

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
КАРДИОЛОГИИ ИМЕНИ АКАДЕМИКА Е.И. ЧАЗОВА»

*На правах рукописи*

Мельников Иван Сергеевич

**Роль мономерной формы С-реактивного белка  
в оценке резидуального воспалительного риска у пациентов  
с субклиническим атеросклерозом сонных артерий**

3.1.20 – Кардиология

3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители:  
Доктор медицинских наук  
Козлов Сергей Геннадьевич  
Доктор биологических наук  
Габбасов Зуфар Ахнафович

Москва – 2022

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	6
ВВЕДЕНИЕ.....	9
ГЛАВА 1. РОЛЬ РЕЗИДУАЛЬНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОГО РИСКА В ПАТОГЕНЕЗЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА И ВОЗНИКНОВЕНИИ ЕГО ОСЛОЖНЕНИЙ. ВОЗМОЖНОСТИ ОЦЕНКИ И КОРРЕКЦИИ РЕЗИДУАЛЬНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО РИСКА.....	18
1.1 Патогенез атеросклероза.....	18
1.2 Профилактика атеросклероза и резидуальный риск.....	23
1.3 Резидуальный воспалительный риск.....	29
1.3.1 Роль NLRP3-инфламмосомы и воспалительного каскада ИЛ-1 $\beta$ /ИЛ-6/СРБ в развитии субклинического сосудистого воспаления.....	29
1.3.2 Популяционные исследования связи воспаления и частоты неблагоприятных сердечно-сосудистых событий.....	32
1.4 Оценка резидуального воспалительного риска и определение пациентов, получающих наибольшие преимущества от коррекции резидуального воспалительного риска.....	33
1.4.1 С-реактивный белок как биомаркер субклинического сосудистого воспаления.....	33
1.4.2 Пентамерная форма С-реактивного белка.....	34
1.4.3 Мономерная форма С-реактивного белка.....	36
1.4.4 Способы измерения уровня мономерной формы С-реактивного белка в крови.....	38
1.4.5 Определение пациентов, получающих наибольшие преимущества от коррекции резидуального воспалительного риска.....	40
1.5 Возможности коррекции резидуального воспалительного риска в клинической практике.....	42

1.5.1 Немедикаментозное лечение .....	42
1.5.2 Рандомизированные клинические исследования влияния статинов на резидуальный воспалительный риск .....	42
1.5.3 Механизмы влияния статинов на субклиническое сосудистое воспаление .....	46
1.5.4 Клинические исследования влияния эзетимиба на резидуальный воспалительный риск.....	47
1.5.5 Рандомизированные клинические исследования влияния противовоспалительной терапии на резидуальный воспалительный риск .....	50
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	57
2.2 Ультразвуковое исследование сонных артерий.....	64
2.3 Материалы для измерения концентрации мСРБ в плазме крови.....	65
2.4 Очистка антител к мСРБ клона 8С8.....	65
2.5 Конъюгация антител с флуорохромом FITC.....	66
2.6 Конъюгация антител с функциональными микросферами .....	67
2.7 Протокол подготовки и анализа проб крови .....	68
2.8 Определение уровня вчСРБ, ИЛ-6 и показателей липидного обмена.....	69
2.9 Статистический анализ данных .....	69
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	71
3.1 Способ измерения концентрации мСРБ в плазме крови .....	71
3.2 Изучение динамики ультразвуковых параметров атеросклероза сонных артерий у пациентов с исходно умеренным сердечно-сосудистым риском по шкале SCORE на терапии статинами по результатам семилетнего наблюдения .....	85
3.2.1 Клиническая характеристика пациентов.....	85
3.2.2 Ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий .....	89

3.3 Исследование уровня биомаркеров воспаления (вчСРБ, мСРБ, ИЛ-6) в зависимости от прогрессирования атеросклероза сонных артерий у пациентов с исходно умеренным сердечно-сосудистым риском по шкале SCORE на терапии статинами по результатам семилетнего наблюдения.....	92
3.4 Изучение ультразвуковых параметров атеросклероза сонных артерий в зависимости от уровня мСРБ в крови у пациентов с исходно умеренным сердечно-сосудистым риском по шкале SCORE на терапии статинами по результатам семилетнего наблюдения.....	94
3.4.1 Клиническая характеристика пациентов.....	94
3.4.2 Ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий .....	96
3.4.3 Отношение шансов прогрессирования субклинического атеросклероза в зависимости от уровня мСРБ.....	100
3.5 Изучение ультразвуковых параметров атеросклероза сонных артерий в зависимости от уровня мСРБ в крови в подгруппе пациентов с низким резидуальным воспалительным сердечно-сосудистым риском (с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л) по результатам семилетнего наблюдения .....	102
3.5.1 Клиническая характеристика пациентов.....	102
3.5.2 Ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий .....	104
3.5.3 Отношение шансов прогрессирования субклинического атеросклероза в зависимости от уровня мСРБ.....	108
3.5.4 Клинический пример .....	110
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ .....	112
4.1 Разработка способа измерения концентрации мСРБ в плазме крови .....	112
4.2 Динамика ультразвуковых параметров атеросклероза в исследовании ...	114
4.3 Показатели ультразвуковых параметров атеросклероза сонных артерий в зависимости от уровня мСРБ в плазме крови .....	117

4.4 Показатели ультразвуковых параметров атеросклероза сонных артерий в зависимости от уровня мСРБ в крови в подгруппе пациентов с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л.....	118
4.5 Связь повышенного уровня мСРБ с прогрессированием атеросклероза сонных артерий на фоне нормального уровня вчСРБ и ИЛ-6 .....	119
4.6 Ограничения исследования.....	121
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	123
ВЫВОДЫ .....	125
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	127
ЛИТЕРАТУРА .....	128

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСБ – атеросклеротическая бляшка

АСТ – аспартатаминотрансфераза

БТП – бедная тромбоцитами плазма крови

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ВСА – внутренняя сонная артерия

вчСРБ – высокочувствительный С-реактивный белок

ГМК – гладкомышечные клетки

ДИ – доверительный интервал

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИЛ – интерлейкин

ИФА – иммуноферментный анализ

ЛНП – липопротеиды низкой плотности

ЛОНП – липопротеиды очень низкой плотности

ЛПП – липопротеиды промежуточной плотности

МЕТ – метаболические единицы

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

мСРБ – мономерная форма С-реактивного белка

ОКС – острый коронарный синдром

ОСА – общая сонная артерия

Отн.ед. – относительные единицы

пСРБ – пентамерная форма С-реактивного белка

ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография

СЕТР – белок-переносчик эфиров холестерина

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

СРБ – С-реактивный белок

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ТГ – триглицериды

ТИМ – толщина интима-медиа

УЗИ - ультразвуковое исследование

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ФлА<sub>2</sub> – фосфолипаза А<sub>2</sub>

ФлА<sub>2</sub>-V – секреторная фосфолипаза А<sub>2</sub> V группы

ФНО- $\alpha$  – фактор некроза опухоли- $\alpha$

ХС - холестерин

ХС ЛВП – холестерин липопротеидов высокой плотности

ХС ЛНП – холестерин липопротеидов низкой плотности

DAMP – молекулярные сигналы опасности

DMSO – диметилсульфоксид

DTT – дитиотрейтол

FITC – флуоресцеин изотиоцианат

FSC – прямое светорассеяние

MCP-1 – моноцитарного хемоаттрактантного белка

NEM – N-этилмалеймид

NLR – рецептор нуклеотид-связывающего домена олигомеризации

PAMP – патоген-ассоциированные молекулярные паттерны

PBS – фосфатно-солевой буфер

TBS – трис-фосфатный буфер

PCSK9 – пропротеин-конвертаза субтилизин-кексинового типа 9

PRR – паттерн-распознающие рецепторы

SCORE – Systematic Coronary Risk Evaluation

SSC – боковое светорассеяние

Sulfo-SMCC – сульфосукцинимидил-4-(N-малеимидометил)-циклогексан-1-карбоксилат

VCAM-1 – молекула адгезии сосудистого эндотелия-1

<sup>18</sup>F-ФДГ – <sup>18</sup>F-фтордезоксиглюкоза

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы исследования и степень её разработанности**

Атеросклероз и его осложнения остаются одной из ведущих причин инвалидизации и смертности в мире. Среди основных мер, направленных на предотвращение возникновения и прогрессирования атеросклероза, большое значение имеет снижение уровня холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛНП) [1,2]. В ряде крупных рандомизированных клинических исследований на фоне интенсивной гиполипидемической терапии удалось добиться существенного снижения уровня ХС ЛНП, в отдельных группах пациентов – до экстремально низких значений. Однако частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий снижалась меньше ожидаемого [3,4]. Неподдающийся агрессивной гиполипидемической терапии и коррекции других модифицируемых факторов риска сердечно-сосудистый риск носит название резидуального сердечно-сосудистого риска [5]. Одним из основных видов этого риска является резидуальный воспалительный риск, связанный с длительным поддержанием субклинического воспаления в атеросклеротических бляшках (АСБ) [6,7].

Резидуальный воспалительный риск определяют по уровню основного биомаркера воспаления С-реактивного белка (СРБ), измеренного высокочувствительным тестом (вЧСРБ), 2,0 мг/л и выше [8]. Крупные рандомизированные исследования The Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy–Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 trial (PROVE-IT TIMI 22) и The Improved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial (IMPROVE IT) показали, что снижение частоты развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий сопоставимо при достижении уровня ХС ЛНП менее 1,8 ммоль/л или вЧСРБ менее 2,0 мг/л и наиболее выражено при сочетанном достижении обоих показателей [6]. Крупные рандомизированные клинические исследования Canakinumab Antiinflammatory Thrombosis Outcome Study (CANTOS) [9], Colchicine Cardiovascular Outcomes Trial (COLCOT), Low Dose Colchicine for Secondary Prevention of Cardiovascular Disease 2 (LoDoCo2) показали, что

проведение противовоспалительной терапии с достижением уровня вчСРБ ниже 2,0 мг/л в добавление к интенсивной гиполипидемической терапии позволяет снизить частоту развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий на 23-29% [10].

Регистрируемый при измерении вчСРБ уровень СРБ отражает концентрацию в плазме крови пентамерной формы СРБ (пСРБ), синтезируемой в печени при стимуляции провоспалительным интерлейкином-6 (ИЛ-6) [6]. В местах локального воспаления пСРБ взаимодействует с повреждёнными мембранами клеток и их микрочастиц, а также с окисленными липопротеидами, подвергаясь диссоциации до мономерных субъединиц (мСРБ) [11]. После диссоциации мСРБ может оставаться связанным с клеточными мембранами и обнаруживается, в том числе, в АСБ [12], в которых преимущественно локализуется в липидном ядре, вокруг новых микрососудов, в местах скопления макрофагов, Т-клеток и гладкомышечных клеток (ГМК) [13]. мСРБ обладает провоспалительными свойствами, стимулируя рекрутинг моноцитов и лимфоцитов, синтез провоспалительных цитокинов ИЛ-8, ИЛ-6, поляризацию макрофагов и Т-клеток по провоспалительному фенотипу, стимулирует неоангиогенез [14]. мСРБ выявляли на циркулирующих в кровотоке микрочастицах у пациентов с острым инфарктом миокарда [15] и с атеросклерозом периферических артерий [16]. В настоящее время известно четыре работы, в которых описано измерение уровня мСРБ в плазме крови. Во всех работах уровень мСРБ определяли с помощью метода иммуноферментного анализа (ИФА). В 2015 г. Wang J. и соавт. измерили уровень мСРБ в плазме крови пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) и здоровых добровольцев с помощью разработанного ими метода [17]. В 2018 г. Zhang L. и соавт. измерили уровень мСРБ в плазме крови у пациентов с аутоиммунными кожными болезнями (экзема, псориаз, крапивница) и здоровых добровольцев [18]. В 2020 г. Williams R.D. и соавт. измерили уровень мСРБ в сыворотке крови у 40 пациентов с острыми воспалительными заболеваниями с уровнем вчСРБ >100 мг/л [19]. В 2021 г. Munuswamy R. и соавт. измерили уровень

мСРБ в сыворотке крови с помощью ИФА с применением аптамера у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) [20].

Исследование мСРБ, как биомаркера воспаления, может дать новую диагностическую и прогностическую информацию. В то время как уровень вчСРБ позволяет судить об активности системного воспалительного ответа, уровень мСРБ может позволить судить об активности диссоциации пСРБ в месте развития локального воспалительного процесса. Клинических исследований по оценке связи уровня мСРБ с прогрессированием атеросклероза до настоящего времени не проводилось. Существенным препятствием является то, что мСРБ не определяется антителами к пСРБ, а антитела к мСРБ зачастую обладают перекрестной реактивностью с пСРБ, что затрудняет интерпретацию данных [21]. В связи с этим, регистрация мСРБ в плазме крови требует разработки новых методов.

В дальнейшем в тексте могут встречаться как аббревиатура СРБ, так и мСРБ, пСРБ, вчСРБ. Аббревиатура СРБ будет использоваться в описании исследований, в которых не проводили различия между формами СРБ, а также в обозначении поликлональных детектирующих антител, применяемых в разработанном методе, поскольку поликлональные антитела неспецифичны к формам СРБ. Под мСРБ будет подразумеваться исключительно мономерная, диссоциировавшая, форма СРБ, под пСРБ – пентамерная, синтезированная печенью, форма СРБ. Аббревиатурой вчСРБ будет обозначаться пСРБ, определяемый высокочувствительным тестом.

В данном исследовании прогрессированием атеросклероза сонных артерий считали появление новых АСБ по результатам наблюдения в связи с тем, что стенозирующего атеросклероза сонных артерий по итогам наблюдения выявлено не было [22].

### **Цель исследования**

Изучить роль мономерной формы С-реактивного белка в оценке резидуального воспалительного риска у пациентов с субклиническим атеросклерозом сонных артерий.

### **Задачи исследования**

1. Разработать способ измерения концентрации мСРБ в плазме крови.
2. Изучить динамику ультразвуковых параметров атеросклероза сонных артерий у пациентов с исходно умеренным сердечно-сосудистым риском по шкале Systematic Coronary Risk Evaluation (SCORE) на терапии статинами по результатам семилетнего наблюдения.
3. Исследовать уровень биомаркеров воспаления (вЧСРБ, мСРБ, ИЛ-6) в зависимости от прогрессирования атеросклероза сонных артерий у пациентов с исходно умеренным сердечно-сосудистым риском по шкале SCORE на терапии статинами по результатам семилетнего наблюдения.
4. Изучить ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий в зависимости от уровня мСРБ в крови у пациентов с исходно умеренным сердечно-сосудистым риском по шкале SCORE на терапии статинами по результатам семилетнего наблюдения.
5. Изучить ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий в зависимости от уровня мСРБ в крови в подгруппе пациентов с низким резидуальным воспалительным сердечно-сосудистым риском (с уровнем вЧСРБ <2,0 мг/л) по результатам семилетнего наблюдения.

### **Научная новизна**

Впервые разработан способ измерения концентрации мСРБ в плазме крови на основе конъюгированных с антителами к мСРБ функциональных микросфер. Впервые получены данные о концентрации мСРБ в плазме крови у пациентов с исходно умеренным десятилетним риском сердечно-сосудистой смерти по шкале SCORE и субклиническим атеросклерозом сонных артерий. Впервые изучен уровень мСРБ, вЧСРБ и ИЛ-6 в зависимости от прогрессирования субклинического нестенозирующего атеросклероза сонных артерий. Показано, что уровень мСРБ равный и выше медианы независимо от традиционных факторов риска и других биомаркеров связан с приростом количества АСБ и суммарной высоты АСБ. В подгруппе пациентов с исходно умеренным десятилетним риском сердечно-

сосудистой смерти по шкале SCORE и уровнем вЧСРБ менее 2,0 мг/л, соответствующим низкому резидуальному воспалительному риску, уровень мСРБ равный и выше медианы независимо от традиционных факторов риска и других биомаркеров был связан с приростом количества АСБ и суммарной высоты АСБ.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Впервые разработан способ, позволяющий измерять уровень мСРБ в плазме крови с помощью проточной цитофлуориметрии. Впервые получены данные, указывающие на наличие прямой связи повышенного уровня мСРБ в плазме крови с прогрессированием субклинического атеросклероза сонных артерий. Впервые получены данные у пациентов с уровнем вЧСРБ менее 2,0 мг/л, у которых в настоящее время резидуальный воспалительный риск считается низким, указывающие на наличие прямой связи повышенного уровня мСРБ в плазме крови с прогрессированием субклинического атеросклероза сонных артерий.

### **Методология и методы исследования**

Исследование выполняли в два этапа. На первом этапе исследования был разработан способ измерения концентрации мСРБ в плазме крови с помощью проточной цитофлуориметрии. Способ основан на применении антитела клона 8С8 (Sigma, США), высокоспецифичного к мСРБ, конъюгированного с функциональными микросферами BD Cytometric Bead Array (Beckton-Dickinson, США). На втором этапе исследования разработанным способом измерили уровень мСРБ у 80 пациентов обоих полов, наблюдавшихся в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России) с 2012-2013 гг. Исходно пациенты обоих полов возраста 40-65 лет имели десятилетний риск сердечно-сосудистой смерти по шкале SCORE 1-4% (категория умеренного риска), уровень ХС ЛНП 2,7-4,8 ммоль/л, наличие бессимптомных нестенозирующих (сужающих диаметр просвета артерии

<50%) АСБ в сонных артериях по данным ультразвукового исследования (УЗИ). Включённым в исследование пациентам назначали терапию аторвастатином для достижения целевого уровня ХС ЛНП <2,6 ммоль/л. Пациентов наблюдали в течение 7 лет, после чего оценивали динамику прогрессирования АСБ в сонных артериях, измеряли уровень биомаркеров воспаления (мСРБ, вчСРБ, ИЛ-6) и изучали связь биомаркеров воспаления с прогрессированием атеросклероза сонных артерий.

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

1. Впервые разработанный способ измерения мСРБ в плазме крови с помощью проточной цитофлуориметрии позволяет определять концентрацию мСРБ в диапазоне 1,0-100,0 мкг/л.
2. У 45 из 80 включенных в исследование пациентов с исходно умеренным сердечно-сосудистым риском по шкале SCORE и субклиническим нестенозирующим атеросклерозом сонных артерий отмечался прирост количества АСБ в сонных артериях по итогам семилетнего наблюдения, несмотря на достижение целевого уровня ХС ЛНП <2,6 ммоль/л на терапии аторвастатином.
3. Уровень мСРБ в плазме крови был выше (6,3 (4,2; 9,8) мкг/л и 4,0 (2,45; 5,35) мкг/л,  $p = 0,0006$ ), а уровень вчСРБ (1,2 (0,7; 2,4) мг/л и 0,9 (0,6; 1,6) мг/л,  $p = 0,2$ ) и ИЛ-6 (0,0 (0,0; 3,2) пг/мл и 0,0 (0,0; 2,14) пг/мл,  $p = 0,6$ ) не различался у пациентов с прогрессированием субклинического нестенозирующего атеросклероза сонных артерий, по сравнению с пациентами без его прогрессирования. Уровень мСРБ не коррелировал с уровнем вчСРБ ( $r = 0,006$ ,  $p = 0,9$ ) и уровнем ИЛ-6 ( $r = 0,018$ ,  $p = 0,9$ ).
4. Повышенный уровень мСРБ в плазме крови прямо связан с прогрессированием субклинического нестенозирующего атеросклероза сонных артерий у включенных в исследование пациентов. Скорректированное отношение шансов прогрессирования субклинического атеросклероза сонных артерий у пациентов ( $n = 80$ ) с уровнем мСРБ равном

и выше медианы (5,2 мкг/л) составило 4,74 (95% доверительный интервал (ДИ) 1,70-13,24,  $p = 0,001$ ).

5. Повышенный уровень мСРБ в плазме крови прямо связан с прогрессированием субклинического нестенозирующего атеросклероза сонных артерий в подгруппе пациентов с низким резидуальным воспалительным сердечно-сосудистым риском (уровень вчСРБ  $<2,0$  мг/л). Скорректированное отношение шансов прогрессирования субклинического атеросклероза сонных артерий в подгруппе пациентов ( $n = 54$ ) с уровнем вчСРБ  $<2,0$  мг/л и уровнем мСРБ равном и выше медианы (5,0 мкг/л) составило 4,14 (95% ДИ 1,25-13,72,  $p = 0,02$ ).

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность полученных в исследовании выводов обоснована данными научной литературы, использованием соответствующей методологии и статистическим анализом данных.

Основные положения диссертации доложены на:

1. 86-ом конгрессе Европейского общества атеросклероза. – Лиссабон, Португалия – 2018 г.
2. 87-ом конгрессе Европейского общества атеросклероза. – Маастрихт, Нидерланды – 2019 г.
3. 88-ом виртуальном конгрессе Европейского общества атеросклероза. – 2020 г.
4. 89-ом виртуальном конгрессе Европейского общества атеросклероза. – 2021 г.
5. Ежегодной Всероссийской научно-практической конференции «Кардиология на марше 2021». – 2021 г.
6. 90-ом гибридном конгрессе Европейского общества атеросклероза. – Милан, Италия – 2022 г.
7. Ежегодной Всероссийской научно-практической конференции «Кардиология на марше 2022». – 2022 г.

8. Российском национальном конгрессе кардиологов 2022. – Казань, Россия – 2022 г.

### Публикации

1. **Мельников И.С.**, Козлов С.Г., Погорелова О.А., Трипотень М.И., Сабурова О.С., Хамчиева Л.Ш., Автаева Ю.Н., Зверева М.Д., Прокофьева Л.В., Кузнецова Т.В., Гусева О.А., Балахонова Т.В., Габбасов З.А. Мономерная форма С-реактивного белка в оценке резидуального воспалительного риска развития сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с субклиническим атеросклерозом сонных артерий // Кардиология – 2022. – Т. 62, № 7. – С. 24-30.
2. **Melnikov I.**, Kozlov S., Pogorelova O., Tripoten M., Khamchieva L., Saburova O., Avtaeva Y., Zvereva M., Matroze E., Kuznetsova T., Prokofieva L., Balakhonova T., Gabbasov Z. The monomeric C-reactive protein level is associated with the increase in carotid plaque number in patients with subclinical carotid atherosclerosis // *Frontiers in cardiovascular medicine* – 2022. – № 9. – P. 968267.
3. **Мельников И.С.**, Козлов С.Г., Сабурова О.С., Автаева Ю.Н., Зверева М.Д., Прокофьева Л.В., Кузнецова Т.В., Гусева О.А., Габбасов З.А. Возможности применения мономерной формы с-реактивного белка в оценке резидуального воспалительного сердечно-сосудистого риска в пожилом возрасте // *Клиническая геронтология* – Т. 28, № 5-6. – С. 69-85.
4. **Melnikov I. S.**, Kozlov S. G., Saburova O.S., Zubkova E.S., Guseva O. A., Domogatsky S. P., Arefieva T. I., Radyukhina N. V., Zvereva M. D., Avtaeva Y. N., Buryachkovskaya L. I., Gabbasov Z. A. CRP Is Transported by Monocytes and Monocyte-Derived Exosomes in the Blood of Patients with Coronary Artery Disease // *Biomedicines* – 2020. – № 10. – P. 435.
5. Зверева М. Д., Сабурова О. С., **Мельников И. С.**, Козлов С. Г., Габбасов З. А. Современные возможности определения и применения в клинике мономера С-реактивного белка // *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний* – 2020. – № 2. – С. 45-52.

6. Гусева О.А., **Мельников И.С.**, Зубкова Е.С., Козлов С.Г., Автаева Ю.Н., Габбасов З.А. Моноциты как основная популяция клеток периферической крови, экспрессирующих С-реактивный белок // Кардиологический вестник – 2020. – № 1. – С. 32-37.
7. **Мельников И.С.**, Козлов С.Г., Чумаченко П.В., Сабурова О.С., Гусева О.А., Прокофьева Л.В., Габбасов З.А. Мономерный С-реактивный белок и локальная воспалительная реакция в стенке коронарных артерий у больных стабильной ишемической болезнью сердца // Российский кардиологический журнал – 2019. – № 5. – С. 56-61.
8. **Melnikov I. S.**, Kozlov S. G., Saburova O. S., Avtaeva Y. N., Prokofieva L. V., Gabbasov Z. A. Current position on the role of monomeric C-reactive protein in vascular pathology and atherothrombosis // Current Pharmaceutical Design – 2020. – № 1. – P. 37-43.
9. Патент № 2764679 на изобретение «Способ стратификации резидуального воспалительного риска атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний по уровню мономерного С-реактивного белка», дата выдачи 19.01.2022 г. Авторы **Мельников И.С.**, Габбасов З.А., Сабурова О.С., Зверева М.Д., Козлов С.Г., Автаева Ю.Н., Прокофьева Л.В.
10. Патент № 2764679 на изобретение «Способ стратификации резидуального воспалительного риска атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний по уровню мономерного С-реактивного белка», дата выдачи 24.10.2019 г. Авторы: **Мельников И.С.**, Габбасов З.А., Сабурова О.С., Зверева М.Д., Козлов С.Г., Автаева Ю.Н., Прокофьева Л.В.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, основной части, включающей 4 главы, выводов, практических рекомендаций и списка литературы (содержащего 28 отечественных и 262 зарубежных источника). Текст диссертации изложен на 118 страницах, включает 18 рисунков и 22 таблицы.

# ГЛАВА 1. РОЛЬ РЕЗИДУАЛЬНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОГО РИСКА В ПАТОГЕНЕЗЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА И ВОЗНИКНОВЕНИИ ЕГО ОСЛОЖНЕНИЙ. ВОЗМОЖНОСТИ ОЦЕНКИ И КОРРЕКЦИИ РЕЗИДУАЛЬНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО РИСКА

## 1.1 Патогенез атеросклероза

Согласно определению Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), атеросклероз – это переменная комбинация изменений интимы артерий, включающая накопление липидов, сложных углеводов, фиброзной ткани, компонентов крови, кальцификацию и сопутствующие изменения меди артерий [23]. Движущим механизмом возникновения и развития атеросклеротического процесса в сосудистой стенке является накопление АпоВ-содержащих липопротеидов в интимае [24]. Все АпоВ-содержащие липопротеиды диаметром менее 70 нм (в том числе липопротеиды низкой плотности (ЛНП) [25], липопротеиды очень низкой плотности (ЛОНП), липопротеиды промежуточной плотности (ЛПП)[23] и их ремнанты) атерогенны, поскольку способны проникать через эндотелиальный слой сосудов, взаимодействуя в субэндотелиальном слое с протеогликаном и накапливаясь в интимае [26]. Более склонными к развитию атеросклеротического поражения являются участки артерий, характеризующиеся гиперплазией интимы за счёт повышенного содержания протеогликанов и ГМК [27]. Участки артерий без гиперплазии интимы не склонны к развитию атеросклероза [27,28]. Наличие эндотелиальной дисфункции, турбулентного потока, оксидативного стресса и высоких концентраций АпоВ-содержащих липопротеидов в крови, среди прочих факторов, усиливают проникновение атерогенных липопротеидов через эндотелиальный слой и способствуют их задержке в интимае [29]. Перенос АпоВ-содержащих липопротеидов (транцитоз) через эндотелиальный слой является активным процессом, опосредованным рецептором ЛНП [30], липидными рафтами эндотелиоцитов (кавеолами), скавенджер-рецептором В1, активин-рецептороподобной киназой 1 [24]. Воспалительная активация NLRP3-инфламмосомы усиливает транцитоз АпоВ-

содержащих липопротеидов [31]. Обратному переносу АпоВ-содержащих липопротеидов из интимы в кровоток препятствует их взаимодействие с протеогликанами. Отрицательно заряженные сульфатные и карбоксильные группы протеогликанов внеклеточного матрикса образуют ионные связи с положительно заряженными аминокислотными остатками аргинином и лизином на АпоВ, задерживая липопротеиды в интимае [29,32]. Генетические мутации, изменяющие состав протеогликанов интимы [33], структуру доменов связывания протеогликанов на АпоВ или доменов связывания АпоВ на протеогликанах, влияют на интенсивность задержки и накопления липопротеидов в интимае [34]. Состав жирных кислот в липопротеидах так же может влиять на взаимодействие липопротеидов и протеогликанов. АпоЕ, АпоС-III, сывороточный амилоидный белок А повышают аффинность липопротеидов к протеогликанам [24].

Удерживаемые ионными связями с протеогликанами АпоВ-содержащие липопротеиды подвергаются модификации и агрегации под воздействием сфингомиелиназы, липопротеинлипазы, секреторной фосфолипазы А<sub>2</sub> V группы (ФлА<sub>2</sub>-V) [35,36]. Гидролиз фосфолипидов в составе липопротеидов под воздействием липопротеинлипазы усиливает связи липопротеидов с протеогликанам [37]. Кислая среда глубоких слоев интимы способствует липолитической и протеолитической модификации липопротеидов, усиливая их связь с протеогликанам и ускоряя процесс их накопления в интимае [38]. Сфингомиелиназа изменяет конформацию АпоВ, связывая отдельные АпоВ между собой гидрофобными связями и вызывая агрегацию липопротеидов [39]. Агрегированные и ферментативно модифицированные липопротеиды не способны покинуть интиму, как в силу большого размера агрегатов, так и в силу образованных ионных и гидрофобных связей с внеклеточным матриксом [40]. Гидролиз липидов и фосфолипидов в составе липопротеидов высвобождает биологически активные липиды, такие как лизофосфатидилхолин, лизолецитин, оксистеролы, свободные жирные кислоты, сфинголипиды, инициирующие асептическое воспаление и привлекающие в интиму лейкоциты [41]. Рекрутируемые в интиму моноциты дифференцируются в макрофаги, которые

поглощают агрегированные модифицированные липопротеиды, образуя пенные клетки [42,43]. ГМК интимы так же могут поглощать модифицированные липопротеиды, образуя пенные клетки [44, р. 4]. Взаимодействуя со сквенджер-рецептором CD36 на макрофагах, модифицированные липопротеиды стимулируют синтез макрофагами ряда провоспалительных хемокинов, усиливающих привлечение новых моноцитов из кровотока в интиму [45]. Инфильтрирующие интиму CD4-положительные Т-лимфоциты секретируют провоспалительный интерферон- $\gamma$ , способствуя атерогенезу. Т-регуляторные клетки подавляют атерогенез, секретируя противовоспалительные трансформирующий фактор роста- $\beta$  и интерлейкин-10 (ИЛ-10) [46]. Инфильтрирующие интиму CD8-положительные Т-лимфоциты стимулируют рекрутинг моноцитов в интиму, апоптоз пенных клеток и рост липидного ядра АСБ, синтез ИЛ-1 $\beta$  и интерферона- $\gamma$ , экспрессию молекул адгезии сосудистого эндотелия-1 (VCAM-1) [47]. Инфильтрирующие интиму в малом количестве В-лимфоциты могут синтезировать антитела классов IgG и IgM против эпитопов модифицированных липопротеидов и активировать компонент комплемента C1q, усиливая воспалительный ответ [48].

Выделяют шесть морфологических стадий, которые атеросклеротическое поражение проходит в своем развитии [49,50]. Начальная стадия характеризуется микроскопически и иммуногистохимически определяемыми отложениями липопротеидов в интиме, включенными в разрозненные макрофаги. Структура интимы на начальной стадии сохранна [49]. Вторая стадия характеризуется образованием видимых невооруженным глазом липидных пятен и жировых полосок. Они состоят из макрофагов и пенных клеток макрофагального происхождения, расположенных плотно прилегающими рядами. Выявляются ГМК интимы с липидными включениями. Липопротеиды преимущественно расположены внутриклеточно, однако, встречаются редкие внеклеточные агрегаты липопротеидов. Количество макрофагов без липидных включений существенно возрастает, преимущественно в субэндотелиальном слое интимы. Интима инфильтрируется незначительным количеством Т-лимфоцитов [49,51]. Первые две стадии атеросклероза развиваются с детского возраста. Однако большинство

поражений ранних стадий не прогрессирует. К дальнейшему прогрессированию склонны области атеросклеротического поражения на участках сосудов с большим количеством ГМК и внеклеточного матрикса, содержащие значительное количество макрофагов, пенистых клеток и свободных липидных включений в глубоких слоях интимы [49]. Третья стадия атеросклеротического поражения характеризуется появлением хорошо заметных внеклеточных скоплений липидов, расположенных глубже слоев макрофагов и пенистых клеток. Они концентрируются в протеогликановом матриксе вблизи ГМК, раздвигая отдельные клетки в стороны и нарушая структуру матрикса. Значительное число ГМК содержат липидные включения [49]. Четвертая стадия (атерома) характеризуется слиянием отдельных скоплений липидов с образованием хорошо различимого липидного (или некротического [52]) ядра, окруженного капиллярами [50]. Помимо липидов, ядро содержит детрит от апоптотических клеток, металлопротеиназы, пептидазы [52]. Липидное ядро существенно нарушает структуру внеклеточного матрикса и слоев ГМК интимы, преимущественно смещая их в сторону эндотелия и на периферию. Между липидным ядром и эндотелием располагаются макрофаги, ГМК и пенистые клетки. Возрастает количество лимфоцитов, появляются тучные клетки. В связи с высокой активностью клеточного воспаления и выраженными структурными изменениями, атеромы могут подвергаться разрывам и эрозии и приводить к развитию атеротромботических осложнений [50]. Пятая стадия (фиброатерома) характеризуется образованием фиброзной покрышки, замещающей слой протеогликанов, расположенный между липидным ядром и эндотелием. Фиброзная покрышка состоит из волокон коллагена, синтезируемых ГМК синтетического фенотипа [52]. Фибриноген и элементы тромбов, проникающие в интиму при повреждении эндотелия, могут включаться в состав фиброзной покрышки. Капилляры прорастают в фиброзную покрышку, их количество и размер увеличивается. Лимфоциты и макрофаги преимущественно располагаются вокруг капилляров. В местах их скопления могут наблюдаться кровоизлияния. Лимфоциты, макрофаги и пенистые клетки могут инфильтрировать медию и

адвентицию пораженного участка артерии [50]. Шестая стадия представляет собой дальнейшее развитие фиброатеромы, которое идёт по пути кальцификации, фиброза или образования склонной к разрыву нестабильной бляшки с тонкой фиброзной покрывкой [50]. В кальцинированных бляшках липидное ядро, внеклеточные скопления липидов и скопления клеточного детрита замещаются отложениями кальция. Для фиброзных бляшек характерно замещение липидного ядра и интимы коллагеном [50]. Фиброатерома с тонкой фиброзной покрывкой (тонкокапсульная фиброатерома) характеризуется наличием крупного липидного ядра, занимающего более 40% площади бляшки и истончением фиброзной покрывки менее 65 мкм [53]. Липидное ядро тонкокапсульной фиброатеромы состоит из атеронекротического детрита с большим содержанием кристаллов холестерина, окисленных липидов [54], фрагментов апоптотических клеток и скопления пенистых клеток по периферии [54]. Фиброзная покрывка имеет толщину в среднем  $23 \pm 19$  мкм и в значительном количестве содержит макрофаги, Т-лимфоциты и единичные ГМК [53]. Наблюдаются выраженная неоваскуляризация и геморрагические очаги, инфильтрированные макрофагами [55].

Тромботические осложнения атеросклероза развиваются в результате эрозии или разрыва покрывки АСБ [51]. Разрыв является причиной 68% тромботических окклюзий, развивающихся при физической нагрузке, и 23% тромботических окклюзий, развивающихся в покое [56]. К разрыву предрасполагают прогрессирующее истончение покрывки тонкокапсульной фиброатеромы и нарастание объема некротического ядра. Синтезируемые макрофагами металлопротеиназы, лизирующие коллаген покрывки, отложения микрокальцинатов и железа, высокое пристеночное сдвиговое напряжение, апоптоз макрофагов дестабилизируют фиброзную покрывку, повышая вероятность её разрыва [51,57]. При физической нагрузке разрывы чаще развиваются в средней порции бляшки, в то время как в покое разрывы чаще возникают в плечевых областях бляшки [56]. Разрыв фиброзной покрывки обнажает липидно-белковый детрит некротического ядра, коллаген и

апоптотические клетки покрышки, обладающие высоким тромбогенным потенциалом. Их взаимодействие с клетками крови и факторами коагуляции вызывает образование тромба, окклюзирующего артерию [54]. Эрозия АСБ является причиной 25-35% случаев тромботических осложнений атеросклероза [58]. Развитие эрозий более характерно для женщин, лиц молодого возраста, имеющих меньшую степень стеноза, менее выраженную кальцификацию бляшек и меньший накопленный объем атеросклеротического поражения [59,60]. Эрозия характеризуется сращиванием эндотелия с обнажением внеклеточного матрикса интимы фиброатеромы с плотной фиброзной покрышкой. Моноциты и лимфоциты в местах, прилежащих непосредственно к области эрозии, отсутствуют или наблюдаются в малых количествах [51]. К развитию эрозии может предрасполагать состав внеклеточного матрикса. В отличие от склонных к разрыву бляшек, богатых коллагеном I типа, бигликаном и декорином, в склонных к эрозии бляшках непосредственно к месту эрозии прилегает матрикс, богатый коллагеном III типа, версиканом и гиалуронатом [61]. Эрозии чаще приводят к образованию микротромбов артериального русла, чем разрывы бляшек (71% и 42% случаев, соответственно) [62]. При эрозиях чаще наблюдаются тромбы на стадиях лизиса и организации, чем при разрывах (85% и 50% случаев, соответственно) [60].

Фибрированные и кальцинированные АСБ редко становятся субстратом для развития тромбоза, но при выраженном стенозировании просвета артерии, существенно снижающем объем кровотока в сосуде, становятся причиной хронической ишемии [51].

## **1.2 Профилактика атеросклероза и резидуальный риск**

Вероятность клинической манифестации атеросклероза и развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий определяется накопленным объемом атеросклеротического поражения [4]. Существует множество факторов, способствующих возникновению и прогрессированию атеросклероза, среди которых выделяют 8 основных факторов, которые подразделяют на немодифицируемые (пожилой возраст, мужской пол, неблагоприятная

наследственность) и модифицируемые (курение, сахарный диабет, повышенный уровень ХС ЛНП, низкий уровень холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛВП), артериальная гипертензия) факторы [1]. В основе первичной и вторичной профилактики атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) лежит воздействие на модифицируемые факторы. Среди основных мер, направленных на предотвращение возникновения и прогрессирования атеросклероза, большое значение имеет снижение до определенных значений уровня ХС ЛНП. Накопленный объем атеросклеротического поражения определяется уровнем АпоВ-содержащих липопротеидов в крови (прежде всего уровнем ХС ЛНП - основных АпоВ-содержащих липопротеидов), от которого зависит интенсивность поступления атерогенных липопротеидов в интиму, и длительностью поддержания уровня АпоВ-содержащих липопротеидов в крови [63,64]. По достижении определенного порогового уровня вероятность развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий существенно возрастает [4,26,29,63].

Наряду с диетой, снижение уровня холестерина в составе атерогенных липопротеидов крови достигается с помощью монотерапии статинами, либо комбинированной терапии статинами с эзетимибом или с блокаторами пропротеин-конвертазы субтилизин-кексинового типа 9 (PCSK9) [9]. Первым рандомизированным клиническим исследованием, показавшим эффективность статинов в снижении сердечно-сосудистого риска, было исследование Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S) [65], в котором на терапии симвастатином было достигнуто снижение риска смерти от всех причин на 30%, коронарной смерти – на 42%, а риска развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий по комбинированной клинической конечной точке – на 34% [66]. В исследовании Heart Protection Study (HPS) терапия симвастатином приводила к снижению риска развития неблагоприятных событий в периферическом артериальном русле на 16%, частоты выполнения некоронарных эндоваскулярных вмешательств – на 20% [67]. В исследовании Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study (AFCAPS/TexCAPS) терапия ловастатином позволила снизить частоту

неблагоприятных сердечно-сосудистых событий на 37% [68]. В исследовании West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS) [9] на терапии правастатином было достигнуто снижение риска развития сердечно-сосудистой смерти и нефатального инфаркта миокарда на 27% [69]. Исследование Treating to New Targets (TNT) [9] показало преимущество высоких доз перед низкими дозами аторвастатина. У пациентов, получавших аторвастатин в высоких дозах, неблагоприятные сердечно-сосудистые события развились в 8,7% случаев, в то время как у пациентов, получавших терапию аторвастатином в низких дозах, - в 10,9% случаев [70]. Снижение риска смерти, нефатального инфаркта и инсульта на 15% продемонстрировано у пациентов, получавших аторвастатин в высоких дозах в первые 3 суток после развития нестабильной стенокардии или инфаркта миокарда без подъема сегмента ST в исследовании Myocardial Ischemia Reduction with Acute Cholesterol Lowering (MIRACL) [71]. В исследовании Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy (PROVE-IT) показана эффективность правастатина в умеренной дозе или аторвастатина в высокой дозе у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС). Относительный риск развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в группе аторвастатина был на 16% ниже, чем в группе правастатина [72]. В исследовании Aggrastat to Zocor (A to Z) показано преимущество высоких доз перед низкими дозами правастатина у пациентов с ОКС. У пациентов, получавших высокие дозы правастатина, неблагоприятные сердечно-сосудистые события развились в 14,4% случаев, в то время как у пациентов, получавших низкие дозы правастатина, - в 16,7% случаев [73]. Данные крупных мета-анализов показали, что снижение ХС ЛНП на каждый ммоль/л на терапии статинами приводило к снижению частоты неблагоприятных сердечно-сосудистых событий на 23-28% [74,75]. Снижение уровня ХС ЛНП на каждый ммоль/л приводило к снижению частоты неблагоприятных сердечно-сосудистых событий на 30% при первичной профилактике и на 21% при вторичной профилактике атеросклеротических ССЗ [74].

Наиболее низкий уровень ХС ЛНП был достигнут в исследованиях блокаторов PCSK9 [76]. В исследовании Further Cardiovascular Outcomes Research

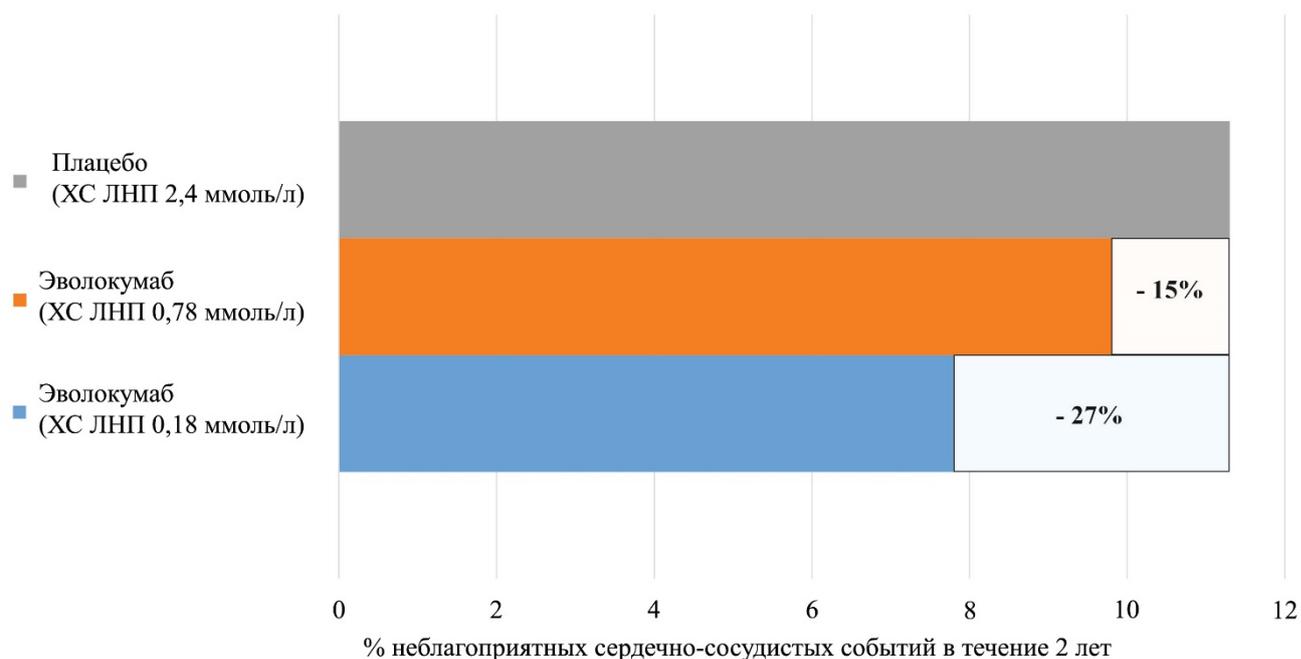
With PCSK9 Inhibition in Patients With Elevated Risk (FOURIER) изучали эффективность эволокумаба у 27 564 пациентов с атеросклеротическими ССЗ и уровнем ХС ЛНП  $>1,8$  ммоль/л [2] на протяжении 26 месяцев [77]. В группе эволокумаба был достигнут уровень ХС ЛНП 0,78 ммоль/л. Частота возникновения неблагоприятных сердечно-сосудистых событий составила 9,8% у пациентов в группе эволокумаба и 11,3% в группе плацебо [77]. Последующий анализ показал, что 504 (2%) пациента достигли уровня ХС ЛНП 0,18 ммоль/л. Частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в этой группе составила 7,8% [64,78]. В исследовании Evaluation of Cardiovascular Outcomes After an Acute Coronary Syndrome During Treatment With Alirocumab (ODYSSEY OUTCOMES) [9] изучали эффективность алирокумаба у 18 924 пациентов с ОКС и уровнем ХС ЛНП  $>1,8$  ммоль/л [2] на протяжении 2,8 лет [79]. В группе алирокумаба был достигнут уровень ХС ЛНП 1,4 ммоль/л. Частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий составила 9,5% (11,1% в группе плацебо) [79]. Последующий анализ показал, что у 3357 (17,8%) пациентов был достигнут уровень ХС ЛНП  $<0,65$  ммоль/л и у 3692 (19,5%) пациентов - уровень ХС ЛНП 0,65-1,3 ммоль/л. Частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в обеих группах составила 8,2% [80]. В исследовании Randomized Evaluation of the Effects of Anacetrapib Through Lipid-modification (REVEAL) [9] изучали эффективность анацетрапиба, ингибитора белка-переносчика эфиров холестерина (СЕТР), во вторичной профилактике атеросклеротических ССЗ у 30 449 пациентов с уровнем ХС ЛНП 1,6 ммоль/л [25,81]. По результатам 4,1 лет наблюдения, частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в группе анацетрапиба на фоне достижения уровня ХС ЛНП 0,98 ммоль/л составила 10,8% и 11,8% в группе плацебо [81].

В исследованиях блокаторов PCSK9 удалось добиться существенного снижения уровня ХС ЛНП, в отдельных подгруппах – до экстремально низких значений. Однако снижение частоты неблагоприятных сердечно-сосудистых событий на этом фоне было значительно меньше ожидаемого [3], что могло быть связано с большим объемом атеросклеротического поражения, накопленного пациентами до начала исследования [4,63]. Накопленный объем

атеросклеротического поражения почти не поддаётся уменьшению на фоне гиполипидемической терапии [4,63]. Мета-анализ 31 исследования, включавшего 4997 человек, показал, что у пациентов с достигнутым уровнем ХС ЛНП <2,0 ммоль/л уменьшение объема АСБ в коронарных артериях составило до 0,163 мм<sup>3</sup> [82]. В исследовании Statins Use in Intracerebral Hemorrhage Patients (SATURN) у 1039 пациентов на интенсивной терапии розувастатином с достижением уровня ХС ЛНП 1,6-1,8 ммоль/л уменьшение объема АСБ по результатам 104 недель наблюдения составило 0,99-1,22% [83]. В исследовании A Study To Evaluate the effect of Rosuvastatin On Intravascular ultrasound-Derived coronary atheroma burden [84] (ASTEROID) у 349 пациентов на интенсивной терапии розувастатином с достижением уровня ХС ЛНП 1,6 ммоль/л уменьшение объема АСБ по результатам 24 месяцев наблюдения составило 0,98% [83]. В исследовании Global Assessment of Plaque Regression with a PCSK9 Antibody as Measured by Intravascular Ultrasound (GLAGOV) у 968 пациентов на терапии эволокумабом с достижением уровня ХС ЛНП 0,95 ммоль/л уменьшение объема АСБ по результатам 78 недель наблюдения составило 0,95% [85]. Изменение объема АСБ наблюдали у 64,3% пациентов в группе эволокумаба и у 47,3% пациентов в группе плацебо [85]. У ряда пациентов с уровнем ХС ЛНП 0,52-0,78 ммоль/л в исследовании GLAGOV наблюдался рост АСБ [4].

Неподдающийся агрессивной гиполипидемической терапии и коррекции других модифицируемых факторов риска сердечно-сосудистый риск носит название резидуального (остаточного) сердечно-сосудистого риска (рисунок 1) [5,86]. Одной из причин резидуального сердечно-сосудистого риска может служить повышенный уровень холестерина не-ЛНП, содержащегося в ЛОНП и ЛПП, не учитываемый при измерении уровня ХС ЛНП. Такой риск носит название резидуального холестеринового риска [87,88]. Существуют другие виды резидуального сердечно-сосудистого риска, которые могут способствовать прогрессированию атеросклероза помимо накопления атерогенных липопротеидов в пораженной интимае. Выделяют резидуальный триглицеридный риск [89], однако, известная связь повышенного уровня триглицеридов крови с развитием

атеросклеротических ССЗ обусловлена не самими триглицеридами, а фракциями АпоВ-содержащих липопротеидов, включающих основной пул триглицеридов натошак [90]. Выделяют так же резидуальный Лп(а) риск, связанный с врождённым высоким уровнем Лп(а) [91,92]. Резидуальный тромботический риск связывают с недостаточным подавлением тромбообразования [93,94]. Исследования последних лет указывают на ключевое значение резидуального воспалительного риска в развитии неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [95].



**Рисунок 1** – Резидуальный сердечно-сосудистый риск в исследовании FOURIER. Снижение частоты неблагоприятных сердечно-сосудистых событий на терапии эволокумабом составило 15% при достижении уровня ХС ЛНП 0,78 ммоль/л. В подгруппе, достигшей уровня ХС ЛНП 0,18 ммоль/л, снижение частоты неблагоприятных сердечно-сосудистых событий составило 27%. 73% неблагоприятных сердечно-сосудистых событий не были предотвращены. ХС ЛНП – холестерин липопротеидов низкой плотности. Адаптировано из Schade D.S. и Eaton R.P. [96]

### 1.3 Резидуальный воспалительный риск

#### 1.3.1 Роль NLRP3-инфламмосомы и воспалительного каскада ИЛ-1 $\beta$ /ИЛ-6/СРБ в развитии субклинического сосудистого воспаления

«Клеточный иммунитет играет важную роль в развитии субклинического сосудистого воспаления при атеросклерозе [97]. В патогенезе атеросклеротического сосудистого поражения принимают участие преимущественно четыре вида клеток: ГМК, Т-лимфоциты, макрофаги и нейтрофилы [10]. В цитозоле клеток иммунитета миелоидного ряда, к которым принадлежат макрофаги и нейтрофилы, присутствуют паттерн-распознающие рецепторы (PRR). Они распознают экзогенные патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMP) и эндогенные молекулярные сигналы опасности (DAMP) непатогенной природы, поступающие от поврежденных клеток и тканей [98]. Одним из типов PRR являются рецепторы нуклеотид-связывающего домена олигомеризации (NLR)» [64,99]. Принадлежащий к ним рецептор NLRP3 способен распознавать DAMP непатогенной природы, образующиеся внутри самого организма. Активация NLRP3 приводит к образованию в цитозоле миелоидных клеток иммунитета молекулярного комплекса – инфламмосомы [100]. Инфламмосома представляет собой цитоплазматический белковый комплекс, служащий молекулярной платформой для активации цистеиновой протеазы каспазы-1 [101]. Каспаза-1 подвергает протеолизу три белка: про-интерлейкин-1 $\beta$  (про-ИЛ-1 $\beta$ ), про-ИЛ-18 и гасдермин-D. Про-ИЛ-1 $\beta$ , синтезируемый макрофагами и нейтрофилами, под воздействием каспазы-1 подвергается протеолизу с образованием активной провоспалительной формы ИЛ-1 $\beta$  [102]. Про-ИЛ-18 конвертируется каспазой-1 в активную провоспалительную форму ИЛ-18 [103]. Активация гасдермина-D вызывает пироптоз - стимулированный воспалением апоптоз клеток с высвобождением компонентов цитоплазмы, который наблюдается, в частности, при апоптозе пенистых клеток в АСБ [104].

«Образование NLRP3-инфламмосомы наблюдается при ряде заболеваний, характеризующихся асептическим воспалением. Было показано, что кристаллы

мочевой кислоты активируют NLRP3-инфламмасому при подагре [105]. Была продемонстрирована важная роль NLRP3-инфламмасы в развитии абдоминальной аневризмы аорты [106], повреждении миокарда при синдроме ишемии-реперфузии [107], поражении почек при сахарном диабете, подагре, острой почечной недостаточности [108]. Активные формы кислорода и свободные жирные кислоты активируют NLRP3-инфламмасому при ожирении [109] и сахарном диабете [110], внося вклад в развитие резистентности к инсулину» [64,111].

«В 2010 г. Duewell P. и соавт. впервые продемонстрировали активацию NLRP3-инфламмасы кристаллами холестерина [112]. Опосредованный CD36-рецепторами захват окисленных ЛНП макрофагами вызывает внутриклеточную кристаллизацию холестерина и нарушение фагоцитоза с накоплением кристаллов холестерина в лизосомах макрофагов [113]. Последующее повреждение мембран лизосом с выходом кристаллов холестерина и лизосомальной протеазы катепсина-В приводит к их взаимодействию с PRR и формированию NLRP3-инфламмасы [114]. Кристаллы фосфата кальция, накапливающиеся в процессе кальцификации АСБ, тоже могут активировать NLRP3-инфламмасому» [64,115].

«Активация NLRP3-инфламмасы запускает центральный каскад воспалительного сигналинга, представленный ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и СРБ» [6,64]. «ИЛ-1 $\beta$  стимулирует выделение хемокинов и экспрессию молекул клеточной адгезии эндотелиоцитами, обеспечивая рекрутинг лейкоцитов в место локального воспаления. ИЛ-1 $\beta$  стимулирует пролиферацию ГМК, секрецию макрофагами хемокинов и коллагеназ, способствуя дестабилизации АСБ [116]. ИЛ-1 $\beta$  стимулирует синтез ИЛ-6 преимущественно макрофагами. ИЛ-6 обладает широким спектром провоспалительного и противовоспалительного действия. ИЛ-6 обеспечивает хемотаксис нейтрофилов и макрофагов в место локального воспаления [117], стимулирует синтез хемокинов и экспрессию молекул клеточной адгезии эндотелиоцитами, способствуя рекрутингу моноцитов, нейтрофилов, Т-лимфоцитов, активации тромбоцитов [64,118]. ИЛ-6 проявляет проатерогенное действие, стимулируя пролиферацию ГМК и захват модифицированных ЛНП

макрофагами и ГМК [119]. Противовоспалительное действие ИЛ-6 проявляется в подавлении синтеза ИЛ-1 и фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), а также повышении экспрессии антагонистов рецептора ИЛ-1 и растворимого рецептора p55 ФНО- $\alpha$  [120]. Антиатерогенное действие ИЛ-6 проявляется повышением экспрессии рецепторов к ЛНП [121]. Несмотря на сочетание провоспалительного и противовоспалительного действия, повышенный уровень ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 однозначно связан с развитием атеросклероза и его осложнений [122]. ИЛ-6 стимулирует синтез СРБ гепатоцитами. СРБ является конечным продуктом этого каскада воспалительного сигналинга. В связи с хорошей воспроизводимостью измерений, СРБ является основным биомаркером воспаления, отражающим активность воспалительного каскада ИЛ-1 $\beta$ /ИЛ-6/СРБ» [6,64]. В проспективных исследованиях стабильность и воспроизводимость измерений уровня СРБ в плазме крови не уступала измерениям уровня ХС ЛНП [123].

«Активируемое каскадом ИЛ-1 $\beta$ /ИЛ-6/СРБ клеточное воспаление играет ключевую роль в дестабилизации АСБ и развитии неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [124]. Наибольшее содержание воспалительных клеток наблюдали в АСБ пациентов с инфарктом миокарда, меньшее – у пациентов с нестабильной стенокардией. В наименьшем количестве воспалительные клетки содержались в АСБ пациентов с хронической ИБС [124]. По данным оптической когерентной томографии, инфильтрация макрофагами в месте разрыва АСБ была характерна для двух третей пациентов [125]. Значительные количества апоптотических макрофагов с высоким уровнем активированной каспазы-1, концентрировавшихся преимущественно в местах разрыва фиброзной покрышки бляшки, выявляли при внезапной сердечной смерти [126]. Наличие воспалительных цитокинов и высокого содержания макрофагов более характерно для АСБ с морфологией тонкокапсульной фиброатеромы и разрывами, чем для АСБ с эрозией [127]. В АСБ сонных артерий, полученных прижизненно при эндартеректомии, значительно большее содержание макрофагов и Т-лимфоцитов выявляли в образцах с разрывами фиброзной капсулы, чем в образцах без разрывов [128,129]. Исследования с применением позитронно-эмиссионной томографии

(ПЭТ) с 18F-фтордезоксиглюкозой (18F-ФДГ) позволили изучить воспалительный процесс в АСБ *in vivo*. Было показано, что интенсивность накопления 18F-ФДГ была связана с выраженностью воспалительной инфильтрации в полученных при эндартеректомии каротидных и феморальных АСБ [130]. Определяемая по накоплению 18F-ФДГ интенсивность воспалительного процесса была связана с риском развития повторного ишемического инсульта [131]. Высокую интенсивность накопления 18F-ФДГ в сонных артериях выявляли у бессимптомных лиц с повышенным уровнем СРБ и метаболическими факторами сердечно-сосудистого риска» [64,132].

### **1.3.2 Популяционные исследования связи воспаления и частоты неблагоприятных сердечно-сосудистых событий**

«Связь уровня СРБ с частотой неблагоприятных сердечно-сосудистых событий наблюдали в крупных популяционных исследованиях у женщин в постменопаузальном периоде [133], здоровых добровольцев в исследованиях Physicians' Health Study [134] и Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT) [135]. Мета-анализ 52 проспективных исследований, включавших 246 669 человек без ССЗ, показал, что повышенный уровень СРБ ухудшает десятилетний прогноз сердечно-сосудистого риска [136]. Мета-анализ исследований восточно-азиатской популяции так же показал связь уровня СРБ с сердечно-сосудистым риском [137]. Мета-анализ United States Preventive Services Task Force (USPSTF), включивший данные исследований, публиковавшихся с 1966 г. по 2007 г., показал, что относительный риск развития атеросклеротических ССЗ возрастает в 1,58 раз при уровне СРБ >3,0 мг/л по сравнению с СРБ <1,0 мг/л» [64,138].

## **1.4 Оценка резидуального воспалительного риска и определение пациентов, получающих наибольшие преимущества от коррекции резидуального воспалительного риска**

### **1.4.1 С-реактивный белок как биомаркер субклинического сосудистого воспаления**

«Основным клиническим биомаркером воспаления является СРБ [139]. Уровень СРБ стабилен и не изменяется с течением времени. Результаты измерений воспроизводимы с высокой точностью [6]. Уровень СРБ регулируется только активностью запускаемого NLRP3-инфламмасомой воспалительного каскада ИЛ-1 $\beta$ /ИЛ-6/СРБ и не зависит от сторонних факторов, в связи с чем по уровню СРБ можно с точностью судить об активности этого каскада [123]. Уровень СРБ не зависит от гематокрита, уровней других белков крови, возраста и пола пациентов [140]. Циркадный ритм, время приема пищи, способ забора крови, применяемые в пробирках антикоагулянты, температура проб крови не влияют на результаты измерений СРБ. На них так же не влияет отбираемый для исследования материал: измерения СРБ дают одинаковые результаты в свежей, замороженной и даже неоднократно размороженной/замороженной плазме и сыворотке крови. Измерения СРБ выполняются стандартными лабораторными методами ИФА, турбидиметрии или нефелометрии без существенных расхождений в результатах [141]. Это делает СРБ очень удобным для лабораторного определения биомаркером, широко применяемым в клинической практике и научных исследованиях» [64].

«В ответ на воспаление при повреждении тканей и инфекции, уровень СРБ повышается многократно, от 5-10 мг/л в более легких случаях до 320-550 мг/л в наиболее тяжелых случаях [140,142]. Однако при субклиническом сосудистом воспалении уровень СРБ редко выходит за пределы 5 мг/л. Для определения уровня СРБ ниже 5 мг/л был разработан высокочувствительный метод определения СРБ с порогом чувствительности 0,28 мг/л [143]. Согласно результатам проспективных популяционных исследований, уровень СРБ можно разделить на терцили <1,0 мг/л,

1-3 мг/л, >3,0 мг/л. Мета-анализы исследований показали, что отношение шансов развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий между нижним и верхним терцилями составляет 1,58-2,0 [138,144]. Анализ результатов исследования PROVE IT-TIMI 22 показал, что у пациентов на интенсивной терапии статинами медиана уровня СРБ составляет 2,0 мг/л. У пациентов с уровнем СРБ выше медианы неблагоприятные сердечно-сосудистые события развивались на 30% чаще [145]. Близкие к этой медиане уровень СРБ и соотношение сердечно-сосудистого риска наблюдались в последующих клинических исследованиях у пациентов на интенсивной терапии статинами [6,96,145,146]. В настоящее время уровень СРБ  $\geq 2,0$  мг/л принят американскими клиническими рекомендациями по профилактике атеросклероза, как фактор сердечно-сосудистого риска» [8,64,147].

#### **1.4.2 Пентамерная форма С-реактивного белка**

«пСРБ принадлежит к семейству пентраксинов - белков острой фазы воспалительного ответа» [64]. «У человека пСРБ является основным белком острой фазы. Он синтезируется в гепатоцитах и секретируется в кровоток под действием ИЛ-6. Свободно циркулирующий в крови пСРБ состоит из пяти связанных дисульфидными связями мономерных субъединиц, формирующих пентамерный кольцевидный диск [148]. Каждая субъединица в пентамерном диске пСРБ имеет кальций-зависимое место связывания с лизофосфатидилхолином на одной стороне и место связывания с компонентом комплемента C1q на другой стороне» [64,149,150].

«Фосфатидилхолин, один из основных структурных компонентов мембран клеток и их микрочастиц, представлен преимущественно на внешнем слое липидного бислоя мембран [151]. Он может гидролизоваться секреторной фосфолипазой A<sub>2</sub> (ФлА<sub>2</sub>) до лизофосфатидилхолина. Однако в отсутствие патологии фосфатидилхолин не взаимодействует с ФлА<sub>2</sub>. При апоптозе и повреждении клеток во внешний слой клеточной мембраны поступают фосфолипиды внутреннего слоя, в первую очередь, фосфатидилсерин и фосфатидилэтаноламин, являющиеся лигандами ФлА<sub>2</sub>. Взаимодействие этих

фосфолипидов с ФЛА<sub>2</sub> вовлекает также фосфатидилхолин, приводя к его гидролизу до биологически активного лизофосфатидилохолина [151]. В окисленных ЛНП фосфатидилхолин липидного монослоя так же расщепляется до лизофосфатидилохолина под действием липопротеид-ассоциированной ФЛА<sub>2</sub> [152]. Биологическая роль лизофосфатидилохолина проявляется стимуляцией синтеза ряда хемокинов эндотелиоцитами, нарушением эндотелий-зависимой релаксации артерий, повышением оксидативного стресса, подавлением миграции и пролиферации эндотелиоцитов, активацией макрофагов и их поляризацией по провоспалительному M1 фенотипу [153]. Лизофосфатидилохолин на окисленных ЛНП вносит вклад в повреждение лизосом пенистых клеток и активацию NLRP3-инфламмосомы [154]. Активация лизофосфатидилохолином NLRP3-инфламмосомы в жировой клетчатке может вносить вклад в развитие резистентности к инсулину» [64,155].

«Лизофосфатидилохолин является прототипным лигандом пСРБ [156]. Циркулирующий в крови пСРБ действует как опсонин, связываясь с лизофосфатидилохолином на поверхности клеточных мембран и окисленных липопротеидов. Места связывания с компонентом комплемента C1q на обратной стороне пентамерного диска пСРБ ограниченно активируют классический каскад комплемента до C4, обеспечивая фагоцитоз апоптотических и поврежденных клеток и окисленных ЛНП, но не влияют на образование мембраноатакующего комплекса C5b-C9 [156]. пСРБ так же может активировать каскад комплемента до C4 по альтернативному пути, взаимодействуя с фактором H [157]. Была показана способность пСРБ опсонировать ядерные антигены, образующиеся при апоптозе и некрозе клеток [158]. Таким образом, биологическая роль циркулирующего в крови пСРБ характеризуется облегчением клиренса продуктов разрушения клеток, образующихся при повреждении собственных клеточных мембран при травме, инфекции и асептическом воспалении» [64].

### 1.4.3 Мономерная форма С-реактивного белка

«При связывании с лизофосфатидилхолином на поверхности мембран поврежденных клеток и их микрочастиц, диск пСРБ подвергается диссоциации через переходные формы до конечного продукта – мСРБ [11,64,159,160]. Диссоциация происходит путём распада дисульфидных связей между субъединицами пСРБ при его взаимодействии с лизофосфатидилхолином и комплексом компонентов клеточных мембран в присутствии кальция. Растворимый лизофосфатидилхолин в отсутствие клеточных мембран не диссоциирует пСРБ [159]. Образующийся мСРБ малорастворим, и преимущественно остаётся связанным с клеточными мембранами [161]. В результате диссоциации раскрывается октапептид (Phe-Thr-Lys-Pro-Gly-Leu-Trp-Pro) на С-терминальном конце субъединиц мСРБ [159]. Раскрытие С-терминального октапептида даёт мСРБ отличную от пСРБ антигенную специфичность и расширяет его биологические функции» [64,162].

«мСРБ был изучен в *in vitro* исследованиях. Было показано, что мСРБ стимулирует экспрессию молекул клеточной адгезии, Е-селектина, моноцитарного хемоаттрактантного белка (МСР-1), ИЛ-6 и ИЛ-8 эндотелиоцитами [160,163,164]. мСРБ стимулировал синтез ИЛ-8 нейтрофилами и препятствовал их апоптозу [161,165]. Адгезия нейтрофилов на монослой эндотелиоцитов происходила интенсивнее в присутствии мСРБ [163,166]. мСРБ стимулировал поляризацию макрофагов и Т-клеток по провоспалительным М1 и Th1 фенотипам [167]. мСРБ стимулировал захват нативных ЛНП макрофагами [168]. Была продемонстрирована роль мСРБ в неоангиогенезе и стабилизации новых микрососудов» [64,169,170].

«Иммуногистохимические исследования показали, что мСРБ откладывается в АСБ, с преимущественной локализацией в липидном ядре, вокруг новых микрососудов, в местах скопления макрофагов, Т-клеток и ГМК. Отложения мСРБ выявляли в полученных при эндартерэктомии бляшках сонных артерий [12,13,160,171], в бляшках аорты [12], коронарных [172] и бедренных артерий [173], в пораженных шунтах у пациентов, подвергнутых повторному

аортокоронарному шунтированию [174]. Отложения мСРБ выявляли в воспаленной поперечно-полосатой мускулатуре и в зоне ишемического повреждения миокарда [175]. В тромботическом материале отложения СРБ так же локализовались в местах скопления воспалительных клеток. Отложения СРБ в АСБ были более выражены у пациентов с повышенным уровнем СРБ в плазме крови [171]. Концентрация отложений СРБ в бляшках, полученных при эндартерэктомии, была существенно ниже у пациентов, принимавших аспирин, ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) или антагонисты рецепторов ангиотензина, чем у пациентов, не принимавших этих препаратов [176]. В приведенных исследованиях отложений мСРБ в интактных артериях, фиброзных и кальцинированных бляшках не выявляли» [12,13,64,171,173–176].

мСРБ выявляли на циркулирующих в кровотоке микрочастицах. Значительное увеличение числа циркулирующих мСРБ-положительных микрочастиц наблюдали у пациентов в остром периоде инфаркта миокарда [15,172], пациентов с атеросклерозом периферических артерий [16]. В крови пациентов с хронической ИБС выявляли мСРБ на моноцитарных экзосомах [177].

«мСРБ может играть роль в артериальном тромбозе. При скоростях сдвига  $1500\text{c}^{-1}$ , характерных для периферических артерий, иммобилизованный на коллагеновой подложке мСРБ значительно усиливал тромбоцитарную адгезию и скорость роста тромба [178]. Перфузия преинкубированной с мСРБ крови через покрытую коллагеном I типа проточную камеру давала схожие результаты [178]. мСРБ усиливал агрегацию тромбоцитов, активировал рецепторы GP IIb/IIIa. При перфузии цельной крови пСРБ связывался с активированными адгезировавшими тромбоцитами и подвергался на их поверхности диссоциации до мСРБ [179]. Недиссоциированный пСРБ не стимулировал тромбоцитарную адгезию и не ускорял рост тромба» [64,178,179].

«В иммуногистохимических исследованиях выявляли СРБ в тканях АСБ [12,13,171,173–176] в мономерной форме, в то время как его пентамерной формы не выявляли [12,175]. Неясно, проникает ли мСРБ в сосудистую стенку из кровотока после диссоциации, или накапливается в результате локального синтеза.

Эта проблема изучена в ряде исследований. Однако в большинстве из них СРБ не разделяли по форме (на мСРБ и пСРБ), что создаёт сложности в интерпретации результатов относительно того, какая именно форма синтезировалась локально. В *in vitro* исследовании было продемонстрировано выделение СРБ культурой адипоцитов при стимуляции провоспалительными цитокинами [180]. Образование мСРБ на поверхности культуры моноцитов и экспрессия мРНК СРБ были продемонстрированы в другом исследовании [181]. Стимулированные липополисахаридом культуральные макрофаги синтезировали мСРБ и экспрессировали СРБ [182]. Экспрессия мРНК СРБ стимулированными липополисахаридом культуральными макрофагами так же была показана в нашем исследовании [183]. В *ex vivo* исследовании моноциты, полученные из крови добровольцев после введения бактериального эндотоксина, экспрессировали мРНК СРБ и синтезировали СРБ [184]. Экспрессия мРНК СРБ регистрировалась в гладкомышечных и эндотелиальных клетках коронарных артерий [171], в материале АСБ, полученных из бедренных [173] и сонных артерий [176], пораженных аортокоронарных шунтов [174], и отсутствовала в тканях интактных артерий [171,173,174,176]. Однако вклад локального синтеза в объем общего мСРБ в тканях и кровотоке неизвестен» [64].

#### **1.4.4 Способы измерения уровня мономерной формы С-реактивного белка в крови**

«Существенным препятствием в разработке способа измерения мСРБ в плазме крови является то, что мСРБ не определяется антителами к пСРБ, а антитела к мСРБ зачастую обладают перекрестной реактивностью с пСРБ [21]. Решением этой проблемы является создание антитела, высокоспецифичного к мСРБ, или выявление специфичного к мСРБ антитела среди уже существующих экспериментальных и коммерчески доступных антител. В настоящее время известно четыре работы, в которых описаны экспериментальные способы измерения уровня мСРБ в плазме крови. В 2015 г. Wang J. и соавт. разработали способ измерения уровня мСРБ в плазме крови с помощью ИФА с использованием

изготовленного ими антитела к мСРБ [17]. Разработанным способом измерен уровень мСРБ в крови 101 пациента с инфарктом миокарда, 38 пациентов с нестабильной стенокардией, 41 пациента со стенокардией напряжения и 43 здоровых добровольцев. У пациентов с инфарктом миокарда уровень мСРБ составил  $20,96 \pm 1,64$  нг/л, в остальных группах – 0,0 нг/мл. У пациентов, умерших в 30-дневный срок с момента развития инфаркта миокарда, уровень мСРБ был существенно выше, чем у выживших пациентов ( $36,7 \pm 10,26$  нг/мл и  $19,41 \pm 1,43$  нг/мл, соответственно) [17]. В 2018 г. Zhang L. и соавт. измерили уровень мСРБ в плазме крови с помощью ИФА и антитела к мСРБ клона 8C8 (Sigma, США) у пациентов с аутоиммунными кожными болезнями (экзема, псориаз, крапивница) и здоровых добровольцев [18]. Уровень мСРБ у 20 пациентов с экземой составил 30,0 (4,77; 36,3) нг/мл, у пациентов с псориазом - 35,4 (17,0; 48,6) нг/мл, у пациентов с крапивницей – 59,8 (44,5; 79,1) нг/мл, у здоровых добровольцев - 15,2 (5,05; 27,1) нг/мл [18]. В 2020 г. Williams R.D. и соавт. измерили уровень мСРБ в сыворотке крови с помощью ИФА и антитела к мСРБ клона 8C8 (Sigma, США) у 40 пациентов с острыми воспалительными заболеваниями с уровнем вчСРБ  $>100$  мг/л. Средний уровень мСРБ составил  $1,03 \pm 0,11$  мг/л, максимальное значение – 3,14 мг/л» [19,64]. В исследовании Munuswamy R. и соавт. измеренный с помощью аптамерной ИФА уровень мСРБ в сыворотке крови у пациентов с ХОБЛ составил 660 мкг/л, в то время как у здоровых добровольцев уровень мСРБ был ниже порога определения [20].

«Ранее антитела клона 8C8 применялись так же для выявления мСРБ в тканях АСБ Jabs W.J и соавт. (2003 г.) [174], Krupinski J. и соавт. (2006 г.) [13]. Высокая специфичность антител клона 8C8 к мСРБ была показана в исследованиях Schwedler S.B. и соавт. (2003 г.) [185], Zhang L. и соавт. (2018 г.) [18], Williams R.D. и соавт. (2020 г.)» [19,64].

### **1.4.5 Определение пациентов, получающих наибольшие преимущества от коррекции резидуального воспалительного риска**

Клиническими рекомендациями по профилактике атеросклероза принято деление пациентов на категории риска в зависимости от десятилетней вероятности развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [8,147] или сердечно-сосудистой смерти [9,89]. В России и странах Европы оценку сердечно-сосудистого риска выполняют по шкале SCORE, разделяющей пациентов на категории низкого, умеренного, высокого и очень высокого риска [9,89]. Пациентов с выраженными факторами риска или коморбидностью без усугубляющих факторов относят к категории высокого риска. Пациентов с документированными или клинически манифестировавшими атеросклеротическими ССЗ или коморбидностью с усугубляющими факторами относят к категории очень высокого риска. Дополнительно определять сердечно-сосудистый риск по шкале SCORE им не требуется [9,89]. Рекомендации российских медицинских сообществ по лечению дислипидемий выделяют так же категорию экстремального сердечно-сосудистого риска, к которой относятся пациенты с клинически манифестировавшим атеросклеротическим ССЗ в сочетании с сахарным диабетом 2 типа, семейной гиперхолестеринемией или наличием сердечно-сосудистых осложнений, несмотря на интенсивную гиполипидемическую терапию [89].

Более высокий риск требует более интенсивной терапии. К категории низкого риска относятся молодые пациенты с отсутствием или малым числом факторов риска. Накопленный объем атеросклеротического поражения у них существенно ниже порогового для манифестации атеросклеротических ССЗ [4,63]. В этой категории достаточно применения немедикаментозной терапии для замедления накопления объема атеросклеротического поражения. В отсутствие дополнительных факторов риска медикаментозная гиполипидемическая терапия в категории низкого риска не рекомендована, поскольку риск развития побочных эффектов превышает пользу [186].

К категориям высокого и очень высокого риска [89] относятся пациенты с большим накопленным объемом атеросклеротического поражения, уже манифестировавшим или имеющим высокую вероятность манифестации неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в краткие сроки. У таких пациентов следует безотлагательно начать интенсивную гиполипидемическую терапию [9,89]. Однако накопленный ими до начала лечения объем атеросклеротического поражения обуславливает высокий резидуальный сердечно-сосудистый риск, не поддающийся коррекции гиполипидемической терапией [4,63]. Клинические исследования показали, что пациенты этих категорий существенно выигрывают от оценки и коррекции резидуального воспалительного риска [10,96].

В категории умеренного сердечно-сосудистого риска накопленный объем атеросклеротического поражения варьирует в наибольшем диапазоне. У пациентов с дополнительными факторами риска, старшего возраста и с более высоким уровнем АпоВ-содержащих липопротеидов накопленный объем атеросклеротического поражения ближе к пороговому для манифестации атеросклеротических ССЗ уровню. У таких пациентов медикаментозная гиполипидемическая терапия может предотвратить или существенно отсрочить развитие первых неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. В связи с этим, выявление факторов, повышающих сердечно-сосудистый риск, в этой категории приоритетно [8,9,89,147]. Клинические рекомендации по профилактике атеросклероза предлагают определять СРБ как дополнительный фактор риска у пациентов категории умеренного риска [8,9,147]. Определение и коррекция резидуального воспалительного риска у пациентов этой категории может внести существенный вклад в замедление накопления атеросклеротического поражения.

## **1.5 Возможности коррекции резидуального воспалительного риска в клинической практике**

### **1.5.1 Немедикаментозное лечение**

Немедикаментозное лечение может влиять на активность субклинического сосудистого воспаления. В подгруппе исследования Utrecht Cardiovascular Cohort - Second Manifestations of Arterial Disease (UCC-SMART) у 1794 пациентов со стабильной ИБС, наблюдавшихся в течение 10 лет, изменение образа жизни было связано со снижением уровня СРБ [187]. Отказ от курения снижал уровень СРБ на 0,40 мг/л, уменьшение массы тела сопровождалось снижением уровня СРБ на 0,25 мг/л на каждые 6,4 кг, физическая активность снижала уровень СРБ на 0,09 мг/кг на каждые 48 метаболических единиц (MET) в неделю. Отказ от алкоголя не влиял на уровень СРБ [187]. Регулярные аэробные тренировки снижают уровень СРБ независимо от изменения массы тела и от терапии статинами [188]. Наиболее выраженное снижение (до 46%) наблюдали при исходно высоком уровне СРБ (>3,0 мг/л). Употребление в пищу продуктов, богатых клетчаткой, омега-3 ненасыщенными жирными кислотами, витаминами Е и С, цельнозерновых продуктов снижало уровень СРБ [188]. Мета-анализ 83 исследований, включавших 3769 пациентов, так же продемонстрировал влияние регулярной физической активности на уровень СРБ [189]. Мета-анализ 76 исследований, включавших 6742 пациента с ожирением, подтвердил связь похудения со снижением уровня провоспалительных цитокинов и СРБ [190].

### **1.5.2 Рандомизированные клинические исследования влияния статинов на резидуальный воспалительный риск**

Влияние статинов на активность воспаления и развитие неблагоприятных сердечно-сосудистых событий было продемонстрировано в рандомизированных клинических исследованиях. В исследовании PROVE IT-TIMI 22 изучали эффективность правастатина у 3745 пациентов с ОКС [191]. Было показано, что снижение уровня СРБ оказывает сопоставимое со снижением уровня ХС ЛНП

влияние на частоту неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. Частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий на 100 человеко-лет при достижении уровня ХС ЛНП  $<1,8$  ммоль/л и СРБ  $<2,0$  мг/л составляла 2,4 события, ХС ЛНП  $<1,8$  ммоль/л и СРБ  $>2,0$  мг/л – 3,1 события, ХС ЛНП  $>1,8$  ммоль/л и СРБ  $<2,0$  мг/л – 3,2 события, ХС ЛНП  $>1,8$  ммоль/л и СРБ  $>2,0$  мг/л – 4,6 события [191].

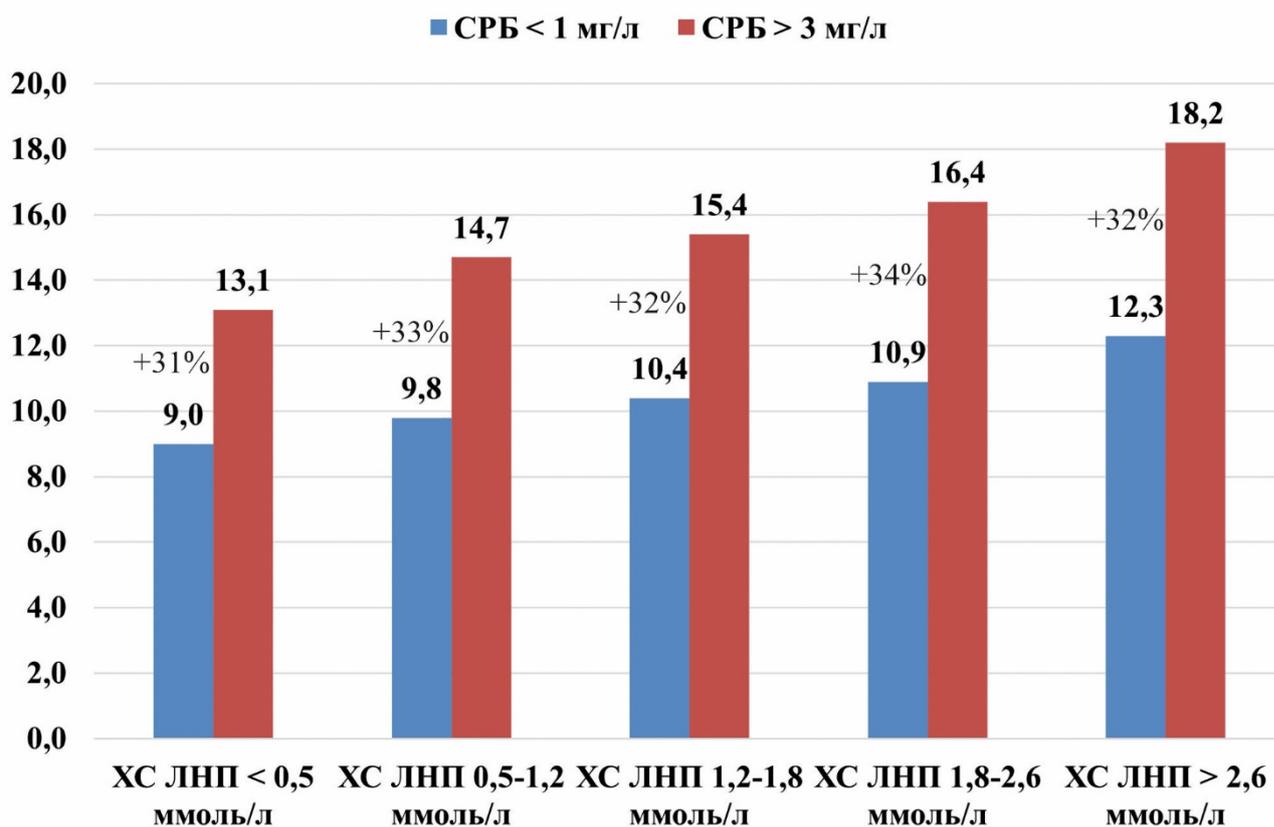
В исследовании IMPROVE-IT изучали эффективность симвастатина в комбинации с эзетимибом у 18 144 пациентов с ОКС [192]. По результатам 7 лет наблюдения частота развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий при достижении уровня ХС ЛНП  $<1,8$  ммоль/л и СРБ  $<2,0$  мг/л составила 28%, ХС ЛНП  $<1,8$  ммоль/л и СРБ  $>2,0$  мг/л - 33,7%, ХС ЛНП  $>1,8$  ммоль/л и СРБ  $<2,0$  мг/л - 33,4%, ХС ЛНП  $>1,8$  ммоль/л и СРБ  $>2,0$  мг/л - 38,9%. Терапия симвастатином в комбинации с эзетимибом чаще приводила к сочетанному достижению целевого уровня ХС ЛНП и СРБ, чем монотерапия симвастатином (в 50% и 29% случаев, соответственно). Частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий зависела не от терапии (монотерапия симвастатином или симвастатин в сочетании с эзетимибом), а от сочетанного достижения целевого уровня ХС ЛНП и СРБ [192].

В исследовании Reversal of Atherosclerosis with Aggressive Lipid Lowering (REVERSAL) изучали влияние терапии правастатином в умеренной дозе (40 мг) и аторвастатином в высокой дозе (80 мг) в течение 18 месяцев на прогрессирование АСБ в коронарных артериях по данным ВСУЗИ у 502 пациентов [193]. Уровень СРБ снижался на 5,2% на терапии правастатином и на 36,4% на терапии аторвастатином. Уменьшение объёма атеромы наблюдали в группе аторвастатина. При достижении уровня ХС ЛНП  $<2,0$  ммоль/л и СРБ  $<1,8$  мг/л наблюдали наиболее выраженное уменьшение объёма атеромы (1,82%). Объём атеромы при уровне ХС ЛНП  $<2,0$  ммоль/л и СРБ  $>1,8$  мг/л уменьшался на 1,21%, при уровне ХС ЛНП  $>2,0$  ммоль/л и СРБ  $<1,8$  мг/л - на 0,81%. Наименьшее изменение объёма атеромы (0,24%) наблюдали в группе с уровнем ХС ЛНП  $>2,0$  ммоль/л и СРБ  $>1,8$  мг/л [193].

В исследовании Justification for the Use of Statins in Primary Prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin (JUPITER) изучали эффективность розувастатина в первичной профилактике атеросклеротических ССЗ у 17 802

человек с исходным уровнем ХС ЛНП  $<3,4$  ммоль/л и СРБ  $\geq 2,0$  мг/л [194]. По результатам 1,9 лет наблюдения в группе розувастатина был достигнут уровень ХС ЛНП 1,4 ммоль/л и СРБ 2,2 мг/л и продемонстрировано снижение частоты неблагоприятных сердечно-сосудистых событий на 44% по сравнению с группой плацебо [194]. В исследовании FOURIER по результатам трех лет наблюдения в группе, получавшей терапию статинами в высоких дозах, частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий при уровне СРБ  $<1,0$  мг/л составила 12,0%, при уровне СРБ 1-3 мг/л – 13,7%, при уровне СРБ  $>3,0$  мг/л – 18,1% [195]. В группе с уровнем ХС ЛНП  $<0,52$  ммоль/л на терапии статинами в сочетании с эволокумабом частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий так же зависела от активности субклинического сосудистого воспаления: при уровне СРБ  $<1,0$  мг/л она составила 9,0%, при уровне СРБ 1-3 мг/л – 10,8%, при уровне СРБ  $>3,0$  мг/л – 13,1% (рисунок 2) [195]. В исследованиях Studies of PCSK9 Inhibition and the Reduction of Vascular Events (SPIRE-1/SPIRE-2) частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий на 100 человеко-лет у пациентов, получавших терапию статинами и бокоцизумабом, составила 1,96 событий при уровне СРБ  $<1,0$  мг/л, 2,5 событий при уровне СРБ 1-3 мг/л и 3,59 событий при уровне СРБ  $>3,0$  мг/л [196]. В ретроспективном исследовании 7026 пациентов, подвергнутых чрескожному коронарному вмешательству (ЧКВ) и находившихся на интенсивной терапии статинами, оценивали резидуальный воспалительный риск по динамике уровня СРБ при поступлении и спустя 4 и более недель [197]. В зависимости от уровня СРБ пациенты были разделены на группы постоянно высокого (оба измерения СРБ  $>2,0$  мг/л), возросшего (первое измерение СРБ  $<2,0$  мг/л, второе  $>2,0$  мг/л), понизившегося (первое измерение СРБ  $>2,0$  мг/л, второе  $<2,0$  мг/л) и постоянно низкого (оба измерения СРБ  $<2,0$  мг/л) резидуального воспалительного риска. Частота развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий по результатам 1 года наблюдения составила 9,7% в группе постоянно высокого, 6,9% в группе повышенного, 5,1% в группах понизившегося и постоянно низкого резидуального воспалительного риска [197]. В аналогичном исследовании 3013 пациентов частота развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий на

1000 человеко-лет составила 152,4 события в группе постоянно высокого, 138 событий в группе возросшего, 96,6 событий в группе понизившегося и 64,4 события в группе постоянно низкого резидуального воспалительного риска [198].



**Рисунок 2** – Частота развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в исследовании FOURIER в зависимости от уровня СРБ. ХС ЛНП – холестерин липопротеидов низкой плотности [25]. СРБ – С-реактивный белок. Адаптировано из Bohula E.A. и соавт. [195].

### 1.5.3 Механизмы влияния статинов на субклиническое сосудистое воспаление

Статины оказывают влияние на активность воспалительного каскада ИЛ-1 $\beta$ /ИЛ-6/СРБ. Статины ингибируют 3-гидрокси-3-метилглутарил коэнзим А (ГМГ-КоА) редуктазу, ключевой фермент в мевалонатном пути, отвечающем за синтез холестерина. Промежуточные продукты этого пути включают изопреноиды, фарнезилпирофосфат и геранилпирофосфат [199]. Они активируют сигнальные пути Rho, Rac и Ras белков. Сигнальный путь Rho стимулирует синтез провоспалительных цитокинов и хемокинов, образование актинового цитоскелета, стимулируя транскрипцию генов, трансляцию белка и межклеточный транспорт. Сигнальный путь Rac стимулирует образование активных форм кислорода [200]. Сигнальный путь Ras стимулирует клеточную пролиферацию и гипертрофию [201]. Независимо от влияния на уровень ХС ЛНП [202], статины снижают концентрации воспалительных клеток в АСБ [203], улучшают функцию эндотелия,

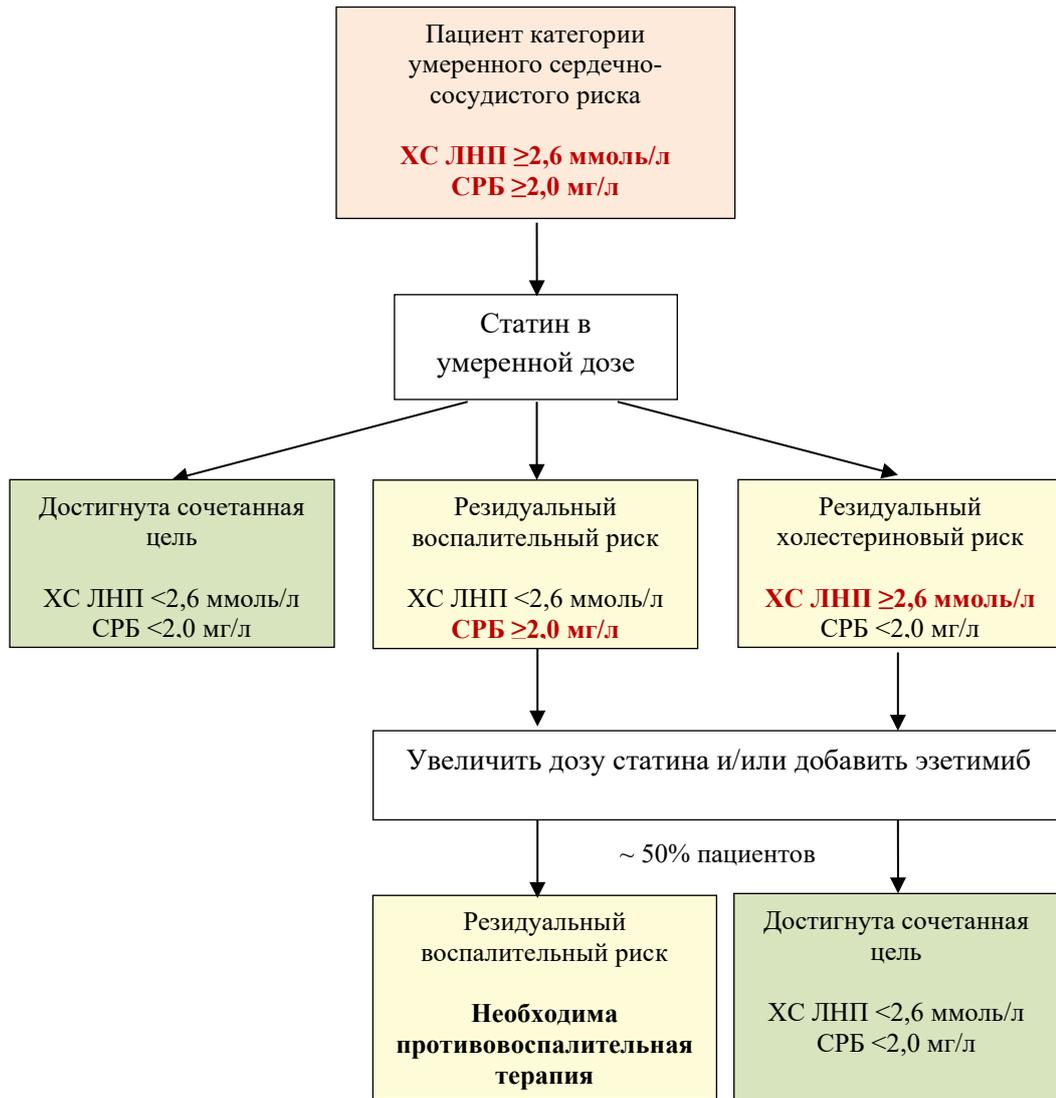
подавляя экспрессию молекул клеточной адгезии, снижают уровень циркулирующих ИЛ-1 $\beta$  и СРБ [204], подавляют синтез провоспалительных цитокинов, металлопротеиназ и активных форм кислорода макрофагами и нейтрофилами [205]. В образцах АСБ сонных артерий, полученных при эндартерэктомии после шести месяцев терапии правастатином, было выявлено уменьшение объема липидного ядра, количества лейкоцитов, активности металлопротеиназ и увеличение содержания коллагена по сравнению с образцами АСБ, полученных в начале исследования [206]. Результаты исследований непосредственного влияния статинов на формирование и активность NLRP3-инфламмосомы противоречивы, что может говорить о проявлении противовоспалительного действия статинов преимущественно за счёт влияния на последующие этапы этого воспалительного каскада [205].

#### **1.5.4 Клинические исследования влияния эзетимиба на резидуальный воспалительный риск**

Блокаторы PCSK9 не влияют на резидуальное воспаление [207,208], а влияние статинов на воспалительный процесс и уровень СРБ неоднородно. Хотя статины снижают интенсивность сосудистого воспаления, их эффекта недостаточно, чтобы нивелировать резидуальный воспалительный риск. Уровень СРБ >2,0 мг/л на терапии статинами в высоких дозах сохранялся у 43% пациентов в исследовании PROVE IT-TIMI 22, у 47% пациентов в исследовании IMPROVE-IT, у 47% пациентов в исследовании SPIRE-1/SPIRE-2 [209], у 43,6% пациентов в исследовании ODYSSEY OUTCOMES [79], у 45,6% и 48% пациентов, подвергнутых ЧКВ [197,198]. В популяции, не включенной в клинические исследования, распространенность резидуального воспалительного риска выше. Из 1296 пациентов с перенесенным инфарктом миокарда, включенных в регистр NHANES, 61% имели уровень СРБ >2,0 мг/л (48% - уровень СРБ >3,0 мг/л) [210]. Таким образом, почти у половины пациентов на агрессивной гиполипидемической терапии сохраняется резидуальный воспалительный риск.

Помимо статинов, остающихся основным классом гиполипидемических препаратов для профилактики атеросклеротических ССЗ, на сосудистое воспаление может влиять эзетимиб [192]. Исследование IMPROVE-IT показало, что комбинация статинов с эзетимибом чаще приводила к сочетанному достижению целевого уровня СРБ и ХС ЛНП [192]. Преимущество комбинации статинов с эзетимибом в сочетанном снижении уровня ХС ЛНП и СРБ было подтверждено в мета-анализе 13 клинических исследований применения эзетимиба в монотерапии (1372 пациента) или в комбинации со статинами (3899 пациентов) [211]. Уровень СРБ на терапии эзетимибом в комбинации с аторвастатином был существенно ниже, чем на монотерапии статинами. Монотерапия эзетимибом не влияла на уровень СРБ [212,213]. Добавление эзетимиба к терапии статинами у пациентов с уровнем СРБ  $<1,0$  мг/л не приводило к дополнительному снижению уровня СРБ [214]. Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют об эффективности эзетимиба в снижении уровня СРБ и частоты неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов на терапии статинами с повышенным уровнем СРБ.

Несмотря на то, что на монотерапию статинами или комбинированную терапию статинами и эзетимибом снижением СРБ  $<2,0$  мг/л отвечают приблизительно 50% пациентов [215], даже в отсутствие специализированной противовоспалительной терапии оценка резидуального воспалительного риска обоснована, поскольку у восприимчивых к терапии пациентов позволяет ориентироваться на сочетанное достижение целевого уровня ХС ЛНП и СРБ, добиваясь максимального снижения частоты неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (рисунок 3).



**Рисунок 3** – Возможности коррекции резидуального воспалительного риска в клинической практике. ХС ЛНП – холестерин липопротеидов низкой плотности [25]. СРБ – С-реактивный белок. Адаптировано из Ridker P.M. [95]

### **1.5.5 Рандомизированные клинические исследования влияния противовоспалительной терапии на резидуальный воспалительный риск**

Снижения резидуального воспалительного риска можно добиться, непосредственно воздействуя на NLRP3-инфламмасому и каскад ИЛ-1 $\beta$ /ИЛ-6/СРБ противовоспалительными препаратами. В исследовании CANTOS изучали эффективность антагониста ИЛ-1 $\beta$  канакинумаба у 10 061 пациентов с перенесенным инфарктом миокарда и уровнем СРБ  $\geq 2$  мг/л [216]. Все включенные в исследование пациенты получали терапию статинами, имели уровень ХС ЛНП 2,12 ммоль/л и СРБ 4,2 мг/л. Канакинумаб снижал уровень СРБ и ИЛ-6 на 36-40%, не влияя на уровень липидов. По результатам 3,7 лет наблюдения у пациентов в группе канакинумаба частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий снизилась на 14,2% по сравнению с группой плацебо (3,86 и 4,5 события на 100 человеко-лет, соответственно) [216]. Анализ подгрупп показал, что у пациентов, достигших уровня СРБ  $< 2,0$  мг/л, частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий снизилась на 25% по сравнению с группой плацебо (3,86 и 4,5 события на 100 человеко-лет, соответственно). У пациентов в группе канакинумаба с уровнем СРБ  $\geq 2,0$  мг/л снижения частоты неблагоприятных сердечно-сосудистых событий по сравнению с группой плацебо не наблюдали. Снижение частоты неблагоприятных сердечно-сосудистых событий находилось в прямой зависимости от уровня СРБ и ИЛ-6. Частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий на 100 человеко-лет в группе канакинумаба составила 3,09 событий при уровне СРБ  $< 1,2$  мг/л, 3,66 событий при уровне СРБ 1,2-2,6 мг/л, 4,36 событий при уровне СРБ  $> 2,6$  мг/л (4,39 событий в группе плацебо) [217]. Частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов в группе канакинумаба с достигнутым уровнем ИЛ-6 ниже медианы 1,65 нг/л снизилась на 32% по сравнению с плацебо. Частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий на 100 человеко-лет в группе канакинумаба составила 3,01 событий при уровне ИЛ-6  $< 1,25$  нг/л, 3,88 событий при уровне ИЛ-6 1,25-2,22 нг/л, 5,66 событий при уровне ИЛ-6  $> 2,22$  нг/л (4,91 событий в группе плацебо) [218].

В исследовании Cardiovascular Inflammation Reduction Trial (CIRT) [9] изучали эффективность цитостатического препарата метотрексата у 4786 пациентов с перенесенным инфарктом миокарда или многососудистым поражением коронарных артерий в сочетании с сахарным диабетом 2 типа или метаболическим синдромом [219]. Уровень СРБ при включении в исследование составил 1,5 мг/л. Исследование было остановлено после 2,3 лет наблюдения. Метотрексат не снижал уровень ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 или СРБ. Частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в группе метотрексата не отличалась от группы плацебо. Возможной причиной неэффективности метотрексата являлся исходно низкий уровень СРБ у включенных в исследование пациентов, что говорит о низком резидуальном воспалительном риске. Другой причиной мог являться механизм противовоспалительного действия метотрексата, не влиявший на NLRP3-инфламмасому и каскад ИЛ-1 $\beta$ /ИЛ-6/СРБ [6]. Неэффективность ингибитора p38 MAPK-воспалительного пути лосмапимода в исследовании Losmapimod to Inhibit P38 Map Kinase as a Therapeutic Target and Modify Outcomes after an Acute Coronary Syndrome - Thrombolysis In Myocardial Infarction 60 (LATITUDE-TIMI 60) [220] и ингибитора воспалительного пути липопротеид-ассоциированной ФЛА<sub>2</sub> дарапладиба в исследовании Stabilization Of pLaques usIng Darapladib - Thrombolysis In Myocardial Infarction 52 (SOLID-TIMI 52) у пациентов с острым инфарктом миокарда так же может быть связана с отсутствием влияния на NLRP3-инфламмасому и каскад ИЛ-1 $\beta$ /ИЛ-6/СРБ [6,221].

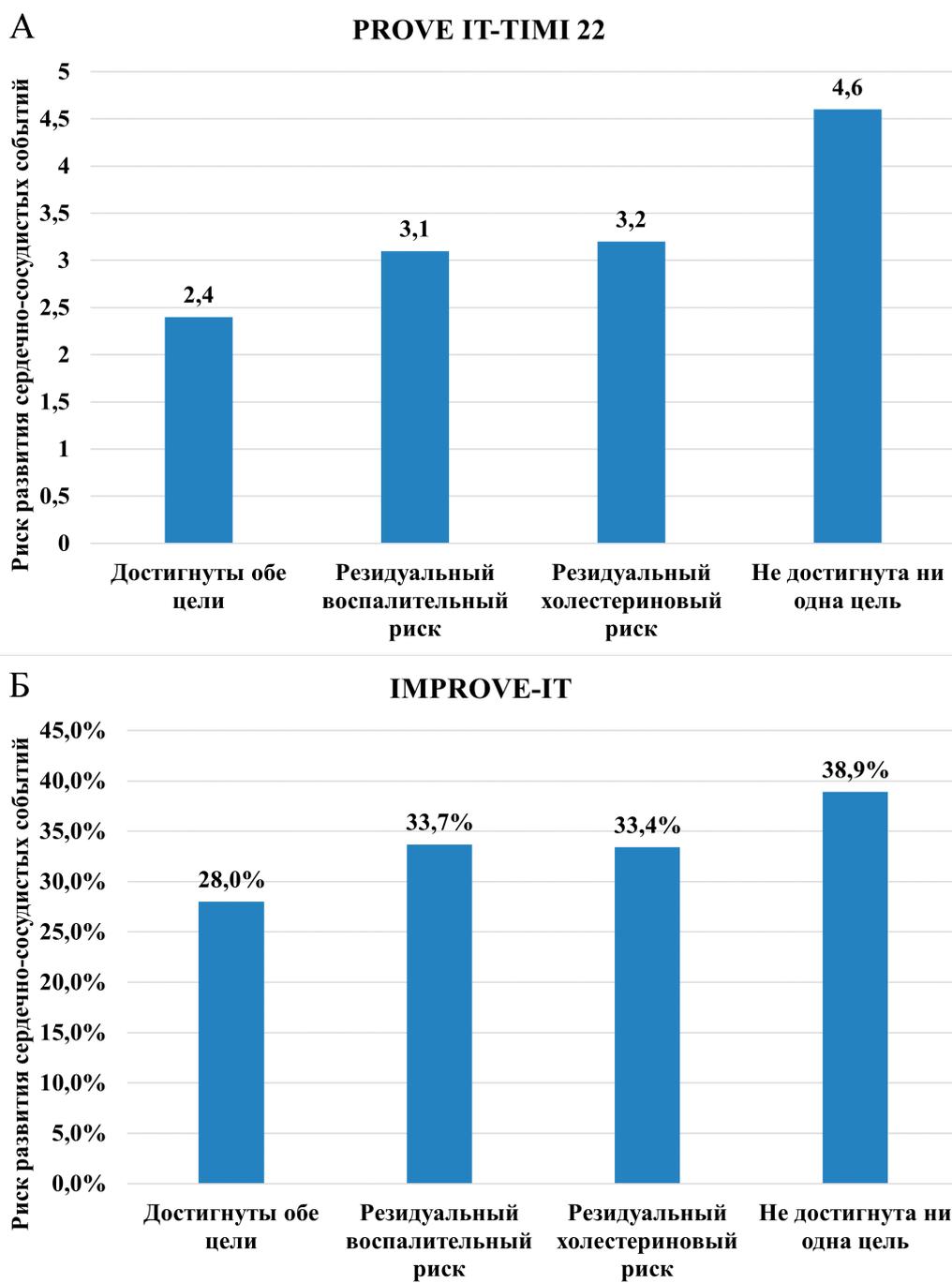
Формированию NLRP3-инфламмасы препятствует колхицин, применяющийся для подавления кристалл-ассоциированного воспаления при подагре и средиземноморской лихорадке [222]. В исследовании COLCOT изучали эффективность малых доз колхицина у 4745 пациентов с острым инфарктом миокарда на протяжении 22,6 месяцев [223]. По итогам наблюдения частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в группе колхицина составила 5,5%, в группе плацебо – 7,1% [223]. В исследовании LoDoCo2 изучали эффективность малых доз колхицина у 5522 пациентов с хронической ИБС на протяжении 28,6 месяцев [224]. По итогам наблюдения частота неблагоприятных

сердечно-сосудистых событий в группе колхицина составила 6,8%, в группе плацебо – 9,6% [224]. Однако в исследовании Colchicine in Patients with Acute Coronary Syndrome [65] (COPS) терапия колхицином у 795 пациентов с острым инфарктом миокарда не привела к снижению частоты неблагоприятных сердечно-сосудистых событий по сравнению с плацебо по результатам 12 месяцев наблюдения [225]. Неэффективность колхицина в исследовании COPS могла быть связана с клиническими характеристиками исследуемой группы пациентов, особенностями режима дозирования препарата и времени начала терапии [225].

Прием противовоспалительных препаратов при лечении атеросклеротических ССЗ связан с развитием побочных эффектов, ограничивающих возможность применения этих препаратов в клинической практике. В исследовании CANTOS терапия канакинумабом была связана с увеличением смертности от фатальных инфекций на 0,13 событий на 100 человеко-лет по сравнению с плацебо [216]. Прием колхицина был связан с увеличением случаев пневмонии на 0,5% в исследовании COLCOT [223] и с увеличением несердечно-сосудистой смертности на 0,2 события на 100 человеко-лет в исследовании LoDoCo2 по сравнению с группой плацебо [224]. В исследовании COPS увеличения частоты серьезных побочных эффектов на терапии колхицином по сравнению с плацебо не наблюдали [225].

Как показали клинические исследования, сосудистое воспаление является весьма распространенным и существенным фактором сердечно-сосудистого риска, независимым от уровня ХС ЛНП (рисунок 2) [215]. На терапии статинами частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий была сопоставима у пациентов, достигших только низкого уровня ХС ЛНП или СРБ, и существенно ниже у пациентов, достигших сочетанного низкого уровня ХС ЛНП и СРБ (рисунок 4) [191]. Частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов, достигших низкого уровня СРБ на противовоспалительной терапии в исследованиях CANTOS, COLCOT и LoDoCo2 снизилась на 23-29% [10]. Эти результаты сопоставимы с 25-30% снижением частоты неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов, достигших низкого уровня ХС ЛНП на

гиполипидемической терапии блокаторами PCSK9 в исследованиях FOURIER и ODYSSEY OUTCOMES [6]. По аналогии со статинами, одновременно воздействующими на воспалительный и холестеринный пути патогенеза атеросклероза, можно предположить, что комбинация блокаторов NLRP3-инфламмосомы и каскада ИЛ-1 $\beta$ /ИЛ-6/СРБ с блокаторами PCSK9 могла бы превосходить суммарный эффект от применения этих препаратов по отдельности [6].



**Рисунок 4** – Частота развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в исследованиях (А) PROVE IT-TIMI 22 и (Б) IMPROVE-IT в зависимости от достигнутого уровня ХС ЛНП и СРБ. Достигнуты обе цели: ХС ЛНП <1,8 ммоль/л, СРБ <2,0 мг/л. Резидуальный воспалительный риск: ХС ЛНП <1,8 ммоль/л, СРБ >2,0 мг/л. Резидуальный холестериновый риск: ХС ЛНП >1,8 ммоль/л, СРБ <2,0 мг/л. Ни одна цель не достигнута: ХС ЛНП >1,8 ммоль/л, СРБ >2,0 мг/л. ХС ЛНП – холестерин липопротеидов низкой плотности. СРБ – С-реактивный белок. Адаптировано из Ridker P.M. и соавт. [191] и Bohula E.A. и соавт. [192]

Таким образом, одной из основных мер в профилактике атеросклероза и его осложнений является снижение уровня ХС ЛНП в крови с помощью

гиполипидемической терапии. Однако у значительного числа пациентов достижение целевого уровня ХС ЛНП на гиполипидемической терапии не предотвращает прогрессирования атеросклероза. Помимо ХС ЛНП большое значение в развитии атеросклеротического поражения имеет субклиническое воспаление в АСБ, обуславливающее резидуальный воспалительный сердечно-сосудистый риск. В крупных рандомизированных клинических исследованиях [191,192,194,197,198] и клинических рекомендациях по профилактике атеросклероза [8,9,147,186] резидуальный воспалительный риск считали повышенным при уровне вчСРБ в плазме крови 2,0 мг/л и более. Измерение вчСРБ позволяет определить уровень пентамерной формы СРБ, секретируемой гепатоцитами в кровотоке, и оценить уровень системной активности воспалительного процесса. Другую форму СРБ – мономерную, образующуюся на мембранах повреждённых клеток и их микрочастиц и накапливающуюся в воспалённых тканях, – антитела к вчСРБ не определяют. Измерение уровня мСРБ в плазме крови может повысить точность оценки резидуального воспалительного риска. Однако разработка способа измерения уровня мСРБ в плазме крови сопряжена с рядом препятствий. Наиболее значимым из них является определение антитела с высокой специфичностью к мСРБ, так как большинство антител к мСРБ обладают перекрестной реактивностью с пСРБ. Коррекция резидуального воспалительного риска в настоящее время может выполняться как немедикаментозными методами, включающими регулярные физические нагрузки, коррекцию диеты, снижение массы тела и отказ от курения, так и медикаментозными методами. Среди применяемой медикаментозной терапии в снижении активности субклинического сосудистого воспаления наиболее эффективны статины. На субклиническое сосудистое воспаление и обусловленные им неблагоприятные сердечно-сосудистые события так же можно воздействовать эзетимибом в сочетании со статинами при уровне вчСРБ 2,0 мг/л и выше. Однако снижением уровня вчСРБ на терапию статинами или статинами в сочетании с эзетимибом отвечают около 50% пациентов. Исследуются противовоспалительные препараты, направленные на подавление активности NLRP3-инфламмосомы и

каскада ИЛ-1 $\beta$ /ИЛ-6/СРБ. Наиболее перспективные результаты достигнуты в исследованиях канакинумаба и колхицина, однако внедрению этих препаратов в клиническую практику препятствуют побочные эффекты, связанные с повышением частоты инфекционных осложнений.

Связь уровня мСРБ с прогрессированием атеросклероза сонных артерий ранее не изучалась. Экспериментальные способы измерения уровня мСРБ в крови разработаны четырьмя научными группами в Китае, Великобритании и Бельгии, однако коммерчески доступных реактивов для измерения уровня мСРБ нет. В связи с этим необходимо разработать способ измерения уровня мСРБ в плазме крови и изучить связь уровня мСРБ с прогрессированием атеросклероза сонных артерий.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнялось в ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России. На первом этапе исследования был разработан способ измерения концентрации мСРБ в плазме крови. На втором этапе исследования разработанным способом измерили уровень мСРБ у 80 пациентов с субклиническим атеросклерозом сонных артерий, наблюдавшихся в ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России. Также, у пациентов измерили уровень традиционных биомаркеров воспаления вчСРБ и ИЛ-6 и изучили связь уровней мСРБ, вчСРБ и ИЛ-6 с прогрессированием атеросклероза сонных артерий.

В исследование последовательно включали пациентов обоих полов, проходивших амбулаторное обследование в ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России, соответствующих следующим критериям: возраст 40-65 лет, расчетный десятилетний риск сердечно-сосудистой смерти по шкале SCORE 1-4% (категория умеренного риска), уровень ХС ЛНП 2,7-4,8 ммоль/л, наличие бессимптомных нестенозирующих (сужающих диаметр просвета артерии <50% [226]) АСБ в сонных артериях согласно критериям ECST [227].

«В исследование не включали пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС), транзиторными ишемическими атаками и острым нарушением мозгового кровообращения в анамнезе, симптоматическим атеросклерозом периферических артерий, атеросклерозом сонных и периферических артерий, сужающим их просвет  $\geq 50\%$ , аневризмой аорты, сахарным диабетом 1-го и 2-го типов, семейной гиперхолестеринемией, артериальной гипертонией, хронической болезнью почек (со снижением скорости клубочковой фильтрации <60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> по MDRD и/или уровнем креатинина в сыворотке крови >150 мкмоль/л), уровнем холестерина ЛНП  $\geq 4,9$  ммоль/л и  $\leq 2,6$  ммоль/л, уровнем триглицеридов >4,5 ммоль/л, подъемом активности аланинаминотрансферазы и/или аспаратаминотрансферазы в 3 раза и более относительно верхней границы нормы, риском развития ССЗ по шкале SCORE  $\geq 5\%$ , хроническими воспалительными заболеваниями, в том числе аутоиммунного генеза, со злокачественными

новообразованиями, аллергической сенсibilизацией организма, получавших гиполипидемическую терапию в предшествующие 12 мес, имеющих противопоказания к приему статинов» [228].

Десятилетний риск сердечно-сосудистой смерти по шкале SCORE рассчитывали согласно европейским и российским рекомендациям по профилактике ССЗ от 2011-2012 гг., действовавшими на момент включения пациентов в исследование в 2012-2013 гг. [229,230]. К категории умеренного сердечно-сосудистого риска относили пациентов без манифестировавших ССЗ, семейной гиперхолестеринемии, сахарного диабета, почечной недостаточности, без выраженных факторов риска, с расчетным десятилетним риском сердечно-сосудистой смерти по шкале SCORE 1-4% [229,230]. Атеросклероз сонных артерий считали стенозирующим при наличии АСБ, сужающих диаметр просвета артерий  $\geq 50\%$  [231,232].

Исследование прошло экспертизу и было одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России (протокол № 274 от 29.11.2021 г.) [172]. Исследование выполнено в соответствии с положениями Хельсинской декларации 1964 г. У всех пациентов получено информированное согласие в письменной форме.

## **2.1 Протокол исследования**

Пациентов в исследование набирали с 2012 по 2013 гг. из числа лиц, проходивших скрининговое обследование в ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России в рамках «Программы разработки новых методов и технологий профилактики, диагностики и лечения ССЗ, связанных с атеросклерозом в лечебных учреждениях Западного Административного округа (ЗАО) г. Москвы». В эту программу включались пациенты 12 поликлиник ЗАО г. Москвы, обратившиеся к участковому терапевту по любому поводу и подписавших информированное согласие. Был выполнен скрининг 379 пациентов, из которых 112 были включены в исследование. В течение первого года 32 пациента вышли из исследования (9 отозвали согласие, 23 не поддерживали контакт с врачом и не

являлись на обследование). Продолжили наблюдаться в рамках исследования 80 пациентов, в том числе 47 (59%) мужчин и 33 (41%) женщин.

До включения в исследования пациенты на амбулаторном приеме проходили обследование, включавшее опрос, физикальный осмотр, измерение артериального давления, общий и биохимический анализ крови, анализ показателей липидного обмена, регистрацию ЭКГ в двенадцати стандартных отведениях, УЗИ сердца, УЗИ сонных артерий, оценку расчетного риска сердечно-сосудистой смерти по шкале SCORE [229,230]. Пациентам, соответствующим критериям включения, предлагали принять участие в исследовании. Клиническая характеристика пациентов на момент включения в исследование представлена в таблице 1, исходная медикаментозная терапия – в таблице 2, основные лабораторные показатели – в таблице 3.

**Таблица 1** – Клиническая характеристика включенных в исследование пациентов

	<b>Пациенты с субклиническим атеросклерозом сонных артерий (n = 80)</b>
Возраст, лет	53 ± 6
Пол (муж./жен.), n. (%)	47 (59%)/33 (41%)
Отягощенная наследственность по ССЗ, n. (%)	17 (21%)
Курение, n. (%)	22 (28%)
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	25,9 (24,1; 30,1)
Ожирение, n. (%)	22 (28%)
Гиперлипидемия (холестерин ЛНП ≥2,6 ммоль/л), n. (%)	80 (100%)

## Продолжение таблицы 1

	<b>Пациенты с субклиническим атеросклерозом сонных артерий (n = 80)</b>
Неблагоприятные сердечно-сосудистые события, всего, п. (%)	0
Инфаркт миокарда, п. (%)	0
Стенокардия напряжения, п. (%)	0
Ишемический инсульт, п. (%)	0
Артериальная гипертензия, п. (%)	0
Сахарный диабет 2 типа, п. (%)	0

**Примечание** – ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; Ожирение – индекс массы тела  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>, ЛНП – липопротеиды низкой плотности.

**Таблица 2** – Исходная медикаментозная терапия включенных в исследование пациентов

	<b>Пациенты с субклиническим атеросклерозом сонных артерий (n = 80)</b>
Статины, п. (%)	0
иАПФ/АРА, п. (%)	0
$\beta$ -адреноблокаторы, п. (%)	0
Диуретики, п. (%)	0
Антиагреганты, п. (%)	0

**Примечание** – иАПФ – ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента; АРА – антагонисты рецепторов ангиотензина.

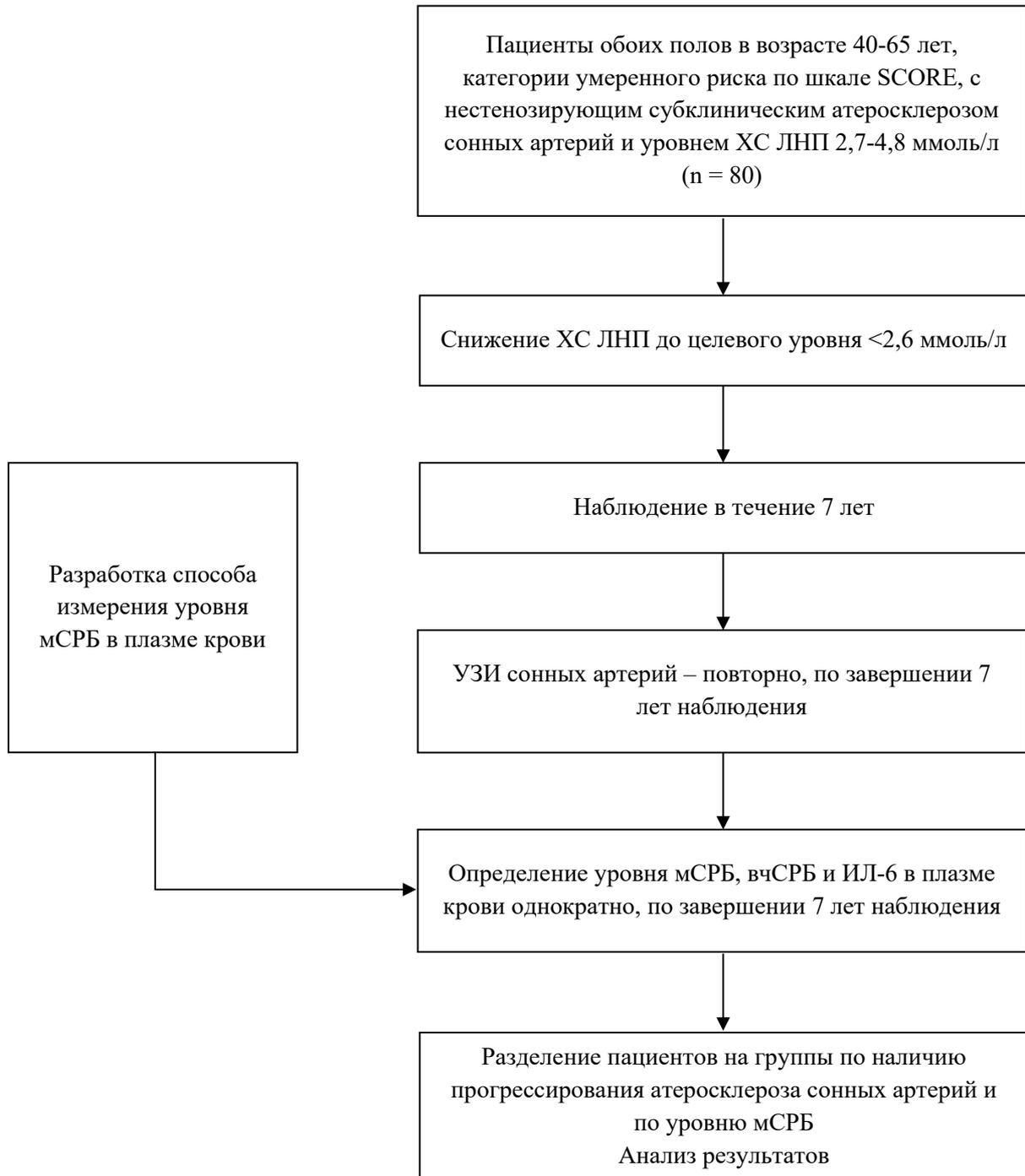
**Таблица 3** – Основные лабораторные показатели включенных в исследование пациентов

	<b>Пациенты с субклиническим атеросклерозом сонных артерий (n = 80)</b>
Холестерин общий, ммоль/л	5,69 (5,10; 6,26)
Холестерин ЛНП, ммоль/л	3,77 (3,31; 4,24)
Холестерин ЛВП, ммоль/л	1,11 (0,98; 1,37)
Триглицериды, ммоль/л	1,39 (1,01; 2,10)
Лейкоциты, $\times 10^9$	6,85 (6,0; 7,9)
СОЭ, мм/ч	7,0 (3,0; 13,0)

**Примечание** – ЛВП – липопротеиды высокой плотности; ЛНП – липопротеиды низкой плотности; СОЭ – скорость оседания эритроцитов.

Наличие у пациентов нестенозирующего атеросклероза сонных артерий явилось основанием для реклассификации сердечно-сосудистого риска в сторону повышения и назначения гиполипидемической терапии аторвастатином. Реклассификацию пациентов и определение целевого уровня, ниже которого следовало снижать концентрацию ХС ЛНП в крови, выполняли в соответствии с европейскими (2011 г.) [229] и российскими (2012 г.) [230] рекомендациями по профилактике ССЗ, действовавшими на момент включения пациентов в исследование в 2012-2013 г. Рекомендации не дают однозначных указаний о том, к какой категории следует отнести сердечно-сосудистый риск при выявлении бессимптомного нестенозирующего атеросклероза сонных артерий. К категории очень высокого риска следует относить пациентов с документированными или клинически манифестировавшими атеросклеротическими ССЗ, в том числе со стенозирующим атеросклеротическим поражением (сужение просвета артерии  $\geq 50\%$ ) сонных артерий, или с коморбидностью с усугубляющими факторами. Однако в исследование включались пациенты младше 65 лет с малым числом и без выраженных факторов риска, в связи с чем категория была реклассифицирована до

высокого сердечно-сосудистого риска, в которой целевым являлся уровень ХС ЛНП  $<2,6$  ммоль/л. Включенным в исследование пациентам назначалась гиполипидемическая терапия (10 мг аторвастатина в сутки). Определение уровня ХС ЛНП выполняли через месяц после назначения терапии аторвастатином. Дозу аторвастатина титровали ежемесячно по 10 мг до достижения уровня ХС ЛНП  $<2,6$  ммоль/л. Все пациенты достигли целевого уровня ХС ЛНП на монотерапии аторвастатином [228]. В 2019 г. в европейских [9], а в 2020 г. – и в российских рекомендациях [89] по профилактике ССЗ целевой уровень ХС ЛНП в категории высокого сердечно-сосудистого риска был понижен до  $<1,8$  ммоль/л. Достижение данного уровня ХС ЛНП было рекомендовано всем включенным в исследование пациентам, однако в связи с окончанием исследования в 2020 г. новый целевой уровень ХС ЛНП у большинства пациентов достигнут не был. Пациенты находились под наблюдением врача-кардиолога в течение 7 лет. Каждые 12 месяцев пациенты проходили консультацию наблюдающего врача-кардиолога, выполнялся контроль показателей липидного обмена. По завершении семилетнего наблюдения всем пациентам было выполнено повторное УЗИ сонных артерий и определен липидный профиль. По завершении семилетнего наблюдения был измерен уровень вЧСРБ, мСРБ и ИЛ-6 в плазме крови (рисунок 5) однократно. В связи с тем, что стенозирующего атеросклероза сонных артерий по итогам наблюдения выявлено не было, прогрессированием атеросклероза считали появление новых АСБ по результатам повторного УЗИ сонных артерий [22]. Пациентов делили на группы с увеличением количества АСБ (группа с прогрессированием атеросклероза) и без увеличения количества АСБ (группа без прогрессирования атеросклероза) сонных артерий, а также по медиане уровня мСРБ. Кроме того, выделяли подгруппу пациентов с уровнем вЧСРБ  $<2,0$  мг/л, в которой пациентов делили по медиане уровня мСРБ.



**Рисунок 5** – Дизайн исследования. УЗИ – ультразвуковое исследование; ЛНП – липопротеиды низкой плотности; мСРБ – мономерная форма С-реактивного белка; вчСРБ – пентамерная форма С-реактивного белка, определенная высокочувствительным тестом; ИЛ-6 – интерлейкин-6.

## 2.2 Ультразвуковое исследование сонных артерий

«УЗИ сонных артерий было выполнено всем пациентам исходно и по завершении 7 лет наблюдения на ультразвуковой системе iU-22 линейным датчиком с диапазоном рабочих частот от 3 до 9 МГц с применением сканирования в В-режиме, цветового картирования потока в энергетическом и скоростном режимах. Все исследования выполнялись одним оператором [228]. Количественную оценку АСБ выполняли на всем протяжении общей сонной артерии (ОСА), внутренней сонной артерии (ВСА), бифуркации ОСА с обеих сторон (всего 6 артериальных сегментов). АСБ в сонной артерии считали локальное образование, выступающее в просвет артерии как минимум на 0,5 мм или на величину, равную 50 % от величины окружающей толщины интимы–медии (ТИМ), или локальное образование с увеличением ТИМ >1,5 мм [9]. Вычисляли суммарное число всех АСБ и суммарную высоту АСБ в 6 исследуемых сегментах. ТИМ измеряли по задней стенке дистальных сегментов обеих ОСА на расстоянии 1 см проксимальнее бифуркации. ТИМ определяли как расстояние между границей интима–просвет сосуда и границей медиа–адвентиция. С каждой стороны выполняли 3 измерения передним и латеральным доступом. По максимальному из 6 средних значений, полученных при трех последовательных измерениях прямым и трех последовательных измерениях латеральным доступом, рассчитывали ТИМ правой и левой ОСА. Усредненную ТИМ рассчитывали как полусумму ТИМ правой и левой ОСА» [228,233].

Качественные параметры (структуру, эхогенность и состояние поверхности) АСБ оценивали в В-режиме. По структуре АСБ делили на гетерогенные (отличие более 10% площади АСБ на 2 и более типа эхогенности от остальной площади АСБ) и гомогенные, по эхогенности – на гипоехогенные, изоэхогенные или гиперэхогенные АСБ, а также кальцинированные АСБ. По состоянию поверхности АСБ классифицировали на гладкие, неровные или шероховатые (углубления на поверхности 0,4-2,0 мм), и изъязвленные (углубления на поверхности более 2 мм) [232,234]. Количественно эхогенность АСБ оценивали методом расчета медианы серой шкалы (ШСМ) [235].

### 2.3 Материалы для измерения концентрации мСРБ в плазме крови

Для разработки способа измерения концентраций СРБ в плазме крови использовали функциональные микросферы серий А5, С4 и Е5 BD Cytometric Bead Array (Beckton-Dickinson, США). Для определения мСРБ в плазме крови использовали мышинные антитела к человеческому мСРБ клона 8С8 (Sigma, США). Для определения пСРБ в плазме крови использовали мышинные антитела к человеческому пСРБ клона МОН372 (ИмТек, Россия). Также применяли мышинные антитела к мСРБ/пСРБ клона МОН328 (ИмТек, Россия). В качестве детектирующих антител использовали поликлональные козы антитела к СРБ человека ГАНСрр (ИмТек, Россия), конъюгированные с флуоресцеином изотиоцианатом (FITC) (ГАНСрр-FITC). Для контроля связывания мышинных антител клонов 8С8, МОН372 и МОН328 с функциональными микросферами использовали поликлональные козы антитела к иммуноглобулинам мыши GAMIss (ИмТек, Россия), конъюгированные с FITC (GAMIss-FITC). Для определения чувствительности антител к мСРБ и пСРБ использовали рекомбинантный мСРБ, полученный в дар от L. Potempa (США) и пСРБ от компании Sigma (США). В качестве буферного раствора для мСРБ и пСРБ использовали раствор трифосфатного буфера (TBS) 10,0 мМ, хлорида натрия 150 мМ, альбумина 2,9 мМ, pH = 7,4. Для конъюгации моноклональных антител к мСРБ и пСРБ с функциональными микросферами применяли дитиотрейтол (DTT), сульфосукцинимидил-4-(N-малеимидометил)-циклогексан-1-карбоксилат (Sulfo-SMCC), N-этилмалеймид (NEM), диметилсульфоксид (DMSO) производства Thermofisher (США). Для титрования матричных растворов рекомбинантного мСРБ (L. Potempa, США) и пСРБ (Sigma, США) использовали раствор, содержащий TBS 10,0 мМ, хлорида натрия 150 мМ и альбумина 2,9 мМ, pH = 7,4.

### 2.4 Очистка антител к мСРБ клона 8С8

Моноклональные антитела к мСРБ клон 8С8 (Sigma, США) были получены в асцитной жидкости. Для их очистки использовали набор AbSelect™ G Serum Antibody Purification System (Innova Biosciences, Великобритания). AbSelect G10x

Binding Buffer (Innova Biosciences, Великобритания) добавляли в асцитную жидкость, содержащую моноклональные антитела к мСРБ клона 8С8, в соотношении 1/10, перемешивали на вортексе. В полученный раствор добавляли аффинную смолу AbSelect G и инкубировали в течение 8 ч при комнатной температуре. Затем смесь аффинной смолы AbSelect G и очищаемого образца переливали в колонку Bio-Spin 30 Tris Columns (BioRad, США). Помещали колонку в полистироловую пробирку 12x75 мм. Добавляли 7 мл промывочного буфера из набора AbSelect и промывали колонку от несвязанных аффинной смолой белков. Повторяли процедуру трехкратно. Затем переносили колонку в другую полистироловую пробирку 12x75 мм для сбора образцов и добавляли 1 мл элюирующего буфера из набора AbSelect. После накопления 1 мл полученного раствора в пробирку добавляли 0,25 мл нейтрализующего буфера из набора AbSelect. Процедуру повторяли трёхкратно. Полученные образцы хранили при 4°C.

## **2.5 Конъюгация антител с флуорохромом FITC**

Для проведения исследований на проточном цитофлуориметре аффинно очищенные моноклональные антитела к мСРБ клона 8С8, моноклональные антитела к мСРБ/пСРБ клона МОН328, моноклональные антитела к пСРБ клона МОН372, поликлональные козьи антитела к мышинному IgG конъюгировали с флуорохромами FITC при помощи набора Lightning-Link Fluorescein Labeling kit (Innova Biosciences, Великобритания). На каждые 10 мкг антител использовали 1 мкл модифицирующего раствора из наборов, перемешивали. Полученный раствор переносили микропипеткой в пробирку для конъюгации из набора, содержащую лиофилизированный флуорохром, и перемешивали. Закрытые пробирки инкубировали в течение 3 ч в защищенном от света месте при комнатной температуре. Затем добавляли 1 мкл гасящего раствора из набора на каждые 10 мкг антитела и перемешивали. Инкубировали в течение 30 минут. Хранили при 4°C до 6 месяцев.

## 2.6 Конъюгация антител с функциональными микросферами

При разработке способа измерения мСРБ в плазме крови использовали неконъюгированные с флуорохромами моноклональные антитела к мСРБ клона 8С8, к мСРБ/пСРБ клона МОН328 и к пСРБ клона МОН372. В исследовании применялся набор Beckton-Dickinson Cytometric Bead Array (Beckton-Dickinson, США). Beckton-Dickinson Cytometric Bead Array позволяет конъюгировать антитела к исследуемому аналиту с функциональными микросферами. Применяли функциональные микросферы А5, С4, Е5 диаметром 7,5 мкм, имеющие разную интенсивность флуоресценции в ближнем инфракрасном диапазоне (соответствующую флуорохрому APC-Cy7). Взвесь микросфер из набора перемешивали на вортексе в течение 30 с. Далее взвесь микросфер в объеме 5 мкл переносили в центрифужную пробирку и подвергали обработке в ультразвуковой ванне в течение 1 мин. Затем к взвеси микросфер добавляли 1,9 мкл 1М водяного раствора DTT и перемешивали взвесь на вортексе в течение 5 с. Инкубировали взвесь на лабораторном шейкере в течение 1 ч в защищенном от света месте при комнатной температуре. После инкубации добавляли 1 мл связующего буфера и перемешивали на вортексе в течение 5 с. Затем осаждали микросферы центрифугированием при 900 g в течение 3 мин и удаляли супернатант микропипеткой. Затем дважды разбавляли осадок микросфер 1 мл связующего буфера, перемешивали на вортексе в течение 5 с, центрифугировали раствор при 900 g в течение 3 мин и удаляли супернатант микропипеткой. Затем ресуспендировали осадок микросфер 20 мкл связующего буфера.

Отдельно в пробирку, содержащую 90 мкл раствора конъюгируемых с функциональными микросферами антител в концентрации 1 мг/мл при pH  $7.2 \pm 0,2$  добавляли 2 мкл водного раствора Sulfo-SMCC в концентрации 2 мг/мл. Перемешивали на вортексе в течение 5 с. Инкубировали полученный раствор на лабораторном шейкере в течение 1 ч в защищенном от света месте при комнатной температуре.

Колонку Bio-Rad Spin Column (Bio-Rad, США) наполняли связующим буфером, давали стечь в течение 35 мин. Повторяли процедуру дважды. Затем

колонку помещали в полистироловую пробирку 12x75 мм и центрифугировали при 1000 g в течение 2 мин. Переносили колонку в новую полистироловую пробирку 12x75 мм. Переносили весь объем раствора антител и Sulfo-SMCC в колонку. Центрифугировали колонку при 1000 g в течение 2 мин. Затем удаляли колонку.

Переносили весь объем раствора антител, перемещенный из колонки в полистироловую пробирку 12x75 мм при центрифугировании, в пробирку, содержащую взвесь ранее подготовленных микросфер. Перемешивали на вортексе в течение 5 с. Инкубировали полученную взвесь микросфер с антителами на лабораторном шейкере в течение 1 ч в защищенном от света месте при комнатной температуре. Добавляли к полученной взвеси 2 мкл раствора NEM в DMSO в концентрации 2 мг/мл. Перемешивали на вортексе в течение 5 с. Затем инкубировали на лабораторном шейкере в течение 15 мин. Далее добавляли к взвеси 1 мл консервирующего буфера. Осаждали микросферы центрифугированием при 900 g в течение 3 мин. Удаляли супернатант микропипеткой. Трижды повторяли процедуру разбавления взвеси 1 мл консервирующего буфера, центрифугирования микросфер при 900 g в течение 3 мин и удаления супернатанта микропипеткой. Ресуспендировали осадок микросфер 0,5 мл консервирующего буфера. Хранили при 4°C.

## **2.7 Протокол подготовки и анализа проб крови**

«Кровь для исследования брали из локтевой вены утром натощак после двенадцатичасового голодания в пробирку (S-Monovette®, Sarstedt), содержащую 3,8% цитрат натрия в соотношении 1 часть антикоагулянта к 9 частям крови. Бедную тромбоцитами плазму (БТП) получали центрифугированием крови при 2000 g в течение 20 мин при комнатной температуре. Супернатант отбирали в отдельные пробирки и хранили в морозильной камере при температуре -70°C» [172]. Непосредственно перед исследованием образцы БТП размораживали в ультразвуковой ванне при температуре 37°C. Образец БТП разливали по 5 мкл в 2 пробирки. В обе пробирки с 5 мкл БТП добавляли по 5 мкл взвеси функциональных микросфер для регистрации концентрации мСРБ в плазме крови, перемешивали на

вortexe в течение 5 с. Инкубировали в течение 30 мин в защищенном от света месте при комнатной температуре. Затем в одну пробирку добавляли 5 мкл детектирующих антител GANCrp-FITC, «перемешивали на vortexe в течение 5 с и инкубировали в течение 40 мин в защищенном от света месте при комнатной температуре. Другую пробирку без детектирующих антител использовали для определения порогового уровня флуоресценции. По окончании инкубации в пробы добавляли 300 мкл раствора, содержащего TBS 10,0 мМ, хлорида натрия 150 мМ и альбумина 2,9 мМ, и анализировали на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (Becton-Dickinson, США). В каждом образце накапливали 1000 событий в гейте APC-Cy7-положительных событий. Сбор и обработку информации производили с помощью программы FACSDiva (Becton-Dickinson, США)» [240].

## **2.8 Определение уровня вчСРБ, ИЛ-6 и показателей липидного обмена**

Определение уровня ИЛ-6 в плазме крови проводилось в отделе нейрогуморальных и иммунологических исследований, определение уровня вчСРБ и показателей липидного обмена – в лаборатории клинической биохимии ИКК им. А.Л. Мясникова ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России. Кровь для лабораторных методов исследования брали из локтевой вены больных утром натощак после двенадцатичасового голодания. Определение показателей липидного обмена (общего ХС, триглицеридов (ТГ), ХС ЛВП) проводили на биохимическом анализаторе Hitachi 912 System (Roche, Швейцария), по формуле Фридвальда рассчитывали уровень ХС ЛНП:  $\text{ХС ЛНП} = \text{общий ХС} - (\text{ТГ}/2,2 + \text{ХС ЛВП})$ . Определение уровня ИЛ-6 и вчСРБ выполняли методом ИФА на биохимическом анализаторе «EXPRESS Plus» (CHIRON/Diagnostics, Великобритания).

## **2.9 Статистический анализ данных**

«Полученные в ходе исследования значения нормального распределения выражены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение, значения с ассиметричным распределением – через медиану (верхний и нижний квартили). Проверку

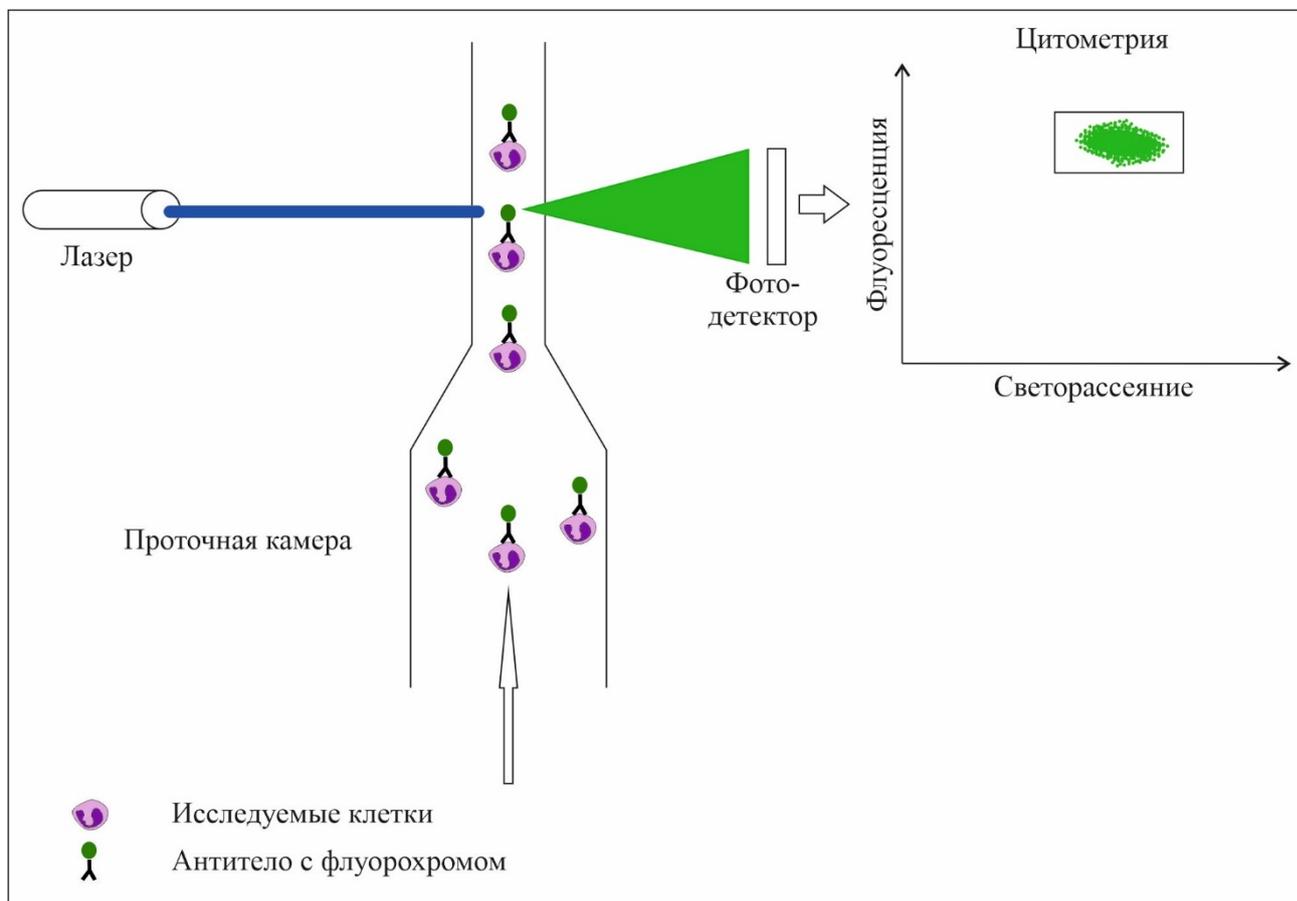
статистических гипотез о виде распределения осуществляли с помощью W-теста Шапиро-Уилка. Сравнительный анализ данных, полученных в двух независимых группах, выполняли при помощи U-критерия Манна-Уитни, а в зависимых группах – критерия Вилкоксона» [228]. Корреляционный анализ выполняли критерием ранговой корреляции Спирмена. «Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Все тесты были двусторонними. Статистический анализ выполнен при помощи программного обеспечения Statistica v. 6.0 и SPSS Statistics v. 17.0» [228]

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

### 3.1 Способ измерения концентрации мСРБ в плазме крови

Способ измерения мСРБ в плазме крови был разработан впервые. Измерения выполнялись с помощью проточной цитофлуориметрии. Принцип метода проточной цитофлуориметрии заключается в том, что образец жидкости, содержащей исследуемые частицы (обычно клетки и/или их микрочастицы) подаётся в поток жидкости, пропускаемой с высокой скоростью через канал проточной камеры. Это вызывает эффект гидродинамического фокусирования: исследуемые клетки выстраиваются в цепочку и в таком порядке проходят через канал проточной камеры. Канал проточной камеры пересекают лучи одного или нескольких лазеров. Клетки и их микрочастицы поочередно взаимодействуют с лазерным излучением, вызывая три эффекта, регистрируемые фотодетекторами: прямое светорассеяние (FSC), боковое светорассеяние (SSC) и флуоресценцию. Прямое светорассеяние обусловлено размером исследуемых частиц. Боковое светорассеяние обусловлено гранулярностью исследуемых частиц. Флуоресценция обусловлена способностью некоторых частиц поглощать световое излучение на одной длине волны и испускать его на другой длине волны. Испускаемое световое излучение может иметь разную интенсивность. Поскольку клетки и их микрочастицы имеют низкую естественную интенсивность флуоресценции, используют метки – флуорохромы, обладающие высокоинтенсивной флуоресценцией. Наиболее распространён способ, при котором флуорохром конъюгируют с антителом против определённого антигена исследуемых клеток или микрочастиц. Меченое флуорохромом антитело в пробе связывается с исследуемыми клетками или микрочастицами. При прохождении через канал проточной камеры, связанный с антителом флуорохром флуоресцирует, взаимодействуя с лазерным излучением. Таким образом, зная антигенную специфичность антитела и флуорохром, с которым оно конъюгировано, можно определить наличие и количество тех или иных клеток и микрочастиц в пробе. Флуоресценция регистрируется фотодетекторами и преобразуется программным

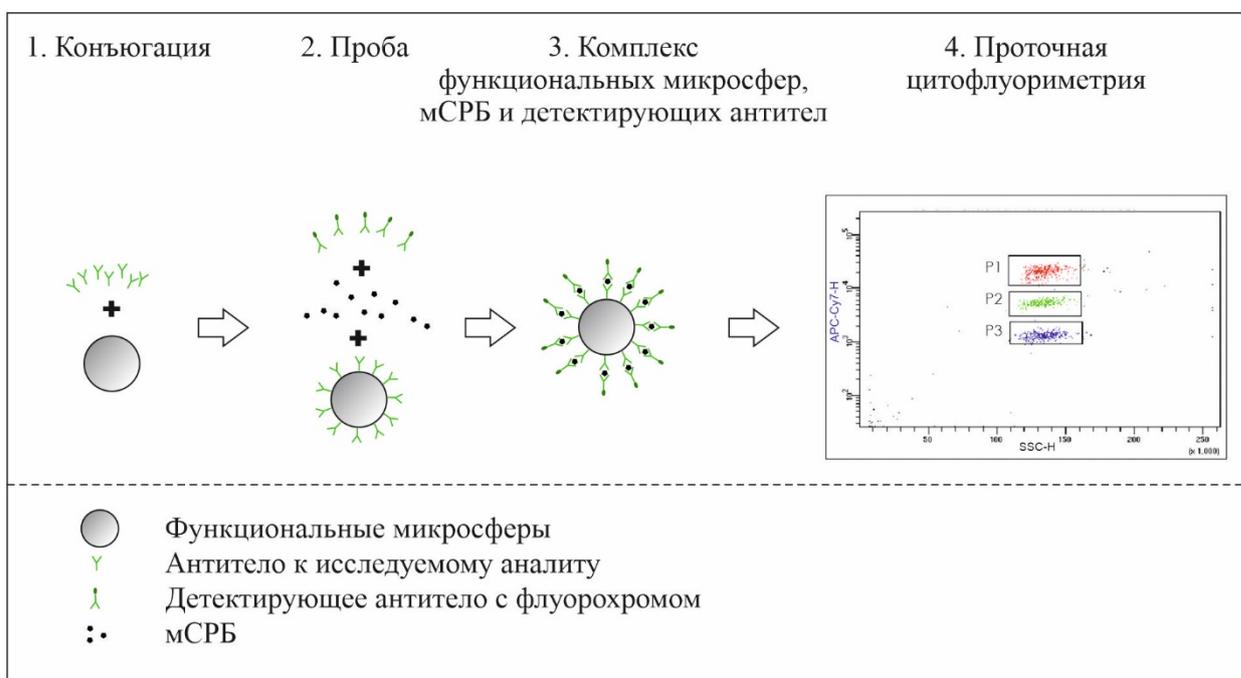
обеспечением проточного цитофлуориметра в показатель средней интенсивности флуоресценции, измеряемый в относительных единицах (отн.ед.). Чем больше исследуемого аналита в пробе, тем выше будет средняя интенсивность флуоресценции (рисунок 6).



**Рисунок 6** – Принцип проточной цитофлуориметрии.

Возможность регистрации событий на проточном цитофлуориметре ограничена размером исследуемых частиц. Для современных цитофлуориметров пороговым является размер 0,15-0,2 мкм, ниже которого регистрация событий невозможна. Таким образом, непосредственное исследование белков крови на проточном цитофлуориметре неосуществимо. Решением является применение функциональных микросфер, которые имеют в составе функциональные группы, способные связывать белки. Функциональные микросферы имеют определённый размер, подходящий для регистрации проточным цитофлуориметром, и флуоресцируют в определённом световом диапазоне. Разные функциональные микросферы в одном наборе обладают разной интенсивностью флуоресценции, что

позволяет разделять их по группам на цитометрических диаграммах. Для того чтобы функциональные микросферы в пробе связывались с исследуемым анализом, их конъюгируют с антителами против этого анализа. Затем их добавляют в исследуемый образец, где функциональные микросферы связываются с анализом посредством антител. Затем в образец добавляют детектирующие антитела для того, чтобы определить концентрацию связанного с функциональными микросферами анализа. Детектирующие антитела конъюгируют с флуорохромом, имеющим отличную от функциональных микросфер флуоресценцию (например, функциональные микросферы флуоресцируют в красном спектре, а флуорохром детектирующих антител – в зелёном спектре). Детектирующие антитела имеют специфичность к изучаемому анализу и связываются с ним по принципу «сэндвича» (рисунок 7). В результате при цитофлуориметрии регистрируется усиление флуоресценции по каналу, соответствующему флуорохрому детектирующих антител, в области (гейте), соответствующей определенной группе функциональных микросфер.



**Рисунок 7** – Функциональные микросферы для регистрации растворимых анализов методом проточной цитофлуориметрии.

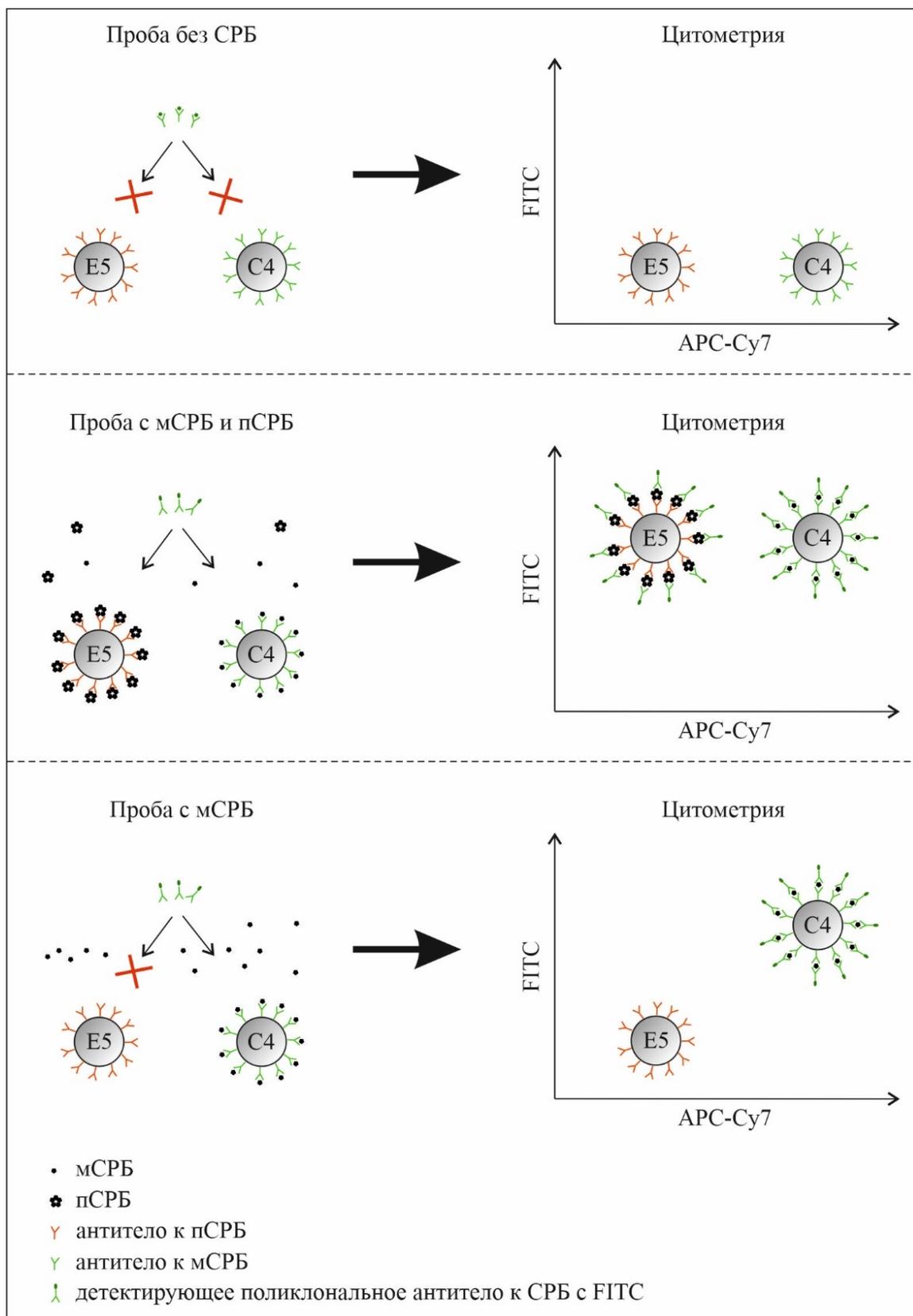
Функциональные микросферы позволяют создавать мультиплексные (сложносоставные) системы, то есть такие системы, в которых используются

несколько отличающихся по размеру и/или интенсивности флуоресценции серий микросфер, конъюгированных с антителами к разным анализам. Использование нескольких серий микросфер в анализе одной пробы позволяет регистрировать на проточном цитофлуориметре несколько анализов одновременно. Например, используя микросферы серии С4, конъюгированные с антителом к мСРБ клона 8С8, и серии Е5, конъюгированные с антителом к пСРБ клона МОН372, можно одновременно регистрировать концентрацию двух форм СРБ в пробе (рисунок 8).

В разработке способа измерения мСРБ в плазме крови использовали неконъюгированные с флуорохромами моноклональные антитела к мСРБ клона 8С8, моноклональные антитела к мСРБ/пСРБ клона МОН328 и моноклональные антитела к пСРБ МОН372. Для изготовления мультиплексной системы в исследовании применялся набор Beckton-Dickinson Cytometric Bead Array (Beckton-Dickinson, США). Beckton-Dickinson Cytometric Bead Array позволяет конъюгировать антитела к исследуемому белку с функциональными микросферами. Микросферы имеют размер 7,5 мкм и определённую интенсивность флуоресценции в красном и ближнем инфракрасном диапазонах. В качестве детектирующих антител использовали конъюгированные с FITC поликлональные козы антитела к человеческому СРБ GANCrp-FITC.

Согласно разработанному протоколу, использовали функциональные микросферы А5, С4 и Е5 из набора Cytometric Bead Array, имеющие один размер (7,5 мкм), но разную интенсивность флуоресценции в ближнем инфракрасном диапазоне (соответствующую флуорохрому APC-Cy7). Конъюгировали микросферы А5 с моноклональными мышинными антителами к мСРБ/пСРБ человека клона МОН328 (ИмТек, Россия), С4 – с моноклональными мышинными антителами к мСРБ человека клона 8С8 (Sigma, США), Е5 – с моноклональными мышинными антителами к пСРБ человека клона МОН372 (ИмТек, Россия).

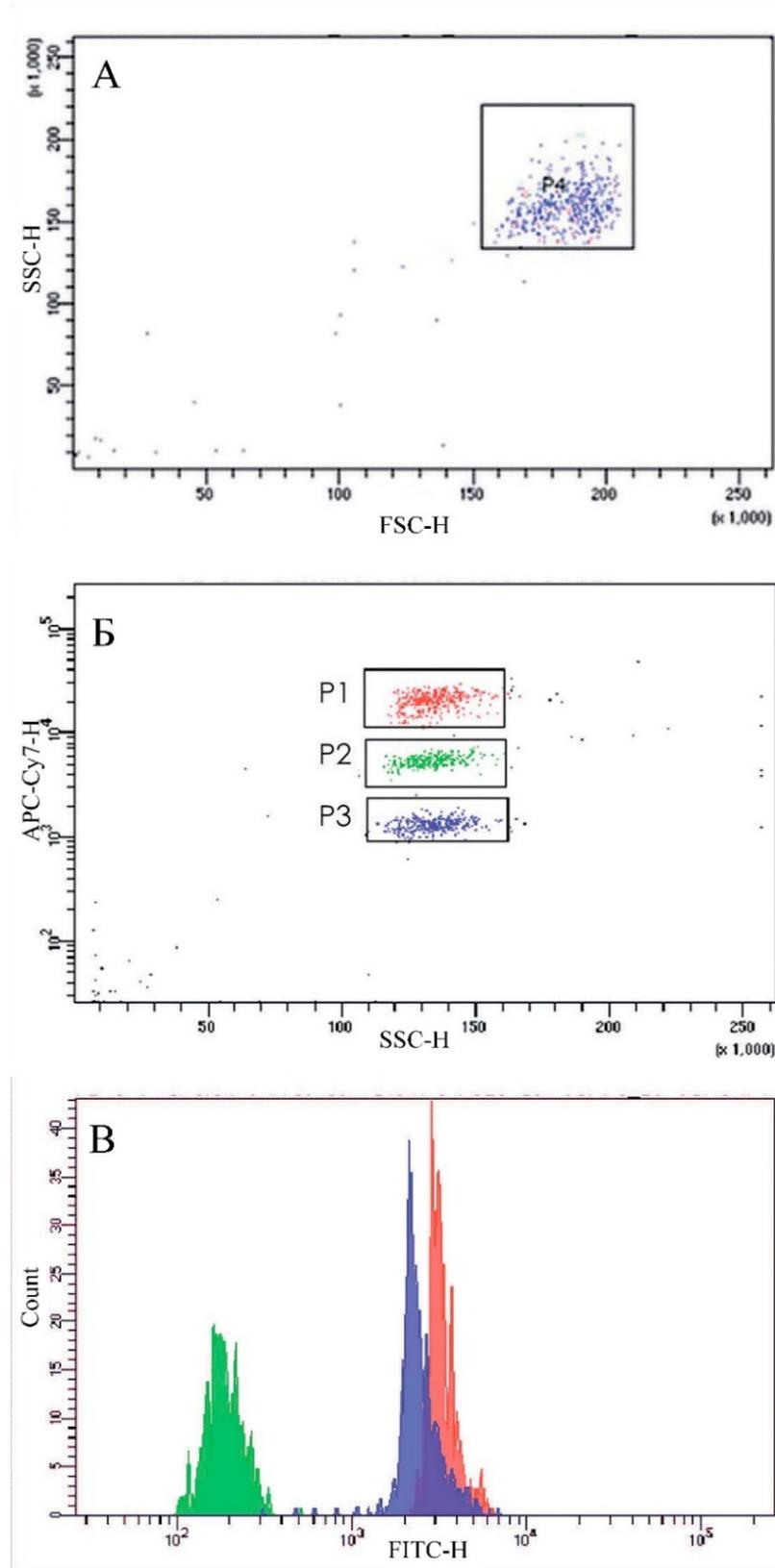
Для получения калибровочной кривой готовили титры матричных растворов рекомбинантного мСРБ (L. Potempa, США) и пСРБ (Sigma, США). Для анализа брали пробу каждого титра объемом 5 мкл в отдельные пробирки.



**Рисунок 8** – Способ измерения концентрации мСРБ и пСРБ в плазме крови с применением мультиплексной системы на основе функциональных микросфер для проточной цитофлуориметрии. мСРБ – мономерная форма С-реактивного белка; пСРБ – пентамерная форма С-реактивного белка; FITC – флуоресцеин изотиоцианат (флуорохром).

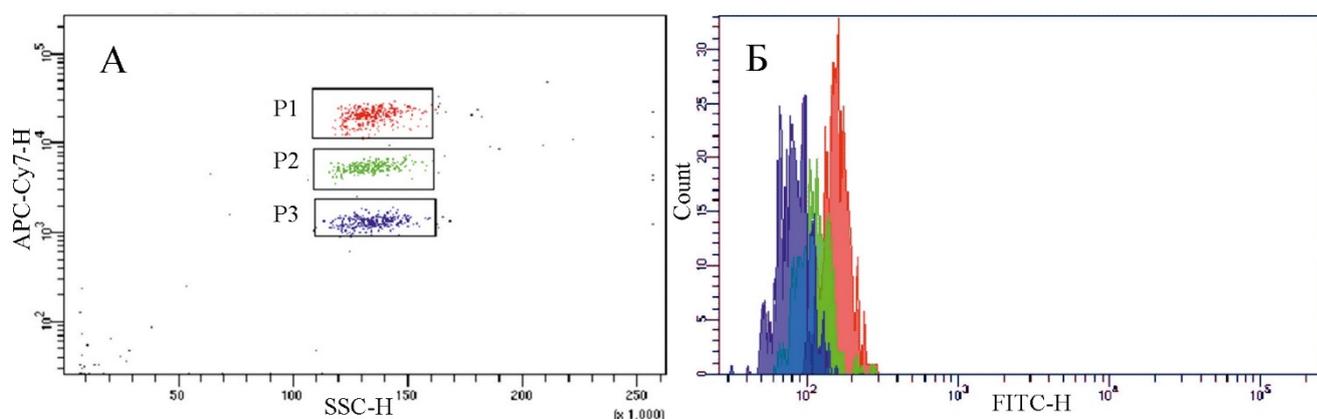
Добавляли по 5 мкл взвеси функциональных микросфер, конъюгированных с каждым из антител к мСРБ и пСРБ, и перемешивали на вортексе в течение 5 с. Инкубировали в течение 40 мин в защищённом от света месте при комнатной температуре. Затем добавляли по 5 мкл детектирующих поликлональных козьих антител к СРБ GANCrp-FITC, перемешивали на вортексе в течение 5 с. Инкубировали в течение 40 мин в защищенном от света месте при комнатной температуре. Также готовили пробирку для контроля связывания антител к мСРБ и пСРБ с функциональными микросферами, в которую помещали 5 мкл взвеси функциональных микросфер, конъюгированных с каждым из антител, и 5 мкл поликлональных козьих антител к иммуноглобулинам мыши GAMIss-FITC, и перемешивали на вортексе в течение 5 с. Все пробирки инкубировали в течение 40 мин в защищенном от света месте при комнатной температуре. По «окончании инкубации в пробы добавляли 300 мкл раствора, содержащего TBS 10,0 мМ, хлорида натрия 150 мМ и альбумина 2,9 мМ, и анализировали на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (Becton-Dickinson, США). В каждом образце накапливали 1000 событий в гейте APC-Cy7-положительных событий (микросфер). Сбор и обработку информации производили с помощью программы FACSDiva (Becton-Dickinson, США)» [236]. Выставляли порог по SSC 200 отн.ед. Компенсацию флуоресценции выполняли с помощью BD Compensation beads (Beckton-Dickinson, США) согласно протоколу производителя. «Гейтирование включало следующие последовательные шаги: на диаграмме зависимости интенсивности прямого (FSC) от бокового светорассеяния (SSC) выделяли гейт функциональных микросфер (рисунок 9А). Далее на диаграмме зависимости флуоресценции» [236] по каналу APC-Cy7 от SSC отдельно выделяли гейты микросфер А5, конъюгированных с антителами к мСРБ/пСРБ клона МОН328 (гейт Р1); микросфер С4, конъюгированных с антителами к мСРБ клона 8С8 (гейт Р2); микросфер Е5, конъюгированных с антителами к пСРБ клона МОН372 (гейт Р3) (рисунок 9Б). Измеряли среднюю интенсивность флуоресценции по каналу FITC в каждом гейте на гистограмме интенсивности флуоресценции по FITC (рисунок 9В). По регистрируемой средней интенсивности флуоресценции по FITC определяли

специфичность и наличие перекрестной реактивности антител к мСРБ клона 8С8, антител к мСРБ/пСРБ клона МОН328 и антител к пСРБ клона МОН372. По регистрируемой средней интенсивности флуоресценции по FITC от козьих антител к иммуноглобулинам мыши GAMIss-FITC судили о связывании антител к мСРБ и пСРБ с функциональными микросферами. Зависимость интенсивности флуоресценции функциональных микросфер С4 по каналу FITC от концентрации мСРБ исследовали в серии разведений раствора рекомбинантного мСРБ в присутствии функциональных микросфер С4, конъюгированных с антителами к мСРБ клона 8С8, и детектирующих поликлональных антител GANCrp-FITC. Сопоставляли регистрируемую среднюю интенсивность флуоресценции, измеренную для каждого из разведений, с известными концентрациями мСРБ в разведениях, и строили кривую зависимости интенсивности флуоресценции от концентрации исследуемого белка. Разработанный метод описан в публикациях Зверевой М.Д. и соавт. [237] и Melnikov I. и соавт. [238].



**Рисунок 9** – Гейтирование. А) диаграмма зависимости интенсивности прямого (FSC) от бокового светорассеяния (SSC); Б) диаграмма зависимости флуоресценции в ближнем инфракрасном диапазоне APC-Cy7 от SSC; В) диаграмма зависимости APC-Cy7 от флуоресцеина изотиоцианата (FITC). Адаптировано из Зверева М.Д. и соавт. [237] и Melnikov и соавт. [238].

На рисунке 10А в виде диаграммы представлена интенсивность флуоресценции функциональных микросфер А5, С4 и Е5 по каналу APC-Cy7. Микросферы располагаются на диаграмме отдельными сконцентрированными группами, не накладывающимися друг на друга, что позволяет в одной пробе регистрировать количество событий и определять среднюю интенсивность флуоресценции для каждой группы микросфер. В отсутствие аналита и детектирующих антител функциональные микросферы обладают низкой средней интенсивностью флуоресценции по каналу FITC, равной 157, 112 и 82 отн.ед. для А5, С4 и Е5, соответственно (рисунок 10Б).



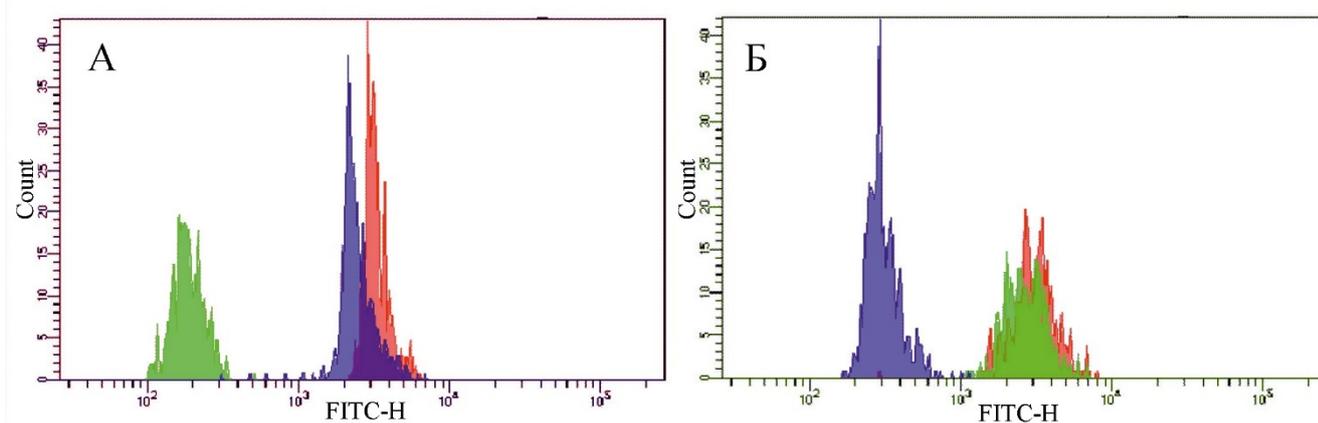
**Рисунок 10** – Интенсивность фоновой флуоресценции функциональных микросфер А5 (гейт Р1), С4 (гейт Р2) и Е5 (гейт Р3), конъюгированных с моноклональными антителами клонов МОН328 (анти-мСРБ/пСРБ), 8С8 (анти-мСРБ), МОН372 (анти-пСРБ), соответственно, в каналах (А) APC-Cy7 и (Б) FITC в отсутствие аналита и в присутствии поликлональных FITC-меченых антител к СРБ (GANCrp-FITC). СРБ – С-реактивный белок; мСРБ – мономерная форма С-реактивного белка; пСРБ – пентамерная форма С-реактивного белка. Адаптировано из Зверева М.Д. и соавт. [237] и Melnikov I. и соавт. [238].

Контроль конъюгации антител к СРБ с функциональными микросферами выполняли, инкубируя их с поликлональными козьими антителами к антителам мыши GAMIss-FITC. Исследовали образец на проточном цитофлуориметре. В присутствии GAMIss-FITC функциональные микросферы обладают средней интенсивностью флуоресценции по каналу FITC, равной 2576, 2390 и 2496 отн.ед. для А5, С4 и Е5 и соответственно. Повышение средней интенсивности флуоресценции по сравнению с фоновыми значениями обусловлено связыванием GAMIss-FITC с мышинными антителами к СРБ на поверхности функциональных

микросфер, что говорит об успешно выполненной конъюгации антител к СРБ с функциональными микросферами.

Выполнен контроль неспецифического связывания детектирующих поликлональных козьих антител к СРБ GANCrp-FITC с мышинными антителами к СРБ на поверхности функциональных микросфер. В пробу, не содержащую СРБ, добавляли функциональные микросферы А5, С4 и Е5 и инкубировали с детектирующими поликлональными антителами к СРБ GANCrp-FITC. Несмотря на наличие в пробе детектирующих антител, в отсутствие СРБ функциональные микросферы обладают низкой средней интенсивностью флуоресценции по каналу FITC, равной 189, 157 и 116 отн.ед. для А5, С4 и Е5, соответственно. Это говорит об отсутствии неспецифического связывания детектирующих антител GANCrp-FITC с функциональными микросферами в отсутствие СРБ.

Специфичность антител к мСРБ клонов 8С8 и МОН328 и антител к пСРБ клона МОН372 определяли в присутствии поликлональных антител к СРБ GANCrp-FITC в пробе, содержащей пСРБ или мСРБ в концентрации 0,25 мг/л. На рисунке 11А представлена гистограмма интенсивности флуоресценции функциональных микросфер А5, С4 и Е5 по каналу FITC в пробе с пСРБ. На рисунке 11Б представлена гистограмма интенсивности флуоресценции функциональных микросфер А5, С4 и Е5 по каналу FITC в пробе с мСРБ. Результаты измерения показывают, что функциональные микросферы А5, конъюгированные с антителами к мСРБ/пСРБ клона МОН328, одинаково интенсивно связываются как с мСРБ, так и с пСРБ. Функциональные микросферы С4, конъюгированные с антителом к мСРБ клона 8С8, связываются в основном с мСРБ, а функциональные микросферы Е5, конъюгированные с антителом к пСРБ клона МОН372, – с пСРБ. Средняя интенсивность флуоресценции функциональных микросфер А5 по каналу FITC составила 3261 и 3127 отн.ед., С4 - 188 и 2766 отн.ед., Е5 – 2486 и 313 отн.ед. для пСРБ и мСРБ, соответственно. Таким образом, разработанная нами мультиплексная система позволяет одновременно определять общий уровень двух форм СРБ и в отдельности мСРБ и пСРБ в одном образце плазмы крови.

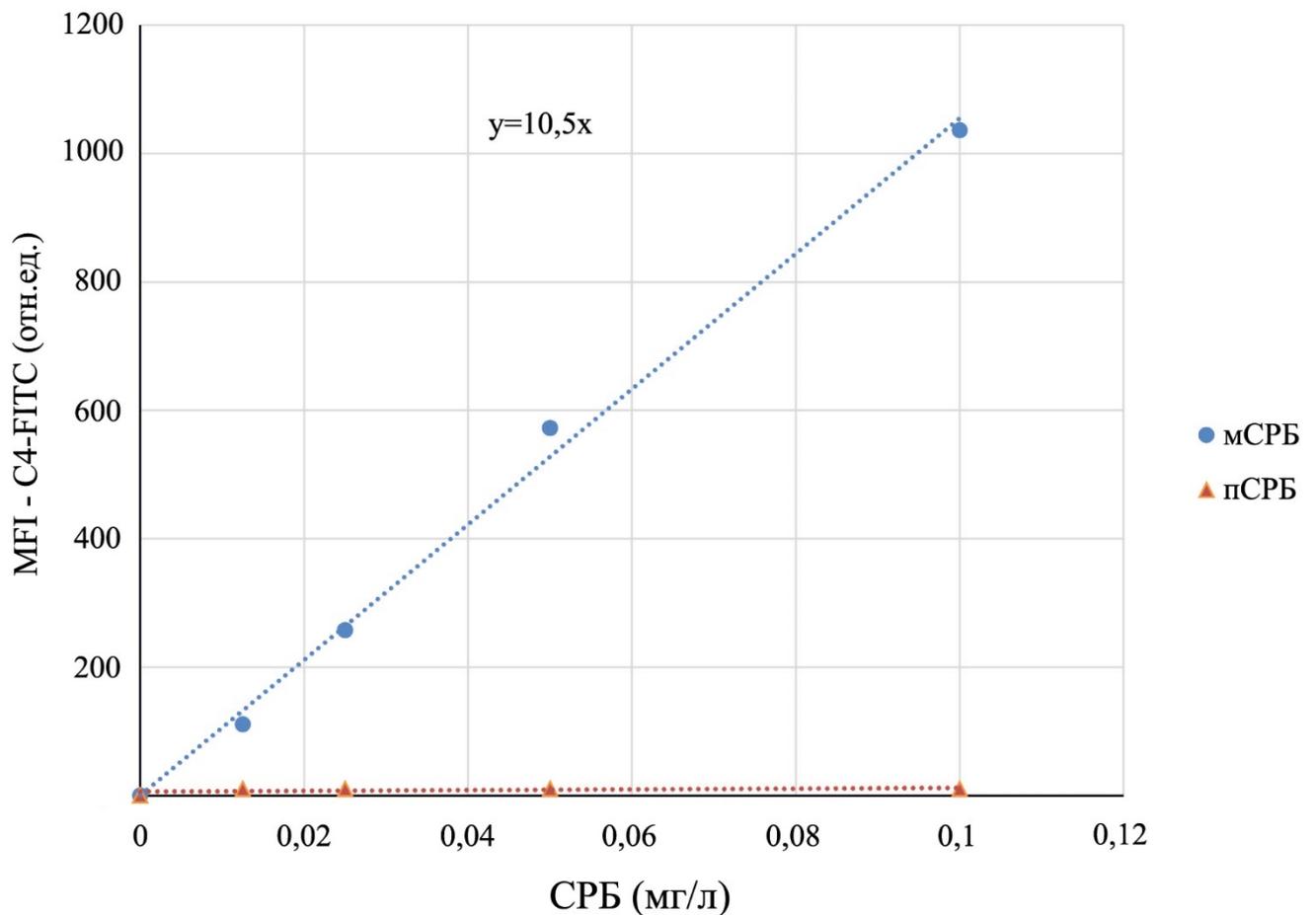


**Рисунок 11** – Гистограммы интенсивности флуоресценции функциональных микросфер А5 (красные), С4 (зелёные) и Е5 (синие), конъюгированных с моноклональными антителами клонов МОН328 (анти-мСРБ/пСРБ), 8С8 (анти-мСРБ), МОН372 (анти-пСРБ), соответственно, в присутствии (А) пСРБ и (Б) мСРБ в концентрации 0,25 мг/л и FITC-меченых поликлональных антител к СРБ GANCrp-FITC. мСРБ – мономерная форма С-реактивного белка; пСРБ – пентамерная форма С-реактивного белка. Адаптировано из Зверева М.Д. и соавт. [237] и Melnikov I. и соавт. [238].

Дополнительно для исключения перекрестной реактивности с пСРБ, функциональные микросферы С4 были испытаны в пробе, содержащей пСРБ в концентрации 5 мг/л. При добавлении в пробу поликлональных антител к СРБ GANCrp-FITC средняя интенсивность флуоресценции функциональных микросфер С4 по каналу FITC составила 204 отн.ед. При добавлении в пробу мСРБ до концентрации 0,25 мг/л средняя интенсивность флуоресценции функциональных микросфер С4 по каналу FITC возросла до 2842 отн.ед., что свидетельствует о высокой специфичности антитела клона 8С8 к мСРБ.

Строили калибровочную кривую для определения концентрации мСРБ методом серийных разведений. Титровали мСРБ от 0,25 мкг/л до 250,0 мкг/л. Инкубировали каждую пробу с функциональными микросферами С4 и поликлональным антителом к СРБ GANCrp-FITC. На проточном цитофлуориметре измеряли среднюю интенсивность флуоресценции функциональных микросфер С4 по каналу FITC. Зависимость средней интенсивности флуоресценции от концентрации мСРБ линейно возрастала при концентрациях мСРБ от 1,0 мкг/л до 100,0 мкг/л. Средняя интенсивность флуоресценции функциональных микросфер С4 не отличалась от фонового уровня флуоресценции при концентрациях мСРБ

менее 1,0 мкг/л. Этот уровень мСРБ следует считать пороговым для разработанного способа. При концентрации мСРБ более 100,0 мкг/л зависимость была нелинейной. Для получения достоверного результата измерений необходимо титровать пробы, в которых регистрируется уровень мСРБ более 100,0 мкг/л до получения результата измерения в диапазоне от 1,0 мкг/л до 100 мкг/л, и высчитывать действительный уровень мСРБ с учетом кратности разведения пробы. График зависимости средней интенсивности флуоресценции от концентрации мСРБ приведён на рисунке 12.

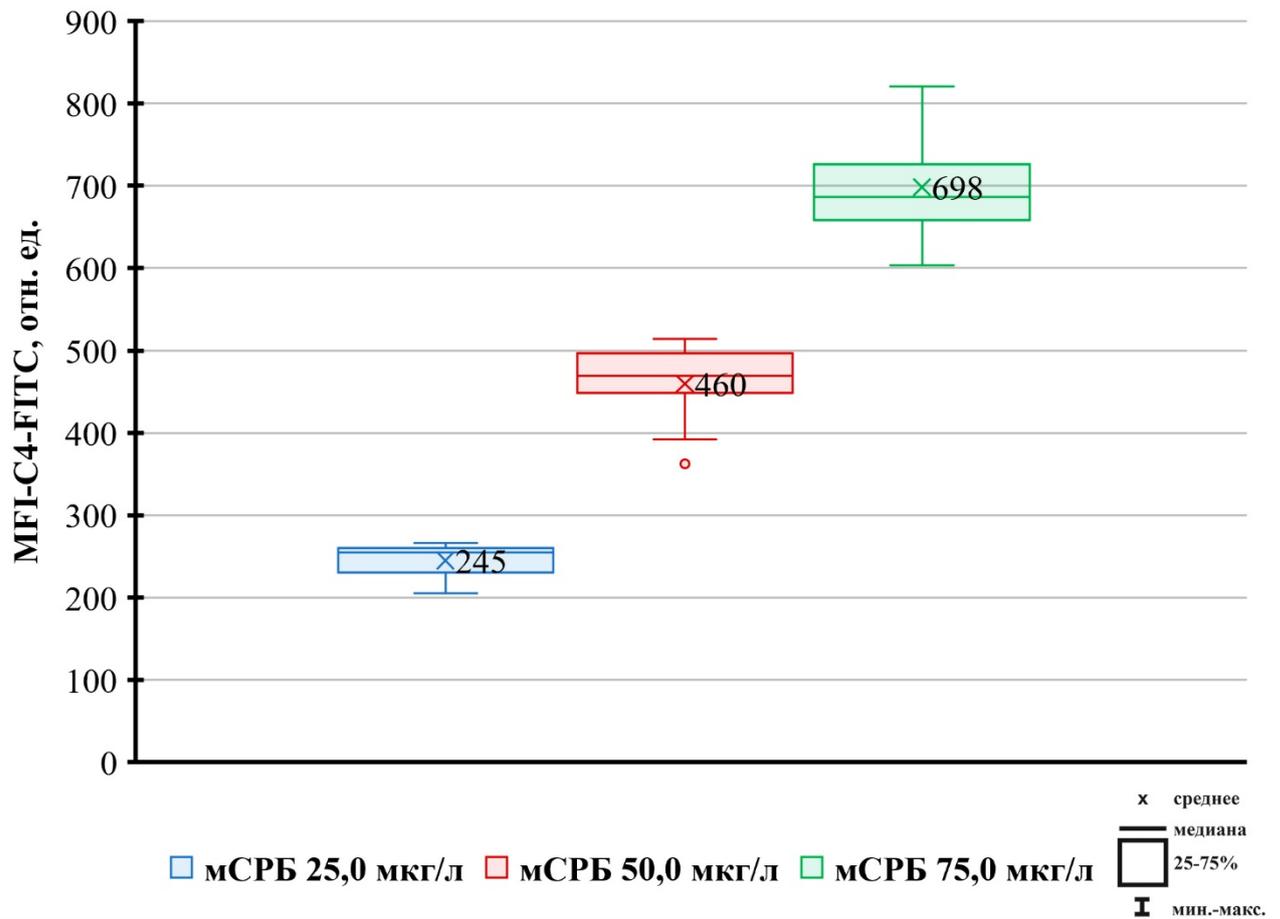


**Рисунок 12** – График зависимости интенсивности флуоресценции функциональных микросфер С4 по каналу FITC от концентрации в пробе с рекомбинантным мСРБ. мСРБ – мономерная форма С-реактивного белка; пСРБ – пентамерная форма С-реактивного белка; MFI - средняя интенсивность флуоресценции. Адаптировано из Зверева М.Д. и соавт. [237].

Была изучена стабильность уровня мСРБ в плазме крови у пациентов с помощью разработанного способа. Измеряли уровень мСРБ у первых 20 пациентов, включенных в исследование, за 12 месяцев до окончания наблюдения и по окончании наблюдения. Уровень мСРБ за 12 месяцев до окончания наблюдения

составил 3,8 (2,5; 4,93) мкг/л, по окончании наблюдения – 4,15 (2,68; 5,33) мкг/л ( $p = 0,73$ ).

Была изучена воспроизводимость измерения уровня мСРБ с помощью разработанного способа в серии последовательных измерений (рисунок 13). Согласно рекомендациям Food and Drug Administration (США) от 2018 г. по валидации биоаналитических тестов, воспроизводимость биоаналитического теста считается приемлемой, если при выполнении 10 измерений в каждом из 3 разведений образца коэффициент вариации (%CV), рассчитываемый как соотношение стандартного отклонения к среднему значению, не будет превышать 15% [239]. Готовили 3 разведения матричного раствора рекомбинантного мСРБ в концентрациях 25,0 мкг/л, 50,0 мкг/л, 75,0 мкг/л. Инкубировали каждую пробу с функциональными микросферами С4 и поликлональным антителом к СРБ GANCrp-FITC. Средняя интенсивность флуоресценции функциональных микросфер С4 по каналу FITC, измеренная на проточном цитофлуориметре в пробе с концентрацией мСРБ 25,0 мкг/л, составила  $245,0 \pm 21,0$  отн.ед. (8,6% CV, 95% ДИ = 232,0-258,0), в пробе с концентрацией мСРБ 50,0 мкг/л –  $459,7 \pm 49,3$  отн.ед. (10,7% CV, 95% ДИ = 429,1-490,3), в пробе с концентрацией мСРБ 75,0 мкг/л –  $698,5 \pm 64,8$  отн.ед. (9,3% CV, 95% ДИ = 658,3-738,7).



**Рисунок 13** – Воспроизводимость 10 последовательных измерений в 3 пробах с разведениями рекомбинантного мСРБ в концентрациях 25,0 мкг/л, 50,0 мкг/л, 75,0 мкг/л. мСРБ – мономерная форма С-реактивного белка; MFI – средняя интенсивность флуоресценции.

## 3.2 Изучение динамики ультразвуковых параметров атеросклероза сонных артерий у пациентов с исходно умеренным сердечно-сосудистым риском по шкале SCORE на терапии статинами по результатам семилетнего наблюдения

### 3.2.1 Клиническая характеристика пациентов

Клиническая характеристика пациентов на момент включения в исследование приведена в таблице 4, основные лабораторные показатели – в таблице 5.

**Таблица 4** – Сравнительная клиническая характеристика групп пациентов на момент включения в исследование

	Пациенты с увеличением количества АСБ в сонных артериях (n = 45)	Пациенты без увеличения количества АСБ в сонных артериях (n = 35)	p
Возраст, лет	53 ± 6	53 ± 6	0,7
Пол (муж./жен.), n. (%)	30 (67%)/15 (33%)	17 (49%)/18 (51%)	0,1
Отягощенная наследственность по ССЗ, n. (%)	9 (20%)	8 (23%)	0,8
Курение, n. (%)	12 (27%)	10 (29%)	0,5
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	26,0 (24,0; 30,0)	25,7 (24,3; 28,6)	0,7
Ожирение, n. (%)	13 (29%)	7 (20%)	0,4
Гиперлипидемия (холестерин ЛНП ≥2,6 ммоль/л), n. (%)	45 (100%)	35 (100%)	1,0

**Примечание** – ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; Ожирение – индекс массы тела ≥30 кг/м<sup>2</sup>, ЛНП – липопротеиды низкой плотности. Статистический анализ выполнен критерием Манна-Уитни.

**Таблица 5** – Сравнение основных лабораторных показателей групп пациентов на момент включения в исследование

	<b>Пациенты с увеличением количества АСБ в сонных артериях (n = 45)</b>	<b>Пациенты без увеличения количества АСБ в сонных артериях (n = 35)</b>	<b>p</b>
Холестерин общий, ммоль/л	5,68 (5,12; 6,27)	5,70 (5,07; 6,25)	0,7
Холестерин ЛНП, ммоль/л	3,70 (3,20; 4,21)	3,80 (3,43; 4,34)	0,4
Холестерин ЛВП, ммоль/л	1,12 (1,0; 1,39)	1,10 (0,98; 1,32)	0,9
Триглицериды, ммоль/л	1,54 (1,01; 2,10)	1,28 (1,0; 1,89)	0,5
Лейкоциты, $\times 10^9$	6,9 (6,2; 7,9)	6,8 (5,7; 7,7)	0,3
СОЭ, мм/ч	5,0 (2,0; 10,0)	8,0 (4,0; 17,0)	0,07

**Примечание** – ЛВП – липопротеиды высокой плотности; ЛНП – липопротеиды низкой плотности; СОЭ – скорость оседания эритроцитов. Статистический анализ выполнен критерием Манна-Уитни.

На момент включения в исследование факторы сердечно-сосудистого риска, не представленные в таблице 4, в том числе артериальная гипертензия, сахарный диабет, хроническая болезнь почек, отсутствовали у пациентов. Пациенты не принимали гипотензивной, антиагрегантной, гипогликемической терапии. До включения в исследование пациенты не принимали гиполипидемической терапии.

Все 80 пациентов завершили семилетний период наблюдения. По окончании семилетнего наблюдения пациенты в зависимости от появления новых АСБ были разделены на группы с увеличением количества АСБ (группа с прогрессированием атеросклероза) и без увеличения количества АСБ (группа без прогрессирования атеросклероза) сонных артерий. В группу пациентов с прогрессированием атеросклероза сонных артерий вошло 45 (56%) пациентов, в том числе 30 мужчин (67%) и 15 женщин (33%) среднего возраста  $53 \pm 6$  лет. В группу пациентов без прогрессирования атеросклероза сонных артерий вошло 35 (44%) пациентов, в том числе 17 мужчин (49%) и 18 женщин (51%) среднего возраста  $53 \pm 6$  лет. Все пациенты с момента включения в исследование получали терапию аторвастатином. Пациенты в группе с прогрессированием атеросклероза получали терапию

аторвастатином в дозе 20 (20; 40) мг, в группе без прогрессирования атеросклероза – 20 (20; 40) мг в сутки ( $p = 0,7$ ).

В течение семилетнего наблюдения неблагоприятные сердечно-сосудистые события развились у 5 пациентов в группе с прогрессированием атеросклероза сонных артерий, в том числе инфаркт миокарда (2 человека), стенокардия напряжения (2 человека), ишемический инсульт (1 человек). У 6 (14%) пациентов развился сахарный диабет 2 типа и у 22 (51%) пациентов – артериальная гипертензия, требующая медикаментозной коррекции. В группе без прогрессирования атеросклероза сонных артерий неблагоприятные сердечно-сосудистые события (стенокардия напряжения) развились у 2 человек. У 1 (3%) пациента развился сахарный диабет 2 типа и у 16 (43%) пациентов – артериальная гипертензия, требующая медикаментозной коррекции. Клиническая характеристика пациентов по итогам наблюдения представлена в таблице 6, медикаментозная терапия – в таблице 7, основные лабораторные показатели – в таблице 8.

**Таблица 6** – Сравнительная клиническая характеристика групп пациентов по итогам наблюдения

	<b>Пациенты с увеличением количества АСБ в сонных артериях (n = 45)</b>	<b>Пациенты без увеличения количества АСБ в сонных артериях (n = 35)</b>	<b>p</b>
Возраст, лет	60 ± 6	60 ± 6	0,7
Пол (муж./жен.), n. (%)	30 (67%)/15 (33%)	17 (49%)/18 (51%)	0,1
Отягощенная наследственность по ССЗ, n. (%)	9 (20%)	8 (23%)	0,8
Курение, n. (%)	11 (24%)	6 (17%)	0,4
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	27,1 (24,4; 31,4)	26,9 (25,2; 29,4)	0,7
Ожирение, n. (%)	16 (36%)	8 (23%)	0,2

## Продолжение таблицы 6

	Пациенты с увеличением количества АСБ в сонных артериях (n = 45)	Пациенты без увеличения количества АСБ в сонных артериях (n = 35)	p
Гиперлипидемия (холестерин ЛНП $\geq 2,6$ ммоль/л), п. (%)	0	0	1,0
Гиперлипидемия (холестерин ЛНП $\geq 1,8$ ммоль/л), п. (%)	38 (84%)	27 (77%)	0,2
Неблагоприятные сердечно-сосудистые события, всего, п. (%)	5 (11%)	2 (6%)	0,4
Инфаркт миокарда, п. (%)	2 (4%)	0	
Стенокардия напряжения, п. (%)	2 (4%)	2 (6%)	
Ишемический инсульт, п. (%)	1 (2%)	0	
Артериальная гипертензия, п. (%)	22 (51%)	16 (43%)	0,8
Сахарный диабет 2 типа, п. (%)	6 (14%)	1 (3%)	0,1

**Примечание** – ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; Ожирение – индекс массы тела  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>, ЛНП – липопротеиды низкой плотности. Статистический анализ выполнен критерием Манна-Уитни.

**Таблица 7** – Сравнение медикаментозной терапии групп пациентов по итогам наблюдения

	Пациенты с увеличением количества АСБ в сонных артериях (n = 45)	Пациенты без увеличения количества АСБ в сонных артериях (n = 35)	p
Статины, п. (%)	45 (100%)	35 (100%)	1,0
Аторвастатин, мг	20,0 (20,0; 40,0)	20,0 (20,0; 40,0)	0,7
иАПФ/АРА, п. (%)	16 (36%)	10 (29%)	0,5
$\beta$ -адреноблокаторы, п. (%)	9 (20%)	10 (29%)	0,4
Диуретики, п. (%)	5 (11%)	4 (11%)	1,0
Антиагреганты, п. (%)	5 (11%)	2 (6%)	0,4
Гипогликемическая терапия, п. (%)	4 (9%)	1 (3%)	0,3

**Примечание** – иАПФ – ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента; АРА – антагонисты рецепторов ангиотензина. Статистический анализ выполнен критерием Манна-Уитни.

**Таблица 8** – Сравнение основных лабораторных показателей групп пациентов по итогам наблюдения

	<b>Пациенты с увеличением количества АСБ в сонных артериях (n = 45)</b>	<b>Пациенты без увеличения количества АСБ в сонных артериях (n = 35)</b>	<b>p</b>
Холестерин общий, ммоль/л	4,14 (3,84; 4,35)	3,99 (3,63; 4,38)	0,2
Холестерин ЛНП, ммоль/л	2,33 (2,05; 2,44)	2,15 (1,82; 2,34)	0,04
Холестерин ЛВП, ммоль/л	1,24 (1,08; 1,46)	1,22 (1,02; 1,48)	0,4
Триглицериды, ммоль/л	1,22 (0,95; 1,61)	1,11 (0,88; 1,35)	0,6
Лейкоциты, $\times 10^9$	6,9 (5,9; 7,8)	6,3 (5,6; 7,7)	0,3
СОЭ, мм/ч	10,0 (3,0; 15,0)	7,0 (4,0; 16,0)	0,8
мСРБ, мкг/л	6,3 (4,2; 9,8)	4,0 (2,45; 5,35)	0,0006
вчСРБ, мг/л	1,2 (0,7; 2,4)	0,9 (0,6; 1,6)	0,2
вчСРБ $\geq 2,0$ мг/л	18 (40%)	8 (23%)	0,1
ИЛ-6, пг/л	0,0 (0,0; 3,2)	0,0 (0,0; 2,14)	0,6

**Примечание** – ЛВП – липопротеиды высокой плотности; ЛНП – липопротеиды низкой плотности; СОЭ – скорость оседания эритроцитов; мСРБ – мономерная форма С-реактивного белка; вчСРБ – пентамерная форма С-реактивного белка, определенная высокочувствительным тестом; ИЛ-6 – интерлейкин-6. Статистический анализ выполнен критерием Манна-Уитни.

По итогам наблюдения группа пациентов с прогрессированием атеросклероза сонных артерий отличалась от группы пациентов без прогрессирования атеросклероза сонных артерий только по уровню мСРБ и ХС ЛНП.

### 3.2.2 Ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий

Исходно было обнаружено 93 АСБ (2,0 (1,0; 3,0) бляшки у одного больного) в группе пациентов с прогрессированием (n = 45) и 95 АСБ (3,0 (1,0; 4,0) бляшки у одного больного) в группе пациентов без прогрессирования атеросклероза сонных артерий (n = 35). По истечении семилетнего периода наблюдения обнаружено 160 АСБ (3,0 (2,0; 5,0) бляшки у одного больного) в группе пациентов с прогрессированием и 91 АСБ (3,0 (1,0; 4,0) бляшки у одного больного) в группе

пациентов без прогрессирования атеросклероза сонных артерий. Количественные ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий у пациентов с прогрессированием и без прогрессирования субклинического атеросклероза сонных артерий приведены в таблице 9, качественные ультразвуковые параметры – в таблице 10.

**Таблица 9** – Количественные ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий в группах пациентов с прогрессированием и без прогрессирования субклинического атеросклероза сонных артерий исходно и по результатам семилетнего наблюдения

	Пациенты с увеличением количества АСБ в сонных артериях (n = 45)			Пациенты без увеличения количества АСБ в сонных артериях (n = 35)		
	Исходно	7 лет	p	Исходно	7 лет	p
Количество АСБ, шт.	2,0 (1,0; 3,0)	3,0 (2,0; 5,0)	0,001	3,0 (1,0; 4,0)	3,0 (1,0; 4,0)	0,05
Сумма высот АСБ, мм	3,58 (2,54; 5,56)	7,04 (4,57; 12,49)	0,001	5,93 (2,29; 9,11)	5,63 (2,63; 9,42)	0,7
ТИМ правой ОСА, мм	0,71 (0,62; 0,82)	0,77 (0,67; 0,90)	0,001	0,66 (0,58; 0,71)	0,68 (0,60; 0,79)	0,01
ТИМ левой ОСА, мм	0,67 (0,61; 0,78)	0,74 (0,66; 0,87)	0,001	0,62 (0,60; 0,72)	0,64 (0,60; 0,84)	0,09
ТИМ усредненная, мм	0,69 (0,64; 0,80)	0,76 (0,69; 0,88)	0,001	0,66 (0,58; 0,72)	0,67 (0,60; 0,81)	0,01

**Примечание** – АСБ – атеросклеротическая бляшка; ТИМ – толщина интима-медиа; ОСА – общая сонная артерия. Статистический анализ выполнен критерием Уилкоксона.

**Таблица 10** – Качественные ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий в группах пациентов с прогрессированием и без прогрессирования субклинического атеросклероза сонных артерий исходно и по результатам семилетнего наблюдения

	Пациенты с увеличением количества АСБ в сонных артериях (n = 45)			Пациенты без увеличения количества АСБ в сонных артериях (n = 35)		
	Исходно	7 лет	p	Исходно	7 лет	p
Гладкая АСБ, шт. (%)	81 (87%)	140 (88%)	0,001	91 (96%)	81 (89%)	0,01
Неровная АСБ, шт. (%)	11 (12%)	18 (11%)	0,04	3 (3%)	8 (9%)	0,1
Изъязвленная АСБ, шт. (%)	1 (1%)	2 (1%)	0,6	1 (1%)	2 (2%)	0,3
Гомогенная АСБ, шт. (%)	25 (27%)	55 (34%)	0,002	22 (23%)	23 (25%)	0,8
Гетерогенная АСБ, шт. (%)	68 (73%)	105 (66%)	0,001	73 (77%)	68 (75%)	0,2
Кальцинированная АСБ, шт. (%)	11 (12%)	28 (18%)	0,002	8 (8%)	15 (16%)	0,02
Изоэхогенная АСБ, шт.	75 (81%)	99 (62%)	0,005	81 (86%)	71 (78%)	0,04
Гипоэхогенная АСБ, шт.	6 (6%)	7 (4%)	0,7	7 (7%)	1 (1%)	0,03
Гиперэхогенная АСБ, шт.	12 (13%)	54 (34%)	0,001	7 (7%)	19 (21%)	0,01
ШСМ, отн. ед.	61,8 (53,5; 73,5)	66,6 (55,0; 79,0)	0,5	68,4 (59,0; 76,1)	68,8 (57,6; 75,0)	0,6

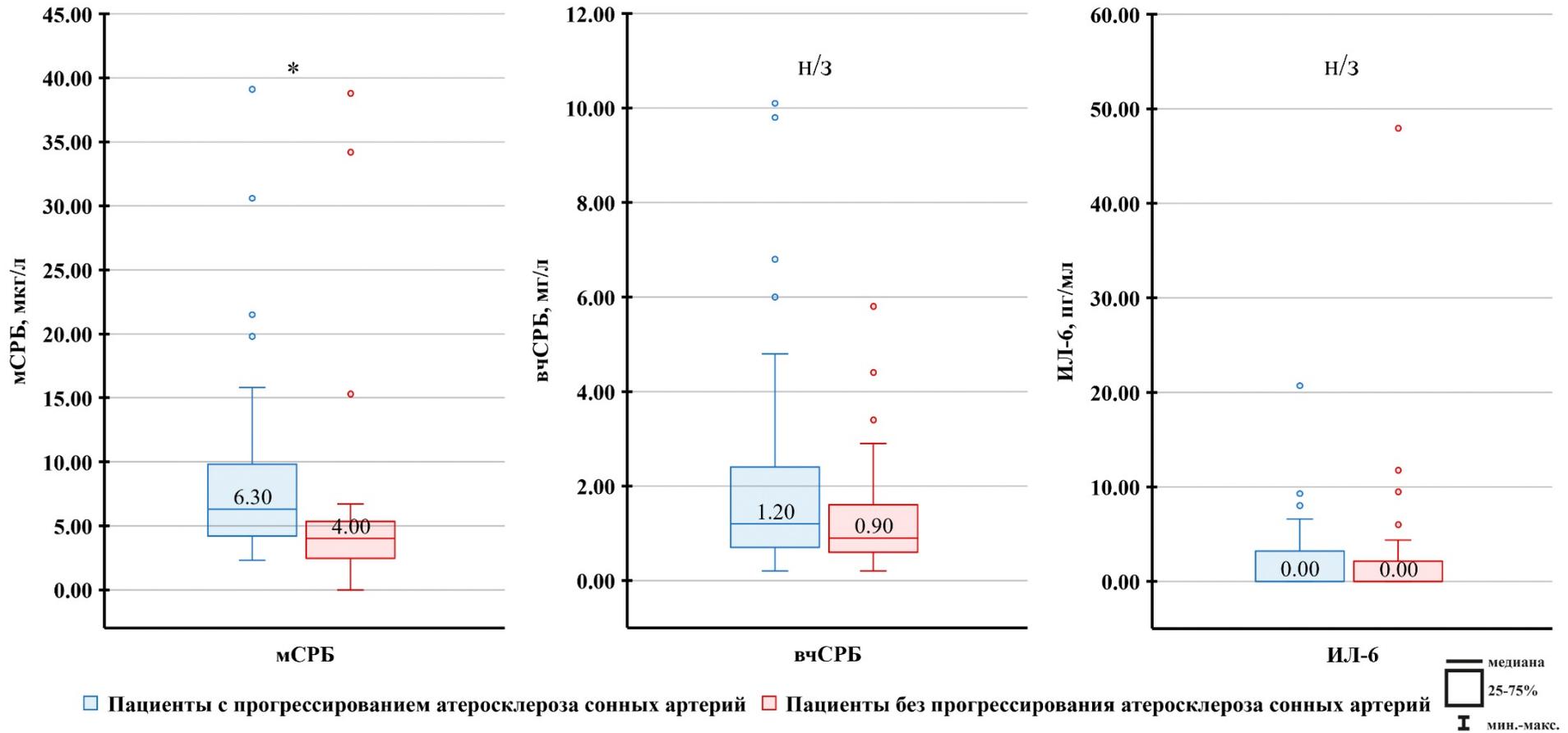
**Примечание** – АСБ – атеросклеротическая бляшка; ШСМ – медиана серой шкалы. Статистический анализ выполнен критерием Уилкоксона.

В группе пациентов с прогрессированием атеросклероза сонных артерий различие выявлено по всем ультразвуковым параметрам, кроме числа гипоэхогенных АСБ, изъязвленных АСБ, медианы серой шкалы. В группе пациентов без прогрессирования атеросклероза сонных артерий различие выявлено по ультразвуковым параметрам числа кальцинированных, изоэхогенных, гипоэхогенных, гиперэхогенных, гладких АСБ, ТИМ правой ОСА и усредненной ТИМ ( $p < 0,05$ , критерий Уилкоксона).

### **3.3 Исследование уровня биомаркеров воспаления (вчСРБ, мСРБ, ИЛ-6) в зависимости от прогрессирования атеросклероза сонных артерий у пациентов с исходно умеренным сердечно-сосудистым риском по шкале SCORE на терапии статинами по результатам семилетнего наблюдения**

Во всей выборке пациентов, включенных в исследование ( $n = 80$ ), уровень мСРБ составил 5,2 (3,3; 7,1) мкг/л, уровень вчСРБ составил 1,05 (0,7; 2,1) мг/л, уровень ИЛ-6 составил 0,0 (0,0; 2,8) пг/мл. В группе пациентов с прогрессированием, по сравнению с группой пациентов без прогрессирования атеросклероза сонных артерий, уровень мСРБ составил 6,3 (4,2; 9,8) мкг/л и 4,0 (2,45; 5,35) мкг/л,  $p = 0,0006$ ; уровень вчСРБ - 1,2 (0,7; 2,4) мг/л и 0,9 (0,6; 1,6) мг/л,  $p = 0,2$ ; уровень ИЛ-6 - 0,0 (0,0; 3,2) пг/мл и 0,0 (0,0; 2,14) пг/мл,  $p = 0,6$ , соответственно (рисунок 14). Уровень вчСРБ  $\geq 2,0$  мг/л выявлен у 26 пациентов, из которых 18 относились к группе с прогрессированием и 8 - к группе без прогрессирования атеросклероза сонных артерий ( $p = 0,1$ ). В подгруппе пациентов с уровнем вчСРБ  $< 2,0$  мг/л ( $n = 54$ ), уровень мСРБ составил 5,0 (3,1; 7,6) мкг/л, уровень вчСРБ составил 0,8 (0,5; 1,1) мг/л, уровень ИЛ-6 составил 0,0 (0,0; 2,3) пг/мл.

Корреляционный анализ показал, что уровень мСРБ не коррелировал с уровнем вчСРБ ( $r = 0,006$ ,  $p = 0,9$ ) и уровнем ИЛ-6 ( $r = 0,018$ ,  $p = 0,9$ ). Была выявлена слабая положительная корреляция уровня вчСРБ и уровня ИЛ-6 ( $r = 0,352$ ,  $p = 0,001$ ).



**Рисунок 14** – Уровень биомаркеров в крови пациентов с прогрессированием и без прогрессирования субклинического атеросклероза сонных артерий. мСРБ – мономерная форма С-реактивного белка; вчСРБ – пентамерная форма С-реактивного белка, определенная высокочувствительным тестом; ИЛ-6 – интерлейкин-6; \* -  $p < 0,05$ ; н/з – незначимый (критерий Манна-Уитни).

### 3.4 Изучение ультразвуковых параметров атеросклероза сонных артерий в зависимости от уровня мСРБ в крови у пациентов с исходно умеренным сердечно-сосудистым риском по шкале SCORE на терапии статинами по результатам семилетнего наблюдения

#### 3.4.1 Клиническая характеристика пациентов

По медиане уровня мСРБ пациенты были разделены на 2 группы. К группе с уровнем мСРБ <5,2 мкг/л относились 39 пациентов (21 мужчина и 18 женщин), к группе с уровнем мСРБ ≥5,2 мкг/л — 41 пациент (26 мужчин и 15 женщин). Клиническая характеристика пациентов по итогам наблюдения в зависимости от уровня мСРБ представлена в таблице 11, медикаментозная терапия – в таблице 12, основные лабораторные показатели – в таблице 13.

**Таблица 11** – Сравнительная клиническая характеристика групп пациентов в зависимости от уровня мСРБ по итогам наблюдения

	Пациенты с уровнем мСРБ <5,2 мкг/л (n = 39)	Пациенты с уровнем мСРБ ≥5,2 мкг/л (n = 41)	P
Возраст, лет	60 ± 6	61 ± 6	0,2
Пол (муж./жен.), n. (%)	21 (54%)/18(46%)	26 (63%)/15 (37%)	0,4
Отягощенная наследственность по ССЗ, n. (%)	9 (23%)	8 (20%)	0,7
Курение, n. (%)	4 (10%)	13 (32%)	0,8
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	27,4 (25,7; 31,3)	26,1 (24,1; 30,2)	0,1
Ожирение, n. (%)	13 (33%)	11 (27%)	0,9
Гиперлипидемия (холестерин ЛНП ≥2,6 ммоль/л), n. (%)	0	0	1,0
Гиперлипидемия (холестерин ЛНП ≥1,8 ммоль/л), n. (%)	29 (74%)	36 (88%)	0,1

## Продолжение таблицы 11

	Пациенты с уровнем мСРБ <5,2 мкг/л (n = 39)	Пациенты с уровнем мСРБ ≥5,2 мкг/л (n = 41)	P
Неблагоприятные сердечно-сосудистые события, всего, n. (%)	2 (5%)	5 (12%)	0,3
Инфаркт миокарда, n. (%)	0	2 (3%)	
Стенокардия напряжения, n. (%)	2 (5%)	2 (3%)	
Ишемический инсульт, n. (%)	0	1 (2%)	
Артериальная гипертензия, n. (%)	20 (51%)	18 (44%)	0,5
Сахарный диабет 2 типа, n. (%)	4 (10%)	3 (7%)	0,6

**Примечание** – ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; Ожирение – индекс массы тела  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>, ЛНП – липопротеиды низкой плотности. Статистический анализ выполнен критерием Манна-Уитни.

**Таблица 12** – Сравнение медикаментозной терапии групп пациентов в зависимости от уровня мСРБ по итогам наблюдения

	Пациенты с уровнем мСРБ <5,2 мкг/л (n = 39)	Пациенты с уровнем мСРБ ≥5,2 мкг/л (n = 41)	P
Статины, n. (%)	39 (100%)	41 (100%)	1,0
Аторвастатин, мг	20,0 (20,0; 40,0)	20,0 (20,0; 40,0)	0,7
иАПФ/АРА, n. (%)	14 (36%)	12 (29%)	0,5
β-адреноблокаторы, n. (%)	8 (21%)	11 (27%)	0,5
Диуретики, n. (%)	3 (8%)	6 (15%)	0,3
Антиагреганты, n. (%)	2 (5%)	5 (12%)	0,3
Гипогликемическая терапия, n. (%)	4 (10%)	1 (2%)	0,2

**Примечание** –иАПФ – ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента; АРА – антагонисты рецепторов ангиотензина. Статистический анализ выполнен критерием Манна-Уитни.

**Таблица 13** – Сравнение основных лабораторных показателей групп пациентов в зависимости от уровня мСРБ по итогам наблюдения

	Пациенты с уровнем мСРБ <5,2 мкг/л (n = 39)	Пациенты с уровнем мСРБ ≥5,2 мкг/л (n = 41)	P
Холестерин общий, ммоль/л	4,07 (3,63; 4,36)	4,12 (3,82; 4,35)	0,4
Холестерин ЛНП, ммоль/л	2,20 (1,82; 2,39)	2,29 (2,08; 2,44)	0,1
Холестерин ЛВП, ммоль/л	1,22 (1,02; 1,51)	1,24 (1,08; 1,45)	0,8
Триглицериды, ммоль/л	1,10 (0,86; 1,59)	1,21 (1,0; 1,61)	0,4
Лейкоциты, $\times 10^9$	6,4 (5,7; 7,6)	6,7 (5,5; 8,1)	0,6
СОЭ, мм/ч	10,0 (5,0; 16,0)	5,0 (2,0; 15,0)	0,1
мСРБ, мкг/л	3,2 (2,4; 4,1)	7,1 (5,8; 15,1)	0,0001
вчСРБ, мг/л	1,0 (0,7; 2,05)	1,1 (0,7; 2,2)	0,8
вчСРБ ≥2,0 мг/л	11 (28%)	15 (37%)	0,4
ИЛ-6, пг/л	0,0 (0,0; 2,61)	0,0 (0,0; 2,8)	0,7

**Примечание** – ЛВП – липопротеиды высокой плотности; ЛНП – липопротеиды низкой плотности; СОЭ – скорость оседания эритроцитов; мСРБ – мономерная форма С-реактивного белка; вчСРБ – пентамерная форма С-реактивного белка, определенная высокочувствительным тестом; ИЛ-6 – интерлейкин-6. Статистический анализ выполнен критерием Манна-Уитни.

Пациенты группы с уровнем мСРБ ниже медианы не отличались ни по одному показателю от пациентов группы с уровнем мСРБ равном и выше медианы.

### 3.4.2 Ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий

Исходно было обнаружено 99 АСБ (3,0 (1,0; 4,0) бляшки у одного больного) в группе пациентов с уровнем мСРБ <5,2 мкг/л (n = 39) и 89 АСБ (2,0 (1,0; 3,0) бляшки у одного больного) в группе пациентов с уровнем мСРБ ≥5,2 мкг/л (n = 41). По итогам наблюдения было обнаружено 113 АСБ (3,0 (2,0; 4,0) бляшки у одного больного) в группе пациентов с уровнем мСРБ <5,2 мкг/л и 138 АСБ (3,0 (2,0; 4,0) бляшки у одного больного) в группе пациентов с уровнем мСРБ ≥5,2 мкг/л. Количественные ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий в зависимости от уровня мСРБ приведены в таблице 14, качественные ультразвуковые параметры атеросклероза – в таблице 15.

**Таблица 14** – Количественные ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий в зависимости от уровня мСРБ

	Пациенты с уровнем мСРБ <5,2 мкг/л (n = 39)			Пациенты с уровнем мСРБ ≥5,2 мкг/л (n = 41)		
	Исходно	7 лет	p	Исходно	7 лет	p
Количество АСБ, шт.	3,0 (1,0; 4,0)	3,0 (2,0; 4,0)	0,01	2,0 (1,0; 3,0)	3,0 (2,0; 4,0)	0,001
Сумма высот АСБ, мм	5,56 (2,57; 8,13)	6,21 (3,97; 10,13)	0,02	3,70 (2,34; 5,51)	7,04 (4,45; 11,30)	0,001
ТИМ правой ОСА, мм	0,66 (0,58; 0,71)	0,70 (0,61; 0,79)	0,001	0,72 (0,62; 0,81)	0,77 (0,65; 0,89)	0,003
ТИМ левой ОСА, мм	0,62 (0,60; 0,75)	0,70 (0,61; 0,84)	0,001	0,67 (0,61; 0,78)	0,72 (0,61; 0,91)	0,08
ТИМ усредненная, мм	0,66 (0,58; 0,72)	0,70 (0,63; 0,82)	0,001	0,71 (0,64; 0,80)	0,74 (0,65; 0,87)	0,003

**Примечание** – АСБ – атеросклеротическая бляшка; ТИМ – толщина интима-медиа; ОСА – общая сонная артерия. Статистический анализ выполнен критерием Уилкоксона.

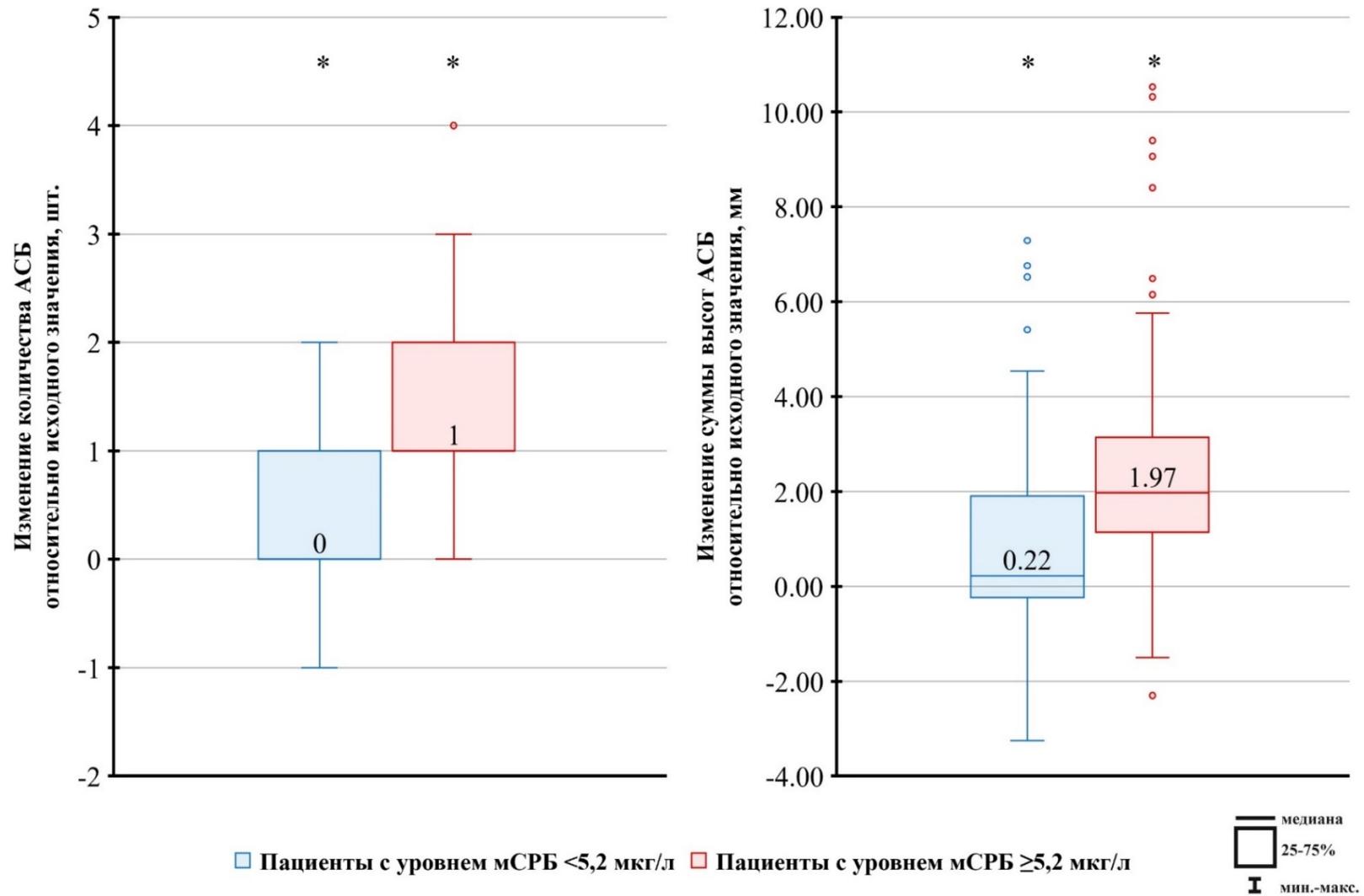
**Таблица 15** – Качественные ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий в зависимости от уровня мСРБ

	Пациенты с уровнем мСРБ <5,2 мкг/л (n = 39)			Пациенты с уровнем мСРБ ≥5,2 мкг/л (n = 41)		
	Исходно	7 лет	p	Исходно	7 лет	p
Гладкая АСБ, шт. (%)	93 (94%)	101 (89%)	0,2	79 (89%)	120 (87%)	0,001
Неровная АСБ, шт. (%)	4 (4%)	11 (10%)	0,04	10 (11%)	15 (11%)	0,1
Изъязвленная АСБ, шт. (%)	2 (2%)	1 (1%)	0,3	0	3 (2%)	0,08
Гомогенная АСБ, шт. (%)	26 (26%)	34 (30%)	0,3	21 (24%)	44 (32%)	0,001
Гетерогенная АСБ, шт. (%)	73 (74%)	79 (70%)	0,7	68 (76%)	94 (68%)	0,001
Кальцинированная АСБ, шт. (%)	7 (7%)	16 (14%)	0,02	12 (13%)	27 (20%)	0,001
Изоэхогенная АСБ, шт.	86 (87%)	77 (68%)	0,1	70 (79%)	93 (67%)	0,005
Гипоэхогенная АСБ, шт.	7 (7%)	3 (3%)	0,2	6 (7%)	5 (4%)	0,7
Гиперэхогенная АСБ, шт.	6 (6%)	33 (29%)	0,001	13 (15%)	40 (29%)	0,001
ШСМ, отн. ед.	63,7 (54,2; 75,4)	68,5 (57,6; 77,3)	0,6	67,0 (56,6; 74,1)	66,6 (54,4; 75,6)	0,4

**Примечание** – АСБ – атеросклеротическая бляшка; ШСМ – медиана серой шкалы. Статистический анализ выполнен критерием Уилкоксона.

Появление новых АСБ отмечалось у 14 (36%) пациентов с уровнем мСРБ  $<5,2$  мкг/л и у 31 (76%) пациента с уровнем мСРБ  $\geq 5,2$  мкг/л. В группе пациентов с уровнем мСРБ  $<5,2$  мкг/л различие выявлено по количественным ультразвуковым параметрам, доле АСБ с неровной поверхностью, кальцинированных АСБ, гиперэхогенных АСБ. В группе пациентов с уровнем мСРБ  $\geq 5,2$  мкг/л различие выявлено по всем ультразвуковым параметрам, кроме ТИМ левой ОСА, медианы серой шкалы, доле АСБ с неровной поверхностью, АСБ с изъязвленной поверхностью, гипоехогенных АСБ ( $p < 0,05$ , критерий Уилкоксона).

На рисунке 15 представлено изменение количества АСБ и суммарной высоты АСБ относительно исходного значения, в зависимости от уровня мСРБ.



**Рисунок 15** – Изменение количества АСБ и суммарной высоты АСБ относительно исходного значения, в зависимости от уровня мСРБ. АСБ – атеросклеротическая бляшка; мСРБ – мономерная форма С-реактивного белка; \* -  $p < 0,05$  (критерий Уилкоксона).

### 3.4.3 Отношение шансов прогрессирования субклинического атеросклероза в зависимости от уровня мСРБ

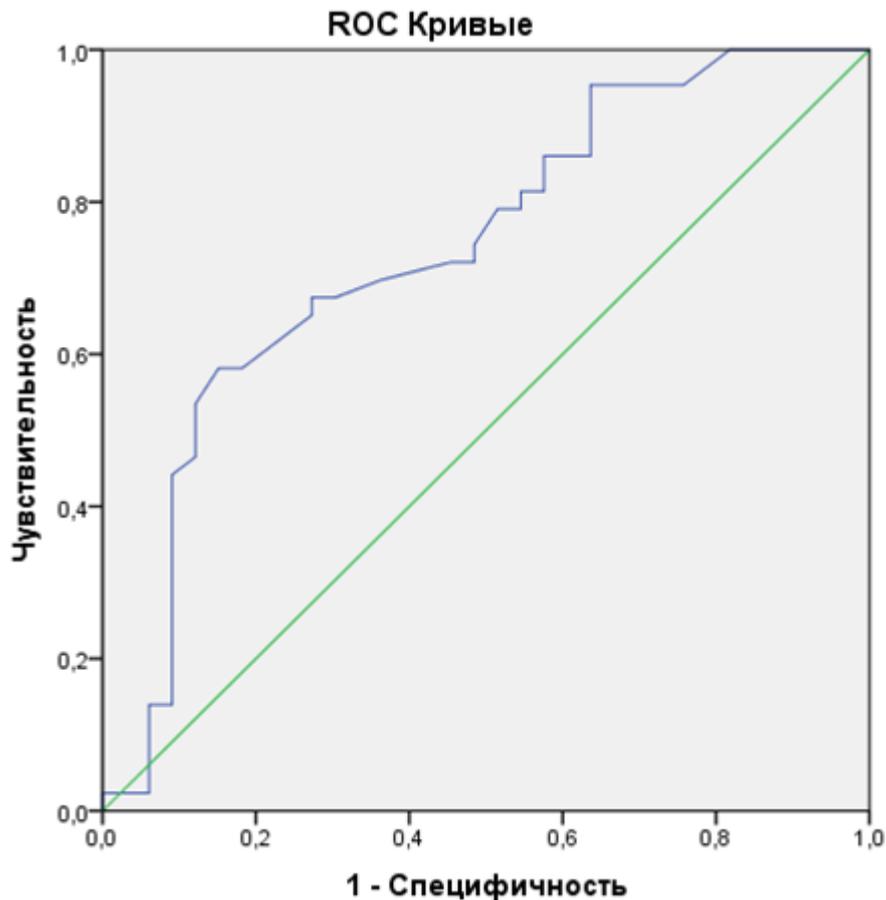
Нескорректированное отношение шансов прогрессирования субклинического атеросклероза сонных артерий у пациентов с уровнем мСРБ равном и выше медианы (5,2 мкг/л) составило 5,5 (95% доверительный интервал (ДИ) 2,1-14,6,  $p = 0,001$ ). Для учета влияния основных факторов риска и биомаркеров на связь уровня мСРБ и прогрессирования атеросклероза сонных артерий, был выполнен логистический регрессионный анализ. Наилучшая комбинация переменных получена путем последовательного включения или исключения факторов в логистическую регрессионную модель. В модель вошли уровень мСРБ  $\geq 5,2$  мкг/л, уровень вчСРБ, уровень ХС ЛНП по результатам наблюдения и мужской пол. Другие факторы риска и биомаркеры исключены из модели, поскольку не влияли на уровень значимости или ухудшали предсказующую силу модели. Модель давала 75,0% правильных предсказаний при уровне значимости  $p = 0,001$ . Скорректированное по факторам риска и биомаркерам отношение шансов прогрессирования субклинического атеросклероза сонных артерий у пациентов с уровнем мСРБ равном и выше медианы составило 4,74 (95% ДИ 1,70-13,24). Результаты логистического регрессионного анализа приведены в таблице 16.

**Таблица 16** – Логистическая регрессионная модель, предсказывающая прогрессирование атеросклероза сонных артерий

Переменная	Коэффициент ( $\beta$ )	Скорректированное ОШ (95% ДИ)	p
Константа	-4,00	0,02	0,02
Уровень мСРБ $\geq 5,2$ мкг/л	1,56	4,74 (1,70-13,24)	0,001
Уровень вчСРБ, мг/л	0,30	1,35 (0,98-1,86)	0,06
Уровень достигнутого ХС ЛНП, ммоль/л	1,14	3,12 (0,69-14,08)	0,1
Мужской пол	0,94	2,57 (0,90-7,36)	0,08

**Примечание** – мСРБ – мономерная форма С-реактивного белка; вчСРБ – пентамерная форма С-реактивного белка, определенная высокочувствительным тестом; ХС ЛНП – холестерин липопротеидов низкой плотности; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал.

Для оценки связи уровня мСРБ с прогрессированием субклинического атеросклероза сонных артерий выполнен receiver operating characteristic (ROC) анализ. Для мСРБ площадь под кривой (AUC) составила  $0,75 \pm 0,056$  (95% ДИ 0,64; 0,86,  $p = 0,001$ ). Оптимальное сочетание чувствительности (0,69) и специфичности (0,71) достигалось при пороге отсечения мСРБ 5,1 мкг/л (рисунок 16).



**Рисунок 16** – Receiver operating characteristic (ROC)-кривая, описывающая связь уровня мСРБ с увеличением количества атеросклеротических бляшек в сонных артериях. Площадь под кривой (AUC) составила  $0,75 \pm 0,056$  (95% доверительный интервал 0,64; 0,86,  $p = 0,001$ ).

### 3.5 Изучение ультразвуковых параметров атеросклероза сонных артерий в зависимости от уровня мСРБ в крови в подгруппе пациентов с низким резидуальным воспалительным сердечно-сосудистым риском (с уровнем вЧСРБ <2,0 мг/л) по результатам семилетнего наблюдения

#### 3.5.1 Клиническая характеристика пациентов

В подгруппу пациентов с уровнем вЧСРБ <2,0 мг/л вошли 54 человека, в том числе 33 (61%) мужчины и 21 (39%) женщина. В этой подгруппе медиана мСРБ составила 5,0 (3,1; 7,6) мкг/л. Пациенты были разделены по медиане уровня мСРБ. К группе с уровнем мСРБ <5,0 мкг/л относились 26 пациентов (15 мужчин и 11 женщин), к группе с уровнем мСРБ  $\geq$ 5,0 мкг/л — 28 пациентов (18 мужчин и 10 женщин). Клиническая характеристика пациентов по итогам наблюдения в зависимости от уровня мСРБ представлена в таблице 17, медикаментозная терапия – в таблице 18, основные лабораторные показатели – в таблице 19.

**Таблица 17** – Сравнительная клиническая характеристика пациентов подгруппы с уровнем вЧСРБ <2,0 мг/л в зависимости от уровня мСРБ по итогам наблюдения

	Пациенты с уровнем вЧСРБ <2,0 мг/л и уровнем мСРБ <5,0 мкг/л (n = 26)	Пациенты с уровнем вЧСРБ <2,0 мг/л и уровнем мСРБ $\geq$ 5,0 мкг/л (n = 28)	p
Возраст, лет	60 $\pm$ 6	62 $\pm$ 6	0,2
Пол (муж./жен.), n. (%)	15 (58%)/11 (42%)	18 (64%)/10 (36%)	0,6
Отягощенная наследственность по ССЗ, n. (%)	6 (23%)	7 (25%)	0,9
Курение, n. (%)	2 (8%)	7 (25%)	0,5
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	27,4 (25,3; 31,1)	25,8 (23,9; 27,7)	0,1
Ожирение, n. (%)	8 (31%)	6 (21%)	0,9
Гиперлипидемия (холестерин ЛНП $\geq$ 2,6 ммоль/л), n. (%)	0	0	1

## Продолжение таблицы 17

	Пациенты с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л и уровнем мСРБ <5,0 мкг/л (n = 26)	Пациенты с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л и уровнем мСРБ ≥5,0 мкг/л (n = 28)	p
Гиперлипидемия (холестерин ЛНП ≥1,8 ммоль/л), n. (%)	19 (73%)	25 (89%)	0,1
Неблагоприятные сердечно-сосудистые события, всего, n. (%)	1 (4%)	2 (7%)	0,6
Инфаркт миокарда, n. (%)	0	2 (7%)	
Стенокардия напряжения, n. (%)	1 (4%)	0	
Ишемический инсульт, n. (%)	0	0	
Артериальная гипертензия, n. (%)	12 (46%)	12 (43%)	0,8
Сахарный диабет 2 типа, n. (%)	2 (8%)	2 (7%)	0,9

**Примечание** – ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; Ожирение – индекс массы тела  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>, ЛНП – липопротеиды низкой плотности. Статистический анализ выполнен критерием Манна-Уитни

**Таблица 18** – Сравнение медикаментозной терапии пациентов подгруппы с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л в зависимости от уровня мСРБ по итогам наблюдения

	Пациенты с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л и уровнем мСРБ <5,0 мкг/л (n = 26)	Пациенты с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л и уровнем мСРБ ≥5,0 мкг/л (n = 28)	p
Статины, n. (%)	26 (100%)	28 (100%)	1,0
Аторвастатин, мг	20,0 (20,0; 40,0)	20,0 (20,0; 22,5)	0,8
иАПФ/АРА, n. (%)	9 (35%)	8 (29%)	0,6
β-адреноблокаторы, n. (%)	5 (19%)	6 (21%)	0,8
Диуретики, n. (%)	1 (4%)	5 (18%)	0,1
Антиагреганты, n. (%)	1 (4%)	2 (7%)	0,6
Гипогликемическая терапия, n. (%)	2 (8%)	1 (4%)	0,5

**Примечание** –иАПФ – ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента; АРА – антагонисты рецепторов ангиотензина. Статистический анализ выполнен критерием Манна-Уитни.

**Таблица 19** – Сравнение основных лабораторных показателей пациентов подгруппы с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л в зависимости от уровня мСРБ по итогам наблюдения

	<b>Пациенты с уровнем вчСРБ &lt;2,0 мг/л и уровнем мСРБ &lt;5,0 мкг/л (n = 26)</b>	<b>Пациенты с уровнем вчСРБ &lt;2,0 мг/л и уровнем мСРБ ≥5,0 мкг/л (n = 28)</b>	<b>p</b>
Холестерин общий, ммоль/л	4,03 (3,62; 4,40)	4,12 (3,86; 4,36)	0,3
Холестерин ЛНП, ммоль/л	2,14 (1,68; 2,39)	2,36 (2,10; 2,46)	0,02
Холестерин ЛВП, ммоль/л	1,22 (1,01; 1,57)	1,28 (1,14; 1,45)	0,5
Триглицериды, ммоль/л	1,06 (0,78; 1,51)	1,18 (0,97; 1,50)	0,5
Лейкоциты, $\times 10^9$	6,2 (5,3; 7,4)	6,8 (5,9; 8,1)	0,1
мСРБ, мкг/л	3,05 (2,4; 4,03)	7,45 (5,7; 15,2)	0,0001
вчСРБ, мг/л	0,85 (0,56; 1,13)	0,70 (0,50; 1,08)	0,4
СОЭ, мм/ч	11,0 (4,0; 16,0)	13,0 (3,0; 21,0)	0,5
ИЛ-6, пг/л	0,0 (0,0; 3,22)	0,0 (0,0; 1,9)	0,4

**Примечание** – ЛВП – липопротеиды высокой плотности; ЛНП – липопротеиды низкой плотности; СОЭ – скорость оседания эритроцитов; мСРБ – мономерная форма С-реактивного белка; вчСРБ – пентамерная форма С-реактивного белка, определенная высокочувствительным тестом; ИЛ-6 – интерлейкин-6. Статистический анализ выполнен критерием Манна-Уитни.

В подгруппе с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л пациенты с уровнем мСРБ ниже медианы отличались от пациентов с уровнем мСРБ равном и выше медианы по уровню ХС ЛНП.

### 3.5.2 Ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий

Исходно было обнаружено 69 АСБ (2,5 (1,25; 4,0) бляшки у одного больного) в группе пациентов с уровнем мСРБ <5,0 мкг/л (n = 26) и 53 АСБ (1,5 (1,0; 3,0) бляшки у одного больного) в группе пациентов с уровнем мСРБ ≥5,0 мкг/л (n = 28). По итогам наблюдения обнаружено 76 АСБ (3,0 (2,0; 4,0) бляшки у одного больного) в группе пациентов с уровнем мСРБ <5,0 мкг/л и 82 АСБ (3,0 (2,0; 4,0) бляшки у одного больного) в группе пациентов с уровнем мСРБ ≥5,0 мкг/л. Количественные ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий в

подгруппе пациентов с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л в зависимости от уровня мСРБ приведены в таблице 20, качественные ультразвуковые параметры – в таблице 21.

**Таблица 20** – Количественные ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий в подгруппе пациентов с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л в зависимости от уровня мСРБ

	Пациенты с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л и уровнем мСРБ <5,0 мкг/л (n = 26)			Пациенты с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л и уровнем мСРБ ≥5,0 мкг/л (n = 28)		
	Исходно	7 лет	p	Исходно	7 лет	p
Количество АСБ, шт.	2,5 (1,25; 4,0)	3,0 (2,0; 4,0)	0,09	1,5 (1,0; 3,0)	3,0 (2,0; 4,0)	0,001
Сумма высот АСБ, мм	5,62 (3,40; 8,03)	6,19 (4,10; 9,13)	0,08	3,42 (2,26; 5,37)	6,39 (3,42; 10,89)	0,001
ТИМ правой ОСА, мм	0,67 (0,59; 0,71)	0,71 (0,60; 0,87)	0,007	0,70 (0,62; 0,77)	0,76 (0,65; 0,82)	0,01
ТИМ левой ОСА, мм	0,67 (0,60; 0,77)	0,77 (0,62; 0,86)	0,009	0,65 (0,61; 0,72)	0,71 (0,61; 0,80)	0,09
ТИМ усредненная, мм	0,68 (0,58; 0,77)	0,73 (0,61; 0,84)	0,004	0,68 (0,64; 0,72)	0,72 (0,65; 0,81)	0,01

**Примечание** – АСБ – атеросклеротическая бляшка; ТИМ – толщина интима-медиа; ОСА – общая сонная артерия. Статистический анализ выполнен критерием Уилкоксона.

**Таблица 21** – Качественные ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий в подгруппе пациентов с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л в зависимости от уровня мСРБ

	Пациенты с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л и уровнем мСРБ <5,0 мкг/л (n = 26)			Пациенты с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л и уровнем мСРБ ≥5,0 мкг/л (n = 28)		
	Исходно	7 лет	p	Исходно	7 лет	p
Гладкая АСБ, шт. (%)	68 (98%)	71 (93%)	0,6	46 (87%)	73 (89%)	0,001
Неровная АСБ, шт. (%)	0	5 (7%)	0,06	7 (13%)	9 (11%)	0,5
Изъязвленная АСБ, шт. (%)	1 (2%)	0	0,3	0	0	1,0
Гомогенная АСБ, шт. (%)	18 (26%)	24 (32%)	0,3	14 (26%)	31 (38%)	0,003
Гетерогенная АСБ, шт. (%)	51 (74%)	52 (68%)	0,9	39 (74%)	51 (62%)	0,02
Кальцинированная АСБ, шт. (%)	1 (2%)	6 (8%)	0,06	8 (15%)	15 (18%)	0,04

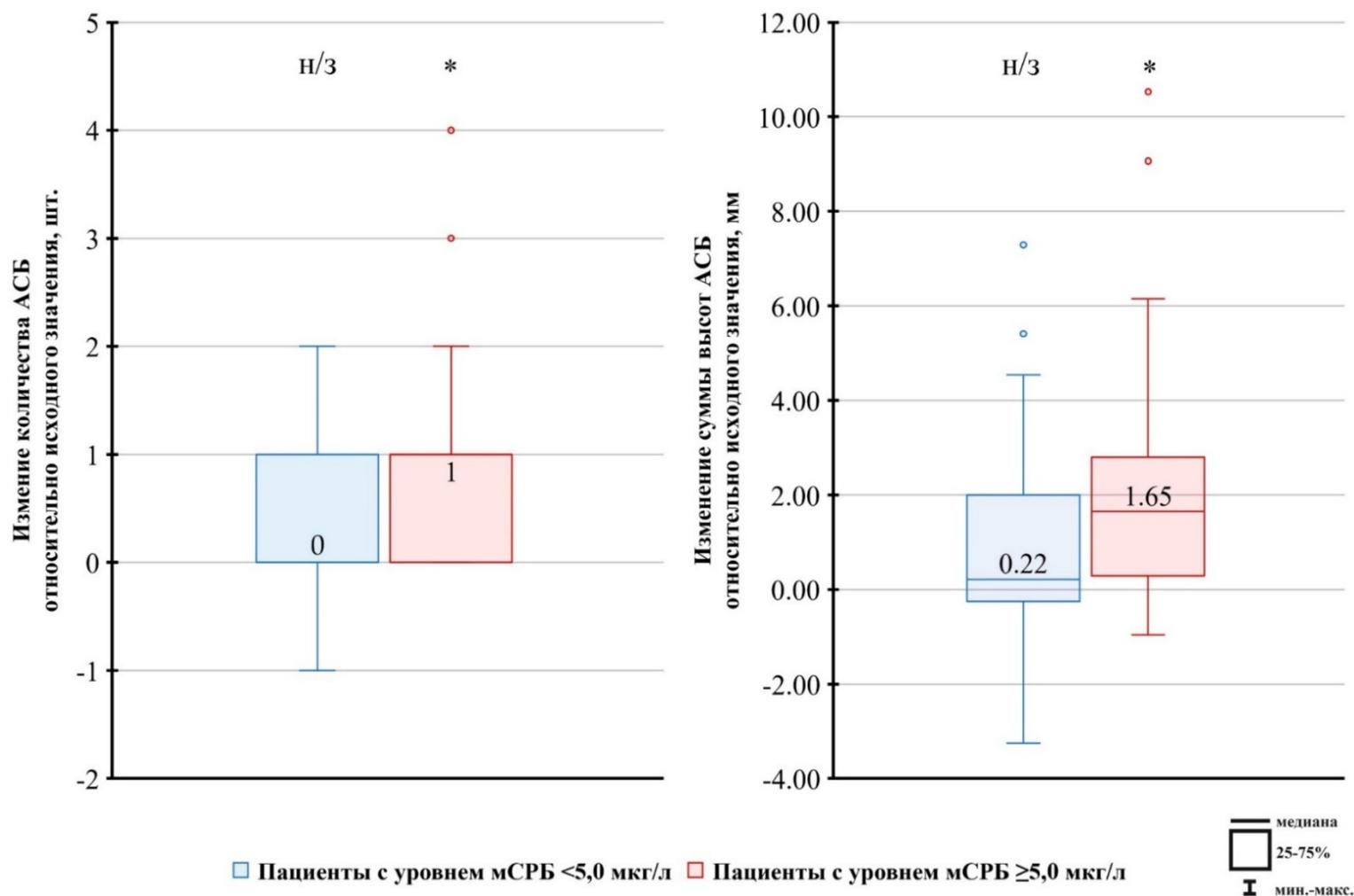
## Продолжение таблицы 21

	Пациенты с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л и уровнем мСРБ <5,0 мкг/л (n = 26)			Пациенты с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л и уровнем мСРБ ≥5,0 мкг/л (n = 28)		
	Исходно	7 лет	p	Исходно	7 лет	p
Изоэхогенная АСБ, шт.	62 (90%)	51 (67%)	0,02	42 (79%)	54 (66%)	0,07
Гипоэхогенная АСБ, шт.	3 (4%)	2 (3%)	0,3	5 (9%)	3 (4%)	0,6
Гиперэхогенная АСБ, шт.	4 (6%)	23 (30%)	0,001	6 (11%)	25 (30%)	0,002
ШСМ, отн. ед.	63,0 (52,2; 71,8)	66,3 (58,6; 79,4)	0,3	68,6 (57,0; 77,6)	67,5 (56,3; 76,0)	0,9

**Примечание** – АСБ – атеросклеротическая бляшка; ШСМ – шкала серой медианы. Статистический анализ выполнен критерием Уилкоксона.

В подгруппе пациентов с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л появление новых АСБ выявлено у 8 (31%) пациентов с уровнем мСРБ <5,0 мкг/л и у 19 (68%) пациентов с уровнем мСРБ ≥5,0 мкг/л. У пациентов с уровнем мСРБ <5,0 мкг/л различие выявлено по ультразвуковым параметрам ТИМ правой и левой ОСА, усредненной ТИМ, доле изоэхогенных и гиперэхогенных АСБ. У пациентов с уровнем мСРБ ≥5,0 мкг/л различие выявлено по всем количественным и качественным ультразвуковым параметрам, кроме ТИМ левой ОСА, медиане серой шкалы, доле АСБ с неровной поверхностью, АСБ с изъязвленной поверхностью, изоэхогенных и гипоэхогенных АСБ (p <0,05, критерий Уилкоксона).

На рисунке 17 представлено изменение количества АСБ и суммарной высоты АСБ относительно исходного значения, в зависимости от уровня мСРБ в подгруппе пациентов с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л.



**Рисунок 17** – Изменение количества АСБ и суммарной высоты АСБ относительно исходного значения, в зависимости от уровня мСРБ в подгруппе пациентов с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л. АСБ – атеросклеротическая бляшка; мСРБ – мономерная форма С-реактивного белка; вчСРБ – пентамерная форма С-реактивного белка, определенная высокочувствительным тестом; \* -  $p < 0,05$ , н/з - незначимый (критерий Уилкоксона).

### 3.5.3 Отношение шансов прогрессирования субклинического атеросклероза в зависимости от уровня мСРБ

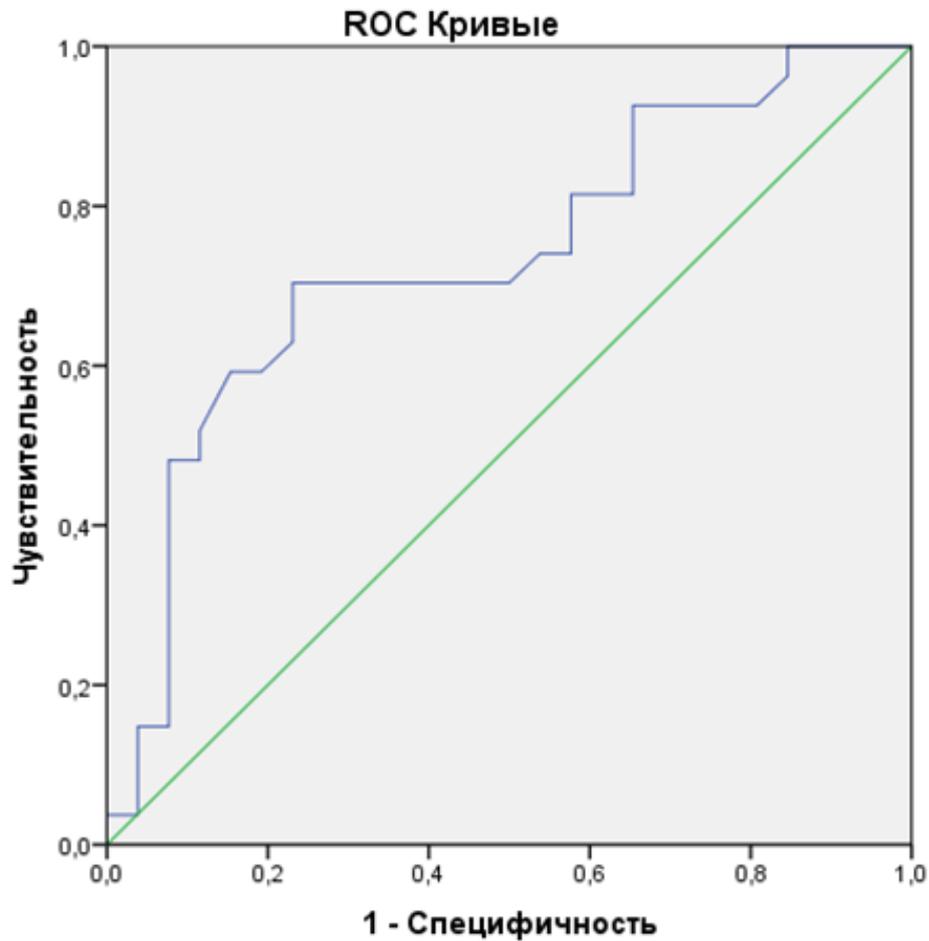
Нескорректированное отношение шансов прогрессирования субклинического атеросклероза сонных артерий у пациентов с уровнем мСРБ равном и выше медианы (5,0 мкг/л) составило 4,8 (95% ДИ 1,5-15,0,  $p = 0,002$ ). Для учета влияния основных факторов риска и биомаркеров на связь уровня мСРБ и прогрессирования атеросклероза сонных артерий, был выполнен логистический регрессионный анализ согласно описанию, данному ранее в разделе 3.4.3. В модель вошли уровень мСРБ  $\geq 5,0$  мкг/л, уровень ХС ЛНП по результатам наблюдения и мужской пол. Модель давала 66,7% правильных предсказаний при уровне значимости  $p = 0,03$ . Скорректированное по факторам риска и биомаркерам отношение шансов прогрессирования субклинического атеросклероза сонных артерий у пациентов с уровнем вчСРБ  $< 2,0$  мг/л и уровнем мСРБ равном и выше медианы составило 4,14 (95% ДИ 1,25-13,72). Результаты логистического регрессионного анализа приведены в таблице 22.

**Таблица 22** – Логистическая регрессионная модель, предсказывающая прогрессирование атеросклероза сонных артерий у пациентов с уровнем вчСРБ  $< 2,0$  мг/л

Переменная	Коэффициент ( $\beta$ )	Скорректированное ОШ (95% ДИ)	p
Константа	-2,43	0,088	0,2
Уровень мСРБ $\geq 5,0$ мкг/л	1,42	4,14 (1,25-13,72)	0,02
Уровень достигнутого ХС ЛНП, ммоль/л	0,65	1,92 (0,33-11,23)	0,5
Мужской пол	0,46	1,59 (0,48-5,23)	0,4

**Примечание** – мСРБ – мономерная форма С-реактивного белка; ХС ЛНП – холестерин липопротеидов низкой плотности; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал.

Для оценки связи уровня мСРБ с прогрессированием субклинического атеросклероза сонных артерий выполнен ROC анализ. AUC составила  $0,74 \pm 0,069$  (95% ДИ 0,61; 0,88,  $p = 0,002$ ). Оптимальное сочетание чувствительности (0,70) и специфичности (0,78) достигалось при пороге отсечения мСРБ 5,3 мкг/л (рисунок 18).



**Рисунок 18** – Receiver operating characteristic (ROC)-кривая, описывающая связь уровня мСРБ с увеличением количества атеросклеротических бляшек в сонных артериях у пациентов с уровнем вСРБ  $<2,0$  мг/л. Площадь под кривой (AUC) составила  $0,75 \pm 0,056$  (95% доверительный интервал 0,64; 0,86,  $p = 0,001$ ).

### 3.5.4 Клинический пример

В качестве примера связи повышенного уровня мСРБ и неблагоприятного течения заболевания приводится следующее клиническое наблюдение. Пациент Г. был включён в исследование в возрасте 52 лет. Пациент никогда не курил, не имел неблагоприятной наследственности, имел избыточную массу тела (ИМТ 31 кг/м<sup>2</sup>). Уровень общего ХС был равен 5,6 ммоль/л, ХС ЛНП – 3,67 ммоль/л, ТГ 1,2 ммоль/л, ХС ЛВП 1,08 ммоль/л. Расчетный десятилетний сердечно-сосудистый риск по шкале SCORE составил 2%. Исходно у пациента было обнаружено 2 АСБ. Исходная сумма высот бляшек составила 3,02 мм. Обе бляшки имели гетерогенную структуру, были изоэхогенными и имели гладкую поверхность. Эхогенность бляшек по ШСМ составила 60,1 отн.ед.. Исходная максимальная величина ТИМ правой ОСА равнялась 0,98 мм, ТИМ левой ОСА – 0,93 мм, усредненной ТИМ – 0,96 мм. Пациенту была подобрана терапия аторвастатином в дозе 30 мг в сутки. За время наблюдения у пациента развилась артериальная гипертония, которая контролировалась терапией ингибиторами АПФ в комбинации с тиазидным диуретиком. В возрасте 57 лет у пациента развился инфаркт миокарда. По истечении семилетнего периода наблюдения уровень общего ХС был равен 3,7 ммоль/л, ХС ЛНП – 2,08 ммоль/л, ТГ 1,0 ммоль/л, ХС ЛВП 1,0 ммоль/л. Уровень биомаркеров воспаления составил: вчСРБ – 0,5 мг/л, мСРБ – 6,3 мкг/л, ИЛ-6 – 0,0 пг/л. По данным УЗИ сонных артерий было обнаружено 3 АСБ. Сумма высот бляшек составила 4,59 мм. Все бляшки имели гетерогенную структуру, были изоэхогенными и имели гладкую поверхность. Эхогенность бляшек по ШСМ составила 59,6 отн.ед.. Максимальная величина ТИМ правой ОСА равнялась 0,97 мм, ТИМ левой ОСА – 0,94 мм, усредненной ТИМ – 0,96 мм.

Таким образом, у пациента с исходно умеренным сердечно-сосудистым риском по шкале SCORE, несмотря на проведение гиполипидемической терапии статинами с достижением уровня ХСЛПН  $<2,6$  ммоль/л и коррекцию модифицируемых факторов сердечно-сосудистого риска, развился инфаркт миокарда. В сонных артериях у пациента наблюдалось увеличение числа АСБ. Исследование биомаркеров воспаления показало, что вчСРБ находился на уровне ниже 2,0 мг/л (0,5 мг/л), а уровень ИЛ-6 в крови был ниже порога определения. Однако уровень мСРБ составил 6,3 мкг/л, что выше медианы. Возможно, это указывает на связь уровня мСРБ с повышенным риском развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у данного пациента.

## Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ

### 4.1 Разработка способа измерения концентрации мСРБ в плазме крови

В результате выполнения данной работы впервые была разработана основанная на функциональных полистироловых микросферах BD Cytometric Bead Array (Beckton-Dickinson, США) мультиплексная система, включающая в себя микросферы А5, конъюгированные с антителами к мСРБ/пСРБ клона МОН328 (ИмТек, Россия), С4 – с антителами к мСРБ клона 8С8 (Sigma, США), Е5 – с антителами к пСРБ клона МОН372 (ИмТек, Россия) [237,238]. В качестве детектирующих антител использовали поликлональные антитела к СРБ GANCrp-FITC (ИмТек, Россия). Поликлональные антитела связываются с эпитопами исследуемого анализита, отличными от тех, с которыми связываются иммобилизованные на функциональных микросферах моноклональные антитела. Это позволяет использовать поликлональные антитела в качестве детектирующих антител [240]. Помимо эпитопов на исследуемом анализите, в ряде случаев поликлональные антитела могут неспецифически связываться с иммобилизованными на функциональных микросферах антителами к исследуемому анализиту [241,242]. В таком случае в отсутствие исследуемого анализита будет наблюдаться ложноположительная реакция, обусловленная связыванием детектирующих антител с антителами на функциональных микросферах [241,242]. Был выполнен контроль неспецифического связывания поликлональных антител к СРБ с моноклональными антителами к мСРБ и пСРБ, иммобилизованными на поверхности функциональных микросфер. Средняя интенсивность флуоресценции не изменялась по сравнению с фоновой, что говорит об отсутствии неспецифического связывания детектирующих поликлональных антител к СРБ с моноклональными антителами к мСРБ и пСРБ на поверхности функциональных микросфер.

Специфичность антител к мСРБ/пСРБ клона МОН328, антител к мСРБ клона 8С8 и антител к пСРБ клона МОН372 определяли в присутствии поликлональных антител к СРБ GANCrp-FITC в пробе, содержащей мСРБ или пСРБ в концентрации

0,25 мг/л. Исследование в пробе с пСРБ проводили с целью исключения перекрестной реактивности к пСРБ у антител к мСРБ. Результаты измерений показали, что антитела клона МОН328 одинаково интенсивно связывались как с мСРБ, так и с пСРБ. Это говорит о наличии у них выраженной перекрестной реактивности как к мСРБ, так и пСРБ. Антитела клона 8С8 связывались высокоселективно с мСРБ и не связывались с пСРБ. Антитела клона МОН372 связывались с пСРБ и не связывались с мСРБ. Таким образом, разработанная мультиплексная система позволяет одновременно определять общий уровень двух форм СРБ и в отдельности мСРБ и пСРБ в одном образце плазмы крови.

Дополнительно для исключения перекрестной реактивности с пСРБ у антитела клона 8С8, в пробу, содержащую мСРБ в концентрации 0,25 мг/л, добавляли пСРБ в значительно большей концентрации - 5 мг/л. При этом изменения средней интенсивности флуоресценции не наблюдалось, что свидетельствует о высокой специфичности антител клона 8С8 к мСРБ. Высокая специфичность антител клона 8С8 к мСРБ была показана ранее в ряде работ [13,17–19,174].

Способ определения концентрации мСРБ отработывали в серии последовательных разведений матричного раствора рекомбинантного мСРБ в известной концентрации в мкг/мл. Зависимость средней интенсивности флуоресценции от концентрации мСРБ линейно возрастала при концентрациях мСРБ от 1,0 мкг/л до 100,0 мкг/л. Уровень мСРБ 1,0 мкг/л следует считать пороговым для разработанного способа. Ранее в исследованиях Wang J. и соавт. [17] и Zhang L. и соавт. [18] порог определения концентрации мСРБ в плазме крови с помощью ИФА был так же определён на уровне 1,0 мкг/л, что сопоставимо с полученными нами результатами. Таким образом, был разработан способ измерения уровня мСРБ в плазме крови с применением функциональных микросфер, конъюгированных с антителами к мСРБ клона 8С8, с помощью проточной цитофлуориметрии.

## 4.2 Динамика ультразвуковых параметров атеросклероза в исследовании

В категории умеренного сердечно-сосудистого риска наличие субклинического атеросклероза сонных артерий может являться основанием для реклассификации риска и проведения более агрессивной гиполипидемической терапии с целью предотвращения или существенной отсрочки развития первых неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [8,9,89,147,243]. Продольные популяционные исследования показали, что наличие субклинического атеросклероза сонных артерий связано с повышенным риском развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в разных отделах сосудистого русла [244]. У пациентов с субклиническим атеросклерозом сонных артерий риск развития ишемического инсульта был повышен трехкратно [245]. Исследование, выполненное у лиц без ССЗ, показало, что наличие бессимптомных АСБ в сонных артериях трехкратно повышало риск развития ишемического инсульта [246]. Наличие субклинического атеросклероза сонных артерий было связано с повышенным риском развития ишемического инсульта и ИБС [247]. В другом исследовании наличие и выраженность субклинического атеросклероза сонных артерий были связаны с частотой неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [248]. У лиц без ССЗ наличие субклинического атеросклероза сонных артерий было независимым фактором риска развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [249]. В мета-анализе 11 популяционных исследований была показана связь субклинического атеросклероза сонных артерий с риском развития инфаркта миокарда [250]. У лиц без ССЗ наличие субклинического атеросклероза сонных артерий являлось фактором сердечно-сосудистой смерти, независимым от стратификации риска по шкале SCORE [251]. Наличие субклинического атеросклероза сонных артерий повышало риск сердечно-сосудистой смерти в течение десяти лет в два раза в категории низкого риска и в четыре раза в категории умеренного риска по шкале SCORE [251]. В настоящее время клиническими рекомендациями по профилактике атеросклероза наличие субклинического атеросклероза сонных артерий у лиц категорий низкого и умеренного риска по шкале SCORE рассматривается как основание для назначения

гиполипидемической терапии [8,9,89,147]. Измерение ТИМ сонных артерий для реклассификации риска не рекомендуется, поскольку не имеет дополнительной прогностической значимости по сравнению с принятыми шкалами стратификации риска [250,252,253].

Наиболее распространенным инструментом для оценки атеросклероза сонных артерий является УЗИ [254]. УЗИ сонных артерий позволяет локализовать поражение и определить его выраженность по характеристикам тока крови [255–257]. УЗИ сонных артерий так же позволяет оценить ряд морфологических характеристик, включая количество пораженных сегментов экстракраниального отдела сонных артерий [258,259], общее количество [22,260,261], суммарную высоту [22,259,261,262], общую площадь и общий объем [260,263,264], эхогенность [246,264,265], состояние поверхности АСБ [266]. УЗИ сонных артерий позволяет выполнять исследование с применением ультразвуковых контрастных агентов и моделировать исследуемый сегмент сосуда в трехмерном режиме, повышая чувствительность метода. Однако в силу технологической сложности и более высокой стоимости применение контрастных агентов и режима трехмерного моделирования ограничено [267].

При включении в исследование и по окончании семилетнего периода наблюдения при помощи УЗИ оценивали количественные и качественные параметры АСБ [228]. По итогам наблюдения в группе пациентов с прогрессирующим атеросклерозом сонных артерий различие выявлено по всем ультразвуковым параметрам, кроме числа гипоэхогенных АСБ, изъязвленных АСБ, медианы серой шкалы. В группе пациентов без прогрессирования атеросклероза сонных артерий различие выявлено по ультразвуковым параметрам числа кальцинированных, изоэхогенных, гипоэхогенных, гиперэхогенных, гладких АСБ, ТИМ правой ОСА и усредненной ТИМ. Гладкая поверхность АСБ и меньшая ТИМ ассоциированы с более благоприятным течением атеросклероза. В отличие от гладкой поверхности, шероховатая и изъязвленная поверхность бляшек в сонных артериях связаны с повышенным риском развития ишемического инсульта [246,266,268]. Связь увеличения ТИМ с повышенным сердечно-сосудистым

риском у бессимптомных лиц показана в ряде популяционных исследований [263,269–271]. Количество АСБ в сонных артериях связано с частотой развития ишемического инсульта [259] и ИБС [247]. Скорость роста АСБ в сонных артериях так же связана с частотой развития ишемического инсульта [266]. Увеличение высоты АСБ в сонных артериях связано с развитием ИБС [272,273]. Увеличение доли гиперэхогенных бляшек за счёт уменьшения доли изоэхогенных и гипоэхогенных бляшек наблюдалось в обеих группах. Увеличение эхогенности связывают с увеличением доли фиброзной ткани и отложений кальция в составе АСБ [274,275]. Напротив, снижение эхогенности связывают с увеличением объёма липидных включений в составе АСБ [275]. Риск развития ишемического инсульта в течение 3 лет был повышен в 13 раз у бессимптомных пациентов с гипоэхогенными АСБ в сонных артериях и в 3,7 раз у бессимптомных пациентов с гиперэхогенными АСБ в сонных артериях по сравнению с лицами без атеросклеротического поражения сонных артерий [276]. В другом исследовании по результатам 4,4 лет наблюдения было показано, что у пациентов со стенозированием сонных артерий  $\geq 50\%$  и ранее перенесенным ишемическим инсультом риск развития повторного ишемического инсульта или смерти при наличии гипоэхогенных АСБ был в 3,1 раз выше по сравнению с пациентами с гиперэхогенными АСБ. Однако различие в риске нивелировалось у бессимптомных пациентов [277]. Эхогенность АСБ возрастает на фоне гиполипидемической терапии статинами. Повышение эхогенности наблюдается уже через месяц после начала терапии статинами [278,279]. Повышение показателя медианы серой шкалы, полуколичественного метода оценки эхогенности АСБ, также возрастало на терапии статинами [280,281], и наблюдалось уже через месяц после начала терапии [279]. Более интенсивная терапия статинами приводила к более выраженному повышению показателя медианы серой шкалы [281]. Уменьшение доли АСБ с гладкой поверхностью в группе без прогрессирования атеросклероза происходило на фоне тенденции к увеличению числа АСБ с неровной поверхностью, что может указывать на повышенный риск прогрессирования атеросклероза у ряда пациентов в этой группе в дальнейшем.

Неблагоприятные сердечно-сосудистые события развились у 5 пациентов в группе с прогрессированием субклинического атеросклероза, в том числе инфаркт миокарда у 2 пациентов, стенокардия напряжения у 2 пациентов и ишемический инсульт у 1 пациента [228]. В группе без прогрессирования атеросклероза стенокардия напряжения развилась у 2 человек. Инфаркт миокарда развился у пациентов с уровнем ХС ЛНП  $<2,6$  ммоль/л (2,08 ммоль/л и 2,51 ммоль/л), уровень вчСРБ был менее 2,0 мг/л (0,5 мг/л и 0,9 мг/л), в то время как уровень мСРБ был выше медианы (6,3 мкг/л и 21,5 мкг/л). Приведённые случаи могут указывать на возможную связь повышенного уровня мСРБ с развитием неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. Однако для оценки такой связи исследование не имело достаточной мощности.

#### **4.3 Показатели ультразвуковых параметров атеросклероза сонных артерий в зависимости от уровня мСРБ в плазме крови**

Согласно результатам настоящего исследования, группы пациентов с прогрессированием и без прогрессирования атеросклероза сонных артерий различались по уровню мСРБ и не различались по уровню вчСРБ и ИЛ-6 в плазме крови. Корреляционный анализ показал, что уровень мСРБ не коррелировал с уровнем вчСРБ. В исследовании Williams R. и соавт. уровень мСРБ и вчСРБ так же не коррелировал [19]. В исследовании Zhang L. и соавт. у пациентов с аутоиммунными кожными заболеваниями с повышенным уровнем мСРБ, уровень вчСРБ оставался в пределах нормальных значений [18]. Munuswamy R. и соавт. так же указали на отсутствие корреляции уровня мСРБ и вчСРБ у пациентов с ХОБЛ [20].

Появление новых АСБ отмечалось у 14 (36%) пациентов с уровнем мСРБ  $<5,2$  мкг/л и у 31 (76%) пациента с уровнем мСРБ  $\geq 5,2$  мкг/л. В группе пациентов с уровнем мСРБ  $<5,2$  мкг/л различие выявлено по количественным ультразвуковым параметрам, доле АСБ с неровной поверхностью, кальцинированных АСБ, гиперэхогенных АСБ. В группе пациентов с уровнем мСРБ  $\geq 5,2$  мкг/л различие выявлено по всем ультразвуковым параметрам, кроме ТИМ левой ОСА, медианы

серой шкалы, доле АСБ с неровной поверхностью, АСБ с изъязвленной поверхностью, гипоэхогенных АСБ. Несмотря на то, что различие по количественным ультразвуковым параметрам выявлено в обеих группах, изменение в количестве АСБ и суммарной высоте АСБ было существенно больше у пациентов с уровнем мСРБ  $\geq 5,2$  мкг/л. Так, относительно исходного значения, медиана прироста количества АСБ составила 0,0 (0,0; 1,0) шт. и 1,0 (1,0; 2,0) шт., суммарной высоты АСБ 0,22 (-0,24; 1,91) мм и 1,97 (1,14; 3,14) мм у пациентов с уровнем мСРБ  $< 5,2$  мкг/л и у пациентов с уровнем мСРБ  $\geq 5,2$  мкг/л, соответственно. У пациентов с уровнем мСРБ  $\geq 5,2$  мкг/л отношение шансов появления новых атеросклеротических бляшек в сонных артериях, скорректированное по основным факторам риска и биомаркерам, составило 4,74 (95% ДИ 1,70-13,24). AUC при ROC-анализе составила  $0,75 \pm 0,056$  (95% ДИ 0,64; 0,86). Оптимальное сочетание чувствительности (0,69) и специфичности (0,71) достигалось при пороге отсечения мСРБ 5,1 мкг/л. Таким образом, установлена прямая связь уровня мСРБ с приростом количества АСБ и увеличением суммарной высоты АСБ в сонных артериях у пациентов с субклиническим атеросклерозом сонных артерий [228].

#### **4.4 Показатели ультразвуковых параметров атеросклероза сонных артерий в зависимости от уровня мСРБ в крови в подгруппе пациентов с уровнем вчСРБ $< 2,0$ мг/л**

Были исследованы ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий в зависимости от уровня мСРБ у пациентов с уровнем вчСРБ  $< 2,0$  мг/л, у которых согласно существующим рекомендациям резидуальный воспалительный риск следует считать низким [8,147]. В этой подгруппе медиана мСРБ составила 5,0 (3,1; 7,6) мкг/л. Появление новых АСБ выявлено у 8 (31%) пациентов с уровнем мСРБ  $< 5,0$  мкг/л и у 19 (68%) пациентов с уровнем мСРБ  $\geq 5,0$  мкг/л. В группе пациентов с уровнем мСРБ  $< 5,0$  мкг/л различие выявлено по ультразвуковым параметрам ТИМ правой и левой ОСА, усредненной ТИМ, доле изоэхогенных и гиперэхогенных АСБ. В группе пациентов с уровнем мСРБ  $\geq 5,0$  мкг/л различие

выявлено по всем количественным и качественным ультразвуковым параметрам, кроме ТИМ левой ОСА, медиане серой шкалы, доле АСБ с неровной поверхностью, АСБ с изъязвленной поверхностью, изоэхогенных и гипоэхогенных АСБ. Относительно исходного значения, медиана прироста количества АСБ составила 0,0 (0,0; 1,0) шт. и 1,0 (0,0; 1,0) шт., суммарной высоты АСБ 0,22 (-0,25; 2,00) мм и 1,65 (0,29; 2,80) мм у пациентов с уровнем мСРБ <5,0 мкг/л и у пациентов с уровнем мСРБ ≥5,0 мкг/л, соответственно. У пациентов с уровнем мСРБ ≥5,0 мкг/л отношение шансов появления новых атеросклеротических бляшек в сонных артериях, скорректированное по основным факторам риска и биомаркерам, составило 4,14 (95% ДИ 1,25-13,72). AUC при ROC-анализе составила 0,74 ± 0,069 (95% ДИ 0,61; 0,88). Оптимальное сочетание чувствительности (0,70) и специфичности (0,78) достигалось при пороге отсечения мСРБ 5,3 мкг/л. Таким образом, установлена прямая связь уровня мСРБ с приростом количества АСБ и увеличением суммарной высоты АСБ в сонных артериях в подгруппе пациентов с уровнем вчСРБ <2,0 мг/л.

#### **4.5 Связь повышенного уровня мСРБ с прогрессированием атеросклероза сонных артерий на фоне нормального уровня вчСРБ и ИЛ-6**

Исследований связи уровня мСРБ с прогрессированием атеросклероза сонных артерий ранее не выполнялось. Wang J. и соавт. исследовали уровень мСРБ у пациентов с острым инфарктом миокарда, нестабильной и стабильной стенокардией [17]. Наибольший уровень мСРБ наблюдали у пациентов с острым инфарктом миокарда (20,96 ± 1,64 мкг/л), в особенности умерших в первые 30 дней после развития инфаркта миокарда (36,70 ± 10,26 мкг/л), в то время как у пациентов со стабильной стенокардией и здоровых добровольцев уровень мСРБ в плазме крови был ниже порога определения [17]. Zhang L. и соавт. регистрировали уровень мСРБ в плазме крови у пациентов с псориазом, экземой, крапивницей и здоровых добровольцев в диапазоне 15,2-59,8 мкг/л [18]. Williams R. и соавт. регистрировали уровень мСРБ 1030,0 ± 110,0 мкг/л в сыворотке пациентов с острыми воспалительными заболеваниями и уровнем вчСРБ >100 мг/л [19]. Munuswamy R.

и соавт. регистрировали мСРБ на уровне 660 мкг/л у пациентов с ХОБЛ, в то время как у здоровых добровольцев уровень мСРБ был ниже порога определения [20]. Уровень мСРБ в плазме крови у пациентов в нашем исследовании был ниже, чем в описанных исследованиях (6,3 (4,2; 9,8) мкг/л и 4,0 (2,45; 5,35) мкг/л у пациентов с прогрессированием и без прогрессирования субклинического атеросклероза сонных артерий, соответственно). Это может быть связано с тем, что у включенных в исследование пациентов имелось небольшое число традиционных факторов сердечно-сосудистого риска, не было сочетанных заболеваний, а сами пациенты получали терапию статинами.

Во всей выборке пациентов, включенных в исследование, уровень вчСРБ составил 1,05 (0,7; 2,1) мг/л, что существенно ниже порога в 2,0 мг/л, соответствующего резидуальному воспалительному риску [8,147]. Из 26 пациентов с уровнем вчСРБ  $\geq 2,0$  мг/л, 18 относились к группе с прогрессированием и 8 – к группе без прогрессирования атеросклероза сонных артерий. Уровень ИЛ-6 во всей выборке составил 0,0 (0,0; 2,8) пг/мл.

Связь вчСРБ с прогрессированием субклинического атеросклероза сонных артерий установлена в ряде исследований [282]. Повышенный уровень вчСРБ был связан с большей встречаемостью субклинического атеросклероза сонных артерий, преимущественно у женщин [283]. Связь повышенного уровня вчСРБ с площадью АСБ в сонных артериях была выявлена у мужчин, но не у женщин [264]. У мужчин повышенный уровень вчСРБ был связан с большим объемом атеросклеротического поражения сонных артерий, определенного по суммарной высоте АСБ [261]. Повышенный уровень вчСРБ был связан с увеличением числа и суммарной высоты АСБ [22], средней высотой АСБ [284] а также с увеличением степени стенозирования сонных артерий [285]. У лиц без атеросклеротического поражения сонных артерий уровень вчСРБ  $> 3.0$  мг/л увеличивал риск появления АСБ в сонных артериях в течение 3 лет в 2,2 раза по сравнению с уровнем вчСРБ  $< 1.0$  мг/л [286]. Однако в тринадцатилетнем проспективном исследовании Tromso, в которое вошло 6503 человека, уровень вчСРБ не являлся независимым предиктором прогрессирования субклинического атеросклероза сонных артерий при учёте

основных факторов риска [287]. Трехлетнее исследование, в которое вошли 3122 человека, так же показало, что уровень вчСРБ не являлся независимым предиктором увеличения ТИМ при учёте основных факторов риска [288]. В ряде исследований уровень ИЛ-6 был связан с числом АСБ [289] и с увеличением ТИМ у пациентов с субклиническим атеросклерозом сонных артерий [290]. В исследовании CANTOS повышенный уровень ИЛ-6 был связан с неблагоприятным сердечно-сосудистым прогнозом [216].

Нормальный уровень вчСРБ и ИЛ-6 в данном исследовании может быть связан с тем, что в исследование включали пациентов с исходно умеренным сердечно-сосудистым риском по шкале SCORE, не имеющих выраженной сердечно-сосудистой патологии и коморбидности. Также, пациенты принимали аторвастатин, который влияет на уровень вчСРБ [6]. На основании измерения уровня вчСРБ включенные в исследование пациенты должны были классифицироваться в категорию низкого резидуального воспалительного риска. Тем не менее, измерение уровня мСРБ позволило определить пациентов с повышенным риском прогрессирования субклинического нестенозирующего атеросклероза сонных артерий.

#### **4.6 Ограничения исследования**

Ограничением исследования является отсутствие данных об исходном уровне биомаркеров воспаления, включая мСРБ, у пациентов. Это ограничение обусловлено тем, что пациенты изначально наблюдались с целью определения дозы аторвастатина, оптимальной для профилактики прогрессирования атеросклероза сонных артерий и развития его осложнений. Измерение уровня мСРБ стало возможным только после разработки метода, что произошло существенно позже начала наблюдения пациентов. Другим ограничением является то, что в 2019 г. в европейских [9], а в 2020 г. – и в российских рекомендациях [89] по профилактике ССЗ целевой уровень ХС ЛНП в категории высокого сердечно-сосудистого риска был понижен до  $<1,8$  ммоль/л. Достижение этого целевого уровня ХС ЛНП было рекомендовано всем включенным в исследование

пациентам, однако в связи с окончанием исследования в 2020 г. новый целевой уровень ХС ЛНП  $<1,8$  ммоль/л у большинства пациентов достигнут не был. В данном исследовании калибровка способа измерения мСРБ в плазме крови выполнялась с помощью раствора рекомбинантного мСРБ в TBS 10,0 мМ, хлорида натрия 150 мМ и альбумина 2,9 мМ. Также, ограничением исследования является невозможность стандартизовать метод в связи с отсутствием аналогов. Кроме того, ограничением является малое количество неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. Это не позволяет говорить об уровне мСРБ в плазме крови как о биомаркере сердечно-сосудистого риска.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполненной работы впервые был создан способ измерения уровня мСРБ в плазме крови с помощью проточной цитофлуориметрии. Способ основан на применении латексных микросфер, конъюгированных с моноклональными антителами к мСРБ. Разработанный способ позволяет измерять концентрации мСРБ в плазме крови от 1,0 мкг/л до 100,0 мкг/л. Уровень мСРБ 1,0 мкг/л следует считать пороговым для разработанного способа. При концентрации мСРБ более 100 мкг/л необходимо титровать пробы до получения результата измерения в диапазоне от 1,0 мкг/л до 100 мкг/л, и высчитывать действительный уровень мСРБ с учетом кратности разведения пробы.

В рамках данной работы было обследовано 80 пациентов обоих полов, исходно умеренного сердечно-сосудистого риска по шкале SCORE, с субклиническим нестенозирующим атеросклерозом сонных артерий, находящихся на терапии статинами. По результатам семилетнего наблюдения было показано, что у 56% пациентов наблюдалось увеличение количества АСБ, несмотря на терапию статинами и достижение уровня ХС ЛНП  $<2,6$  ммоль/л. Измеренный разработанным способом уровень мСРБ во всей выборке пациентов составил 5,2 (3,3; 7,1) мкг/л. Была установлена прямая связь между повышенным уровнем мСРБ и прогрессированием количественных ультразвуковых параметров атеросклероза сонных артерий (количества и суммарной высоты АСБ). В подгруппе пациентов, у которых в настоящее время резидуальный воспалительный сердечно-сосудистый риск считается низким (вчСРБ  $<2,0$  мг/л), так же была установлена прямая связь повышенного уровня мСРБ с прогрессированием количественных ультразвуковых показателей атеросклероза сонных артерий. В то же время, не было выявлено различия между группами пациентов по уровню других биомаркеров воспаления – вчСРБ и ИЛ-6. Более того, во всей выборке пациентов уровень вчСРБ составил 1,05 (0,7; 2,1) мг/л, а уровень ИЛ-6 0,0 (0,0; 2,8) пг/мл, что соответствует нормальным значениям. Тем не менее, измерение уровня мСРБ позволило определить пациентов с повышенным риском прогрессирования субклинического нестенозирующего

атеросклероза сонных артерий. Результаты настоящего исследования указывают на то, что повышенный уровень мСРБ прямо связан с приростом количества атеросклеротических бляшек в сонных артериях и их суммарной высоты у пациентов с исходно умеренным сердечно-сосудистым риском по шкале SCORE и нормальным уровнем традиционных биомаркеров воспаления.

## ВЫВОДЫ

1. Впервые разработанный способ измерения мСРБ в плазме крови с помощью проточной цитофлуориметрии позволяет определять концентрацию мСРБ в диапазоне 1,0-100,0 мкг/л.
2. У 45 из 80 включенных в исследование пациентов с исходно умеренным сердечно-сосудистым риском по шкале SCORE и субклиническим нестенозирующим атеросклерозом сонных артерий отмечался прирост количества АСБ в сонных артериях по итогам семилетнего наблюдения, несмотря на достижение целевого уровня ХС ЛНП  $<2,6$  ммоль/л на терапии аторвастатином.
3. Уровень мСРБ в плазме крови был выше (6,3 (4,2; 9,8) мкг/л и 4,0 (2,45; 5,35) мкг/л,  $p = 0,0006$ ), а уровень вЧСРБ (1,2 (0,7; 2,4) мг/л и 0,9 (0,6; 1,6) мг/л,  $p = 0,2$ ) и ИЛ-6 (0,0 (0,0; 3,2) пг/мл и 0,0 (0,0; 2,14) пг/мл,  $p = 0,6$ ) не различался у пациентов с прогрессированием субклинического нестенозирующего атеросклероза сонных артерий ( $n = 45$ ), по сравнению с пациентами без его прогрессирования ( $n = 35$ ). Уровень мСРБ не коррелировал с уровнем вЧСРБ ( $r = 0,006$ ,  $p = 0,9$ ) и уровнем ИЛ-6 ( $r = 0,018$ ,  $p = 0,9$ ).
4. Повышенный уровень мСРБ в плазме крови прямо связан с прогрессированием субклинического нестенозирующего атеросклероза сонных артерий у включенных в исследование пациентов. Скорректированное отношение шансов прогрессирования субклинического атеросклероза сонных артерий у пациентов ( $n = 80$ ) с уровнем мСРБ равном и выше медианы (5,2 мкг/л) составило 4,74 (95% доверительный интервал (ДИ) 1,70-13,24,  $p = 0,001$ ).
5. Повышенный уровень мСРБ в плазме крови прямо связан с прогрессированием субклинического нестенозирующего атеросклероза сонных артерий в подгруппе пациентов с низким резидуальным воспалительным сердечно-сосудистым риском (уровень вЧСРБ  $<2,0$  мг/л). Скорректированное отношение шансов прогрессирования субклинического

атеросклероза сонных артерий в подгруппе пациентов ( $n = 54$ ) с уровнем вчСРБ  $< 2,0$  мг/л и уровнем мСРБ равном и выше медианы ( $5,0$  мкг/л) составило  $4,14$  (95% ДИ  $1,25-13,72$ ,  $p = 0,02$ ).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанный способ измерения уровня мСРБ в плазме крови может найти применение в исследованиях механизмов развития и поддержания локального воспалительного ответа при заболеваниях, связанных с воспалением.
2. У пациентов с умеренным сердечно-сосудистым риском по шкале SCORE, нормальным уровнем биомаркеров воспаления (вчСРБ, ИЛ-6) и субклиническим нестенозирующим атеросклерозом сонных артерий определение уровня мСРБ в плазме крови может применяться для выявления лиц с повышенной вероятностью прогрессирования атеросклероза сонных артерий. Пациентам с повышенным уровнем мСРБ может быть рекомендован регулярный контроль ультразвуковых параметров атеросклероза и коррекция модифицируемых факторов сердечно-сосудистого риска.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Карпов Ю.А. Роль статинотерапии в профилактике сердечно-сосудистых заболеваний в реальной клинической практике // Доктор.Ру. – 2021. – Т. 20, N 11. – С. 17-27.
2. Балахонова Т.В., Погорелова О.А., Трипотень М.И., Ершова А.И., Кошурникова М.В., Рогоза А.Н. Сокращенный протокол ультразвукового дуплексного сканирования сонных артерий в оценке доклинического атеросклероза с целью уточнения сердечно-сосудистого риска // Российский кардиологический журнал. – 2019. – Т.24, N 5. – С. 62-68.
3. Dimmitt S.B., Stampfer H.G., Martin J.H., Warren J.B. Clinical benefits of evolocumab appear less than hoped // The Lancet. – 2018. – Vol. 391, N 10124. – P. 933–934.
4. Ference B.A., Graham I., Tokgozoglul L., Catapano A.L. Impact of Lipids on Cardiovascular Health // Journal of the American College of Cardiology. – 2018. – Vol. 72, N 10. – P. 1141–1156.
5. Lawler P.R., Bhatt D.L., Godoy L.C., Lüscher T.F., Bonow R.O., Verma S., Ridker P.M. Targeting cardiovascular inflammation: next steps in clinical translation // European Heart Journal. – 2021. – Vol. 42, N 1. – P. ehaa099.
6. Ridker P.M. Anticytokine Agents: Targeting Interleukin Signaling Pathways for the Treatment of Atherothrombosis // Circulation Research. – 2019. – Vol. 124, N 3. – P. 437-450.
7. Берштейн Л.Л. Новые возможности снижения резидуального риска при ишемической болезни сердца // Кардиология. – 2020. – Т. 60, N 11. – С. 110-116.
8. Arnett D.K., Blumenthal R.S., Albert M.A., Buroker A.B., Goldberger Z.D., Hahn E.J., Himmelfarb C.D., Khera A., Lloyd-Jones D., McEvoy J.W., Michos E.D., Miedema M.D., Muñoz D., Smith S.C., Virani S.S., Williams K.A., Yeboah J., Ziaeian B. 2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: A Report of the American College of

- Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines // *Circulation*. – 2019. – Vol. 140, N 11. – P. e596–e646.
9. Mach F., Baigent C., Catapano A.L., Koskinas K.C., Casula M., Badimon L., Chapman M.J., et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk // *European Heart Journal*. – 2020. – Vol. 41, N 1. – P. 111–188.
  10. Soehnlein O., Libby P. Targeting inflammation in atherosclerosis — from experimental insights to the clinic // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2021. – Vol. 20, N 8. – P. 589-610.
  11. Braig D., Nero T.L., Koch H.-G., Kaiser B., Wang X., Thiele J.R., Morton C.J., Zeller J., Kiefer J., Potempa L.A., Mellett N.A., Miles L.A., Du X.-J., Meikle P.J., Huber-Lang M., Stark G.B., Parker M.W., Peter K., Eisenhardt S.U. Transitional changes in the CRP structure lead to the exposure of proinflammatory binding sites // *Nature Communications*. – 2017. – Vol. 8, N 1. – P. 14188.
  12. Eisenhardt S.U., Habersberger J., Murphy A., Chen Y.-C., Woollard K.J., Bassler N., Qian H., von zur Muhlen C., Hagemeyer C.E., Ahrens I., Chin-Dusting J., Bobik A., Peter K. Dissociation of Pentameric to Monomeric C-Reactive Protein on Activated Platelets Localizes Inflammation to Atherosclerotic Plaques // *Circulation Research*. – 2009. – Vol. 105, N 2. – P. 128-137.
  13. Krupinski J., Turu M.M., Martinez-Gonzalez J., Carvajal A., Juan-Babot J.O., Iborra E., Slevin M., Rubio F., Badimon L. Endogenous Expression of C-Reactive Protein Is Increased in Active (Ulcerated Noncomplicated) Human Carotid Artery Plaques // *Stroke*. – 2006. – Vol. 37, N 5. – P. 1200-1204.
  14. McFadyen J.D., Kiefer J., Braig D., Loseff-Silver J., Potempa L.A., Eisenhardt S.U., Peter K. Dissociation of C-Reactive Protein Localizes and Amplifies Inflammation: Evidence for a Direct Biological Role of C-Reactive Protein and Its Conformational Changes // *Frontiers in Immunology*. – 2018. – N 9. – P. 1351.
  15. Habersberger J., Strang F., Scheichl A., Htun N., Bassler N., Merivirta R.-M., Diehl P., Krippner G., Meikle P., Eisenhardt S.U., Meredith I., Peter K.

- Circulating microparticles generate and transport monomeric C-reactive protein in patients with myocardial infarction // *Cardiovascular Research*. – 2012. – Vol. 96, N 1. – P. 64-72.
16. Crawford J.R., Trial J., Nambi V., Hoogeveen R.C., Taffet G.E., Entman M.L. Plasma Levels of Endothelial Microparticles Bearing Monomeric C-reactive Protein are Increased in Peripheral Artery Disease // *Journal of Cardiovascular Translational Research*. – 2016. – Vol. 9, N 3. – P. 184-193.
  17. Wang J., Tang B., Liu X., Wu X., Wang H., Xu D., Guo Y. Increased monomeric CRP levels in acute myocardial infarction: A possible new and specific biomarker for diagnosis and severity assessment of disease // *Atherosclerosis*. – 2015. – Vol. 239, N 2. – P. 343-349.
  18. Zhang L., Li H.-Y., Li W., Shen Z.-Y., Wang Y.-D., Ji S.-R., Wu Y. An ELISA Assay for Quantifying Monomeric C-Reactive Protein in Plasma // *Frontiers in Immunology*. – 2018. – N 9. – P. 511.
  19. Williams R.D., Moran J.A., Fryer A.A., Littlejohn J.R., Williams H.M., Greenhough T.J., Shrive A.K. Monomeric C-Reactive Protein in Serum With Markedly Elevated CRP Levels Shares Common Calcium-Dependent Ligand Binding Properties With an in vitro Dissociated Form of C-Reactive Protein // *Frontiers in Immunology*. – 2020. – N 11. – P. 115.
  20. Munuswamy R., De Brandt J., Burtin C., Derave W., Aumann J., Spruit M.A., Michiels L. Monomeric CRP is Elevated in Patients with COPD Compared to Non-COPD Control Persons // *Journal of Inflammation Research*. – 2021. – N 14. – P. 4503-4507.
  21. Eisenhardt S.U., Thiele J.R., Bannasch H., Stark G.B., Peter K. C-reactive protein: How conformational changes influence inflammatory properties // *Cell Cycle*. – 2009. – Vol. 8, N 23. – P. 3885-3892.
  22. Hashimoto H., Kitagawa K., Hougaku H., Shimizu Y., Sakaguchi M., Nagai Y., Iyama S., Yamanishi H., Matsumoto M., Hori M. C-Reactive Protein Is an

- Independent Predictor of the Rate of Increase in Early Carotid Atherosclerosis // *Circulation*. – 2001. – Vol. 104, N 1. – P. 63-67.
23. Сергиенко И.В., Аншелес А.А., Кухарчук В.В. Дислипидемии, атеросклероз и ишемическая болезнь сердца. Генетика, Патогенез, Фенотипы, Диагностика, Терапия, Коморбидность. М.: ПатиСС, 2020. 296 с.
24. Borén J., Chapman M.J., Krauss R.M., Packard C.J., Bentzon J.F., Binder C.J., Daemen M.J., Demer L.L., Hegele R.A., Nicholls S.J., Nordestgaard B.G., Watts G.F., Bruckert E., Fazio S., Ference B.A., Graham I., Horton J.D., Landmesser U., Laufs U., Masana L., Pasterkamp G., Raal F.J., Ray K.K., Schunkert H., Taskinen M.-R., van de Sluis B., Wiklund O., Tokgozoglu L., Catapano A.L., Ginsberg H.N. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease: pathophysiological, genetic, and therapeutic insights: a consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel // *European Heart Journal*. – 2020. – Vol. 41, N 24. – P. 2313-2330.
25. Гучаева Д.А., Трипотень М.И., Погорелова О.А., Хеймец Г.И., Шахнович Р.М., Балахонова Т.В. Эхогенность атеросклеротических бляшек в сонных артериях у больных с острым коронарным синдромом и ее влияние на прогноз сердечно-сосудистых событий // *Российский кардиологический журнал*. – 2019. – Т. 24, N 5. – С. 30-36.
26. Tabas I., Williams K.J., Borén J. Subendothelial Lipoprotein Retention as the Initiating Process in Atherosclerosis: Update and Therapeutic Implications // *Circulation*. – 2007. – Vol. 116, N 16. – P. 1832-1844.
27. Stary H.C., Blankenhorn D.H., Chandler A.B., Glagov S., Insull W., Richardson M., Rosenfeld M.E., Schaffer S.A., Schwartz C.J., Wagner W.D. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association // *Arteriosclerosis and Thrombosis: A Journal of Vascular Biology*. – 1992. – Vol. 12, N 1. – P. 120-134.

28. Nakashima Y., Wight T.N., Sueishi K. Early atherosclerosis in humans: role of diffuse intimal thickening and extracellular matrix proteoglycans // *Cardiovascular Research*. – 2008. – Vol. 79, N 1. – P. 14-23.
29. Borén J., Williams K.J. The central role of arterial retention of cholesterol-rich apolipoprotein-B-containing lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis: a triumph of simplicity // *Current Opinion in Lipidology*. – 2016, Vol. 27, N 5. – P. 473-483.
30. Goldstein J.L., Brown M.S. The LDL Receptor // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2009. – Vol. 29, N 4. – P. 431-438.
31. Bian F., Yang X.-Y., Xu G., Zheng T., Jin S. CRP-Induced NLRP3 Inflammasome Activation Increases LDL Transcytosis Across Endothelial Cells // *Frontiers in Pharmacology*. – 2019. – N 10. – P. 40.
32. Borén J., Olin K., Lee I., Chait A., Wight T.N., Innerarity T.L. Identification of the principal proteoglycan-binding site in LDL. A single-point mutation in apo-B100 severely affects proteoglycan interaction without affecting LDL receptor binding // *Journal of Clinical Investigation*. – 1998. – Vol. 101, N 12. – P. 2658-2664.
33. Tran-Lundmark K., Tran P.-K., Paulsson-Berne G., Friden V., Soininen R., Tryggvason K., Wight T.N., Kinsella M.G., Boren J., Hedin U. Heparan Sulfate in Perlecan Promotes Mouse Atherosclerosis: Roles in Lipid Permeability, Lipid Retention, and Smooth Muscle Cell Proliferation // *Circulation Research*. – 2008. – Vol. 103, N 1. – P. 43-52.
34. Skålen K., Gustafsson M., Rydberg E.K., Hultén L.M., Wiklund O., Innerarity T.L., Borén J. Subendothelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis // *Nature*. – 2002. – Vol. 417, N 6890. – P. 750-754.
35. Devlin C.M., Leventhal A.R., Kuriakose G., Schuchman E.H., Williams K.J., Tabas I. Acid Sphingomyelinase Promotes Lipoprotein Retention Within Early Atheromata and Accelerates Lesion Progression // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2008. – Vol. 28, N 10. – P. 1723-1730.

36. Öörni K., Kovanen P.T. PLA<sub>2</sub>-V: A Real Player in Atherogenesis // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2007. – Vol. 27, N 3. – P. 445-447.
37. Pentikäinen M.O., Oksjoki R., Öörni K., Kovanen P.T. Lipoprotein Lipase in the Arterial Wall: Linking LDL to the Arterial Extracellular Matrix and Much More // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2002. – Vol. 22, N 2. – P. 211-217.
38. Öörni K., Rajamäki K., Nguyen S.D., Lähdesmäki K., Plihtari R., Lee-Rueckert M., Kovanen P.T. Acidification of the intimal fluid: the perfect storm for atherogenesis // *Journal of Lipid Research*. – 2015. – Vol. 56, N 2. – P. 203-214.
39. Sneek M., Nguyen S.D., PihlaJournal of the American Medical Associationa T., Yohannes G., Riekkola M.-L., Milne R., Kovanen P.T., Öörni K. Conformational changes of apoB-100 in SMase-modified LDL mediate formation of large aggregates at acidic pH // *Journal of Lipid Research*. – 2012. – Vol. 53, N 9. – P. 1832-1839.
40. Tabas I., Li Y., Brocia R.W., Xu S.W., Swenson T.L., Williams K.J. Lipoprotein lipase and sphingomyelinase synergistically enhance the association of atherogenic lipoproteins with smooth muscle cells and extracellular matrix. A possible mechanism for low density lipoprotein and lipoprotein(a) retention and macrophage foam cell formation // *The Journal of Biological Chemistry*. – 1993. – Vol. 268, N 27. – P. 20419-20432.
41. Williams K.J., Tabas I. Lipoprotein Retention—and Clues for Atheroma Regression // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2005. – Vol. 25, N 8. – P. 1536-1540.
42. Moore K.J., Koplev S., Fisher E.A., Tabas I., Björkegren J.L.M., Doran A.C., Kovacic J.C. Macrophage Trafficking, Inflammatory Resolution, and Genomics in Atherosclerosis // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2018. – Vol. 72, N 18. – P. 2181-2197.
43. Тодоров С.С., Дерибас В.Ю., Сидоров Р.В., Казьмин А.С., Тодоров С.С. Морфологические особенности строения нестабильных

атеросклеротических бляшек коронарных артерий сердца // Современные проблемы науки и образования. – 2021. – N 4. – С. 102-102.

44. Shankman L.S., Gomez D., Cherepanova O.A., Salmon M., Alencar G.F., Haskins R.M., Swiatlowska P., Newman A.A.C., Greene E.S., Straub A.C., Isakson B., Randolph G.J., Owens G.K. KLF4-dependent phenotypic modulation of smooth muscle cells has a key role in atherosclerotic plaque pathogenesis // *Nature Medicine*. – 2015. – Vol. 21, N 6. – P. 628-637.
45. Stewart C.R., Stuart L.M., Wilkinson K., van Gils J.M., Deng J., Halle A., Rayner K.J., Boyer L., Zhong R., Frazier W.A., Lacy-Hulbert A., Khoury J.E., Golenbock D.T., Moore K.J. CD36 ligands promote sterile inflammation through assembly of a Toll-like receptor 4 and 6 heterodimer // *Nature Immunology*. – 2010. – Vol. 11, N 2. – P. 155-161.
46. Ait-Oufella H., Sage A.P., Mallat Z., Tedgui A. Adaptive (T and B Cells) Immunity and Control by Dendritic Cells in Atherosclerosis // *Circulation Research*. – 2014. – Vol. 114, N 10. – P. 1640-1660.
47. Kyaw T., Winship A., Tay C., Kanellakis P., Hosseini H., Cao A., Li P., Tipping P., Bobik A., Toh B.-H. Cytotoxic and Proinflammatory CD8 + T Lymphocytes Promote Development of Vulnerable Atherosclerotic Plaques in ApoE-Deficient Mice // *Circulation*. – 2013. – Vol. 127, N 9. – P. 1028-1039.
48. Sage A.P., Tsiantoulas D., Binder C.J., Mallat Z. The role of B cells in atherosclerosis // *Nature Reviews Cardiology*. – 2019. – Vol. 16, N 3. – P. 180-196.
49. Sary H.C., Chandler A.B., Glagov S., Guyton J.R., Insull W., Rosenfeld M.E., Schaffer S.A., Schwartz C.J., Wagner W.D., Wissler R.W. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association // *Circulation*. – 1994. – Vol. 89, N 5. – P. 2462-2478.
50. Sary H.C., Chandler A.B., Dinsmore R.E., Fuster V., Glagov S., Insull W., Rosenfeld M.E., Schwartz C.J., Wagner W.D., Wissler R.W. A Definition of Advanced Types of Atherosclerotic Lesions and a Histological Classification of

- Atherosclerosis: A Report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association // *Circulation*. – 1995. – Vol. 92, N 5. – P. 1355-1374.
51. Sakakura K., Nakano M., Otsuka F., Ladich E., Kolodgie F.D., Virmani R. Pathophysiology of Atherosclerosis Plaque Progression // *Heart, Lung and Circulation*. – 2013. – Vol. 22, N 6. – P. 399-411.
52. Otsuka F., Yasuda S., Noguchi T., Ishibashi-Ueda H. Pathology of coronary atherosclerosis and thrombosis // *Cardiovascular Diagnosis and Therapy*. – 2016. – Vol. 6, N 4. – P. 396-408.
53. Burke A.P., Farb A., Malcom G.T., Liang Y., Smialek J., Virmani R. Coronary Risk Factors and Plaque Morphology in Men with Coronary Disease Who Died Suddenly // *New England Journal of Medicine*. – 1997. – Vol. 336, N 18. – P. 1276-1282.
54. Рагино Ю.И., Волков А.М., Чернявский А.М. Стадии развития атеросклеротического очага и типы нестабильных бляшек. – патофизиологическая и гистологическая характеристика // *Российский кардиологический журнал*. – 2013. – Т. 103, N 5. – С. 88-95.
55. Bobryshev Y.V., Killingsworth M.C., Lord R.S.A., Grabs A.J. Matrix vesicles in the fibrous cap of atherosclerotic plaque: possible contribution to plaque rupture // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2008. – Vol. 12, N 5b. – P. 2073-2082.
56. Burke A.P., Farb A., Malcom G.T., Liang Y., Smialek J.E., Virmani R. Plaque Rupture and Sudden Death Related to Exertion in Men with Coronary Artery Disease // *Journal of the American Medical Association*. – 1999. – Vol. 281, N 10. – P. 921.
57. Константинова Е.В., Богданова А.А., Сагателян А.А., Ковайкин А.И., Першина Е.С., Гиляров М.Ю. Особенности атеросклеротического поражения в каротидных и коронарных артериях // *Медицинский совет*. – 2021. – N 14. – С. 44-53.

58. Virmani R., Kolodgie F.D., Burke A.P., Farb A., Schwartz S.M. Lessons from Sudden Coronary Death: A Comprehensive Morphological Classification Scheme for Atherosclerotic Lesions // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2000. – Vol. 20, N 5. – P. 1262-1275.
59. Farb A., Burke A.P., Tang A.L., Liang Y., Mannan P., Smialek J., Virmani R. Coronary Plaque Erosion Without Rupture into a Lipid Core: A Frequent Cause of Coronary Thrombosis in Sudden Coronary Death // *Circulation*. – 1996. – Vol. 93, N 7. – P. 1354-1363.
60. Kramer M.C.A., Rittersma S.Z.H., de Winter R.J., Ladich E.R., Fowler D.R., Liang Y.-H., Kutys R., Carter-Monroe N., Kolodgie F.D., van der Wal A.C., Virmani R. Relationship of Thrombus Healing to Underlying Plaque Morphology in Sudden Coronary Death // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2010. – Vol. 55, N 2. – P. 122-132.
61. Kolodgie F.D., Burke A.P., Farb A., Weber D.K., Kutys R., Wight T.N., Virmani R. Differential Accumulation of Proteoglycans and Hyaluronan in Culprit Lesions: Insights into Plaque Erosion // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2002. – Vol. 22, N 10. – P. 1642-1648.
62. Schwartz R.S., Burke A., Farb A., Kaye D., Lesser J.R., Henry T.D., Virmani R. Microemboli and Microvascular Obstruction in Acute Coronary Thrombosis and Sudden Coronary Death // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2009. – Vol. 54, N 23. – P. 2167-2173.
63. Robinson J.G., Williams K.J., Gidding S., Borén J., Tabas I., Fisher E.A., Packard C., Pencina M., Fayad Z.A., Mani V., Rye K.A., Nordestgaard B.G., Tybjaerg-Hansen A., Douglas P.S., Nicholls S.J., Pagidipati N., Sniderman A. Eradicating the Burden of Atherosclerotic Cardiovascular Disease by Lowering Apolipoprotein B Lipoproteins Earlier in Life // *Journal of the American Heart Association*. – 2018. – Vol. 7, N 20. – P. e009778.
64. Мельников И.С., Козлов С.Г., Сабурова О.С., Автаева Ю.Н., Зверева М.Д., Прокофьева Л.В., Кузнецова Т.В., Гусева О.А., Габбасов З.А. Возможности применения мономерной формы с-реактивного белка в оценке

резидуального воспалительного сердечно-сосудистого риска в пожилом возрасте // Клиническая геронтология. – Т. 28, № 5-6. – С. 69-85.

65. Biccard B.M. A peri-operative statin update for non-cardiac surgery. Part I: The effects of statin therapy on atherosclerotic disease and lessons learnt from statin therapy in medical (non-surgical) patients: Peri-operative statin therapy // *Anaesthesia*. – 2007. – Vol. 63, N 1. – P. 52–64.
66. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S) // *Lancet*. – 1994. – Vol. 344, N 8934. – P. 1383-1389.
67. Heart Protection Study Collaborative Group. Randomized trial of the effects of cholesterol-lowering with simvastatin on peripheral vascular and other major vascular outcomes in 20,536 people with peripheral arterial disease and other high-risk conditions // *Journal of Vascular Surgery*. – 2007. – Vol. 45, N 4. – P. 645-654.
68. Downs J.R., Clearfield M., Weis S., Whitney E., Shapiro D.R., Beere P.A., Langendorfer A., Stein E.A., Kruyer W., Gotto, Jr A.M., et al. Primary Prevention of Acute Coronary Events with Lovastatin in Men and Women with Average Cholesterol Levels: Results of AFCAPS/TexCAPS // *Journal of the American Medical Association*. – 1998. – Vol. 279, N 20. – P. 1615-1622.
69. West of Scotland Coronary Prevention Group. West of Scotland Coronary Prevention Study: identification of high-risk groups and comparison with other cardiovascular intervention trials // *The Lancet*. – 1996. – Vol. 348, N 9038. – P. 1339-1342.
70. LaRosa J.C., Grundy S.M., Waters D.D., Shear C., Barter P., Fruchart J.-C., Gotto A.M., Greten H., Kastelein J.J.P., Shepherd J., Wenger N.K. Intensive Lipid Lowering with Atorvastatin in Patients with Stable Coronary Disease // *New England Journal of Medicine*. – 2005. – Vol. 352, N 14. – P. 1425-1435.
71. Schwartz G.G., Olsson A.G., Ezekowitz M.D., Ganz P., Oliver M.F., Waters D., et al. Effects of Atorvastatin on Early Recurrent Ischemic Events in Acute

- Coronary Syndromes. The MIRACL Study: A Randomized Controlled Trial // Journal of the American Medical Association. – 2001. – Vol. 285, N 13. – P. 1711-1718.
72. Cannon C.P., Braunwald E., McCabe C.H., Rader D.J., Rouleau J.L., Belder R., Joyal S.V., Hill K.A., Pfeffer M.A., Skene A.M. Intensive versus Moderate Lipid Lowering with Statins after Acute Coronary Syndromes // New England Journal of Medicine. – 2004. – Vol. 350, N 15. – P. 1495-1504.
73. de Lemos J.A., Blazing M.A., Wiviott S.D., Lewis E.F., Fox K.A.A., White H.D., Rouleau J.-L., Pedersen T.R., Gardner L.H., Mukherjee R., Ramsey K.E., Palmisano J., Bilheimer D.W., Pfeffer M.A., Califf R.M., Braunwald E. Early Intensive vs a Delayed Conservative Simvastatin Strategy in Patients with Acute Coronary Syndromes: Phase Z of the A to Z Trial // Journal of the American Medical Association. – 2004. – Vol. 292, N 11. – P. 1307-1316.
74. Silverman M.G., Ference B.A., Im K., Wiviott S.D., Giugliano R.P., Grundy S.M., Braunwald E., Sabatine M.S. Association Between Lowering LDL-C and Cardiovascular Risk Reduction Among Different Therapeutic Interventions: A Systematic Review and Meta-analysis // Journal of the American Medical Association. – 2016. – Vol. 316, N 12. – P. 1289-1297.
75. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170 000 participants in 26 randomised trials // The Lancet. – 2010. – Vol. 376, N 9753. – P. 1670-1681.
76. Ference B.A., Cannon C.P., Landmesser U., Lüscher T.F., Catapano A.L., Ray K.K. Reduction of low density lipoprotein-cholesterol and cardiovascular events with proprotein convertase subtilisin-kexin type 9 (PCSK9) inhibitors and statins: an analysis of FOURIER, SPIRE, and the Cholesterol Treatment Trialists Collaboration // European Heart Journal. – 2018. – Vol. 39, N 27. – P. 2540-2545.
77. Sabatine M.S., Giugliano R.P., Keech A.C., Honarpour N., Wiviott S.D., Murphy S.A., Kuder J.F., Wang H., Liu T., Wasserman S.M., Sever P.S., Pedersen T.R.

- Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease // *New England Journal of Medicine*. – 2017. – Vol. 376, N 18. – P. 1713-1722.
78. Giugliano R.P., Pedersen T.R., Park J.-G., De Ferrari G.M., Gaciong Z.A., Ceska R., Toth K., Gouni-Berthold I., Lopez-Miranda J., Schiele F., Mach F., Ott B.R., Kanevsky E., Pineda A.L., Somaratne R., Wasserman S.M., Keech A.C., Sever P.S., Sabatine M.S. Clinical efficacy and safety of achieving very low LDL-cholesterol concentrations with the PCSK9 inhibitor evolocumab: a prespecified secondary analysis of the FOURIER trial // *The Lancet*. – 2017. – Vol. 390, N 10106. – P. 1962-1971.
79. Schwartz G.G., Steg P.G., Szarek M., Bhatt D.L., Bittner V.A., Diaz R., Edelberg J.M., Goodman S.G., Hanotin C., Harrington R.A., Jukema J.W., Lecorps G., Mahaffey K.W., Moryusef A., Pordy R., Quintero K., Roe M.T., Sasiela W.J., Tamby J.-F., Tricoci P., White H.D., Zeiher A.M. Alirocumab and Cardiovascular Outcomes after Acute Coronary Syndrome // *New England Journal of Medicine*. – 2018. – Vol. 379, N 22. – P. 2097-2107.
80. Schwartz G.G., Gabriel Steg P., Bhatt D.L., Bittner V.A., Diaz R., Goodman S.G., Jukema J.W., Kim Y.-U., Li Q.H., Manvelian G., Pordy R., Sourdille T., White H.D., Szarek M. Clinical Efficacy and Safety of Alirocumab After Acute Coronary Syndrome According to Achieved Level of Low-Density Lipoprotein Cholesterol: A Propensity Score–Matched Analysis of the ODYSSEY OUTCOMES Trial // *Circulation*. – 2021. – Vol. 143, N 11. – P. 1109-1122.
81. The HPS3/TIMI55–REVEAL Collaborative Group. Effects of Anacetrapib in Patients with Atherosclerotic Vascular Disease // *New England Journal of Medicine*. – 2017. – Vol. 377, N 13. – P. 1217-1227.
82. Li Y., Deng S., Liu B., Yan Y., Du J., Li Y., Jing X., Liu Y., Wang J., Du J., She Q. The effects of lipid-lowering therapy on coronary plaque regression: a systematic review and meta-analysis // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol. 11, N 1. – P. 7999.
83. Nicholls S.J., Ballantyne C.M., Barter P.J., Chapman M.J., Erbel R.M., Libby P., Raichlen J.S., Uno K., Borgman M., Wolski K., Nissen S.E. Effect of Two

- Intensive Statin Regimens on Progression of Coronary Disease // *New England Journal of Medicine*. – 2011. – Vol. 365, N 22. – P. 2078-2087.
84. Латфуллин И.А. Ишемическая болезнь сердца : основные факторы риска, лечение. Казань: Казанский федеральный университет, 2017. 426 с.
85. Nicholls S.J., Puri R., Anderson T., Ballantyne C.M., Cho L., Kastelein J.J.P., Koenig W., Somaratne R., Kassahun H., Yang J., Wasserman S.M., Scott R., Ungi I., Podolec J., Ophuis A.O., Cornel J.H., Borgman M., Brennan D.M., Nissen S.E. Effect of Evolocumab on Progression of Coronary Disease in Statin-Treated Patients: The GLAGOV Randomized Clinical Trial // *Journal of the American Medical Association*. – 2016. – Vol. 316, N 22. – P. 2373-2384.
86. Dhindsa D.S., Sandesara P.B., Shapiro M.D., Wong N.D. The Evolving Understanding and Approach to Residual Cardiovascular Risk Management // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2020. – N 7. – P. 88.
87. Lawler P.R., Akinkuolie A.O., Harada P., Glynn R.J., Chasman D.I., Ridker P.M., Mora S. Residual Risk of Atherosclerotic Cardiovascular Events in Relation to Reductions in Very-Low-Density Lipoproteins // *Journal of the American Heart Association*. – 2017. – Vol. 6, N 12. – P. e007402.
88. Jepsen A.-M.K., Langsted A., Varbo A., Bang L.E., Kamstrup P.R., Nordestgaard B.G. Increased Remnant Cholesterol Explains Part of Residual Risk of All-Cause Mortality in 5414 Patients with Ischemic Heart Disease // *Clinical Chemistry*. – 2016. – Vol. 62, N 4. – P. 593-604.
89. Кухарчук В.В., Ежов М.В., Сергиенко И.В., Арабидзе Г.Г, Бубнова М.Г., Балахонова Т.В., и др. Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза. Российские рекомендации, VII пересмотр (2020) // *Евразийский кардиологический журнал*. – 2020. – N 2. – С. 6-29.
90. Di Angelantonio E., Gao P., Pennells L., Kaptoge S., Danesh J., et al. Lipid-related markers and cardiovascular disease prediction // *Journal of the American Medical Association*. – 2012. – Vol. 307, N 23. – P. 2499-2506.

91. Burgess S., Ference B.A., Staley J.R., Freitag D.F., Mason A.M., Nielsen S.F., Willeit P., Young R., Surendran P., Karthikeyan S., Bolton T.R., Peters J.E., Kamstrup P.R., Tybjaerg-Hansen A., Benn M., Langsted A., Schnohr P., Vedel-Krogh S., Kobylecki C.J., Ford I., Packard C., Trompet S., Jukema J.W., Sattar N., Di Angelantonio E., Saleheen D., Howson J.M.M., Nordestgaard B.G., Butterworth A.S., Danesh J. Association of LPA Variants With Risk of Coronary Disease and the Implications for Lipoprotein(a)-Lowering Therapies: A Mendelian Randomization Analysis // *Journal of the American Medical Association Cardiology*. – 2018. – Vol. 3, N 7. – P. 619-627.
92. Тмоян Н.А, Афанасьева О.И., Ежов М.В. Роль липопротеида(а) в развитии атеросклеротического поражения периферических и сонных артерий // *Кардиология*. – 2018. – Т. 17, N 6. – С. 70-78.
93. Pepine C.J. Residual risk for secondary ischemic events in patients with atherothrombotic disease: Opportunity for future improvements in patient care // *Annals of Medicine*. – 2010. – Vol. 42, N 1. – P. 19-35.
94. Духин О.А., Калининская А.И., Шпектор А.В., Васильева Е.Ю. Роль тромбина в патогенезе атеросклероза и его осложнений // *Кардиология*. – 2022. – Т. 62, N 3. – С. 73-81.
95. Ridker P.M. Residual inflammatory risk: addressing the obverse side of the atherosclerosis prevention coin // *European Heart Journal*. – 2016. – Vol. 37, N 22. – P. 1720-1722.
96. Schade D.S., Eaton R.P. Residual Cardiovascular Risk—Is Inflammation the Primary Cause? // *World Journal of Cardiovascular Diseases*. – 2018. – Vol. 08, N 01. – P. 59-69.
97. Ross R. Atherosclerosis — An Inflammatory Disease // *New England Journal of Medicine*. – 1999. – Vol. 340, N 2. – P. 115-126.
98. Matzinger P. Tolerance, Danger, and the Extended Family // *Annual Review of Immunology*. – 1994. – Vol. 12, N 1. – P. 991-1045.
99. Karasawa T., Takahashi M. Role of NLRP3 Inflammasomes in Atherosclerosis // *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. – 2017. – Vol. 24, N 5. – P. 443-451.

100. Martinon F., Burns K., Tschopp J. The Inflammasome // *Molecular Cell*. – 2002. – Vol. 10, N 2. – P. 417-426.
101. Franchi L., Eigenbrod T., Muñoz-Planillo R., Nuñez G. The inflammasome: a caspase-1-activation platform that regulates immune responses and disease pathogenesis // *Nature Immunology*. – 2009. – Vol. 10, N 3. – P. 241-247.
102. Dinarello C.A. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity // *Immunological Reviews*. – 2018. – Vol. 281, N 1. – P. 8-27.
103. Shi J., Zhao Y., Wang K., Shi X., Wang Y., Huang H., Zhuang Y., Cai T., Wang F., Shao F. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death // *Nature*. – 2015. – Vol. 526, N 7575. – P. 660-665.
104. Silvis M.J.M., Demkes E.J., Fiolet A.T.L., Dekker M., Bosch L., van Hout G.P.J., Timmers L., de Kleijn D.P.V. Immunomodulation of the NLRP3 Inflammasome in Atherosclerosis, Coronary Artery Disease, and Acute Myocardial Infarction // *Journal of Cardiovascular Translational Research*. – 2021. – Vol. 14, N 1. – P. 23-34.
105. Martinon F., Pétrilli V., Mayor A., Tardivel A., Tschopp J. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome // *Nature*. – 2006. – Vol. 440, N 7081. – P. 237-241.
106. Usui F., Shirasuna K., Kimura H., Tatsumi K., Kawashima A., Karasawa T., Yoshimura K., Aoki H., Tsutsui H., Noda T., Sagara J., Taniguchi S., Takahashi M. Inflammasome Activation by Mitochondrial Oxidative Stress in Macrophages Leads to the Development of Angiotensin II-Induced Aortic Aneurysm // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2015. – Vol. 35, N 1. – P. 127-136.
107. Kawaguchi M., Takahashi M., Hata T., Kashima Y., Usui F., Morimoto H., Izawa A., Takahashi Y., Masumoto J., Koyama J., Hongo M., Noda T., Nakayama J., Sagara J., Taniguchi S., Ikeda U. Inflammasome Activation of Cardiac Fibroblasts Is Essential for Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury // *Circulation*. – 2011. – Vol. 123, N 6. – P. 594-604.

108. Hutton H.L., Ooi J.D., Holdsworth S.R., Kitching A.R. The NLRP3 inflammasome in kidney disease and autoimmunity: Inflammasomes in kidney disease // *Nephrology*. – 2016. – Vol. 21, N 9. – P. 736-744.
109. Esser N., Legrand-Poels S., Piette J., Scheen A.J., Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes // *Diabetes Research and Clinical Practice*. – 2014. – Vol. 105, N 2. – P. 141-150.
110. Ding S., Xu S., Ma Y., Liu G., Jang H., Fang J. Modulatory Mechanisms of the NLRP3 Inflammasomes in Diabetes // *Biomolecules*. – 2019. – Vol. 9, N 12. – P. 850.
111. Wen H., Gris D., Lei Y., Jha S., Zhang L., Huang M.T.-H., Brickey W.J., Ting J.P.-Y. Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling // *Nature Immunology*. – 2011. – Vol. 12, N 5. – P. 408-415.
112. Duewell P., Kono H., Rayner K.J., Sirois C.M., Vladimer G., Bauernfeind F.G., Abela G.S., Franchi L., Nuñez G., Schnurr M., Espevik T., Lien E., Fitzgerald K.A., Rock K.L., Moore K.J., Wright S.D., Hornung V., Latz E. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals // *Nature*. – 2010. – Vol. 464, N 7293. – P. 1357-1361.
113. Sheedy F.J., Grebe A., Rayner K.J., Kalantari P., Ramkhelawon B., Carpenter S.B., Becker C.E., Ediriweera H.N., Mullick A.E., Golenbock D.T., Stuart L.M., Latz E., Fitzgerald K.A., Moore K.J. CD36 coordinates NLRP3 inflammasome activation by facilitating intracellular nucleation of soluble ligands into particulate ligands in sterile inflammation // *Nature Immunology*. – 2013. – Vol. 14, N 8. – P. 812-820.
114. Tall A.R., Westerterp M. Inflammasomes, neutrophil extracellular traps, and cholesterol // *Journal of Lipid Research*. – 2019. – Vol. 60, N 4. – P. 721-727.
115. Usui F., Shirasuna K., Kimura H., Tatsumi K., Kawashima A., Karasawa T., Hida S., Sagara J., Taniguchi S., Takahashi M. Critical role of caspase-1 in vascular inflammation and development of atherosclerosis in Western diet-fed

- apolipoprotein E-deficient mice // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2012. – Vol. 425, N 2. – P. 162-168.
116. Libby P. Interleukin-1 Beta as a Target for Atherosclerosis Therapy // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2017. – Vol. 70, N 18. – P. 2278-2289.
117. Kaplanski G. IL-6: a regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation // *Trends in Immunology*. – 2003. – Vol. 24, N 1. – P. 25-29.
118. Roldan V., Roldán V., Marín F., Blann A.D., García A., Marco P., Sogorb F., Lip G.Y.H. Interleukin-6, endothelial activation and thrombogenesis in chronic atrial fibrillation // *European Heart Journal*. – 2003. – Vol. 24, N 14. – P. 1373-1380.
119. Morimoto S., Nabata T., Koh E., Shiraishi T., Fukuo K., Imanaka S., Kitano S., Miyashita Y., Ogihara T. Interleukin-6 Stimulates Proliferation of Cultured Vascular Smooth Muscle Cells Independently of Interleukin-1 $\beta$ : // *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. – 1991. – Vol. 17, N Suppl 2. – P. S117-S118.
120. Scheller J., Chalaris A., Schmidt-Arras D., Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6 // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2011. – Vol. 1813, N 5. – P. 878-888.
121. Gierens H., Nauck M., Roth M., Schinker R., Schürmann C., Scharnagl H., Neuhaus G., Wieland H., März W. Interleukin-6 Stimulates LDL Receptor Gene Expression via Activation of Sterol-Responsive and Sp1 Binding Elements // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2000. – Vol. 20, N 7. – P. 1777-1783.
122. Tousoulis D., Oikonomou E., Economou E.K., Crea F., Kaski J.C. Inflammatory cytokines in atherosclerosis: current therapeutic approaches // *European Heart Journal*. – 2016. – Vol. 37, N 22. – P. 1723-1732.
123. Glynn R.J., MacFadyen J.G., Ridker P.M. Tracking of High-Sensitivity C-Reactive Protein after an Initially Elevated Concentration: The JUPITER Study // *Clinical Chemistry*. – 2009. – Vol. 55, N 2. – P. 305-312.

124. van der Wal A. Atherosclerotic plaque rupture. – pathologic basis of plaque stability and instability // *Cardiovascular Research*. – 1999. – Vol. 41, N 2. – P. 334-344.
125. Scalone G., Niccoli G., Refaat H., Vergallo R., Porto I., Leone A.M., Burzotta F., D'Amario D., Liuzzo G., Fracassi F., Trani C., Crea F. Not all plaque ruptures are born equal: an optical coherence tomography study // *European Heart Journal - Cardiovascular Imaging*. – 2017. – Vol. 18, N 11. – P. 1271-1277.
126. Kolodgie F.D., Narula J., Burke A.P., Haider N., Farb A., Hui-Liang Y., Smialek J., Virmani R. Localization of Apoptotic Macrophages at the Site of Plaque Rupture in Sudden Coronary Death // *The American Journal of Pathology*. – 2000. – Vol. 157, N 4. – P. 1259-1268.
127. Campbell I.C., Suever J.D., Timmins L.H., Veneziani A., Vito R.P., Virmani R., Oshinski J.N., Taylor W.R. Biomechanics and Inflammation in Atherosclerotic Plaque Erosion and Plaque Rupture: Implications for Cardiovascular Events in Women // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9, N 11. – P. e111785.
128. Carr S.C., Farb A., Pearce W.H., Virmani R., Yao J.S.T. Activated inflammatory cells are associated with plaque rupture in carotid artery stenosis // *Surgery*. – 1997. – Vol. 122, N 4. – P. 757-764.
129. Spagnoli L.G. Extracranial Thrombotically Active Carotid Plaque as a Risk Factor for Ischemic Stroke // *Journal of the American Medical Association*. – 2004. – Vol. 292, N 15. – P. 1845.
130. Jezovnik M.K., Zidar N., Lezaic L., Gersak B., Poredos P. Identification of Inflamed Atherosclerotic Lesions In Vivo Using PET-CT // *Inflammation*. – 2014. – Vol. 37, N 2. – P. 426-434.
131. Kelly P.J., Camps-Renom P., Giannotti N., Martí-Fàbregas J., McNulty J.P., Baron J.-C., Barry M., Coutts S.B., Cronin S., Delgado-Mederos R., Dolan E., Fernández-León A., Foley S., Harbison J., Horgan G., Kavanagh E., Marnane M., McCabe J., McDonnell C., Sharma V.K., Williams D.J., O'Connell M., Murphy S. A Risk Score Including Carotid Plaque Inflammation and Stenosis Severity

- Improves Identification of Recurrent Stroke // *Stroke*. – 2020. – Vol. 51, N 3. – P. 838-845.
132. Lee D.H., Lee S.J., Lee D.-J., Kwon S.H., Jo K.-S., An Y.-S., Yoon J.-K. Carotid Artery FDG Uptake May Serve as a Biomarker for Cardiovascular Risk Stratification in Asymptomatic Adults // *Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. – 2014. – Vol. 48, N 3. – P. 196-202.
133. Ridker P.M., Hennekens C.H., Buring J.E., Rifai N. C-Reactive Protein and Other Markers of Inflammation in the Prediction of Cardiovascular Disease in Women // *New England Journal of Medicine*. – 2000. – Vol. 342, N 12. – P. 836-843.
134. Ridker P.M., Cushman M., Stampfer M.J., Tracy R.P., Hennekens C.H. Inflammation, Aspirin, and the Risk of Cardiovascular Disease in Apparently Healthy Men // *New England Journal of Medicine*. – 1997. – Vol. 336, N 14. – P. 973-979.
135. Kuller L.H., Tracy R.P., Shaten J., Meilahn E.N. Relation of C-Reactive Protein and Coronary Heart Disease in the MRFIT Nested Case-Control Study // *American Journal of Epidemiology*. – 1996. – Vol. 144, N 6. – P. 537-547.
136. The Emerging Risk Factors Collaboration C-Reactive Protein, Fibrinogen, and Cardiovascular Disease Prediction // *New England Journal of Medicine*. – 2012. – Vol. 367, N 14. – P. 1310-1320.
137. Saito I., Maruyama K., Eguchi E. C-Reactive Protein and Cardiovascular Disease in East Asians: A Systematic Review // *Clinical Medicine Insights: Cardiology*. – 2014. – Vol. 8, N Suppl 3. – P. 35-42.
138. Buckley D.I., Fu R., Freeman M., Rogers K., Helfand M. C-Reactive Protein as a Risk Factor for Coronary Heart Disease: A Systematic Review and Meta-analyses for the U.S. Preventive Services Task Force // *Annals of Internal Medicine*. – 2009. – Vol. 151, N 7. – P. 483-495.
139. Уткина Е.А., Афанасьева О.И., Покровский С.Н. С-реактивный белок: патогенетические свойства и возможная терапевтическая мишень // *Российский кардиологический журнал*. – 2021. – Т. 26, N 6. – С. 4138.

140. Clyne B., Olshaker J.S. The C-reactive protein // *The Journal of Emergency Medicine*. – 1999. – Vol. 17, N 6. – P. 1019-1025.
141. Aziz N., Fahey J.L., Detels R., Butch A.W. Analytical Performance of a Highly Sensitive C-Reactive Protein-Based Immunoassay and the Effects of Laboratory Variables on Levels of Protein in Blood // *Clinical and Vaccine Immunology*. – 2003. – Vol. 10, N 4. – P. 652-657.
142. Póvoa P., Almeida E., Moreira P., Fernandes A., Mealha R., Aragão A., Sabino H. C-reactive protein as an indicator of sepsis // *Intensive Care Medicine*. – 1998. – Vol. 24, N 10. – P. 1052-1056.
143. Eda S., Kaufmann J., Molwitz M., Vorberg E. A new method of measuring C-reactive protein, with a low limit of detection, suitable for risk assessment of coronary heart disease // *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. Supplementum*. – 1999. – N 230. – P. 32-35.
144. Pearson T.A., Mensah G.A., Alexander R.W., Anderson J.L., Cannon R.O., Criqui M., Fadl Y.Y., Fortmann S.P., Hong Y., Myers G.L., Rifai N., Smith S.C., Taubert K., Tracy R.P., Vinicor F. Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: A Statement for Healthcare Professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association // *Circulation*. – 2003. – Vol. 107, N 3. – P. 499-511.
145. Ridker P.M. C-reactive protein, inflammation, and cardiovascular disease: clinical update // *Texas Heart Institute Journal*. – 2005. – Vol. 32, N 3. – P. 384-386.
146. Ridker P.M. From C-Reactive Protein to Interleukin-6 to Interleukin-1: Moving Upstream to Identify Novel Targets for Atheroprotection // *Circulation Research*. – 2016. – Vol. 118, N 1. – P. 145-156.
147. Grundy S.M., Stone N.J., Bailey A.L., Beam C., Birtcher K.K., Blumenthal R.S., Braun L.T., de Ferranti S., Faiella-Tommasino J., Forman D.E., Goldberg R., Heidenreich P.A., Hlatky M.A., Jones D.W., Lloyd-Jones D., Lopez-Pajares N.,

- Ndumele C.E., Orringer C.E., Peralta C.A., Saseen J.J., Smith S.C., Sperling L., Virani S.S., Yeboah J. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCN A Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines // *Circulation*. – 2019. – Vol. 139, N 25. – P. e1082–e1143.
148. Lv J.-M., Lü S.-Q., Liu Z.-P., Zhang J., Gao B.-X., Yao Z.-Y., Wu Y.-X., Potempa L.A., Ji S.-R., Long M., Wu Y. Conformational folding and disulfide bonding drive distinct stages of protein structure formation // *Scientific Reports*. – 2018. – Vol. 8, N 1. – P. 1494.
149. Volanakis J.E., Wirtz K.W.A. Interaction of C-reactive protein with artificial phosphatidylcholine bilayers // *Nature*. – 1979. – Vol. 281, N 5727. – P. 155-157.
150. Thompson D., Pepys M.B., Wood S.P. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine // *Structure*. – 1999. – Vol. 7, N 2. – P. 169-177.
151. Hack C.E., Wolbink G.-J., Schalkwijk C., Speijer H., Hermens W.Th., van den Bosch H. A role for secretory phospholipase A2 and C-reactive protein in the removal of injured cells // *Immunology Today*. – 1997. – Vol. 18, N 3. – P. 111-115.
152. Wu R., Huang Y.H., Elinder L.S., Frostegård J. Lysophosphatidylcholine Is Involved in the Antigenicity of Oxidized LDL // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 1998. – Vol. 18, N 4. – P. 626-630.
153. Law S.-H., Chan M.-L., Marathe G.K., Parveen F., Chen C.-H., Ke L.-Y. An Updated Review of Lysophosphatidylcholine Metabolism in Human Diseases // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2019. – Vol. 20, N 5. – P. 1149.
154. Corrêa R., Silva L.F.F., Ribeiro D.J.S., Almeida R. das N., Santos I. de O., Corrêa L.H., de Sant'Ana L.P., Assunção L.S., Bozza P.T., Magalhães K.G. Lysophosphatidylcholine Induces NLRP3 Inflammasome-Mediated Foam Cell

- Formation and Pyroptosis in Human Monocytes and Endothelial Cells // *Frontiers in Immunology*. – 2020. – N 10. – P. 2927.
155. Zhang S.-Y., Dong Y.-Q., Wang P., Zhang X., Yan Y., Sun L., Liu B., Zhang D., Zhang H., Liu H., Kong W., Hu G., Shah Y.M., Gonzalez F.J., Wang X., Jiang C. Adipocyte-derived Lysophosphatidylcholine Activates Adipocyte and Adipose Tissue Macrophage Nod-Like Receptor Protein 3 Inflammasomes Mediating Homocysteine-Induced Insulin Resistance // *EBioMedicine*. – 2018. – N 31. – P. 202-216.
156. Du Clos T.W., Mold C. Pentraxins (CRP, SAP) in the process of complement activation and clearance of apoptotic bodies through Fc $\gamma$  receptors // *Current Opinion in Organ Transplantation*. – 2011. – Vol. 16, N 1. – P. 15-20.
157. Mold C., Gewurz H., Du Clos T.W. Regulation of complement activation by C-reactive protein // *Immunopharmacology*. – 1999. – Vol. 42, N 1-3. – P. 23-30.
158. Du Clos T.W. The interaction of C-reactive protein and serum amyloid P component with nuclear antigens // *Molecular Biology Reports*. – 1996. – Vol. 23, N 3-4. – P. 253-260.
159. Ji S., Wu Y., Zhu L., Potempa L.A., Sheng F., Lu W., Zhao J. Cell membranes and liposomes dissociate C-reactive protein (CRP) to form a new, biologically active structural intermediate: mCRP<sub>m</sub> // *The FASEB Journal*. – 2007. – Vol. 21, N 1. – P. 284-294.
160. Melnikov I.S., Kozlov S.G., Saburova O.S., Avtaeva Y.N., Prokofieva L.V., Gabbasov Z.A. Current Position on the Role of Monomeric C-reactive Protein in Vascular Pathology and Atherothrombosis // *Current Pharmaceutical Design*. – 2020. – Vol. 26, N 1. – P. 37-43.
161. Khreiss T., József L., Hossain S., Chan J.S.D., Potempa L.A., Filep J.G. Loss of Pentameric Symmetry of C-reactive Protein Is Associated with Delayed Apoptosis of Human Neutrophils // *Journal of Biological Chemistry*. – 2002. – Vol. 277, N 43. – P. 40775-40781.

162. Li H.-Y., Wang J., Meng F., Jia Z.-K., Su Y., Bai Q.-F., Lv L.-L., Ma F.-R., Potempa L.A., Yan Y.-B., Ji S.-R., Wu Y. An Intrinsically Disordered Motif Mediates Diverse Actions of Monomeric C-reactive Protein // *Journal of Biological Chemistry*. – 2016. – Vol. 291, N 16. – P. 8795-8804.
163. Khreiss T., József L., Potempa L.A., Filep J.G. Conformational Rearrangement in C-Reactive Protein Is Required for Proinflammatory Actions on Human Endothelial Cells // *Circulation*. – 2004. – Vol. 109, N 16. – P. 2016-2022.
164. Li H.-Y., Wang J., Wu Y.-X., Zhang L., Liu Z.-P., Filep J.G., Potempa L.A., Wu Y., Ji S.-R. Topological Localization of Monomeric C-reactive Protein Determines Proinflammatory Endothelial Cell Responses // *Journal of Biological Chemistry*. – 2014. – Vol. 289, N 20. – P. 14283-14290.
165. Khreiss T., József L., Potempa L.A., Filep J.G. Loss of Pentameric Symmetry in C-Reactive Protein Induces Interleukin-8 Secretion Through Peroxynitrite Signaling in Human Neutrophils // *Circulation Research*. – 2005. – Vol. 97, N 7. – P. 690-697.
166. Zouki C., Haas B., Chan J.S.D., Potempa L.A., Filep J.G. Loss of Pentameric Symmetry of C-Reactive Protein Is Associated with Promotion of Neutrophil-Endothelial Cell Adhesion // *The Journal of Immunology*. – 2001. – Vol. 167, N 9. – P. 5355-5361.
167. Trial J., Potempa L.A., Entman M.L. The role of C-reactive protein in innate and acquired inflammation: new perspectives // *Inflammation and Cell Signaling*. – 2016. – Vol. 3, N 2. – P. e1409.
168. Ji S., Wu Y., Potempa L., Qiu Q., Zhao J. Interactions of C-reactive protein with low-density lipoproteins: Implications for an active role of modified C-reactive protein in atherosclerosis // *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. – 2006. – Vol. 38, N 4. – P. 648-661.
169. Boras E., Slevin M., Alexander M.Y., Aljohi A., Gilmore W., Ashworth J., Krupinski J., Potempa L.A., Al Abdulkareem I., Elobeid A., Matou-Nasri S. Monomeric C-reactive protein and Notch-3 co-operatively increase angiogenesis

- through PI3K signalling pathway // *Cytokine*. – 2014. – Vol. 69, N 2. – P. 165-179.
170. Turu M.M., Slevin M., Matou S., West D., Rodríguez C., Luque A., Grau-Olivares M., Badimon L., Martinez-Gonzalez J., Krupinski J. C-reactive protein exerts angiogenic effects on vascular endothelial cells and modulates associated signalling pathways and gene expression // *BMC Cell Biology*. – 2008. – Vol. 9, N 1. – P. 47.
171. Kobayashi S., Inoue N., Ohashi Y., Terashima M., Matsui K., Mori T., Fujita H., Awano K., Kobayashi K., Azumi H., Ejiri J., Hirata K., Kawashima S., Hayashi Y., Yokozaki H., Itoh H., Yokoyama M. Interaction of Oxidative Stress and Inflammatory Response in Coronary Plaque Instability: Important Role of C-Reactive Protein // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2003. – Vol. 23, N 8. – P. 1398-1404.
172. Мельников И.С., Козлов С.Г., Чумаченко П.В., Сабурова О.С., Гусева О.А., Прокофьева Л.В., Габбасов З.А. Мономерный С-реактивный белок и локальная воспалительная реакция в стенке коронарных артерий у больных стабильной ишемической болезнью сердца // *Российский кардиологический журнал*. – 2019. – N 5. – С. 56-61.
173. Vainas T., Stassen F.R.M., de Graaf R., Twiss E.L.L., Hergreen S.B., Welten R.J.Th.J., van den Akker L.H.J.M., van Dieijen-Visser M.P., Bruggeman C.A., Kitslaar P.J.E.H.M. C-reactive protein in peripheral arterial disease: Relation to severity of the disease and to future cardiovascular events // *Journal of Vascular Surgery*. – 2005. – Vol. 42, N 2. – P. 243-251.
174. Jabs W.J., Theissing E., Nitschke M., Bechtel J.F.M., Duchrow M., Mohamed S., Jahrbeck B., Sievers H.-H., Steinhoff J., Bartels C. Local Generation of C-Reactive Protein in Diseased Coronary Artery Venous Bypass Grafts and Normal Vascular Tissue // *Circulation*. – 2003. – Vol. 108, N 12. – P. 1428-1431.
175. Thiele J.R., Habersberger J., Braig D., Schmidt Y., Goerendt K., Maurer V., Bannasch H., Scheichl A., Woollard K.J., von Dobschütz E., Kolodgie F.,

- Virmani R., Stark G.B., Peter K., Eisenhardt S.U. Dissociation of Pentameric to Monomeric C-Reactive Protein Localizes and Aggravates Inflammation: In Vivo Proof of a Powerful Proinflammatory Mechanism and a New Anti-Inflammatory Strategy // *Circulation*. – 2014. – Vol. 130, N 1. – P. 35-50.
176. Sattler K.J.E., Woodrum J.E., Galili O., Olson M., Samee S., Meyer F.B., Zhu X.-Y., Lerman L.O., Lerman A. Concurrent Treatment With Renin-Angiotensin System Blockers and Acetylsalicylic Acid Reduces Nuclear Factor  $\kappa$ B Activation and C-Reactive Protein Expression in Human Carotid Artery Plaques // *Stroke*. – 2005. – Vol. 36, N 1. – P. 14-20.
177. Melnikov I., Kozlov S., Saburova O., Zubkova E., Guseva O., Domogatsky S., Arefieva T., Radyukhina N., Zvereva M., Avtaeva Y., Buryachkovskaya L., Gabbasov Z. CRP Is Transported by Monocytes and Monocyte-Derived Exosomes in the Blood of Patients with Coronary Artery Disease // *Biomedicines*. – 2020. – Vol. 8, N 10. – P. 435.
178. Molins B., Peña E., Vilahur G., Mendieta C., Slevin M., Badimon L. C-Reactive Protein Isoforms Differ in Their Effects on Thrombus Growth // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2008. – Vol. 28, N 12. – P. 2239-2246.
179. Molins B., Peña E., de la Torre R., Badimon L. Monomeric C-reactive protein is prothrombotic and dissociates from circulating pentameric C-reactive protein on adhered activated platelets under flow // *Cardiovascular Research*. – 2011. – Vol. 92, N 2. – P. 328-337.
180. Calabro P., Chang D.W., Willerson J.T., Yeh E.T.H. Release of C-Reactive Protein in Response to Inflammatory Cytokines by Human Adipocytes: Linking Obesity to Vascular Inflammation // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2005. – Vol. 46, N 6. – P. 1112-1113.
181. Kolb-Bachofen V., Puchta-Teudt N., Egenhofer C. Expression of membrane-associated C-reactive protein by human monocytes: indications for a selectin-like activity participating in adhesion // *Glycoconjugate Journal*. – 1995. – Vol. 12, N 2. – P. 122-127.

182. Ciubotaru I., Potempa L.A., Wander R.C. Production of Modified C-Reactive Protein in U937-Derived Macrophages // *Experimental Biology and Medicine*. – 2005. – Vol. 230, N 10. – P. 762-770.
183. Гусева О.А., Мельников И.С., Зубкова Е.С., Козлов С.Г., Автаева Ю.Н., Габбасов З.А. Моноциты как основная популяция клеток периферической крови, экспрессирующих С-реактивный белок // *Кардиологический вестник*. – 2020. – Т. 15, N 1. – С. 32-37.
184. Haider D.G., Leuchten N., Schaller G., Gouya G., Kolodjaschna J., Schmetterer L., Kapiotis S., Wolzt M. C-reactive protein is expressed and secreted by peripheral blood mononuclear cells // *Clinical and Experimental Immunology*. – 2006. – Vol. 146, N 3. – P. 533-539.
185. Schwedler S.B. Tubular staining of modified C-reactive protein in diabetic chronic kidney disease // *Nephrology Dialysis Transplantation*. – 2003. – Vol. 18, N 11. – P. 2300-2307.
186. Goff D.C., Lloyd-Jones D.M., Bennett G., Coady S., D'Agostino R.B., Gibbons R., Greenland P., Lackland D.T., Levy D., O'Donnell C.J., Robinson J.G., Schwartz J.S., Shero S.T., Smith S.C., Sorlie P., Stone N.J., Wilson P.W.F. 2013 ACC/AHA Guideline on the Assessment of Cardiovascular Risk: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines // *Circulation*. – 2014. – Vol. 129, N 25\_suppl\_2. – P. S49–S73.
187. van 't Klooster C.C., van der Graaf Y., Ridker P.M., Westerink J., Hjortnaes J., Sluijs I., Asselbergs F.W., Bots M.L., Kappelle L.J., Visseren F.L.J. The relation between healthy lifestyle changes and decrease in systemic inflammation in patients with stable cardiovascular disease // *Atherosclerosis*. – 2020. – N 301. – P. 37-43.
188. Gaesser G.A., Angadi S.S., Ryan D.M., Johnston C.S. Lifestyle Measures to Reduce Inflammation // *American Journal of Lifestyle Medicine*. – 2012. – Vol. 6, N 1. – P. 4-13.

189. Fedewa M.V., Hathaway E.D., Ward-Ritacco C.L. Effect of exercise training on C reactive protein: a systematic review and meta-analysis of randomised and non-randomised controlled trials // *British Journal of Sports Medicine*. – 2017. – Vol. 51, N 8. – P. 670-676.
190. Bianchi V.E. Weight loss is a critical factor to reduce inflammation // *Clinical Nutrition ESPEN*. – 2018. – N 28. – P. 21-35.
191. Ridker P.M., Cannon C.P., Morrow D., Rifai N., Rose L.M., McCabe C.H., Pfeffer M.A., Braunwald E. C-Reactive Protein Levels and Outcomes after Statin Therapy // *New England Journal of Medicine*. – 2005. – Vol. 352, N 1. – P. 20-28.
192. Bohula E.A., Giugliano R.P., Cannon C.P., Zhou J., Murphy S.A., White J.A., Tershakovec A.M., Blazing M.A., Braunwald E. Achievement of Dual Low-Density Lipoprotein Cholesterol and High-Sensitivity C-Reactive Protein Targets More Frequent with the Addition of Ezetimibe to Simvastatin and Associated with Better Outcomes in IMPROVE-IT // *Circulation*. – 2015. – Vol. 132, N 13. – P. 1224-1233.
193. Nissen S.E. Effect of Intensive Lipid Lowering on Progression of Coronary Atherosclerosis: Evidence for an Early Benefit from the Reversal of Atherosclerosis with Aggressive Lipid Lowering (REVERSAL) Trial // *The American Journal of Cardiology*. – 2005. – Vol. 96, N 5. – P. 61-68.
194. Ridker P.M., Danielson E., Fonseca F.A.H., Genest J., Gotto A.M., Kastelein J.J.P., Koenig W., Libby P., Lorenzatti A.J., MacFadyen J.G., Nordestgaard B.G., Shepherd J., Willerson J.T., Glynn R.J. Rosuvastatin to Prevent Vascular Events in Men and Women with Elevated C-Reactive Protein // *New England Journal of Medicine*. – 2008. – Vol. 359, N 21. – P. 2195-2207.
195. Bohula E.A., Giugliano R.P., Leiter L.A., Verma S., Park J.-G., Sever P.S., Lira Pineda A., Honarpour N., Wang H., Murphy S.A., Keech A., Pedersen T.R., Sabatine M.S. Inflammatory and Cholesterol Risk in the FOURIER Trial // *Circulation*. – 2018. – Vol. 138, N 2. – P. 131-140.

196. Pradhan A.D., Aday A.W., Rose L.M., Ridker P.M. Residual Inflammatory Risk on Treatment with PCSK9 Inhibition and Statin Therapy // *Circulation*. – 2018. – Vol. 138, N 2. – P. 141-149.
197. Kalkman D.N., Aquino M., Claessen B.E., Baber U., Guedeney P., Sorrentino S., Vogel B., de Winter R.J., Sweeny J., Kovacic J.C., Shah S., Vijay P., Barman N., Kini A., Sharma S., Dangas G.D., Mehran R. Residual inflammatory risk and the impact on clinical outcomes in patients after percutaneous coronary interventions // *European Heart Journal*. – 2018. – Vol. 39, N 46. – P. 4101-4108.
198. Guedeney P., Claessen B.E., Kalkman D.N., Aquino M., Sorrentino S., Giustino G., Farhan S., Vogel B., Sartori S., Montalescot G., Sweeny J., Kovacic J.C., Krishnan P., Barman N., Dangas G., Kini A., Baber U., Sharma S., Mehran R. Residual Inflammatory Risk in Patients with Low LDL Cholesterol Levels Undergoing Percutaneous Coronary Intervention // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2019. – Vol. 73, N 19. – P. 2401-2409.
199. Liao J.K. Isoprenoids as mediators of the biological effects of statins // *Journal of Clinical Investigation*. – 2002. – Vol. 110, N 3. – P. 285-288.
200. Brown J.H., Del Re D.P., Sussman M.A. The Rac and Rho Hall of Fame: A Decade of Hypertrophic Signaling Hits // *Circulation Research*. – 2006. – Vol. 98, N 6. – P. 730-742.
201. Ramasubbu K., Estep J., White D.L., Deswal A., Mann D.L. Experimental and Clinical Basis for the Use of Statins in Patients with Ischemic and Nonischemic Cardiomyopathy // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2008. – Vol. 51, N 4. – P. 415-426.
202. Albert M.A., Danielson E., Rifai N., Ridker P.M. Effect of Statin Therapy on C-Reactive Protein Levels: The Pravastatin Inflammation/CRP Evaluation (PRINCE): A Randomized Trial and Cohort Study // *Journal of the American Medical Association*. – 2001. – Vol. 286, N 1. – P. 64.
203. Tousoulis D., Andreou I., Tsiatas M., Miliou A., Tentolouris C., Siasos G., Papageorgiou N., Papadimitriou C.A., Dimopoulos M.-A., Stefanadis C. Effects

- of rosuvastatin and allopurinol on circulating endothelial progenitor cells in patients with congestive heart failure: The impact of inflammatory process and oxidative stress // *Atherosclerosis*. – 2011. – Vol. 214, N 1. – P. 151-157.
204. Brili S., Tousoulis D., Antonopoulos A.S., Antoniadis C., Hatzis G., Bakogiannis C., Papageorgiou N., Stefanadis C. Effects of atorvastatin on endothelial function and the expression of proinflammatory cytokines and adhesion molecules in young subjects with successfully repaired coarctation of aorta // *Heart*. – 2012. – Vol. 98, N 4. – P. 325-329.
205. Koushki K., Shahbaz S.K., Mashayekhi K., Sadeghi M., Zayeri Z.D., Taba M.Y., Banach M., Al-Rasadi K., Johnston T.P., Sahebkar A. Anti-inflammatory Action of Statins in Cardiovascular Disease: the Role of Inflammasome and Toll-Like Receptor Pathways // *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. – 2021. – Vol. 60, N 2. – P. 175-199.
206. Crisby M., Nordin-Fredriksson G., Shah P.K., Yano J., Zhu J., Nilsson J. Pravastatin Treatment Increases Collagen Content and Decreases Lipid Content, Inflammation, Metalloproteinases, and Cell Death in Human Carotid Plaques: Implications for Plaque Stabilization // *Circulation*. – 2001. – Vol. 103, N 7. – P. 926-933.
207. Ruscica M., Tokgözoğlu L., Corsini A., Sirtori C.R. PCSK9 inhibition and inflammation: A narrative review // *Atherosclerosis*. – 2019. – N 288. – P. 146-155.
208. Sahebkar A., Di Giosia P., Stamerra C.A., Grassi D., Pedone C., Ferretti G., Bacchetti T., Ferri C., Giorgini P. Effect of monoclonal antibodies to PCSK9 on high-sensitivity C-reactive protein levels: a meta-analysis of 16 randomized controlled treatment arms: PCSK9 inhibitors and hs-CRP levels // *British Journal of Clinical Pharmacology*. – 2016. – Vol. 81, N 6. – P. 1175-1190.
209. Ridker P.M. Clinician's Guide to Reducing Inflammation to Reduce Atherothrombotic Risk // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2018. – Vol. 72, N 25. – P. 3320-3331.

210. Pagidipati N.J., Hellkamp A.S., Sharma P.P., Wang T.Y., Fonarow G.C., Pencina M. High-sensitivity C-reactive protein elevation in patients with prior myocardial infarction in the United States // *American Heart Journal*. – 2018. – N 204. – P. 151-155.
211. Pearson T.A., Ballantyne C.M., Veltri E., Shah A., Bird S., Lin J., Rosenberg E., Tershakovec A.M. Pooled Analyses of Effects on C-Reactive Protein and Low Density Lipoprotein Cholesterol in Placebo-Controlled Trials of Ezetimibe Monotherapy or Ezetimibe Added to Baseline Statin Therapy // *The American Journal of Cardiology*. – 2009. – Vol. 103, N 3. – P. 369-374.
212. Barbosa S.P., Lins L.C., Fonseca F.A., Matos L.N., Aguirre A.C., Bianco H.T., Amaral J.B., França C.N., Santana J.M., Izar M.C. Effects of ezetimibe on markers of synthesis and absorption of cholesterol in high-risk patients with elevated C-reactive protein // *Life Sciences*. – 2013. – Vol. 92, N 14-16. – P. 845-851.
213. Kater A.-L.A., Batista M.C., Ferreira S.R. Synergistic effect of simvastatin and ezetimibe on lipid and pro-inflammatory profiles in pre-diabetic subjects // *Diabetology & Metabolic Syndrome*. – 2010. – Vol. 2, N 1. – P. 34.
214. Oh M.S., Min Y.J., Kwon J.E., Cho E.J., Kim J.E., Lee W.-S., Lee K.J., Kim S.-W., Kim T.H., Kim C.J., Ryu W.S. Effects of Ezetimibe Added to Ongoing Statin Therapy on C-Reactive Protein Levels in Hypercholesterolemic Patients // *Korean Circulation Journal*. – 2011. – Vol. 41, N 5. – P. 253.
215. Everett B.M. Residual Inflammatory Risk // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2019. – Vol. 73, N 19. – P. 2410-2412.
216. Ridker P.M., Everett B.M., Thuren T., MacFadyen J.G., Chang W.H., Ballantyne C., Fonseca F., Nicolau J., Koenig W., Anker S.D., Kastelein J.J.P., Cornel J.H., Pais P., Pella D., Genest J., Cifkova R., Lorenzatti A., Forster T., Kobalava Z., Vida-Simiti L., Flather M., Shimokawa H., Ogawa H., Dellborg M., Rossi P.R.F., Troquay R.P.T., Libby P., Glynn R.J. Antiinflammatory Therapy with

Canakinumab for Atherosclerotic Disease // *New England Journal of Medicine*. – 2017. – Vol. 377, N 12. – P. 1119-1131.

217. Ridker P.M., MacFadyen J.G., Everett B.M., Libby P., Thuren T., Ligueros M., et al. Relationship of C-reactive protein reduction to cardiovascular event reduction following treatment with canakinumab: a secondary analysis from the CANTOS randomised controlled trial // *The Lancet*. – 2018. – Vol. 391, N 10118. – P. 319-328.
218. Ridker P.M., Libby P., MacFadyen J.G., Thuren T., Ballantyne C., Fonseca F., Koenig W., Shimokawa H., Everett B.M., Glynn R.J. Modulation of the interleukin-6 signalling pathway and incidence rates of atherosclerotic events and all-cause mortality: analyses from the Canakinumab Anti-Inflammatory Thrombosis Outcomes Study (CANTOS) // *European Heart Journal*. – 2018. – Vol. 39, N 38. – P. 3499-3507.
219. Ridker P.M., Everett B.M., Pradhan A., MacFadyen J.G., Solomon D.H., Zaharris E., Mam V., Hasan A., Rosenberg Y., Iturriaga E., Gupta M., Tsigoulis M., Verma S., Clearfield M., Libby P., Goldhaber S.Z., Seagle R., Ofori C., Saklayen M., Butman S., Singh N., Le May M., Bertrand O., Johnston J., Paynter N.P., Glynn R.J. Low-Dose Methotrexate for the Prevention of Atherosclerotic Events // *New England Journal of Medicine*. – 2019. – Vol. 380, N 8. – P. 752-762.
220. O'Donoghue M.L., Glaser R., Cavender M.A., Aylward P.E., Bonaca M.P., Budaj A., Davies R.Y., Dellborg M., Fox K.A.A., Gutierrez J.A.T., Hamm C., Kiss R.G., Kovar F., Kuder J.F., Im K.A., Lepore J.J., Lopez-Sendon J.L., Ophuis T.O., Parkhomenko A., Shannon J.B., Spinar J., Tanguay J.-F., Ruda M., Steg P.G., Theroux P., Wiviott S.D., Laws I., Sabatine M.S., Morrow D.A., for the LATITUDE-TIMI 60 Investigators Effect of Losmapimod on Cardiovascular Outcomes in Patients Hospitalized With Acute Myocardial Infarction: A Randomized Clinical Trial // *Journal of the American Medical Association*. – 2016. – Vol. 315, N 15. – P. 1591-1599.

221. O'Donoghue M.L., Braunwald E., White H.D., Steen D.P., Lukas M.A., Tarka E., Steg P.G., Hochman J.S., Bode C., Maggioni A.P., Im K., Shannon J.B., Davies R.Y., Murphy S.A., Crugnale S.E., Wiviott S.D., Bonaca M.P., Watson D.F., Weaver W.D., Serruys P.W., Cannon C.P. Effect of Darapladib on Major Coronary Events After an Acute Coronary Syndrome: The SOLID-TIMI 52 Randomized Clinical Trial // *Journal of the American Medical Association*. – 2014. – Vol. 312, N 10. – P. 1006.
222. Martínez G.J., Celermajer D.S., Patel S. The NLRP3 inflammasome and the emerging role of colchicine to inhibit atherosclerosis-associated inflammation // *Atherosclerosis*. – 2018. – N 269. – P. 262-271.
223. Tardif J.-C., Kouz S., Waters D.D., Bertrand O.F., Diaz R., Maggioni A.P., Pinto F.J., Ibrahim R., Gamra H., Kiwan G.S., Berry C., López-Sendón J., Ostadal P., Koenig W., Angoulvant D., Grégoire J.C., Lavoie M.-A., Dubé M.-P., Rhoads D., Provencher M., Blondeau L., Orfanos A., L'Allier P.L., Guertin M.-C., Roubille F. Efficacy and Safety of Low-Dose Colchicine after Myocardial Infarction // *New England Journal of Medicine*. – 2019. – Vol. 381, N 26. – P. 2497-2505.
224. Nidorf S.M., Fiolet A.T.L., Mosterd A., Eikelboom J.W., Schut A., Opstal T.S.J., The S.H.K., Xu X.-F., Ireland M.A., Lenderink T., Latchem D., Hoogslag P., Jerzewski A., Nierop P., Whelan A., Hendriks R., Swart H., Schaap J., Kuijper A.F.M., van Hesse M.W.J., Saklani P., Tan I., Thompson A.G., Morton A., Judkins C., Bax W.A., Dirksen M., Alings M., Hankey G.J., Budgeon C.A., Tijssen J.G.P., Cornel J.H., Thompson P.L. Colchicine in Patients with Chronic Coronary Disease // *New England Journal of Medicine*. – 2020. – Vol. 383, N 19. – P. 1838-1847.
225. Tong D.C., Quinn S., Nasis A., Hiew C., Roberts-Thomson P., Adams H., Sriamameswaran R., Htun N.M., Wilson W., Stub D., van Gaal W., Howes L., Collins N., Yong A., Bhindi R., Whitbourn R., Lee A., Hengel C., Asrress K., Freeman M., Amerena J., Wilson A., Layland J. Colchicine in Patients with Acute

- Coronary Syndrome: The Australian COPS Randomized Clinical Trial // *Circulation*. – 2020. – Vol. 142, N 20. – P. 1890-1900.
226. Silvestrini M., Altamura C., Cerqua R., Pasqualetti P., Viticchi G., Provinciali L., Paulon L., Vernieri F. Ultrasonographic Markers of Vascular Risk in Patients with Asymptomatic Carotid Stenosis // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. – 2013. – Vol. 33, N 4. – P. 619-624.
227. Warlow C. MRC European Carotid Surgery Trial: interim results for symptomatic patients with severe (70-99%) or with mild (0-29%) carotid stenosis // *The Lancet*. – 1991. – Vol. 337, N 8752. – P. 1235-1243.
228. Мельников И.С., Козлов С.Г., Погорелова О.А., Трипотень М.И., Сабурова О.С., Хамчиева Л.Ш., Автаева Ю.Н., Зверева М.Д., Прокофьева Л.В., Кузнецова Т.В., Гусева О.А., Балахонова Т.В., Габбасов З.А. Мономерная форма С-реактивного белка в оценке резидуального воспалительного риска развития сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с субклиническим атеросклерозом сонных артерий // *Кардиология*. – 2022. – Т. 62, N 7. – С. 24-30.
229. Reiner Z., Catapano A.L., De Backer G., Zamorano J.L., et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS) // *European Heart Journal*. – 2011. – Vol. 32, N 14. – P. 1769-1818.
230. Кухарчук В.В., Коновалов Г.А., Сусеков А.В., Сергиенко И.В., Семенова А.Е., Горнякова Н.Б., Соловьева Е.Ю., Зубарева М.Ю. Диагностика и Коррекция Нарушений Липидного Обмена с Целью Профилактики и Лечения Атеросклероза. Российские Рекомендации. V Пересмотр (2012) // *Атеросклероз и Дислипидемии*. – 2012. – Т.8, N 2. – С. 61-94.
231. Sprynger M., Rigo F., Moonen M., Aboyans V., Edvardsen T., de Alcantara M.L., Brodmann M., Naka K.K., Kownator S., Simova I., Vlachopoulos C., Wautrecht J.-C., Lancellotti P., EACVI Scientific Documents Committee, Delgado V., Dulgheru R., Haugaa K.H., Flachskampf F., Gimelli A., Gerber B., Cardim N.,

- Cosyns B., Muraru D., Masci P.G., Galderisi M. Focus on echovascular imaging assessment of arterial disease: complement to the ESC guidelines (PARTIM 1) in collaboration with the Working Group on Aorta and Peripheral Vascular Diseases // *European Heart Journal - Cardiovascular Imaging*. – 2018. – Vol. 19, N 11. – P. 1195-1221.
232. Козлов С.Г., Хамчиева Л.Ш., Погорелова О.А., Трипотень М.И., Балахонова Т.В. Динамика бессимптомного атеросклероза сонных артерий в зависимости от достигнутого уровня холестерина у пациентов с умеренным риском // *Ангиология и сосудистая хирургия*. – 2018. – Т. 24, N 2. – С. 11-18.
233. Bjerrum I.S., Sand N.P.R., Poulsen M.K., Nørgaard B.L., Sidelmann J.J., Johansen A., Mickley H., Diederichsen A.C.P. Non-invasive assessments reveal that more than half of randomly selected middle-aged individuals have evidence of subclinical atherosclerosis: a DanRisk substudy // *The International Journal of Cardiovascular Imaging*. – 2013. – Vol. 29, N 2. – P. 301-308.
234. Kern R., Szabo K., Hennerici M., Meairs S. Characterization of Carotid Artery Plaques Using Real-time Compound B-mode Ultrasound // *Stroke*. – 2004. – Vol. 35, N 4. – P. 870-875.
235. Sabetai M.M., Tegos T.J., Nicolaidis A.N., Dhanjil S., Pare G.J., Stevens J.M. Reproducibility of Computer-Quantified Carotid Plaque Echogenicity: Can We Overcome the Subjectivity? // *Stroke*. – 2000. – Vol. 31, N 9. – P. 2189-2196.
236. Габбасов З.А., Козлов С.Г., Бязрова С.В., Мельников И.С., Сабурова О.С. Связь уровня циркулирующих CD45+-тромбоцитов с развитием рестеноза после имплантации пациентам с ИБС стентов с лекарственным покрытием // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2016. – Т. 162, N 10. – С. 528-532.
237. Зверева М.Д., Сабурова О.С., Мельников И.С., Козлов С.Г., Габбасов З.А. Современные возможности определения и применения в клинике мономера С-реактивного белка // *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. – 2020. – Т. 9, N 2. – С. 45-52.

238. Melnikov I., Kozlov S., Pogorelova O., Tripoten M., Khamchieva L., Saburova O., Avtaeva Y., Zvereva M., Matroze E., Kuznetsova T., Prokofieva L., Balakhonova T., Gabbasov Z. The monomeric C-reactive protein level is associated with the increase in carotid plaque number in patients with subclinical carotid atherosclerosis // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2022. – Vol. 9. – P. 968267.
239. Meesters R.J., Voswinkel S. Bioanalytical Method Development and Validation: from the USFDA 2001 to the USFDA 2018 Guidance for Industry // *Journal of Applied Bioanalysis*. – 2018. – Vol. 4, N 3. – P. 67-73.
240. Christopher-Hennings J., Araujo K.P.C., Souza C.J.H., Fang Y., Lawson S., Nelson E.A., Clement T., Dunn M., Lunney J.K. Opportunities for bead-based multiplex assays in veterinary diagnostic laboratories // *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. – 2013. – Vol. 25, N 6. – P. 671-691.
241. Hulspas R., O’Gorman M.R.G., Wood B.L., Gratama J.W., Sutherland D.R. Considerations for the control of background fluorescence in clinical flow cytometry // *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*. – 2009. – Vol. 76B, N 6. – P. 355-364.
242. Maecker H.T., Trotter J. Flow cytometry controls, instrument setup, and the determination of positivity // *Cytometry Part A*. – 2006. – Vol. 69A, N 9. – P. 1037-1042.
243. Ершова А.И., Балахонова Т.В., Иванова А.А., Мешков А.Н., Бойцов С.А., Драпкина О.М. Проблема стратификации сердечно-сосудистого риска в зависимости от выраженности атеросклероза сонных и бедренных артерий // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. – 2020. – Т. 19, N 2. – С. 2441.
244. Лобанова Н.Ю., Чичерина Е.Н. Нетрадиционные факторы риска и их значение в оценке сердечнососудистого риска у бессимптомных пациентов // *Бюллетень сибирской медицины*. – 2020. – Т. 19, N 2. – С. 182-188.
245. Li C., Engström G., Berglund G., Janzon L., Hedblad B. Incidence of Ischemic Stroke in Relation to Asymptomatic Carotid Artery Atherosclerosis in Subjects

- with Normal Blood Pressure // *Cerebrovascular Diseases*. – 2008. – Vol. 26, N 3. – P. 297-303.
246. Kitamura A., Iso H., Imano H., Ohira T., Okada T., Sato S., Kiyama M., Tanigawa T., Yamagishi K., Shimamoto T. Carotid Intima-Media Thickness and Plaque Characteristics as a Risk Factor for Stroke in Japanese Elderly Men // *Stroke*. – 2004. – Vol. 35, N 12. – P. 2788-2794.
247. Gepner A.D., Young R., Delaney J.A., Tattersall M.C., Blaha M.J., Post W.S., Gottesman R.F., Kronmal R., Budoff M.J., Burke G.L., Folsom A.R., Liu K., Kaufman J., Stein J.H. Comparison of Coronary Artery Calcium Presence, Carotid Plaque Presence, and Carotid Intima-Media Thickness for Cardiovascular Disease Prediction in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis // *Circulation - Cardiovascular Imaging*. – 2015. – Vol. 8, N 1. – P. e002262.
248. Baber U., Mehran R., Sartori S., Schoos M.M., Sillesen H., Muntendam P., Garcia M.J., Gregson J., Pocock S., Falk E., Fuster V. Prevalence, Impact, and Predictive Value of Detecting Subclinical Coronary and Carotid Atherosclerosis in Asymptomatic Adults // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2015. – Vol. 65, N 11. – P. 1065-1074.
249. Plichart M., Celermajer D.S., Zureik M., Helmer C., Jouven X., Ritchie K., Tzourio C., Ducimetière P., Empana J.-P. Carotid intima-media thickness in plaque-free site, carotid plaques and coronary heart disease risk prediction in older adults. The Three-City Study // *Atherosclerosis*. – 2011. – Vol. 219, N 2. – P. 917-924.
250. Inaba Y., Chen J.A., Bergmann S.R. Carotid plaque, compared with carotid intima-media thickness, more accurately predicts coronary artery disease events: A meta-analysis // *Atherosclerosis*. – 2012. – Vol. 220, N 1. – P. 128-133.
251. Sehestedt T., Jeppesen J., Hansen T.W., Wachtell K., Ibsen H., Torp-Petersen C., Hildebrandt P., Olsen M.H. Risk prediction is improved by adding markers of subclinical organ damage to SCORE // *European Heart Journal*. – 2010. – Vol. 31, N 7. – P. 883-891.

252. Den Ruijter H.M., Peters S.A.E., Anderson T.J., Britton A.R., Dekker J.M., Eijkemans M.J., Engström G., Evans G.W., de Graaf J., Grobbee D.E., Hedblad B., Hofman A., Holewijn S., Ikeda A., Kavousi M., Kitagawa K., Kitamura A., Koffijberg H., Lonn E.M., Lorenz M.W., Mathiesen E.B., Nijpels G., Okazaki S., O'Leary D.H., Polak J.F., Price J.F., Robertson C., Rembold C.M., Rosvall M., Rundek T., Salonen J.T., Sitzer M., Stehouwer C.D.A., Witteman J.C., Moons K.G., Bots M.L. Common Carotid Intima-Media Thickness Measurements in Cardiovascular Risk Prediction: A Meta-analysis // *Journal of the American Medical Association*. – 2012. – Vol. 308, N 8. – P. 796-803.
253. Lorenz M.W., Schaefer C., Steinmetz H., Sitzer M. Is carotid intima media thickness useful for individual prediction of cardiovascular risk? Ten-year results from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS) // *European Heart Journal*. – 2010. – Vol. 31, N 16. – P. 2041-2048.
254. Гаврилова Н.Е., Жаткина М.В., Метельская В.А., Руденко Б.А., Драпкина О.М. Методы оценки и возможности инструментальной диагностики субклинического атеросклероза коронарных артерий // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. – 2019. – Т. 18, N 6. – С. 136-141.
255. Stein J.H., Korcarz C.E., Hurst R.T., Lonn E., Kendall C.B., Mohler E.R., Najjar S.S., Rembold C.M., Post W.S. Use of Carotid Ultrasound to Identify Subclinical Vascular Disease and Evaluate Cardiovascular Disease Risk: A Consensus Statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force Endorsed by the Society for Vascular Medicine // *Journal of the American Society of Echocardiography*. – 2008. – Vol. 21, N 2. – P. 93-111.
256. Поморцев А.В., Шевелёв В.И., Багдасарян К.А. Ультразвуковая диагностика патологий сонных артерий // *Российский электронный журнал лучевой диагностики*. – 2020. – Т. 10, N 2. – С. 195-204.
257. Кобзева Н.Д. Особенности атеросклеротического поражения брахиоцефальных артерий у пациентов с мультифокальным атеросклерозом // *Медицинская наука и образование Урала*. – 2021. – Т. 22, N 4. – С. 21-24.

258. Willeit J., Kiechl S. Prevalence and risk factors of asymptomatic extracranial carotid artery atherosclerosis. A population-based study // *Arteriosclerosis and Thrombosis: A Journal of Vascular Biology*. – 1993. – Vol. 13, N 5. – P. 661-668.
259. Hollander M., Bots M.L., del Sol A.I., Koudstaal P.J., Witteman J.C.M., Grobbee D.E., Hofman A., Breteler M.M.B. Carotid Plaques Increase the Risk of Stroke and Subtypes of Cerebral Infarction in Asymptomatic Elderly: The Rotterdam Study // *Circulation*. – 2002. – Vol. 105, N 24. – P. 2872-2877.
260. López-Melgar B., Fernández-Friera L., Oliva B., García-Ruiz J.M., Peñalvo J.L., Gómez-Talavera S., Sánchez-González J., Mendiguren J.M., Ibáñez B., Fernández-Ortiz A., Sanz J., Fuster V. Subclinical Atherosclerosis Burden by 3D Ultrasound in Mid-Life // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2017. – Vol. 70, N 3. – P. 301-313.
261. Ojima S., Kubozono T., Kawasoe S., Kawabata T., Miyata M., Miyahara H., Maenohara S., Ohishi M. Association of risk factors for atherosclerosis, including high-sensitivity C-reactive protein, with carotid intima-media thickness, plaque score, and pulse wave velocity in a male population // *Hypertension Research*. – 2020. – Vol. 43, N 5. – P. 422-430.
262. Генкель В.В., Кузнецова А.С., Лебедев Е.В., Шапошник И.И. Факторы, связанные с наличием прогностически неблагоприятного каротидного атеросклероза у мужчин и женщин старше 40 лет // *Атеросклероз и Дислипидемии*. – 2022. – Т. 45, N 4. – С. 33-40.
263. Sillesen H., Muntendam P., Adourian A., Entekin R., Garcia M., Falk E., Fuster V. Carotid Plaque Burden as a Measure of Subclinical Atherosclerosis // *Journal of the American College of Cardiology: Cardiovascular Imaging*. – 2012. – Vol. 50, N 7. – P. 681-689.
264. Halvorsen D.S., Johnsen S.H., Mathiesen E.B., Njølstad I. The Association between Inflammatory Markers and Carotid Atherosclerosis Is Sex Dependent: the Tromsø Study // *Cerebrovascular Diseases*. – 2009. – Vol. 27, N 4. – P. 392-397.

265. Boulos N.M., Gardin J.M., Malik S., Postley J., Wong N.D. Carotid Plaque Characterization, Stenosis, and Intima-Media Thickness According to Age and Gender in a Large Registry Cohort // *The American Journal of Cardiology*. – 2016. – Vol. 117, N 7. – P. 1185-1191.
266. Carra G., Visonà A., Bonanome A., Lusiani L., Pesavento R., Bortolon M., Pagnan A. Carotid plaque morphology and cerebrovascular events // *International Angiology*. – 2003. – Vol. 22, N 3. – P. 284-289.
267. Vlachopoulos C., Xaplanteris P., Aboyans V., Brodmann M., Cífková R., Cosentino F., De Carlo M., Gallino A., Landmesser U., Laurent S., Lekakis J., Mikhailidis D.P., Naka K.K., Protogerou A.D., Rizzoni D., Schmidt-Trucksäss A., Van Bortel L., Weber T., Yamashina A., Zimlichman R., Boutouyrie P., Cockcroft J., O'Rourke M., Park J.B., Schillaci G., Sillesen H., Townsend R.R. The role of vascular biomarkers for primary and secondary prevention. A position paper from the European Society of Cardiology Working Group on peripheral circulation // *Atherosclerosis*. – 2015. – Vol. 241, N 2. – P. 507-532.
268. European Carotid Surgery Trialists' Collaborative Group Randomised Trial of Endarterectomy for Recently Symptomatic Carotid Stenosis: Final Results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST) Randomised trial of endarterectomy for recently symptomatic carotid stenosis: final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST) // *Lancet*. – 1998. – Vol. 351, N 9113. – P. 1379-1387.
269. de Weerd M., Greving J.P., de Jong A.W.F., Buskens E., Bots M.L. Prevalence of Asymptomatic Carotid Artery Stenosis According to Age and Sex: Systematic Review and Metaregression Analysis // *Stroke*. – 2009. – Vol. 40, N 4. – P. 1105-1113.
270. de Weerd M., Greving J.P., Hedblad B., Lorenz M.W., Mathiesen E.B., O'Leary D.H., Rosvall M., Sitzer M., Buskens E., Bots M.L. Prevalence of Asymptomatic Carotid Artery Stenosis in the General Population: An Individual Participant Data Meta-Analysis // *Stroke*. – 2010. – Vol. 41, N 6. – P. 1294-1297.

271. de Weerd M., Greving J.P., Hedblad B., Lorenz M.W., Mathiesen E.B., O'Leary D.H., Rosvall M., Sitzer M., de Borst G.J., Buskens E., Bots M.L. Prediction of Asymptomatic Carotid Artery Stenosis in the General Population: Identification of High-Risk Groups // *Stroke*. – 2014. – Vol. 45, N 8. – P. 2366-2371.
272. Johri A.M., Behl P., Héту M.-F., Haqqi M., Ewart P., Day A.G., Parfrey B., Matangi M.F. Carotid Ultrasound Maximum Plaque Height-A Sensitive Imaging Biomarker for the Assessment of Significant Coronary Artery Disease // *Echocardiography*. – 2016. – Vol. 33, N 2. – P. 281-289.
273. Adams A., Bojara W., Schunk K. Early Diagnosis and Treatment of Coronary Heart Disease in Asymptomatic Subjects with Advanced Vascular Atherosclerosis of the Carotid Artery (Type III and IV b Findings Using Ultrasound) and Risk Factors // *Cardiology Research*. – 2018. – Vol. 9, N 1. – P. 22-27.
274. Sztajzel R., Momjian S., Momjian-Mayor I., Murith N., Djebaili K., Boissard G., Comelli M., Pizolatto G. Stratified Gray-Scale Median Analysis and Color Mapping of the Carotid Plaque: Correlation with Endarterectomy Specimen Histology of 28 Patients // *Stroke*. – 2005. – Vol. 36, N 4. – P. 741-745.
275. Grønholdt M.-L.M., Nordestgaard B.G., Wiebe B.M., Wilhjelm J.E., Sillesen H. Echo-Lucency of Computerized Ultrasound Images of Carotid Atherosclerotic Plaques Are Associated with Increased Levels of Triglyceride-Rich Lipoproteins as Well as Increased Plaque Lipid Content // *Circulation*. – 1998. – Vol. 97, N 1. – P. 34-40.
276. Mathiesen E.B., Bønaa K.H., Joakimsen O. Echolucent Plaques Are Associated with High Risk of Ischemic Cerebrovascular Events in Carotid Stenosis: The Tromsø Study // *Circulation*. – 2001. – Vol. 103, N 17. – P. 2171-2175.
277. Grønholdt M.-L.M., Nordestgaard B.G., Schroeder T.V., Vorstrup S., Sillesen H. Ultrasonic Echolucent Carotid Plaques Predict Future Strokes // *Circulation*. – 2001. – Vol. 104, N 1. – P. 68-73.

278. Ibrahimi P., Jashari F., Bajraktari G., Wester P., Henein M. Ultrasound Assessment of Carotid Plaque Echogenicity Response to Statin Therapy: A Systematic Review and Meta-Analysis // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2015. – Vol. 16, N 12. – P. 10734-10747.
279. Nohara R., Daida H., Hata M., Kaku K., Kawamori R., Kishimoto J., Kurabayashi M., Masuda I., Sakuma I., Yamazaki T., Yokoi H., Yoshida M., for the Justification for Atherosclerosis Regression Treatment (JART) Investigators Effect of Long-Term Intensive Lipid-Lowering Therapy with Rosuvastatin on Progression of Carotid Intima-Media Thickness // *Circulation Journal*. – 2013. – Vol. 77, N 6. – P. 1526-1533.
280. Kadoglou N.P.E., Gerasimidis T., Moutzouoglou A., Kapelouzou A., Sailer N., Fotiadis G., Vitta I., Katinios A., Koungias P., Bandios S., Voliotis K., Karayannacos P.E., Liapis C.D. Intensive Lipid-lowering Therapy Ameliorates Novel Calcification Markers and GSM Score in Patients with Carotid Stenosis // *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. – 2008. – Vol. 35, N 6. – P. 661-668.
281. Kadoglou N.P.E., Gerasimidis T., Kapelouzou A., Moutzouoglou A., Avgerinos E.D., Kakisis J.D., Karayannacos P.E., Liapis C.D. Beneficial Changes of Serum Calcification Markers and Contralateral Carotid Plaques Echogenicity after Combined Carotid Artery Stenting Plus Intensive Lipid-lowering Therapy in Patients with Bilateral Carotid Stenosis // *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. – 2010. – Vol. 39, N 3. – P. 258-265.
282. Сумароков А.В., Наумов В.Г., Масенко В.П. С-реактивный белок и сердечно-сосудистая патология. Тверь: ООО "Издательство «Триада», 2006. 180 с.
283. Wang T.J., Nam B.-H., Wilson P.W.F., Wolf P.A., Levy D., Polak J.F., D'Agostino R.B., O'Donnell C.J. Association of C-Reactive Protein with Carotid Atherosclerosis in Men and Women: The Framingham Heart Study // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2002. – Vol. 22, N 10. – P. 1662-1667.

284. Кавешников В.С., Трубачева И.А., Серебрякова В.Н. Факторы, ассоциированные с атеросклеротической нагруженностью каротидного бассейна у взрослого неорганизованного населения // Российский кардиологический журнал. – 2021. – Т. 26, N 5. – С. 4379.
285. Arthurs Z.M., Andersen C., Starnes B.W., Sohn V.Y., Mullenix P.S., Perry J. A prospective evaluation of C-reactive protein in the progression of carotid artery stenosis // *Journal of Vascular Surgery*. – 2008. – Vol. 47, N 4. – P. 744-751.
286. Molino-Lova R., Macchi C., Gori A.M., Marcucci R., Polcaro P., Cecchi F., Lauretani F., Bandinelli S., Abbate R., Beghi E., Guralnik J.M., Ferrucci L. High sensitivity C-reactive protein predicts the development of new carotid artery plaques in older persons // *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. – 2011. – Vol. 21, N 10. – P. 776-782.
287. Eltoft A., Arntzen K.A., Hansen J.-B., Wilsgaard T., Mathiesen E.B., Johnsen S.H. C-reactive protein in atherosclerosis. – A risk marker but not a causal factor? A 13-year population-based longitudinal study: The Tromsø study // *Atherosclerosis*. – 2017. – N 263. – P. 293-300.
288. Lorenz M.W., Karbstein P., Markus H.S., Sitzer M. High-Sensitivity C-Reactive Protein Is Not Associated with Carotid Intima-Media Progression: The Carotid Atherosclerosis Progression Study // *Stroke*. – 2007. – Vol. 38, N 6. – P. 1774-1779.
289. Amar J., Fauvel J., Drouet L., Ruidavets J.B., Perret B., Chamontin B., Boccalon H., Ferrieres J. Interleukin 6 is associated with subclinical atherosclerosis: a link with soluble intercellular adhesion molecule 1 // *Journal of Hypertension*. – 2006. – Vol. 24, N 6. – P. 1083-1088.
290. Lee W.-Y., Allison M.A., Kim D.-J., Song C.-H., Barrett-Connor E. Association of Interleukin-6 and C-Reactive Protein with Subclinical Carotid Atherosclerosis (the Rancho Bernardo Study) // *The American Journal of Cardiology*. – 2007. – Vol. 99, N 1. – P. 99-102.