

Оглавление

Список сокращений	6
Введение	8
ОЧЕРК 1. Молекулярно-клеточные механизмы эндотелиальной дисфункции (в соавторстве с Е.О. Кожевниковой, Е.А. Карпасовой)	10
1.1. Роль оксида азота и NO-синтазы в регуляции функций эндотелия	17
1.2. Роль простаглицлина в регуляции функций эндотелия	20
1.3. Роль тромбомодулина в регуляции функций эндотелия	20
1.4. Роль антитромбина в регуляции функций эндотелия ...	21
1.5. Роль эндотелинов в регуляции функций эндотелия ...	21
1.6. Роль ангиотензина в регуляции функций эндотелия ...	23
1.7. Роль системы активатора плазминогена в регуляции функций эндотелия	24
1.8. Роль фибронектина и фактора Виллебранда в регуляции функций эндотелия	25
1.9. Молекулярная диагностика и терапия эндотелиальной дисфункции	26
Резюме	28
ОЧЕРК 2. Ишемическая болезнь сердца и инфаркт миокарда	
(в соавторстве с Е.О. Кожевниковой, Г.Б. Сараевым, Г.И. Гурко)	29
2.1. Патогенез ишемической болезни сердца	30
2.2. Атеросклероз как причина развития ишемической болезни сердца	32
2.3. Диагностика ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда	33
2.4. Молекулярные маркеры ишемической болезни сердца	34
Резюме	38
ОЧЕРК 3. Гипертоническая болезнь	
(в соавторстве с С.У. Мурсаловым, Г.И. Гурко, Н.Н. Бедушкиной)	39

3.1. Механизм развития гипертонической болезни	40
3.2. Классификация гипертонической болезни	41
3.3. Факторы риска развития гипертонической болезни ...	42
3.4. Симптомы гипертонической болезни	43
3.5. Осложнения гипертонической болезни	44
3.6. Диагностика гипертонической болезни	44
3.7. Лечение гипертонической болезни	46
3.8. Прогноз и профилактика развития гипертонической болезни	47
3.9. Взаимосвязь маркеров деградации экстрацеллюлярного матрикса в плазме крови и поражения органов-мишеней при гипертонической болезни	47
Резюме	49
ОЧЕРК 4. Дилатационная кардиомиопатия	50
4.1. Патогенез дилатационной кардиомиопатии	51
4.2. Морфология миокарда в норме, при старении и патологии	53
4.3. Морфологические изменения миокарда при дилатационной кардиомиопатии	57
4.4. Сигнальные молекулы — маркеры функционального состояния кардиомиоцитов в норме и при дилатационной кардиомиопатии	59
4.4.1. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы.	59
4.4.2. Молекула адгезии ICAM.	62
4.4.3. Сиртуин-1	65
4.4.4. Факторы клеточного старения p53, p21, p16.	68
Резюме	69
ОЧЕРК 5. Буккальный эпителий как объект для неинвазивной молекулярной диагностики сердечно-сосудистых заболеваний и старения организма	70
<i>(в соавторстве с Е.А. Карпасовой, Е.О. Кожевниковой, А.О. Дробинцевой)</i>	<i>70</i>
5.1. Буккальный эпителий: клеточно-молекулярная организация	70
5.2. Экспрессия IL-1 β в буккальном эпителии у пациентов разного возраста с ишемической болезнью сердца ...	72
5.3. Экспрессия IL-6 в буккальном эпителии у пациентов разного возраста с ишемической болезнью сердца. ...	73
5.4. Экспрессия IL-10 в буккальном эпителии у пациентов разного возраста с ишемической болезнью сердца. ...	74

5.5. Экспрессия MCP-1 в буккальном эпителии у пациентов разного возраста с ишемической болезнью сердца...	74
5.6. Экспрессия GDF-15 в буккальном эпителии у пациентов с ишемической болезнью сердца	75
5.7. ICAM-1, IL-6, тропонин-1 в буккальном эпителии как предикторы развития атеросклероза у пациентов разного возраста	76
5.8. Применение буккального эпителия для оценки темпа старения организма.....	81
Резюме	86
ОЧЕРК 6. Слюна как объект для неинвазивной молекулярной диагностики сердечно-сосудистых заболеваний	
<i>(в соавторстве с Б.Г. Сараевым, Е.С. Мироновой, А.Е. Андреевым).</i>	88
6.1. Сигнальные молекулы в слюне: маркеры развития и прогноза течения инфаркта миокарда	89
6.2. Сигнальные молекулы в слюне: маркеры развития и прогноза течения гипертонической болезни	95
Резюме	100
ОЧЕРК 7. Перспективы исследования вазопротекторов в модели репликативного старения эндотелия сосудов	
<i>(в соавторстве с Е.О. Гутюп, В.Х. Хавинсоном)</i>	102
7.1. Влияние вазопротекторов на функциональную активность эндотелия при его репликативном старении	105
7.1.1. Влияние вазопротекторов на экспрессию Ki67, p53, коннексина 43 и VEGF в культуре клеток эндотелия человека.....	108
7.1.2. Исследование влияния пептидов на экспрессию Ki67, p53, коннексина 43 и VEGF в культуре клеток сосудов крысы	112
7.2. Применение молекулярного моделирования для оценки таргетного действия вазопротекторов ...	125
7.3. Влияние вазопротектора KED на экспрессию сигнальных молекул в эндотелии при атеросклерозе и рестенозе у пациентов пожилого возраста	129
Резюме	140
Заключение. Перспективы разработки инновационных подходов к персонализированной диагностике и таргетной терапии сердечно-сосудистой патологии	147
Литература	151

Очерк 4

Дилатационная кардиомиопатия

Среди ССЗ у пациентов старше 50 лет значительную долю составляет дилатационная кардиомиопатия (ДК). Дилатационная кардиомиопатия — клиническая форма кардиомиопатии, в основе которой лежит растяжение полостей сердца и систолическая дисфункция желудочков (преимущественно левого). В кардиологии на долю ДК приходится около 60 % всех кардиомиопатий. Заболеваемость ДК составляет 5–10 человек на 100 тысяч населения в год. Чаще ДК манифестирует в возрасте 20–50 лет, но встречается у детей и пожилых людей. Среди заболевших преобладают мужчины (62–88 %).

В настоящее время существует несколько теорий, объясняющих развитие ДК: наследственная, токсическая, метаболическая, аутоиммунная, вирусная. В 20–30 % случаев ДК является семейным заболеванием, чаще с аутосомно-доминантным, реже с аутосомно-рецессивным или Х-сцепленным (синдром Барта) типом наследования. Синдром Барта, кроме ДК, характеризуется множественными миопатиями, сердечной недостаточностью, фиброэластозом эндокарда, нейтропенией, задержкой роста, пиодермиями. Семейные формы ДК характеризуются наиболее неблагоприятным течением. В анамнезе у 30 % пациентов с ДК отмечается злоупотребление алкоголем. Токсическое воздействие этанола и его метаболитов на миокард выражается в повреждении митохондрий, уменьшении синтеза сократительных белков, образовании свободных радикалов и нарушении метаболизма в кардиомиоцитах. Среди других токсических факторов выделяют профессиональный контакт со смазочными материалами, аэрозолями, промышленной пылью, металлами и др. В этиологии ДК прослеживается влияние алиментарных факторов: недостаточного питания, дефицита белка, недостатка витамина В₁, нехватки селена, дефицита карнитина. На этих наблюдениях базируется метаболическая теория развития.

Аутоиммунные нарушения при ДК проявляются наличием органоспецифических кардиальных аутоантител: антиактина, антиламинина, антимиозина тяжелых цепей, антител к митохондриальной мембране кардиомиоцитов и др. С помощью метода полимеразной цепной реакции в этиопатогенезе ДК доказана роль вирусов (энтеровируса, аденовируса, вируса герпеса, цитомегаловируса). Часто ДК служит исходом вирусного миокардита. Только у 40 % пациентов удается установить точную причину кардиомиопатии. В некоторых случаях этиология ДК остается неизвестной (идиопатическая ДК).

4.1. Патогенез дилатационной кардиомиопатии

При ДК уменьшается количество функционально активных кардиомиоцитов, что сопровождается расширением камер сердца и снижением насосной функции миокарда. Дилатация сердца приводит к диастолической и систолической дисфункции желудочков и обуславливает развитие застойной сердечной недостаточности в малом, а затем и в большом круге кровообращения.

Гипертрофия миоцитов при ДК и формирование замещающего фиброза приводят к компенсаторной гипертрофии миокарда. При уменьшении коронарной перфузии развивается субэндокардиальная ишемия. Вследствие снижения сердечного выброса и уменьшения почечной перфузии активизируются симпатическая нервная и ренин-ангиотензиновая системы. Выброс катехоламинов сопровождается тахикардией, возникновением аритмий. Развивающаяся периферическая вазоконстрикция и вторичный гиперальдостеронизм вызывают задержку ионов натрия, увеличение объема циркулирующей крови и развитие отеков. У 60 % пациентов с ДК в полостях сердца формируются пристеночные тромбы, запуская развитие тромбоэмболического синдрома.

Синдромами ДК являются сердечная недостаточность, нарушения ритма и проводимости, тромбоэмболии. Клинические проявления ДК включают быструю утомляемость, одышку, ортопноэ, сухой кашель, приступы удушья. Около 10 % пациентов жалуются на ангинозные боли — приступы стенокардии.

Присоединение застойных явлений в большом круге кровообращения характеризуется появлением тяжести в правом подреберье, отеков ног, асцита. При нарушениях ритма и проводимости возникают пароксизмы сердцебиения и перебои в работе сердца, головокружение, синкопальные состояния. В некоторых случаях ДК впервые заявляет о себе тромбоэмболией артерий большого и малого круга кровообращения (ишемический инсульт, тромбоэмболия легочной артерии), что может стать причиной внезапной смерти. Риск эмболии повышается при мерцательной аритмии, которая сопутствует ДК в 10–30 % случаев.

При быстро прогрессирующем варианте ДК терминальная стадия сердечной недостаточности наступает в течение 1,5 года от появления первых признаков заболевания. Чаще всего встречается медленно прогрессирующее течение ДК.

Диагноз ДК устанавливают путем исключения других заболеваний, сопровождающихся дилатацией полостей сердца и развитием недостаточности кровообращения.

Объективными клиническими признаками ДК служат кардиомегалия, тахикардия, ритм галопа, шумы относительной недостаточности митрального и трикуспидального клапанов, повышение частоты дыхания, застойные хрипы в нижних отделах легких, набухание вен шеи, увеличение печени и др. Аускультативные данные подтверждают с помощью фонокардиографии.

На ЭКГ выявляют признаки перегрузки и гипертрофии ЛЖ и левого предсердия, нарушения ритма и проводимости по типу фибрилляции предсердий, мерцательной аритмии, блокады левой ножки пучка Гиса, атриовентрикулярной блокады. ЭКГ-мониторирование по Холтеру позволяет выявить угрожающие для жизни аритмии и оценить суточную динамику процессов реполяризации. При помощи ЭхоКГ можно обнаружить основные дифференциальные признаки ДК — расширение полостей сердца, уменьшение фракции выброса ЛЖ.

Для оценки структурных изменений и сократительной способности миокарда выполняют сцинтиграфию, магнитно-резонансную томографию (МРТ), позиционно-эмиссионную томографию сердца.

Катетеризация сердца — метод диагностики, основанный на введении в полости сердца катетеров (медицинских инструментов в виде трубки) и измерении давления в предсердиях и желудочках. При ДК определяется обратный ток крови через правое или левое предсердно-желудочковое отверстие. Данный метод исследования применяют преимущественно для выполнения эндомиокардиальной биопсии. Эндомиокардиальную биопсию (взятие для исследования кусочка мышцы сердца вместе с внутренней оболочкой сердца) выполняют при катетеризации сердца только в том случае, если другие методы исследования не позволяют установить диагноз. В биоптате при ДК характерно наличие повреждения отдельных мышечных волокон. Лечебная тактика при ДК заключается в коррекции проявлений сердечной недостаточности, нарушений ритма.

4.2. Морфология миокарда в норме, при старении и патологии

Сложность в изучении старения сердца во многом обусловлена разнородностью формирующих его тканей, а также наличием постоянной гемодинамической нагрузки (за сутки сердце способно сделать до 100 000 ударов). Кроме того, ССЗ изменяет типичное возрастное ремоделирование тканей сердца. К настоящему времени накоплены данные, позволяющие выделить ряд характерных изменений в сердце с возрастом, каждое из которых может повышать вероятность развития ССЗ.

Исследования показали, что у здоровых людей в пожилом возрасте толщина стенок ЛЖ увеличена. Наблюдается асимметричное утолщение межжелудочковой перегородки в базальном сегменте. Толщина свободной стенки ЛЖ изменяется в меньшей степени. В то же время представлены данные, указывающие на отсутствие влияния возраста на толщину стенок ЛЖ. В некоторых исследованиях увеличение толщины стенок ЛЖ с возрастом отмечено только у женщин.

Противоречивые данные были получены и о связи возраста с массой миокарда ЛЖ (ММЛЖ). Первоначально считалось, что ММЛЖ значительно увеличивается с возрастом. Результаты Фремингемского исследования показали, что у пожилых людей индекс ММЛЖ (ММЛЖ с поправкой

на площадь поверхности тела) был выше, чем у молодых пациентов.

В других работах было выявлено снижение ММЛЖ у здоровых пожилых людей. Так, по результатам аутопсии вес левого и правого желудочков уменьшался в год на 0,7 и 0,21 г соответственно. Данные (МРТ) крупного многонационального исследования с участием более 5000 человек разного возраста без ССЗ подтверждают уменьшение ММЛЖ с возрастом. Ряд авторов считают, что с возрастом масса ЛЖ уменьшается только у мужчин, в то время как у женщин она не изменяется.

Следует отметить, что ММЛЖ является составной переменной, которая косвенно отражает изменение компонентов ЛЖ, включая толщину стенки и внутренний диаметр. Именно поэтому измерение только ММЛЖ не позволяет адекватно определить закономерности ремоделирования миокарда ЛЖ, которое может быть следствием различных по направлению изменений.

Основываясь на данных МРТ-исследований, авторы показали, что толщина стенки ЛЖ у женщин увеличилась с возрастом на 14 %, в то время как длина ЛЖ уменьшилась на 9 %. При этом ММЛЖ, по данным этих авторов, не изменялась. У мужчин толщина стенок ЛЖ не увеличивалась, но уменьшалась длина ЛЖ на 11 %, в результате ММЛЖ с возрастом снижалась.

Изменение структуры ЛЖ с возрастом, его концентрическое ремоделирование связано с повышением риска неблагоприятных сердечно-сосудистых событий.

Ремоделирование миокарда с возрастом во многом обусловлено развитием фиброза. Увеличивается концентрация коллагена и его межмолекулярных сшивок, преимущественно в интерстициальном и периваскулярном пространствах. Результаты аутопсии показали, что содержание коллагена увеличивается почти на 50 % между третьим и седьмым десятилетием жизни. При этом у пожилых людей накапливаются коллагеновые волокна I типа, отличающиеся большим диаметром, и уменьшается содержание тонких волокон III типа. Такая перестройка способствует повышению жесткости миокарда.

Нередко в сердце пожилых людей происходит отложение амилоида и кальция. У пациентов старше 80 лет амилоид

в левом предсердии был выявлен более чем в 80 % случаев. С возрастом увеличивается распространенность амилоидной рестриктивной кардиомиопатии. Отложение амилоида у пожилых людей повышает риск развития нарушений проводимости и сердечной недостаточности. Кальций откладывается, как правило, в проводящей системе сердца и клапанном аппарате (чаще митральном и/или аортальном), увеличивая вероятность развития ССЗ. Изменение структуры миокарда в процессе старения обусловлено изменениями, происходящими на клеточном уровне.

Миокард взрослого человека состоит из разных типов клеток и внеклеточного пространства. Кардиомиоциты составляют около 75 % миокарда. Остальные клеточные элементы представлены эндотелиальными клетками, фибробластами, макрофагами, тучными и дендритными клетками. Все составляющие миокарда с возрастом подвергаются морфологическим изменениям.

При старении уменьшается общее количество кардиомиоцитов. В возрасте от 30 до 70 лет в миокарде желудочков человека погибает до 35 % кардиомиоцитов. Их гибель при старении происходит путем апоптоза и может быть обусловлена укорочением теломер, митохондриальной дисфункцией, накоплением окислительных повреждений, а также мутациями ядерной и митохондриальной ДНК.

Потеря кардиомиоцитов в процессе старения сопровождается увеличением в размере оставшихся жизнеспособных клеток. Клеточный гипертрофический ответ позволяет поддерживать толщину стенок миокарда. Увеличение размера кардиомиоцитов предшествует гипертрофии желудочка.

Существуют также гендерные различия возрастных изменений миокарда. G. Olivetti et al. изучали клеточный состав миокарда при аутопсии сердец 53 женщин и 53 мужчин в возрасте от 17 до 95 лет. Они показали, что у мужчин старение сопровождается уменьшением веса миокарда (до 1 г в год), потерей кардиомиоцитов (около 64 млн) и увеличением объема оставшихся клеток. При этом у женщин старение миокарда не приводит к гибели клеток, снижению массы миокарда и реактивной клеточной гипертрофии.

С возрастом количество «стареющих» кардиомиоцитов увеличивается. Важным с точки зрения клеточного старения

Очерк 5

Буккальный эпителий как объект для неинвазивной молекулярной диагностики сердечно-сосудистых заболеваний и старения организма

5.1. Буккальный эпителий: клеточно-молекулярная организация

Известно множество методов диагностики и оценки эффективности лечения ИБС (ЭКГ, ЭхоКГ, череспищеводная ЭКГ, коронарография, МРТ). Определяя информативность того или иного метода, необходимо ориентироваться на его чувствительность и специфичность. В настоящее время предприняты попытки выявления ИБС по электролитному составу слюны и крови (содержание K^+ , Na^+ и Ca^{2+}) и по молекулам, содержащимся в крови, — IL-1, IL-6, IL-10, КК-МВ, СРБ, натрийуретическому пептиду типа Р, миоглобину, сердечным тропонинам и др. Диагностика ИБС по крови инвазивный метод, а для пожилых людей предпочтительны неинвазивные процедуры.

Перспективным направлением для неинвазивной молекулярной диагностики ИБС по цитокиновому статусу может являться использование буккального эпителия (БЭ). Забор материала со внутренней поверхности щеки — процедура неинвазивная, кроме того, данный объект исследования обладает большой информативностью (изучение экспрессии сигнальных молекул, возможность оценки электрокинетических характеристик клеток и т. п.). Буккальный эпителий можно рассматривать как пограничную зону между внешней и внутренней средой организма. Таким образом, изменения функциональной активности клеток БЭ (процессы клеточного обновления и дифференцировки, экспрессия различных сигнальных молекул) во многом отражают состояние локального и системного гомеостаза организма или его нарушения при патологических состояниях. Следовательно, БЭ, доступный для прижизненного гистологического

исследования, может служить источником важной диагностической и прогностической информации о состоянии здоровья, стрессовых воздействиях, влиянии факторов внешней среды, соматической патологии и о биологическом возрасте человека.

Поскольку ССЗ во многом связаны с изменением экспрессии сигнальных молекул — маркеров иммунного ответа, большое значение имеет участие БЭ в иммунном ответе и межклеточных взаимодействиях. Буккальный эпителий секретирует ряд сигнальных молекул — цитокины, хемокины, ростовые и гемопозитические факторы, эйкозаноиды, NO, ЭТ, пептидные медиаторы, молекулы главного комплекса гистосовместимости (HLA). Секретируемые БЭ сигнальные молекулы регулируют активность иммунных клеток, что в свою очередь определяет развитие острых и хронических воспалительных реакций. Буккальный эпителий секретирует ряд цитокинов и хемокинов: IL-6, IL-8, IL-18, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), INF γ , простагландин E₂ и лейкотриены. На мембране БЭ верифицированы антигенпрезентирующие (HLA-1, HLA-2), коадгезивные (CD54) и костимулирующие (CD40) молекулы. Уровень их экспрессии зависит от функционального состояния клеток и изменяется под влиянием различных воздействий. Иммунологическая функция БЭ регулируется INF. Установлено, что под действием INF α усиливается секреция буккальным эпителием IL-8 и GM-CSF. Кроме того, в БЭ INF α и INF β индуцируют экспрессию гена *ISG-15*, активирующего образование INF γ , пролиферацию и цитотоксичность НК-клеток. В исследованиях на клетках буккальной карциномы отмечено потенцирующее действие INF γ на экспрессию молекул HLA, CD40 и CD54.

В связи с этим интересным представляется сравнительное изучение экспрессии IL-1 β , IL-6, IL-10, MCP-1 и GDF-15 в БЭ у пациентов разного возраста с ИБС и без ССЗ.

Материал для исследования экспрессии сигнальных молекул в БЭ забирали со внутренней поверхности щеки от здоровых доноров и пациентов с ИБС, диагноз которым был поставлен на основе сбора анамнеза — осмотра врача-кардиолога и данных ЭКГ, ЭхоКГ, коагулограммы крови, общего клинического и биохимического анализов крови, анализа

крови на экспрессию тропонина. Весь материал был разделен на группы в соответствии с возрастной классификацией ВОЗ: первая группа — люди среднего возраста (45–59 лет, $54 \pm 2,4$ года, 27 человек) и вторая группа — люди пожилого возраста (60–74 года, $67 \pm 3,7$ года, 25 человек). Контролем служил материал БЭ, полученный от людей без ССП среднего (45–59 лет, $52 \pm 2,2$ года, 18 человек) и пожилого (60–74 года, $69 \pm 2,4$ года, 20 человек) возраста.

Цитологические мазки были приготовлены методом жидкостной цитологии на основе автоматизированной системы Novarper NRS (Франция). Для иммуноцитохимического окрашивания использовали моноклональные мышинные антитела к IL-1 β , IL-6, IL-10, MCP-1 и GDF-15. Морфометрическое исследование проводили с помощью системы компьютерного анализа. В каждом случае были проанализированы десять полей зрения при увеличении 200. Площадь экспрессии определяли путем подсчета отношения площади иммунопозитивных клеток к общей площади клеток в поле зрения и выражали в процентах. Достоверность статистических различий между группами оценивали с использованием U-критерия Манна – Уитни (другое название — критерий суммы рангов Уилкоксона) — непараметрического теста, применяемого для проверки различий между двумя независимыми малыми выборками. Статистическую обработку данных выполняли с помощью программного обеспечения Statistica 7.0.

5.2. Экспрессия IL-1 β в буккальном эпителии у пациентов разного возраста с ишемической болезнью сердца

У здоровых пациентов не выявлены возрастные различия в экспрессии IL-1 β в БЭ. При этом экспрессия IL-1 β у пациентов среднего и пожилого возраста с ИБС соответственно в 3 и 4,4 раза была выше, чем у здоровых людей этого же возраста. Кроме того, у пациентов пожилого возраста с ИБС площадь экспрессии IL-1 β была в 1,6 раза больше, чем у пациентов среднего возраста с данным заболеванием (рис. 3).

Очерк 6

Слюна как объект для неинвазивной молекулярной диагностики сердечно-сосудистых заболеваний

Одним из объектов для неинвазивного исследования молекулярных маркеров функционального состояния организма является слюна. В слюне обнаружено около 1000 различных белков и 19 000 уникальных пептидных последовательностей. По сравнению с традиционным методом исследования крови определение уровня сигнальных молекул в слюне обладает рядом преимуществ: неинвазивностью, атравматичностью для пациента, отсутствием стресса, характерного для забора крови, более простые условия хранения и транспортировки. По мере усовершенствования лабораторных методов стало доступно изучение различных компонентов слюны (рис. 12). Охарактеризованы ее физико-химические и биохимические параметры, определены их референтные величины для разных возрастных групп, условия пробоподготовки для исследования.

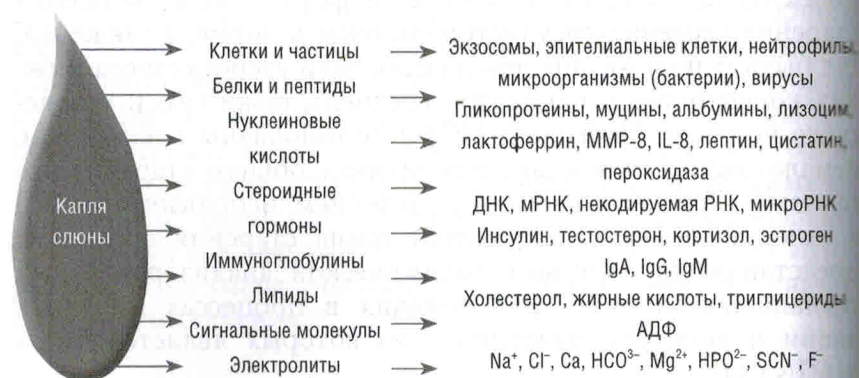


Рис. 12. Экспрессия сигнальных молекул в слюне (пояснения см. в тексте) (адаптировано из Rehman S.A., Khurshid Z., Niazi F.H., et al. Role of salivary biomarkers in detection of cardiovascular diseases (CVD) // Proteomes. 2017. Vol. 5. No. 3. P. 21)

6.1. Сигнальные молекулы в слюне: маркеры развития и прогноза течения инфаркта миокарда у людей разного возраста

Было проведено исследование с целью сравнительного анализа концентрации сигнальных молекул — маркеров воспаления, ремоделирования межклеточного матрикса и старения в слюне людей среднего и пожилого возраста без ССЗ и с ИМ.

Материал слюны здоровых доноров (без ССЗ, 73 человека, контроль) и пациентов с ИМ (65 человек) был получен в Клинике сердечно-сосудистой хирургии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург) от людей среднего ($55,3 \pm 2,1$ года) и пожилого ($71,0 \pm 2,7$ года) возраста. Диагноз ИМ ставили пациентам на основании физического осмотра врача, снижения АД на 10–15 мм рт. ст., результатов общего клинического анализа крови и мочи, повышения уровня тропонина и миоглобина в крови в первые сутки после госпитализации в стационар, результатов ЭКГ.

Концентрацию сигнальных молекул в слюне определяли методом иммуноферментного анализа (BioTek Instruments, модель ELx808) с использованием набора (HS)-CRP EIA kit (DRG International Inc., Springfield New Jersey, США), включающего материалы для прямого определения IL-8, TNF α , MMP-8, MMP-9, FNDC5, p16 в слюне человека. Указанные сигнальные молекулы были выбраны в связи с их высокой информативностью для диагностики ССЗ и старения организма.

У пациентов с острым ИМ с первых суток заболевания наблюдался рост уровня цитокинов IL-6, -8, -12, INF γ и TGF α в сыворотке крови с максимальными уровнями для IL-8, -12 и INF γ на 7-е сутки, а для IL-6, TGF α — на 14-е сутки. Уровень цитокинов IL-8, TGF α к концу госпитального периода не нормализовался. Цитокины непосредственно участвуют в регуляции воспалительной реакции, характеризуются синергичным и перекрестным взаимодействием. Установлено, что интенсивность воспалительной реакции при старении организма повышается. Активность IL-8, вызывающего стимуляцию лизосомальных ферментов нейтрофилов и ангиогенеза, определяет его способность регулировать фагоцитоз в зоне некроза. IL-8 — один из основных провоспалительных хемокинов,

секретируемых макрофагами, эпителиальными и эндотелиальными клетками, является хемоаттрактантом и активатором нейтрофилов.

TNF α представляет собой плейотропный цитокин, продуцируемый эндотелиальными клетками, клетками гладких мышц и макрофагами. Концентрация TNF α в крови повышается при прогрессирующей сердечной недостаточности. Роль TNF α в патогенезе атеросклероза, ИБС и ИМ заключается в подавлении продукции TIMP фибробластами. Синтез избыточного количества MMP вызывает разрыв атеросклеротической бляшки. Кроме того, TNF α стимулирует синтез IL-6 клетками гладких мышц сосудистой стенки. Показано, что повышение уровня TNF α в крови свидетельствует о рецидиве ИМ.

В исследовании у 154 больных ИМ с подъемом сегмента ST на первые сутки заболевания концентрация TNF α в крови была в 2 раза выше нормы. На 10-е сутки после ИМ содержание TNF α и IL-8 в плазме крови было в 4 раза выше нормы. Концентрации IL-8, TNF α , MMP-2 и MMP-9 в слюне были выше в 1,5–5,2 раза у пациентов с острым ИМ и положительно коррелировали с концентрациями этих цитокинов в плазме крови. Условиями, приводящими к увеличению концентрации указанных биомаркеров в биологических жидкостях, может служить повреждение или воспалительный процесс в ткани миокарда.

После гибели кардиомиоцитов при ИМ репарация осуществляется за счет соединительной ткани, в состав которой входят фибробласты и внеклеточный матрикс. Синтез и протеолиз белков внеклеточного матрикса регулируется системой MMP и ее ингибиторов. MMP-8 в основном синтезируется нейтрофилами, поэтому острый воспалительный процесс может инициировать увеличение концентрации MMP-8. Через час после развития ИМ концентрация MMP-8, MMP-9 и TIMP-1 в плазме крови повышается в 2 раза. Через 3 дня после ИМ выявлен второй пик увеличения активности MMP-8 и MMP-9 в плазме крови, что отражает миграцию макрофагов и нейтрофилов к очагу поражения. Ранняя активация MMP, вероятно, свидетельствует об их вовлечении в патогенез ИМ, включая развитие воспалительной реакции, ангиогенез, трансформацию соединительной ткани. Однако

в других исследованиях концентрация MMP-9 в слюне не отличалась в норме и при ИМ.

Ирисин (FNDC5) — мембранный белок, который является предшественником одноименного пептидного гормона. Высокий уровень ирисина в крови свидетельствует о снижении вероятности образования атеросклеротических бляшек, и его содержание в крови снижается с возрастом. Переливание крови старым мышам от молодых способствовало повышению концентрации FNDC5 у старых животных и приводило к нормализации функций сердечно-сосудистой системы. Уровень ирисина в слюне и плазме крови постепенно снижается в течение 48 ч после ИМ. Кроме того, концентрация ирисина в крови отрицательно коррелирует с возрастом. Повышенный уровень ирисина в крови — благоприятный прогностический признак течения ССЗ, свидетельствующий о снижении вероятности возникновения острого ИМ и ишемических инсультов. Белок p16, ингибитор циклинзависимых киназ, так же как ирисин, является маркером клеточного старения. Экспрессия p16 в эндотелии и других тканях увеличивается с возрастом.

Статистическую обработку результатов проводили в программе SPSS Statistics 17.0. Характер распределения показателей определяли по критерию Колмогорова – Смирнова. Различия между выборками оценивали с использованием параметрического *t*-критерия Стьюдента (при нормальном распределении данных) и непараметрического *U*-критерия Манна – Уитни (в случае отсутствия нормального распределения данных).

У пациентов среднего возраста с ИМ концентрация IL-8 в слюне повышалась в 15,33 раза по сравнению с контролем соответствующей возрастной группы. При переходе от среднего возраста к пожилому у людей без ССЗ концентрация IL-8 в слюне увеличивалась в 2,14 раза. У пациентов пожилого возраста с ИМ концентрация IL-8 в слюне возрастала в 7,09 раза по сравнению с контролем соответствующей возрастной группы. Концентрация IL-8 в слюне у людей среднего и пожилого возраста с ИМ не различалась (рис. 13).

У пациентов среднего возраста с ИМ выявлено увеличение концентрации TNF α в слюне в 8,48 раза по сравнению с контролем соответствующей возрастной группы. При переходе от