрации цитокинов: 1 $\beta$ , 2, 4, 6, 8, 10, 17, 18, IL-1 $\alpha$ , IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , VEGF, MCP-1 использовали наборы реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). В качестве нормальных уровней спонтанной и митоген-индуцированной продукции цитокинов клетками цельной крови были приняты значения, приведённые в инструкции к набору «Цитокин-Стимул-Бест», полученные при обследовании условно здоровых доноров.

**Результаты.** У пациентов с НС спонтанная продукция мононуклеарами провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6 и MCP-1) выше нормальных значений была выявлена только у женщин, а противовоспалительного IL-10 у всех больных данной группы. В то же время у пациентов с ОИМ значения IL-10 соответствовали норме, однако уровень продукции противовоспалительного IL-1 $\alpha$  был значительно повышен. При этом показатели IL-10 и IL-1 $\alpha$  в группах больных ОИМ и НС имели достоверные отличия.

Спонтанная продукция провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6 и MCP-1) у всех пациентов с ОИМ значительно превышала как нормальные значения, так и ее уровни, определенные у больных НС. Кроме того отмечены достоверные отличия между группами ОИМ и НС в продукции IL-18, а MCP-1 и VEGF – только у больных женского пола.

При исследовании митоген-индуцированной продукции цитокинов было показано, что уровень секреции TNF- $\alpha$  у всех больных ОКС был значительно ниже нормальных значений. При этом продукция противовоспалительного цитокина IL-1ra была выше нормы, а IL-18 соответствовала ее верхней границе. Отмечен также высокий уровень VEGF у всех больных ОИМ и у мужчин с ИС.

**Обсуждение.** В результате проведенного исследования у пациентов с ОКС выявлена повышенная спонтанная секреция провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-1 $\beta$  мононуклеарами периферической крови. Показателем развития остро воспалительного процесса у больных ОИМ, очевидно, может служить высокая продукция хемокинов IL-8 и MCP-1, свидетельствующая об активации нейтрофилов и моноцитов. Достоверное увеличение уровней IL-18, IL-1ra и снижение продукции IL-10 являются показателями избыточной активации моноцитов и недостаточной компенсаторной активности регуляторных Т-клеток при ОИМ. Высокая спонтанная продукция VEGF свидетельствует о развитии ишемии у больных данной группы.

**Выводы.** Определение спонтанной и индуцированной продукции цитокинов у больных острым коронарным синдромом позволяет оценить активность мононуклеаров периферической крови и соотношение про- и противовоспалительных цитокинов. Уровень спонтанной продукции IL-6 и IL-1 $\beta$  отражает течение воспалительного процесса при ОКС, IL-8 и MCP-1 характеризует развитие остро воспалительного процесса, а VEGF ишемии у больных с ОИМ. Повышенная митоген-индуцированная продукция противовоспалительных цитокинов IL-1ra, IL-10 и низкая продукция провоспалительного TNF- $\alpha$  свидетельствуют о глубоких изменениях в иммунной системе у больных ОКС. Результаты, полученные в настоящей работе, показывают перспективность дальнейших исследований спонтанной и индуцированной продукции цитокинов для оценки иммунологических изменений и поиска способов коррекции нарушений иммунного статуса у больных ишемической болезнью сердца.

### **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВКЛЮЧЕНИЯ ПОЛИСАХАРИДОВ БУРЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ В КОМПЛЕКСНУЮ ТЕРАПИЮ БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА С ДИСЛИПИДЕМИЕЙ**

Кузнецова Т.А.<sup>1</sup>, Иванушко Л.А.<sup>1</sup>, Крыжановский С.П.<sup>2</sup>, Головачева В.Д.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова, Владивосток, Россия

<sup>2</sup> Медицинское объединение ДВО РАН, Владивосток, Россия

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) – наиболее распространенное заболевание, сопровождающееся высоким риском сосудистых осложнений при участии в их инициации и прогрессировании иммуновоспалительных маркеров, в частности проатерогенных цитокинов и растворимых молекул адгезии. Стратегия лечения ИБС и профилактики осложнений подразумевает использование статинов. В то же время, несмотря на все положительные эффекты статинов, их высокая стоимость и побочные эффекты диктуют поиск альтернативных решений. Несомненный интерес представляют мало-

токсичные и безвредные препараты природного происхождения, к числу которых относят полисахариды бурых водорослей – фукоиданы и альгинаты, обладающие широким спектром биологической активности, в том числе противовоспалительной и гиполипидемической.

**Цель настоящей работы** – оценка действия полисахаридов бурых водорослей в составе БАД «Фуколам» (свидетельство о гос. регистрации № 77.99.23.3.У.739.1.06 от 30.01.06.) при совместном применении с аторвастатином или в виде монотерапии на уровень маркеров воспаления в крови больных ИБС с дислипидемией.

В исследование были включены пациенты 45-70 лет с диагнозом ИБС, стабильная стенокардия напряжения, гиперхолестеринемия, дислипидемия, получающие базисную терапию при отсутствии статинотерапии ранее, прошедшие стационарное лечение и находящиеся на амбулаторном лечении в период с 2009-2013 гг. Больные были разделены на 5 групп: 1 гр. – больные, принимающие аторвастатин в суточной дозе 10 мг, 2 гр. – аторвастатин 20 мг, 3 гр. – «Фуколам», 4 гр. «Фуколам» и аторвастатин 10 мг, 5 гр. «Фуколам» и аторвастатин 20 мг. В сыворотке крови определяли уровень IL-1b, IL-2, IL-4, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-8, IL-6, а также молекулы эндотелиальной дисфункции – sICAM-1, sVCAM-1, sP-selectin, sE-selectin, Big ENDOTELIN с помощью тест-систем «ВЕКТОР-БЕСТ» до начала лечения и через 1, 3 и 6 месяцев после начала лечения.

До лечения цитокиновый профиль больных характеризовался изменением баланса про- и противовоспалительных цитокинов в сторону повышения уровня проатерогенных молекул (IFN- $\gamma$ , IL-8 и TNF- $\alpha$ ), а также содержания молекул адгезии sP-selectin и Big ENDOTELIN ( $p \leq 0,05$ ). В процессе лечения уже через 3 мес наблюдалось статистически значимое снижение концентрации TNF- $\alpha$  в 1, 2 и 4 гр., причем в последней TNF- $\alpha$  снизился на 67,9% ( $p=0,007$ ) и оставался на этом уровне до 6 мес. У пациентов 1 гр. уровень IFN- $\gamma$  нормализовался через 6 месяцев, в 4 гр. значимое снижение IFN- $\gamma$  выявлено уже через 3 месяца ( $p=0,011$ ), а через 6 месяцев его концентрация приближалась к уровню условно здоровых доноров. В отношении IL-8 эффект применения 10 мг аторвастатина в сочетании с фуколамом в 4 гр. был сопоставим с таковым при применении статины в дозе 20 мг во 2 гр. Показатели sP-selectin, изначально значимо повышенные по сравнению с условно здоровыми донорами, в процессе наблюдения не изменялись, а исходно повышенные показатели Big ENDOTELIN уже через 30 дней в 4 гр. снижались и к окончанию срока наблюдения достигали показателей у здоровых доноров.

Таким образом динамика провоспалительных цитокинов и молекул эндотелиальной дисфункции у пациентов с ИБС и дислипидемией, получавших в комплексе лечения аторвастатин в дозе 10 мг/сутки и «Фуколам», сопоставима с таковой при применении аторвастатина в дозе 20 мг/сутки. Назначение «Фуколама» в комплексе со статинами позволяет уменьшить дозу статины вдвое без потери эффекта, тем самым снижая риск побочных реакций и стоимость лечения.

## АНАЛИЗ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ АЛЬФА (-308G/A) У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

Левашова О.А., Алешина Н.И., Золкорняев И.Г.

Пензенский институт усовершенствования врачей,  
Пенза, Россия

**Введение.** В последние годы накоплен значительный материал, свидетельствующий о значительной роли фактора некроза опухоли альфа (ФНО $\alpha$ ) в развитии ишемии головного мозга. Однако данные, касающиеся роли этого цитокина при этой патологии неоднозначны. Преобладание защитной или повреждающей роли ФНО $\alpha$  во многом зависят от размеров очага, временного интервала и, возможно, функционального полиморфизма гена ФНО $\alpha$ .

**Целью настоящего исследования** явилось изучение распространенности однонуклеотидного полиморфизма гена ФНО $\alpha$  (-308G/A) у больных ишемическим инсультом различной степени тяжести.

**Материалы и методы.** Проведено исследование полиморфизма гена ФНО $\alpha$  (-308G/A) у больных ишемическим инсультом тест-системами НТП «Литех» на амплификаторе «DT-lite» («ДНК-технология») в режиме «реального времени». Обследовано 42 пациента (24 мужчины и 18 женщин) с впервые возникшим ишемическим инсультом в каротидном бассейне. Возраст обследованных составил 65 $\pm$ 6,7 лет. Тяжесть неврологического дефицита оценивалась с помощью шкалы Национального института здоровья (NIHSS). Ишемический характер инсульта подтверждался методами нейровизуализации (КТ/МРТ головного мозга). Пациенты в зависимости от тяжести мозгового инсульта были разделены на 2 группы. Первую группу составили 27 пациентов с инсультом легкой и средней степени тяжести, от 4 до 14 баллов по шкале NIHSS. Во вторую группу вошли 15 пациентов с тяжестью инсульта от 15 до 22 баллов по NIHSS. Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета программ Statistica 6.0. Для сравнения групп по качественному признаку использовали критерий  $\chi^2$ .

**Основные результаты.** Результаты проведенных исследований представлены в таблице 1.

Как следует из полученных данных, в обследованной группе пациентов отсутствовал генотип AA. Известно, что полиморфизм -308A повышает транскрипционную активность гена и является высокопродуктивным аллелем. У больных с инсультом легкой и средней степени тяжести (1 группа) преобладал генотип GG. В настоящее время роль ФНО $\alpha$  при ишемическом инсульте представляется неоднозначной. С одной стороны показано, что провоспалительные цитокины обладают нейротоксическим действием, усугубляя ишемическое поврежде-

**ТАБЛИЦА 1. АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНОГО ЛОКУСА (-308G/A) ГЕНА ФНО $\alpha$  У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ (К ТЕЗИСАМ ЛЕВАШОВОЙ О.А. И ДР.)**

Группы пациентов	Генотип		
	GG	GA	AA
1 группа (n=27)	21*	6	-
2 группа (n=15)	6	9	-

Примечание: \* - достоверность различий между группами пациентов

ние мозговой ткани, с другой стороны получены данные о нейропротекторных свойствах изучаемого пептида.

**Заключение.** Выявлена статистически значимая ассоциативная связь генотипа GG ФНО $\alpha$  у больных ишемическим инсультом легкой и средней степени тяжести. Изучение особенностей генетически запрограммированной продукции ФНО $\alpha$  при ишемии головного мозга способствует пониманию молекулярных механизмов, что позволит разрабатывать новые подходы к прогнозу течения острой ишемии головного мозга и терапии.

## ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ ПРИ ВИРУСНЫХ МИОКАРДИТАХ

Москалец О.В., Санина Н.П., Хишова Н.Н.,  
Магарков А.И., Яздовский В.В.

МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

Ключевую роль в развитии поражения сердечной мышцы при вирусных миокардитах играет иммунная система. Известно, что на ранних стадиях заболевания преобладают Th1-опосредованные реакции, в дальнейшем возрастает активность Th2-механизмов, с которыми связывают хронизацию патологического процесса. Роль Th17-опосредованных механизмов в иммунопатогенезе острого миокардита остается неясной.

**Цель.** Изучить особенности цитокинового профиля у больных инфекционно-иммунным миокардитом (ИИМ) и миокардитическим кардиосклерозом (МК).

**Материалы и методы.** Обследовано 35 больных ИИМ и 18 больных МК. У 18 больных ИИМ симптомы сердечной недостаточности отсутствовали или были слабо выражены (0-II функциональный класс), у 17 отмечалась выраженная сердечная недостаточность (III функциональный класс). У 18 больных МК сердечная недостаточность отсутствовала, у 21 симптомы были минимальными (I функциональный класс). Группа сравнения включала 10 практически здоровых лиц. Концентрацию цитокинов (ИФН $\gamma$ , ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-17A, ГМ-КСФ) в сыворотке крови проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Россия).

**Результаты.** В сыворотке крови больных ИИМ выявлено 7-кратное повышение концентрации ИЛ-17A, 4-кратное повышение концентрации ИЛ-8, 3-кратное повышение концентрации ИЛ-4 и 2-кратное повышение концентрации ИФН $\gamma$  и ГМ-КСФ по сравнению с контрольной группой. Уровень ИФН $\gamma$  был достоверно выше у пациентов с выраженными симптомами сердечной недостаточности и был максимальным на ранних сроках заболевания (до 2 нед.), а затем постепенно снижался. Наоборот, уровень ИЛ-4 был значительно повышен в поздние сроки (конец 1-го месяца – 2-й месяц заболевания) и не зависел от степени сердечной недостаточности. Концентрация остальных цитокинов от сроков заболевания не зависела. При МК также отмечались более высокие концентрации исследуемых цитокинов по сравнению с контрольной группой, но они были достоверно ниже, чем у больных ИИМ.

**Заключение.** Для ИИМ характерна активация Th1-, Th2- и Th17- опосредованных механизмов иммуорегуляции. В ранние сроки в сыворотке крови отмечается нарастание концентрации Th1-цитокинов, это коррелирует с нарастанием сердечной недостаточности. В более поздние сроки происходит переключение на Th2-ответ, что сопровождается повышением концентрации соответ-

ствующих цитокинов. Нарастание концентрации Th17-цитокинов может быть связано с процессами ремоделирования миокарда, прогрессирующим склеротическим изменением и трансформацией миокардита в МК.

## HELICOBACTER PYLORI, ДИСФУНКЦИИ МОЛЕКУЛ ЭНДОТЕЛИЯ КАК МАРКЕРЫ ОСТРОГО КОРОНАРНОГО СИНДРОМА

Москалёв А.В., Павлов О.Н.

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,  
Санкт-Петербург, Россия

**Введение.** В настоящее время установлено, что *Helicobacter pylori* является одним из иммунопатогенетических факторов атеросклероза, в основе которого лежит нарушение функционирования молекул эндотелия, сопровождающееся воспалением различной степени выраженности и повышенной экспрессией молекул межклеточной адгезии и селектинов при ишемической болезни сердца (ИБС).

**Цель исследования:** выявить особенности дисфункции молекул эндотелия у больных ишемической болезнью сердца различной степени тяжести с контаминацией слизистой оболочки желудка *Helicobacter pylori*.

**Материалы и методы:** обследовано 150 больных с различным течением ишемической болезни сердца (ИБС). Определение sP-селектина, sVCAM-1, sICAM-1 проводилось с помощью диагностических тест-систем фирмы «Bender MedSystems», гомоцистеина с помощью реагентов фирмы «Axis-Shield» (Норвегия).

**Результаты.** Возрастание степени обсеменения *H. pylori* сопровождалось усилением мононуклеарной инфильтрации и атрофией СОЖ, ростом профилей гомоцистеина, уровней sICAM-1 в крови у больных острым инфарктом миокарда (ОИМ). В отличие от показателей больных с нестабильной стенокардией при ОИМ увеличение степени обсеменения антрального отдела СОЖ *H. pylori* и выраженности атрофических процессов в теле желудка сопровождалось повышением в крови уровней VCAM-1. У лиц с нестабильной стенокардией выявлена отрицательная корреляция уровня VCAM-1 и степени мононуклеарной инфильтрации СОЖ, что сопровождалось процессами гиперплазии в двенадцатиперстной кишке.

Прогностическими критериями развития повторных коронарных событий у больных ИБС в периоде 2-х летнего динамического наблюдения были повышение в периферической крови титров антител IgG к *H. pylori*, уровней гомоцистеина, VCAM-1 и sP-селектина. Прогнозирование возникновения неблагоприятного исхода у больных стабильной стенокардией сопряжено с повышением уровня sICAM-1. Для больных ОИМ значимым прогностическим критерием является уровень sICAM-1, снижение которого, и не восстановление до референтных значений повышает вероятность развития повторных коронарных событий в 2-х летнем периоде после выписки из стационара.

Развитие повторных коронарных событий у больных ИБС после выписки из стационара зависит от степени прогрессирования хеликобактериоза. Прогрессирующее *H. pylori*-ассоциированное хроническое активное воспаление является неблагоприятным фактором развития повторных коронарных событий. Выраженность местного *H. pylori*-ассоциированного воспалительного процесса может считаться предиктором неблагоприятного течения ИБС. Кратное превышение порогового диагности-

ческого уровня конкретной тест-системы титра антител изотипа IgG к *H. pylori*, отражающее прогрессирующее *H. pylori*-ассоциированное хроническое активное воспаление является предиктором нестабильного течения ИБС с высоким риском развития острого коронарного синдрома.

## О СВЯЗИ МЕЖДУ ПОКАЗАТЕЛЯМИ КОГНИТИВНОЙ ДИСФУНКЦИИ И УРОВНЕМ БИОМАРКЕРОВ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ АОРТО-КОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ

Овчинников Д. А.<sup>1,3</sup>, Воробьев Е.А.<sup>1</sup>, Гарнюк В.В.<sup>2</sup>,  
Е.Р. Баранцевич<sup>1,3</sup>, Бельтюков П.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

По данным литературы, в 50-80% случаев после аорто-коронарного шунтирования у пациентов возникает послеоперационная когнитивная дисфункция (ПОКД). Данная дисфункция характеризуется снижением краткосрочной памяти, концентрации внимания, способности к осмыслению речи, и, наконец, социальной адаптации. В настоящий момент нет единого мнения по основным ключевым вопросам ПОКД, включая патогенез, диагностику, профилактику и лечение ПОКД. Рассматриваются теории о генетической предрасположенности к развитию ПОКД, негативное влияние на головной мозг (ГМ) наркоза. Другие объясняют ПОКД эффектами, возникающими в результате экстракорпорального кровообращения (ЭК) — гипоперфузия головного мозга (ГМ), развитие интраоперационной эмболии сосудов, стресс мозга. Помимо описанных факторов, ряд авторов объясняет ПОКД социальной изоляцией, иммобилизацией пациента. Известно, что любое хирургическое вмешательство сопровождается развитием системного воспалительного ответа, выраженного в той или иной степени. Представляет интерес оценить взаимосвязь генерализованной воспалительной реакции и развивающейся ПОКД.

**Целью данной работы** являлось изучение взаимосвязи маркеров системного воспаления и когнитивного статуса у пациентов, перенесших аорто-коронарное шунтирование (АКШ), в условиях искусственного кровообращения (ИК) или в условиях работающего сердца (off-pump).

**Задачами** на данном этапе было: 1. Оценить изменение концентрации про- и противовоспалительных цитокинов до и после АКШ. 2. Выявить различие между группами пациентов с ИК и off-pump. 3. Выявить взаимосвязь между изменением концентрации цитокинов и изменением когнитивного статуса пациентов.

**Материал и методы.** В исследование включено 29 пациентов, с ишемической болезнью сердца (ИБС), планируемых на АКШ. Средний возраст — 62,4±6,2 лет. Из них 18 пациентов в группе ИК, 11 пациентов в группе off-pump. Группы однородны по возрасту и полу. Пациенты,

помимо стандартных клинических обследований прошли неврологический осмотр и ряд нейро-психологических тестов: 1. Тест Гамильтона на депрессию – до операции. Положительный результат теста являлся критерием исключения. Тесты на когнитивные нарушения за сутки до операции и на 7 сутки после операции: MMSE, Монреальская шкала (MoCa), FAB, TMT тест, корректурная проба. Концентрацию про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-17, IL-1RA, IFN- $\gamma$ , IP-10; MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , RANTES, TNF) оценивали в плазме крови полученной за сутки до операции (T0) и через 2 часа после операции (T1), методом иммунофлюоресцентного мультиплексного анализа на приборе Luminex 200 Labmap system (Bio-Rad) с использованием набора Bio-Plex Suspension Array System (Bio-Rad). Для учета влияния разведения крови в результате инфузионной терапии проводили пересчет концентрации интерлейкинов с учетом изменения гематокрита. Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета программы GraphPad Prism5.

**Результаты.** Наиболее существенными и статистически значимыми изменениями в точке T1 как в группе ИК, так и в группе off-pump оказались повышения уровней IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IP-10, MCP-1, MIP-1 $\beta$ , RANTES. Концентрация IL-1RA статистически значимо была повышена только в группе ИК, в группе off-pump её значение не изменилось. При сравнении групп ИК и off-pump было показано, что после операции прирост концентрации IL-8, IP-10, MIP-1 $\beta$ , IL-1RA был статистически значимо выше в группе ИК. Из примененных нейропсихологических тестов для выявления тонких изменений когнитивных функций у больных после АКШ, достаточно чувствительным оказался только тест «Монреальская шкала». Значимое снижение этого показателя (более 3 баллов по шкале MoCa) произошло у 8 из 18 больных группы ИК и одного больного оперированного при работающем сердце. Зависимость между снижением когнитивных функций на седьмые сутки после операции и изменением концентрации цитокинов в плазме через 2 часа после операции была выявлена для IL-6 ( $r=0,517$ ,  $p=0,004$ ); IL-8 ( $r=0,41$ ,  $p=0,24$ ); IP-10 ( $r=0,4$ ,  $p=0,031$ ); MCP ( $r=0,52$ ,  $p=0,03$ ), MIP-1 $\beta$  ( $r=0,37$ ,  $p=0,05$ ).

**Выводы.** Операция аорто-коронарного шунтирования сопровождается развитием реакции системного воспаления. Более выраженный воспалительный ответ наблюдается у больных, оперируемых в условиях экстракорпорального кровообращения. Проведение АКШ с ИК вызывает снижение когнитивной функции в первую неделю у значительного числа больных. Показано наличие связи между увеличением концентрации провоспалительных цитокинов в плазме крови и ухудшением когнитивного статуса пациентов.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ ИЗМЕНЕНИЙ УРОВНЕЙ ЦИТОКИНОВ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА (МС) У БОЛЬНЫХ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ (ЭАГ)

Радаева О.А.<sup>1</sup>, Симбирцев А.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», медицинский институт, Саранск, Россия

<sup>2</sup> ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

**Введение.** Значимость цитокинов при формировании резистентности к глюкозе, изменению биоактивности

жировой ткани и др. не вызывает сомнения, но в классических рекомендациях по ведению пациентов с МС клиничко-патогенетическая роль данной группы веществ не получает должного внимания, что в первую очередь указывает на неоднозначность существующих результатов в данной области. Цель: оценить предикторную информативность изменения сывороточных уровней 25 цитокинов в отношении формирования метаболического синдрома у больных с ЭАГ II стадии. Материалы и методы. 300 пациентов с ЭАГ II стадии наблюдались в течение 8 лет. В рамках I этапа комплексного обследования изучались 15 цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1ra, IL-18, IL-18BP, IL-6, sIL-6r, TNF- $\alpha$ , sTNF-RI, sVCAM, IL-2, IL-8, IL-4, IL-10, IFN $\gamma$ ). У 200 больных (при отсутствии МС) в начале 6 года с помощью ИФА дополнительно анализировались сывороточные концентрации LIF, IGF-1, IGFBP-1, M-CSF, IL-34, VEGF-A, CX3CL1, CXCL10, эритропоэтина, IL-17A и полиморфные варианты генов IL-1 $\beta$  в позициях +3953, -511 и -31 - замена C $\rightarrow$ T, в позиции -1473 - G $\rightarrow$ C, M-CSFR (аллельные варианты 3'UTR в позициях 34293 и 34294: TC $\rightarrow$ CA). **Результаты.** При сопоставлении начальных уровней цитокинов сыворотки больных ЭАГ с развившемся МС в следующие 8 лет наблюдения с пациентами без формирования МС выявлено более выраженное повышение IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$  на фоне снижения IL-1ra, IL-18, IL-18BP ( $p<0,001$ ); увеличение IL-6, sIL-6r,  $p<0,01$ . Прогностическая ценность системы IL-18/IL-18BP реализовывалась на 6-8 годах наблюдения. Специфичность (0,68; 0,64) и чувствительность (0,82; 0,8) IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$  значительно не изменялись в период от 2 до 8 лет, что указывает на потенциальную клиническую ценность данных показателей при определении риска МС на фоне ЭАГ при повышении специфичности. У пациентов с МС сформировавшемся за 6-8 годы исследования отличались в начале 6 года: LIF, M-CSF, IL-17A, CXCL10, IFN $\gamma$  - значимое повышение ( $p<0,001$ ), IGF-1, IGFBP-1, VEGF-A - более низкие показатели ( $p<0,001$ ) при сопоставлении с пациентами без МС за время наблюдения. При анализе TNF- $\alpha$ , sTNF-RI, sVCAM, IL-8, IL-2, IL-4, IL-10 прогностических связей как в отношении кратковременного, так и отдаленного риска МС не выявлено. При проведении однофакторного регрессионного анализа связь частоты МС за 3 года наблюдения зафиксирована с IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$  и IL-18 (IL-6 ( $p=0,01$ ), sIL-6r ( $p=0,008$ ), LIF ( $p=0,011$ ), M-CSF ( $p=0,0003$ ), IL-17A и IGFBP-1 ( $p=0,001$ ). При многофакторном анализе независимыми монокритериями повышающими риск развития МС определены: M-CSF $>370$  пг/мл (относительный риск 8,2 - 95% ДИ [4-15],  $p=0,001$ ), IL-1 $\alpha$  $>14,2$  пг/мл – для женщин (относительный риск 3,4 - 95% ДИ [2,1-6,8],  $p=0,004$ ), IGFBP-1 $<7,55$  пг/мл (относительный риск 2 - 95% ДИ [1,26 – 3,16],  $p=0,024$ ), независимым интегральным критерием: IL-1ra/(IL-1 $\beta$ +IL-1 $\alpha$ ) $<10$  (относительный риск 7,6 - 95% ДИ [5-21],  $p=0,001$ ). По собственным данным (Радаева О.А., Симбирцев А.С., 2014, 2015) указанные интервалы показателей соотносятся с критериями повышения риска осложнений (инфаркт миокарда, инсульт), при этом только у 24% пациентов совпадение рисков реализуется клинически. В связи с чем значимо определение вариантов дифференцировки данных рисков, что повысит специфичность методов. У пациентов с гомозиготным вариантом гена IL-1 $\beta$  в позиции +3953 (CC) при снижении соотношения IL-1ra/(IL-1 $\beta$ +IL-1 $\alpha$ ) менее 10 в 68% развивается инфаркт миокарда, инсульт и только в 28% МС, при гетерозиготном

варианте (ТС) и гомозиготном (ТТ) обратная тенденция (у 5% сердечно-сосудистые осложнения, 52% - формирование МС (в 70% случаев за счет проатерогенного повышения ЛПНП на фоне гипертензии и изменения массы тела)). Анализ полиморфного варианта М-CSFR показал, что при гомозиготном наборе (ТС/ТС), а также гетерозиготные пациенты при повышении М-CSF более 370 пг/мл со специфичностью 90%, чувствительностью 81% соответствуют группе с МС в течение последующих 3 лет (в 65% случаев за счет снижения резистентности к глюкозе на фоне гипертензии и изменения массы тела). В ином случае повышение цитокина соотносится с увеличением риска инфаркта миокарда в 6,3 раза. **Заключение.** Выявлены достоверные отличия сывороточных цитокинов у больных с ЭАГ при формировании МС в течение 3/8 лет. Наибольшей прогностической ценностью в отношении риска МС обладает совместный анализ сывороточно-го уровня М-CSF и полиморфного варианта его рецептора, а также соотношение цитокинов системы IL-1 (IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ ) с особенностями гена IL-1 $\beta$  в позиции +3953.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ МК-4454.2012.7.

#### МИГРАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ФАГОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОСТОЯНИЯ КРОВОТОКА В БАССЕЙНЕ БРЮШНОЙ АОРТЫ

Смирнова О.В., Абрамовских О.С., Долгушина А.И., Смирнов Д.М.

ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия

Атеросклероз и ишемическая болезнь сердца остаются одними из основных причин инвалидности и смертности во всем мире. Особый интерес представляет изучение иммунопатогенеза хронической патологии сердечно-сосудистой системы в зависимости от выраженности атеросклероза. Атеросклероз в бассейне брюшной аорты сопровождается различными морфофункциональными изменениями органов пищеварения, которые усугубляют имеющиеся дислипидемические расстройства, приводят к активации иммунной системы и процессов перекисного окисления липидов, способствуя прогрессированию атеросклероза.

**Цель исследования:** анализ показателей хемотаксиса фагоцитов периферической крови больных ишемической болезнью сердца в зависимости от состояния кровотока в бассейне брюшной аорты.

**Материалы и методы:** обследовано 73 пациента с ишемической болезнью сердца со стабильным классом стенокардии (I-II), находившихся на лечении в НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Челябинск ОАО «РЖД» в 2013-2014 гг. Всем пациентам проведено ультразвуковое исследование брюшного отдела аорты и ее висцеральных ветвей. Выделение гранулоцитарной и агранулоцитарной субпопуляций лейкоцитов периферической крови осуществляли по методу А. Vouum (1968). Для изучения миграционной активности лейкоцитов использовали метод G. Bendixen, M.A. Soborg (1969), в качестве хемотрактанта использовали *Staphylococcus aureus* (штамм 9198). Взаимодействия признаков изучены методом ана-

лиза частот парных сочетаний с вычислением критерия  $\chi^2$  и отношения шансов.

**Результаты.** На основании ультразвукографического исследования брюшной аорты и ее ветвей все больные были подразделены на 3 группы: группа А - 23 пациента, у которых не выявлено изменений в брюшной аорте и ее ветвях; группа В - 38 пациентов с признаками атеросклеротического поражения в исследуемых сосудах, но без гемодинамических нарушений и группа С - 12 больных, у которых в различной степени страдал кровоток в бассейне брюшной аорты. По мере увеличения распространенности атеросклероза в бассейне брюшной аорты неоднозначно менялась миграционная способность фагоцитов. Максимальные значения индекса хемотаксиса получены у пациентов группы В, что достоверно сопряжено с количеством пораженных висцеральных артерий ( $\chi^2 = 5,29$ ,  $p = 0,041$  при отношении шансов OR 2,01;  $R = 0,75$ ;  $p = 0,039$ ). Напротив, фагоциты периферической крови пациентов групп А и С отличались низкой локомоцией.

**Заключение.** Таким образом, эскалация атеросклеротического поражения в бассейне брюшной аорты у больных ишемической болезнью сердца сопровождается неоднозначным изменением миграционной функции фагоцитов периферической крови и достоверно сопряжено с количеством пораженных висцеральных артерий. Полученные данные следует принимать во внимание при оценке объективного статуса и выборе лечебной тактики.

#### ВЛИЯНИЕ ТЕРАПИИ СТАТИНАМИ НА ЭКСПРЕССИЮ АДГЕЗИОННЫХ МОЛЕКУЛ ТРОМБОЦИТАМИ И МОНОЦИТАМИ ПАЦИЕНТОВ С ВЫСОКИМ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМ РИСКОМ

Суслова Т.Е., Кравченко Е.С., Насанова О.Н., Гусакова А.М., Кологривова И.В., Кошельская О.А., Винницкая И.В.

НИИ кардиологии, Томск, Россия  
Томский государственный университет, Томск, Россия

Положительное воздействие статинов на кардиоваскулярный прогноз доказано во многих многоцентровых исследованиях. Наряду с хорошо изученным гиполипидемическим действием статинов, механизмы реализации их прейотропных свойств исследованы недостаточно. Лейкоциты не могут прочно адгезировать к активированному эндотелию без предшествующего взаимодействия с тромбоцитами. Показана способность статинов влиять на агрегацию тромбоцитов и снижать экспрессию лейкоцитарных адгезионных молекул. При этом обсуждаются теоретические предпосылки и экспериментальные данные, не позволяющие исключить возможность отрицательного действия статинов. Эндотоксин — липопротеиновая, одна из гипотез отрицательного действия: статины уменьшают содержание липопротеинов, способных связывать липополисахариды (ЛПС), что приводит к увеличению биологической активности бактериальных эндотоксинов.

**Целью исследования** была оценка влияния 12-месячной терапии аторвастатином на экспрессию адгезионных молекул тромбоцитами и моноцитами пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском.

В исследование включены 32 пациента высокого сердечно-сосудистого риска (риск по европейской шкале риска смерти от сердечно-сосудистых заболеваний, Systematic Coronary Risk Evaluation, SCORE, > 5% и <10%,

выраженное проявление отдельных факторов риска) и 27 здоровых добровольцев. Все пациенты находились на регулярной кардиоактивной терапии, без использования антиагрегантов. Исследование проводили до начала приема аторвастатина и через 12 месяцев, доза аторвастатина составляла 10 мг/сутки. Из гепаринизированной периферической венозной крови выделяли мононуклеарные клетки и тромбоциты. Исследовали суммарную клеточную взвесь, содержащую тромбоцитарную и мононуклеарную фракции. Оценивали спонтанную и стимулированную ЛПС экспрессию CD61, CD42b, CD62P, CD49b тромбоцитами и CD14, CD11b, CD62L, CD49b – моноцитами. Клетки инкубировали с ЛПС E.Coli, 10 мкг/мл в среде RPMI 1640 при 37 °С и 5% CO<sub>2</sub> в течение 5 часов. Проводился цитофлуориметрический анализ экспрессии поверхностных молекул на приборе FACSCalibur (Becton Dickinson, USA; 2 лазера) по параметрам флуоресценции, прямого, бокового светорассеяния. Использовались соответствующие моноклональные антитела, конъюгированные с флуоресцентными красителями и пробирки BD Trucount. В сыворотке крови определялось содержание общего холестерина (ОХ), холестерина липопротеинов низкой и высокой плотности (ЛПНП и ЛПВП), С-реактивного белка (СРБ). Полученные результаты обработаны с помощью пакета программ STATISTICA 6.0.

У пациентов 12-месячная терапия аторвастатином сопровождалась снижением концентрации ОХ, ЛПНП, СРБ. Статистически значимых различий между значениями спонтанной экспрессии поверхностных молекул у здоровых доноров, пациентов до и после лечения выявлено не было. У пациентов до лечения инкубация клеток с ЛПС стимулировала усиление экспрессии CD42b (GPIIb), CD49b ( $\alpha$ 2 интегрин) и CD61 ( $\beta$ 3 интегрин, GPIIb) тромбоцитами в значительно большей степени по сравнению со здоровыми донорами. В группе пациентов после лечения стимулированная экспрессия CD42b и CD62P тромбоцитами снижалась, по сравнению с группой до лечения. Обнаружено увеличение стимулированной экспрессии CD62L (L-селектин) и CD11b ( $\alpha$ M интегрин) моноцитами пациентов до лечения по сравнению со здоровыми донорами. Выявлено снижение стимулированной экспрессии CD49b, CD11b и CD62L моноцитами пациентов после лечения по сравнению с группой пациентов до лечения. Инкубация клеток с ЛПС снижала экспрессию мембранных рецепторов CD14 моноцитами здоровых доноров на 17%, моноцитами пациентов до лечения – на 64%, после лечения – на 57%. В группе пациентов после 12 месячной терапии статинами средняя интенсивность флуоресценции CD14 на моноцитах положительно коррелировала с интенсивностью флуоресценции CD61 на тромбоцитах, а также с содержанием ЛПНП в сыворотке крови после лечения. Была выявлена отрицательная корреляция между концентрацией ЛПНП и экспрессией CD11b моноцитами пациентов после лечения.

Таким образом, длительная терапия аторвастатином оказывает положительные эффекты на экспрессию адгезионных молекул тромбоцитами и моноцитами у пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском. Полученные результаты позволяют сделать предположение о роли CD14 в механизмах, объединяющих гиполипидемическое и плейотропное действие статинов.

## ПРОВосПАЛИТЕЛЬНЫЙ ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ И ГИПЕРЛИПОПРОТЕИДЕМИЯ (А) ПРИ СТАБИЛЬНОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Тишко В.В., Иванов А.М., Мешкова М.Е., Гуляева И.В., Щebetаха Т.В., Сухина И.А., Малахова Е.А.

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

**Введение.** Согласно результатам международных и отечественных исследований, повышенный уровень липопротеида (а) (Лп(а)) является самостоятельным фактором риска развития коронарного атеросклероза, особенно у лиц молодого и среднего возраста. Уровень Лп(а)  $\geq 300$  мг/л выявляется у 37–40% больных с высоким риском развития сердечно-сосудистых осложнений и генетически обусловлен. Несмотря на многочисленные работы по изучению Лп(а), его патофизиологическая роль в воспалении остается до конца невыясненной.

**Цель исследования:** изучить уровень провоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных стабильной ишемической болезнью сердца (ИБС) в зависимости от концентрации ЛП(а) в сыворотке крови.

**Материалы и методы:** В исследование были включены 76 мужчин с диагнозом стенокардии напряжения 2 и 3 функциональных классов в течение 6 месяцев и более, имеющих по данным коронарной ангиографии стеноз одной и более коронарных артерий более 70%. Критерии исключения: острый коронарный синдром в течение 3 месяцев, лечение противовоспалительными и иммуносупрессивными препаратами, за исключением аспирина; миокардит, анамнез любого воспалительного заболевания в течение последних 6 месяцев. В зависимости от уровня Лп(а) больные были распределены на 2 группы. В первую группу (1, n=25) вошли больные с уровнем Лп(а) < 300 мг/л. Во вторую группу (2, n=51) – с уровнем Лп(а)  $\geq 300$  мг/л. Пациенты в обеих группах были сопоставимы по возрасту, индексу массы тела, длительности заболевания. В сыворотке крови пациентов определяли провоспалительные цитокины: фактор некроза опухоли-альфа (ФНО- $\alpha$ ), интерлейкин (ИЛ)1- $\alpha$ , ИЛ1- $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8. Уровень цитокинов определяли количественно иммуноферментным методом с использованием тест-систем «Bender MedSystems» (Австрия). Лп(а) определяли иммунотурбидиметрически на анализаторе «Sapphire-400» (Япония) реактивами «RANDOX» (Великобритания).

**Результаты:** Установлена статистически значимое отличие уровней ФНО- $\alpha$  в 1 и 2 группах (0,83 (0,00; 4,14) пг/мл и 0,00 (0,00; 0,39) пг/мл, соответственно; p=0,02). Также обнаружена тенденция к увеличению уровня ИЛ-8 в 1 группе в сравнении со 2 группой больных (31,6 (12,4; 91,6) пг/мл и 20,0 (5,7; 39,0) пг/мл, соответственно; p=0,06). Установлены статистически значимые корреляционные связи между содержанием ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6 (r = 0,56; p = 0,000), ФНО- $\alpha$  и ИЛ-8 (r = 0,8; p = 0,000), в обеих группах. Каких либо достоверных отличий в содержании ИЛ1- $\alpha$ , ИЛ1- $\beta$ , ИЛ-6 отмечено не было.

**Заключение:** Таким образом при сравнении уровней цитокинов в сыворотке крови у больных с содержанием Лп(а) < 300 мг/л и  $\geq 300$  мг/л было установлено, что высокий уровень Лп(а) сопровождается снижением концентрации исследованных провоспалительных цитокинов. Роль Лп(а) в прогрессировании атеросклеротического поражения и мультифакторные механизмы его влияния

на функцию сосудистого эндотелия, требуют дальнейшего изучения.

## **ВЛИЯНИЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛИПОПРОТЕИНОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ НА ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У КРЫС**

**Толпыго С.М., Шойбонов Б.Б.**

*Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина, Москва, Россия*

В прогрессировании атеросклеротического процесса важную роль играет сосудистая эндотелиальная дисфункция, которая, в настоящее время, рассматривается как независимый фактор риска атеросклероза и атеротромбоза. Заболевания начинается с накопления липопротеинов, в первую очередь, липопротеинов низкой плотности (ЛНП), во внеклеточном матриксе сосуда. Данные частицы ЛНП агрегируют и подвергаются модификации в результате окисления. Модифицированные окисленные ЛНП (моЛНП) являются токсичными и повреждают сосуды, вызывая воспаление и фиброз. В последнее десятилетие особенно интенсивно разрабатывается аутоиммунно-воспалительная теория патогенеза атеросклероза. Известно, что моЛНП являются аутоантигенами, индуцирующими сильный локальный иммунный ответ в бляшке, и часть Т-лимфоцитов, инфильтрирующих бляшку, специфически активированы против моЛНП. Обнаружено также, что моЛНП стимулируют апоптоз, участвующий в процессах дестабилизации бляшки. Элиминация моЛНП в организме осуществляется путем их связывания с антителами, со скавенджер-рецепторами («мусорщиками») макрофагов и фагоцитоза.

Общепризнано, что моЛНП являются основными факторами развития эндотелиальной дисфункции при атеросклерозе. Лектиноподобный рецептор-1 (LOX-1) на эндотелиальных клетках идентифицирован как рецептор моЛНП. Показано, что продукты окислительного стресса и соединения, инициирующие окислительный стресс, вызывают экспрессию LOX-1 в повышенных количествах. Активация LOX-1 индуцирует генерацию активных форм кислорода и снижает высвобождение NO из эндотелиальных клеток, а в дальнейшем усиливает экспрессию эндотелина-1, АТ1-рецептора к ангиотензину и молекул клеточной адгезии, процессы адгезии активированных тромбоцитов и нейтрофилов. Таким образом, моЛНП и его специфические рецепторы LOX-1 на эндотелиальных клетках непосредственно участвуют в формировании ответных внутриклеточных реакций на окислительный стресс, которые усиливают функциональные изменения в эндотелии и являются существенными для развития нарушений сосудистого гомеостаза при патологических состояниях. Однако в научной литературе не имеется экспериментальных данных о влиянии моЛНП на гемодинамические показатели в условиях целого организма.

Эксперименты выполнены на крысах-самцах популяции Wistar с массой тела 300-350 г (n=16). Препарат моЛНП вводили однократно внутрибрюшинно в дозе 200 мкг/кг. Контрольным животным (n=8) инъецировали физиологический раствор в том же объеме. Препарат моЛНП приготавливали из сыворотки крови человека. Эффективную дозу определяли в тесте связывания компонента. Гемодинамические показатели (систолическое артериальное давление – САД, частота сердечных сокра-

щений – ЧСС) регистрировали неинвазивным способом с использованием системы NIBP («ADInstruments», Australia) на хвостовой артерии у ненаркотизированных, иммобилизованных в пластиковых пеналах крыс с интервалом 5-10 мин в течение 3 часов. Проведенные эксперименты показали, что однократное внутрибрюшинное введение вызывает у всех крыс отчетливую сосудистую дистонию в виде резких колебаний САД уже в первые 5-10 мин после инъекции. При этом наблюдается чередование гипер- и гипотензии с перепадами значений САД от исходных на 50-60 мм рт.ст., а у отдельных животных даже на 80-90 мм рт.ст. К 70-100 мин регистрации у всех крыс САД стабилизировалось на уровне 80-85 мм рт.ст. Изменения динамики ЧСС после введения моЛНП были выражены незначительно и не коррелировали с изменениями САД. В среднем по группе (в % по сравнению с фоновыми значениями) было обнаружено, что тенденция к гипотензии появляется уже через 20-30 мин, данное изменение становится достоверным (p < 0,05) к 60 мин регистрации и сохраняется до конца эксперимента. При этом достоверных изменений ЧСС выявлено не было. Введение физиологического раствора у контрольных животных не вызывало существенных сдвигов гемодинамических показателей.

В настоящей работе впервые получены данные, что однократное внутрибрюшинное введение моЛНП индуцирует острую сосудистую дистонию по гипотензивному типу и может быть использовано как способ её моделирования. Эта экспериментальная модель является перспективной для изучения иммунных механизмов развития эндотелиальной дисфункции на начальных стадиях атеросклероза.

## **ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ G197/197А ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА IL-17A В РАЗВИТИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА**

**Тугуз А.Р.<sup>1</sup>, Муженя Д.В.<sup>1</sup>, Смольков И.В.<sup>1</sup>, Шумилов Д.С.<sup>1</sup>, Руденко К.А.<sup>1</sup>, Анохина Е.Н.<sup>1</sup>, Ашканова Т.М.<sup>2</sup>, Татаркова Е.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> НИИ комплексных проблем ФБГОУ ВПО «Адыгейский государственный университет», Майкоп, Россия

<sup>2</sup> ГБУЗ РА «Адыгейская республиканская клиническая больница», Майкоп, Россия

**Введение.** Атеросклеротические поражения сосудов разных бассейнов, приводящие к ишемической болезни сердца (ИБС), инфаркту миокарда (ИМ), ишемическим (ИИ), геморрагическим (ГИ) мозговым инсультам и другим сердечно-сосудистым заболеваниям (ССЗ), рассматриваются как разновидность хронических воспалительных процессов в сосудистых стенках. Основным провоспалительным медиатором иммунной системы является интерлейкин 17А, который относится к регуляторным цитокинам с широким спектром биологических эффектов, включая иммунные процессы в организме, стимулирование пролиферации эндотелиоцитов и участие в патофизиологических процессах. Ключевая роль IL-17A в системных воспалительных реакциях подтверждена многочисленными исследованиями, однако распределение G197/197А полиморфизмов промоторного региона гена IL-17A и их ассоциации с ССЗ практически не изучена.

**Цель работы:** типирование G197/197А полиморфизмов промоторного региона гена основного провоспалительного

тельного IL-17A, ассоциированных у жителей Республики Адыгея с ССЗ.

**Задачи:** 1. Анализ распределения частот G197/197A аллелей гена IL-17A в группах больных с ССЗ и доноров.

2. Выявление молекулярно-генетических предикторов ССЗ, развившихся на фоне периферического и коронарного атеросклероза

**Контингент обследованных лиц.** В проспективное исследование включено 83 жителя Республики Адыгея, в том числе 41 донор и 42 больных с ССЗ: ИБС, ИМ, гипертонической болезнью (ГБ), ИИ, ГИ и др. осложнения коронарного и периферического атеросклероза (ПА). Клинические диагнозы подтверждены данными стандартных биохимических показателей крови, неинвазивных скрининговых и углубленных инструментальных исследований в условиях стационарных отделений лечебно-профилактических учреждений г. Майкопа. Доноры подобраны эмпирически, без клинических проявлений и наследственной отягощенности по ССЗ.

**Материалы и методы.** Качество геномной ДНК, выделенной из периферической крови («ДНК-экспресс-кровь» НПФ «Литех», Россия), тестируется на спектрофотометре «NanoDrop 2000c» (Thermo Scientific, USA). Распределение G197/197A аллелей гена IL-17A исследовано SNP-методом (single nucleotide polymorphism) на тест-системах НПФ «Литех». Достоверность различий частот SNP ( $p < 0,05$ ) вычислена с помощью непараметрического метода Фишера,  $\chi^2$  (кхи-квадрата) для таблиц сопряженности 2x2 с поправкой Йейтса на непрерывность и расчетом отношения шансов (odds-ratio или OR), 95% доверительного интервала (95% CI).

**Результаты исследований.** Частоты GG, GA, AA генотипов ( $p = 0,05$ ;  $\chi^2 = 3,85$ ) и аллелей гена IL-17A ( $p = 0,03$ ;  $\chi^2 = 4,49$ ) у доноров и больных ССЗ достоверно различаются. Для выявления прогностически значимых маркеров атерогенеза сосудов разных бассейнов и клинкоморфологических форм ССЗ, у больных с последствиями коронарного атеросклероза (ИБС) и осложнениями ПА (мозговой инсульт, окклюзии и стенозы аорто-подвздошных сегментов), проанализировано распределение частот G197/197A в зависимости от установленного клинического диагноза. Наиболее значимые отличия выявлены в группе больных с ПА: соотношение GG : GA : AA генотипов IL-17A для этого контингента составили соответственно 75% : 16,6% : 8,4%, что статистически значимо ( $p = 0,006$ ;  $\chi^2 = 7,56$ ) отличается от аналогичных показателей для доноров (34,78% : 39,13% : 26,09%). Установлена достоверно более высокая частота (0,830) «нормального» G197 аллеля гена IL-17A у больных с последствиями ПА ( $p = 0,001$ ;  $\chi^2 = 10,51$ ). У носителей генотипа G197G и G197 аллеля риск развития ПА увеличивается соответственно в 7,8 раз и в 5,25 раз, что позволяет рассматривать этот SNP как маркер повышенного риска развития периферического атеросклероза у населения Республики Адыгея.

**Заключение.** G197 аллель и гомозиготный G197G генотип промоторного региона гена основного провоспалительного цитокина IL-17A у жителей РА ассоциированы с риском развития ССЗ и, в частности, с осложнениями ПА. G197 полиморфизм IL-17A является информативным молекулярно-генетическим предиктором ПА, что может быть использовано для донозологической диагностики окклюзии и стеноза аорто-подвздошных сегментов, мозговых инсультов и др. сосудистых заболеваний – основной причины инвалидизации и смертности населения РА.

## ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ДИСБАЛАНСА ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ И ГОРМОНОВ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

Турмова Е.П., Грачев Н.И., Григорюк А.А., Чагина Е.А., Кириенко Л.Е.

ГБОУ ВПО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Владивосток, Россия

**Введение.** Изучение системного содержания цитокинов с учетом их взаимодействия с уровнем адипокинов в сыворотке крови позволят расширить представление об иммуноопосредованном характере изменений липидного обмена при атеросклерозе.

**Цель.** Оценить патогенетическую роль дисбаланса цитокинового профиля и адипокинов в сыворотке крови пациентов с атеросклерозом.

### Задачи

1. Определить содержание провоспалительных и противовоспалительных цитокинов и рецепторов к цитокинам в сыворотке крови пациентов с атеросклерозом и у здоровых доноров;

2. Оценить уровень лептина и адипонектина в сыворотке крови;

3. Установить корреляционные взаимосвязи между показателями.

**Материалы и методы:** обследованы 260 пациентов с атеросклерозом, верифицированным по результатам коронарографии и ангиографии, из них с клиническими проявлениями ишемической болезни сердца – 140 человек и 120 человек с облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей. Возраст обследуемых составлял  $57,2 \pm 2,7$  лет. Группу контроля составляли 50 практически здоровых доноров (30–50 лет), сопоставимых по полу, без клинических проявлений артериальной недостаточности, острых и хронических заболеваний в фазе обострения, не курящих, не употребляющих каких-либо лекарственных препаратов, не злоупотребляющих алкоголем.

Содержание цитокинов: IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-10, TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, IL-2, IL-17, растворимых рецепторов к цитокинам: IL-2R, IL-6R, TNF- $\alpha$  RI и TNF- $\alpha$  RII, адипокинов (лептин и адипонектин) определяли методом ИФА с использованием реактивов фирмы “R&D Diagnostics Inc.” (USA).

**Основные результаты.** У пациентов с атеросклерозом определялось увеличение уровня в сыворотке крови IL-6 (в 3,2 раза), меньше нарастало содержание TGF- $\beta$ 2 и растворимых рецепторов к цитокинам: TNF- $\alpha$ RI, TNF- $\alpha$ R II, отмечалось снижение концентрации уровня IL-2 и IL-10 (в 2,7–3 раза) по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). Зарегистрировано достоверное увеличение значений растворимого рецептора к IL-2R и прямая корреляция ( $r = 0,30$ ,  $p = 0,005$ ) между цитокином и его растворимым рецептором.

Выявлен низкий уровень адипонектина в сыворотке крови ( $p < 0,05$ ), при нормальном содержании лептина. Установлена средняя прямая связь между лептином и IL-1 $\beta$  ( $r = 0,35$ ,  $p = 0,01$ ) и средняя обратная связь адипонектина с TGF- $\beta$ 1 ( $r = -0,41$ ,  $p = 0,01$ ) и с TGF- $\beta$ 2 ( $r = -0,30$ ,  $p = 0,05$ ).

**Заключение.** Превалирование провоспалительной активности у пациентов с атеросклерозом связано, преимуще-

щественно, с гиперпродукцией в сыворотке крови IL-6. Нарастание TGF- $\beta$ 2 можно расценить, с одной стороны, как защитный механизм, препятствующий атерогенному повреждению стенки сосудов, снижению воспаления и способствующий стабилизации атеромы, однако оно может отражать сдвиг процессов ремоделирования в сторону развития фиброза сосудов. Высокий уровень растворимых рецепторов к TNF- $\alpha$  I и II типа представляет собой механизм компенсации, заключающийся в связывании провоспалительного TNF- $\alpha$  с последующим угнетением его биологической активности. Низкое содержание IL-2 свидетельствует о функциональной недостаточности механизмов адаптивного иммунитета, нарушении T-клеточной регуляции у пациентов с атеросклерозом, тогда как увеличение уровня рецептора к IL-2R представляет собой компенсаторную реакцию на недостаточность продукции IL-2. Снижение уровня IL-10 может быть связано с угнетением функциональной активности CD4+, CD25+, Foxp3 - T-регуляторных клеток в условиях гипоксии и дефицита IL-2. О вероятном угнетении противовоспалительных механизмов реактивности и адекватного функционирования T-регуляторных клеток также свидетельствует выявленное снижение отношения IL-10/IFN- $\gamma$  у пациентов с атеросклерозом.

Низкий уровень адипонектина способствует нарушению реализации его антиатерогенных эффектов: подавления связывания моноцитов с клетками эндотелия, ингибирования экспрессии молекул адгезии (VCAM-1, ICAM-1, E-селектина) и MCP-1, препятствия отложения липидов в сосудистой стенке за счет нарушения поглощения макрофагами измененных липопротеинов. Прямая связь между лептином и IL-1 $\beta$  ( $r=0,35$ ,  $p=0,01$ ), косвенно подтверждает синергичность их провоспалительного действия при атеросклерозе. Обратные связи адипонектина с TGF- $\beta$ 1 ( $r=-0,41$ ,  $p=0,01$ ) и с TGF- $\beta$ 2 ( $r=-0,30$ ,  $p=0,05$ ), указывают на то, что снижение уровня адипонектина при атеросклерозе способствует повышению продукции провоспалительного TGF- $\beta$  (компенсаторный механизм), но и реализации его профиброгенных эффектов.

### ИММУНИЗАЦИЯ ЛИПОПРОТЕИНАМИ ВЫСОКОЙ ПЛОТНОСТИ ЧЕЛОВЕКА ВЫЗЫВАЕТ У КРЫС WISTAR РАЗВИТИЕ ПРИЗНАКОВ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Фомина К.В., Бедулева Л.В., Аникаева М.А.,  
Меньшиков И.В.

ФГБОУ ВПО «Удмуртский государственный университет», Ижевск, Россия

Механизмы индукции и развития атеросклероза до конца не известны. Экспериментальные исследования последних лет показали, что ключевую роль в развитии атеросклероза играют аутоиммунные реакции (McLeod O., 2014). Однако, остается не решен вопрос об аутоантигенах-мишенях при атеросклерозе, в качестве которых рассматривают модифицированные, а также нативные липопротеины низкой плотности (ЛПНП). Ранее мы показали, что иммунизация крыс Wistar нативными ЛПНП человека, вызывающая продукцию антител к нативным ЛПНП, ведет к возникновению изменений типичных для атеросклероза человека (Меньшиков И.В. 2012, Beduleva L., 2014). Известно, что в организме крыс доставку холестерина в ткани осуществляют преимущественно липопротеины высокой плотности (ЛПВП) (Gwynne J.T., 1976), а не ЛПНП как у человека. Если ги-

потеза о ведущей роли антител к нативным липопротеинам плазмы в развитии атеросклероза верна, то у крыс развитие иммунной реакции к нативным ЛПВП должно сопровождаться проявлениями атеросклероза. **Целью настоящего исследования** было выяснить, можно ли вызвать атеросклероз у крыс с помощью иммунизации нативными гетерологичными ЛПВП.

Крысы Wistar ( $n=11$ ) были иммунизированы нативными ЛПВП человека (Kalen Biomedical) в составе неполного адьюванта Фрейнда (Sigma) внутривенно в дозе 200 мкг, однократно. Титр антител против нативных ЛПВП человека, окисленных ЛПНП определяли методом иммуноферментного анализа, уровень общего холестерина - ферментативным методом с помощью набора «Холестерин ФС» («Диакон-ДС»), холестерин ЛПВП - прямым гомогенным методом, используя набор «Холестерин ЛПВП» (Human). Для оценки объема эпикардального жира крыс подвергали интракардиальной перфузии, сердце извлекали и окрашивали на липиды суданом III (Holman, 1958). Проводили гистологический анализ дуги аорты. Парафиновые срезы, толщиной 3-5 мкм окрашивали гематоксилином-эозином.

Иммунизация крыс вызвала длительно незавершающуюся, характеризующуюся периодами спонтанного роста продукцию антител к нативным ЛПВП. Такая кинетика антител свидетельствует о развитии у крыс хронического иммунного ответа к ЛПВП. Уровень антител к окисленным ЛПНП у крыс, иммунизированных нативными ЛПВП, не отличался от такового у контрольных крыс. Продукция антител против нативных ЛПВП сопровождалась дислипидемией: достоверным снижением уровня общего холестерина и холестерина ЛПВП по сравнению с контрольными животными. У иммунизированных нативными ЛПВП человека крыс, обнаружен эпикардальный жир, тогда как у контрольных животных эпикардальный жир отсутствовал. Эпикардальный жир, который по данным Yorgun H., 2012 является ранним признаком атеросклероза человека, у крыс в ответ на иммунизацию нативными ЛПВП появляется уже на 10 неделе после иммунизации. Так же у крыс, иммунизированных ЛПВП, выявлены изменения в стенке дуги аорты: инфильтрация лейкоцитами, разрушение интимы, дезорганизация меди. Изменения, выявленные у крыс, иммунизированных нативными ЛПВП, идентичны изменениям, которые мы ранее наблюдали у крыс, иммунизированных нативными ЛПНП.

Таким образом, иммунизация крыс нативными гетерологичными ЛПВП вызывает метаболические и морфологические изменения, подобные изменениям, наблюдаемым при атеросклерозе человека. Вместе с разработанной нами ранее экспериментальной моделью атеросклероза крыс, вызванного иммунизацией нативными ЛПНП, модель атеросклероза, вызванного иммунизацией нативными ЛПВП, служит доказательством, что причиной развития атеросклероза является хроническая продукция антител к нативным липопротеинам плазмы.

## ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ И ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АТЕРОГЕННЫХ ЛИПОПРОТЕИНОВ

Шойбонов Б.Б., Толпыго С.М.

*Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина, Москва, Россия*

Атеросклероз является основной причиной сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), включая инфаркт миокарда, инсульт и болезни периферических артерий. ССЗ являются ведущей причиной инвалидизации и смертности во всех развитых странах. Заболевание инициируется накоплением липопротеинов, в первую очередь липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), во внеклеточном матриксе сосудов. Эти частицы ЛПНП агрегируют и подвергаются окислительной или ферментативной модификации. Модификация ЛПНП, вызванная частично конечными продуктами липидной перекисидации, потенцирует их атерогенную природу. Аутоантитела к окЛПНП были выявлены в сыворотке крови как больных ССЗ, так и здоровых людей. До сих пор роль аутоиммунной реакции (анти-атерогенный или про-атерогенный) к окЛПНП полностью не установлена.

В работе была оценена диагностическая и прогностическая значимость исследования литической активности атерогенных липопротеинов. Был разработан литический тест определения атерогенности множественно модифицированных липопротеинов низкой плотности (ммЛПНП). С использованием данного теста проведено сравнительное изучение количества и литической активности ммЛПНП у больных с атеросклерозом каротидных артерий.

Были исследованы сыворотки крови 6 больных с инструментально подтвержденным атеросклерозом каротидных артерий. Забор крови проводили натощак из локтевой вены, отделяли сыворотку и определяли содержание ммЛПНП согласно методике (Заявка на изобретение № 2014152086). Литическую активность ммЛПНП определяли согласно методике (Заявка на изобретение № 2014152089). Суть метода заключалась в обработке сыворотки крови 20% раствором поливинилпирролидона с молекулярной массой 35000 (ПВП-35000) при объемном соотношении сыворотка: ПВП (1:0,84), инкубации в течение 10 мин при комнатной температуре. Агрегаты ммЛПНП осаждали центрифугированием, тщательно декантировали и осадок ммЛПНП растворяли в буфере без ПВП. К отмытым стандартизованные аутологичным эритроцитам человека добавляли препарат ммЛПНП, инкубировали в течение 48 часов при комнатной температуре, измеряли оптическую плотность на фотометре при длине волны 620 нм, по калибровочному графику определяли степень лизиса и при лизисе более 10% констатировали повышенную литическую активность ммЛПНП. Тест литической активности ммЛПНП проводили в 96-луночных плоскодонных иммунологических планшетах по 3 повторения. Вначале по 10 мкл (×3) ммЛПНП вносят в лунки, потом добавляют 60 мкл (×3) буфера VBS2+ и 30 мкл (×3) суспензии стандартизованных в этом же буфере аутологичных эритроцитов больного. Параллельно ставят контроли: 3 контроля на полный лизис (30 мкл суспензии аутологичных эритроцитов + 70 мкл H<sub>2</sub>O); 3 контроля на спонтанный лизис эритроцитов (30 мкл аутологичных эритроцитов + 70 мкл буфера VBS2+). Тщательно перемешивают и сразу измеряют оптическую плотность на фотометре для иммуноферментного анализа при длине волны 620 нм

(бланк устанавливают против воздуха). После измерения планшеты герметично заклеивают пленкой и оставляют на 48 часов при комнатной температуре. После 48-ми часовой инкубации планшеты тщательно перемешивают и измеряют оптическую плотность при тех же условиях.

Проведено исследование литической активности 6 проб ммЛПНП, приготовленных из индивидуальных сывороток больных, с использованием в качестве мишеней аутологичные (собственные) отмытые и стандартизованные эритроциты. Было показано, что в пробах 1-5 разброс оптической плотности колеблется от 0,8% до 5,3%. Только в пробе №6 разброс составил 11%. При определении степени лизиса по калибровочному графику максимальная ошибка в пробе №6 составила ±7,9%, при этом, ошибка по трем точкам не превышала 10%, т.е., наличие литического эффекта ммЛПНП можно констатировать при лизисе более 10%. Выявление литического действия ммЛПНП, приготовленных из сыворотки крови больного с атеросклерозом каротидных артерий и лизис собственных эритроцитов свидетельствует о высокой патогенности ммЛПНП и об отсутствии ингибирующих факторов в пробе в виде альбумина и липопротеинов высокой плотности.

Таким образом, определение литической активности ммЛПНП открывает новый подход к оценке атерогенности от количественных показателей к качественным (функциональным) показателям.

## АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА MTFHR, MTR И MTRR С РИСКОМ РАЗВИТИЯ КОРОНАРНОГО И ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА

Шумилов Д.С.<sup>1</sup>, Смольков И.В.<sup>1</sup>, Тугуз А.Р.<sup>1</sup>,  
Муженя Д.В.<sup>1</sup>, Руденко К.А.<sup>1</sup>, Анохина Е.Н.<sup>1</sup>,  
Ашканова Т.М.<sup>2</sup>, Татаркова Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ комплексных проблем ФБГОУ ВПО «Адыгейский государственный университет», Майкоп, Россия

<sup>2</sup> ГБУЗ РА «Адыгейская республиканская клиническая больница» (АРКБ), Майкоп, Россия

**Введение.** Гипергомоцистеинемия, согласно современным представлениям, является пусковым механизмом атерогенеза сосудов разных бассейнов, что может быть следствием единичных нуклеотидных замен SNP (single nucleotide polymorphisms) в генах фолатного цикла: метилентетрагидрофолатредуктазы (MTFHR), метионин-синтазы (MTR) и метионин-синтазы-редуктазы (MTRR). Полиморфизмы генов фолатного цикла вовлечены в патогенез таких заболеваний, как инфаркт миокарда (ИМ), ишемической болезни сердца (ИБС), мозговых инсультов: ишемических (ИИ) и геморрагических (ГИ) и является детерминированными маркерами, ассоциированными с повышенным риском развития тромбозов, гипертонической болезни и других форм ССЗ.

**Цель работы:** определить прогностическую значимость полиморфных вариантов генов MTRR, MTFHR, MTR в генезе заболеваний, развившихся на фоне коронарного и периферического атеросклероза у жителей Республики Адыгея (РА)

**Задачи:** 1. Анализ распределения мутаций генов фолатного цикла MTFHR (677C-T; 1298A-C), MTRR (66A-G), MTR (2756A-G) в обследованных группах больных с ССЗ и доноров. 2. Выявление полиморфизмов генов

фолатного цикла, ассоциированных с периферическим и коронарным атеросклерозом.

Контингент обследованных лиц. Контрольная группа представлена неродственными донорами ( $n=41$ ) в возрасте  $26,32\pm 8,4$  лет, без наследственной отягощенности и клинических проявлений ССЗ, что подтверждено данными инструментальных исследований в условиях ЛПУ г. Майкопа. Больные с ССЗ ( $n=53$ ) - пациенты отделений кардиологии, нейрохирургии и хирургии сосудов АРКБ (г. Майкоп, Республика Адыгея), в возрасте  $54,26\pm 12,2$  лет с мозговыми инсультами, окклюзиями и стенозами аорто-подвздошных сегментов, различными формами ишемической болезни сердца (ИБС): острым коронарным синдромом (ОКС), постинфарктным кардиосклерозом (ПИКС), стабильной стенокардией напряжения (СН) 2-4 функционального класса (ф.кл.), сопровождавшимися явлениями хронической сердечной недостаточности (ХСН) 2А-2Б стадии (3-4 ф.кл по NYHA), развившимися на фоне атеросклеротических изменений коронарных артерий и периферических сосудов. Клинические диагнозы подтверждены стандартными биохимическими показателями крови (дислипидемия), данными неинвазивных скрининговых и углубленных инструментальных исследований: ЭКГ, Холтеровского мониторирования ЭКГ, нагрузочных проб (велоэргометрии либо Тредмил-теста) ультразвуковой доплерометрии и ангиография сосудов нижних конечностей, ультразвукового триплексно-сканирования сосудов нижних конечностей и брахиоцефальных артерий, эхокардиографии (ЭХО-КС).

**Материалы и методы.** Распределение полиморфизмов генов MTHFR (C677T, A1298C), MTR (A2756G) и MTRR (A66G) исследовано на тест-системах «Генетика Мета-

болизма Фолатов» ООО «НПО ДНК-технология» с последующей амплификацией в детектирующем амплификаторе «DT-Lite 4» (ООО «НПО ДНК-технология»). Экспериментальные данные проанализированы с использованием непараметрического метода Фишера,  $\chi^2$  (хи - квадрата), OR (odds-ratıon - отношения шансов), 95% доверительного интервала (95% CI) при уровне значимости  $p<0,05$

**Результаты исследований.** В зависимости от клинических проявлений коронарного и периферического атеросклероза не установлено достоверных различий в распределении частот аллельных вариантов генов MTHFR (A1298/1298C) и MTRR (A66/66G). Нами выявлена ассоциация «нормального» C677 аллельного варианта гена MTHFR с коронарным атеросклерозом ( $p=0,005$ ; OR=3). У больных с периферическим атеросклерозом статистически значимо повышена частота 2756G аллеля ( $p=0,03$ , OR=2,5) и G 2756G генотипа ( $p=0,03$ , OR=12,5) гена MTR.

**Заключение.** A1298/1298C и A66/66G полиморфизмы генов MTHFR и MTRR не ассоциированы с развитием КА и ПА ( $p>0,05$ ). «Нормальная» C677 аллель гена MTHFR является одним из факторов риска клинических форм коронарного атеросклероза, а наличие «патологической» 2756G аллели гена MTR способствует развитию ИИ, ГИ, окклюзий и стенозов аорто-подвздошных сегментов как следствий периферического атеросклероза. Полученные нами данные могут быть использованы для донозологической диагностики заболеваний, обуславливающих повышенную смертность трудоспособного контингента населения Республики Адыгея.