

На правах рукописи

ФЕОКТИСТОВА
Валерия Сергеевна

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ,
АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАЗВИТИЕМ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ
СЕРДЦА У ЖЕНЩИН МОЛОДОГО И СРЕДНЕГО ВОЗРАСТА**

14.01.04 – внутренние болезни

14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург - 2016

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

Болдуева Светлана Афанасьевна, доктор медицинских наук, профессор, ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, кафедра факультетской терапии, заведующая кафедрой

Сироткина Ольга Васильевна, доктор биологических наук, ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, кафедра клинической лабораторной диагностики и генетики Института послевузовского образования, профессор кафедры

Официальные оппоненты:

Шишкин Александр Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет» Правительства Российской Федерации, медицинский факультет, кафедра факультетской терапии, заведующий кафедрой

Тотолян Арег Артемович доктор медицинских наук, профессор, ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, ВРИО директора

Ведущая организация:

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2016 г. в «___» часов на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 215.002.06 при ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ (194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева 6).

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ и на сайте www.vmeda.org

Автореферат разослан «___» _____ 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук

Яковлев Владимир Валерьевич

ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Несмотря на достижения последних лет в области диагностики и лечения, сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) продолжают оставаться ведущей причиной смерти и инвалидизации женщин в большинстве развитых странах мира (ВОЗ, 2013). В Европе на долю ССЗ приходится до 54% случаев смерти среди женщин, при этом каждая пятая женщина умирает от ишемической болезни сердца (ИБС) (Vaccarino V. et al., 2011; Nichols M. et al., 2012). В России 65% женщин умирает вследствие ССЗ и в 32% случаев причиной смерти является ИБС (Nichols M. et al., 2012). Наряду с этим, последние десятилетия характеризуются ростом заболеваемости ИБС среди женщин молодого и среднего возраста, в том числе, и с сохраненной репродуктивной функцией, что не укладывается в существующее представление об ангиопротективных эффектах эстрогенов (Вардугина Н.Г. и др., 2005; Зайцева В.В., 2012; Третьякова Н.С. и др., 2013; Towfighi A. et al., 2009; Puymirat E. et al., 2012, Sulo G. et al., 2014). Вместе с тем, большинство отечественных и зарубежных исследователей, занимающихся этой проблемой, сходятся во мнении, что прогнозирование риска развития ИБС у женщин молодого и среднего возраста представляет определенные трудности в связи с тем, что на сегодняшний день нет шкал оценки риска развития заболевания, адаптированных к популяции женщин данного возраста (Чазова И.Е. др., 2008; Лебедева А.Ю. и др., 2011; Ridker P.M. et al., 2007; Papadopoulou S.A., Kaski J.C., 2013). Принимая во внимание, что эти женщины относительно молоды, американская Фремингемская шкала риска развития ИБС и европейская шкала SCORE риска смерти от ССЗ даже при наличии традиционных факторов риска (ФР) будут прогнозировать у данной популяции низкий или умеренный кардиоваскулярный риск. Кроме того, как стало известно в последние годы, около 20% всех коронарных событий у женщин происходят при отсутствии классических ФР ССЗ (Khot U.N. et al., 2003; Ridker P.M. et al., 2007; Daviglus M.L. et al., 2012). В связи с этим поиск новых маркеров, которые могли бы выступать в качестве предиктора развития ИБС у женщин молодого и среднего возраста, представляет важную научно-практическую задачу.

Степень разработанности темы исследования. Согласно современным представлениям, ведущая роль в развитии ИБС отводится нарушениям в системе метаболизма и транспорта липидов крови, с одной стороны, и функциональной активности и структурной целостности сосудистого эндотелия - с другой (Шишкин А.Н., Лындина М.Л., 2009; Вериге Я.И. и др., 2014; Lee K.W. et al., 2005; Oram J.F., Vaughan A.M., 2006; Wang M. et al., 2012). Определение структурных полиморфизмов генов, лежащих в основе этих нарушений, является одним из подходов к решению проблемы ранней диагностики и профилактики ИБС, поскольку позволяет проводить оценку индивидуального генетического риска развития заболевания. На сегодняшний день в качестве генетических маркеров ИБС рассматриваются аллельные варианты генов-кандидатов различных групп: гены, кодирующие

эндотелиальные факторы и регулирующие сосудистый тонус (гены eсNOS, EDN1 и т.д.); гены участвующие в метаболизме и транспорте липидов (гены ABCA1, апоА-I и т.д.); гены, кодирующие элементы системы антиоксидантной защиты (гены PON-1, супероксиддисмутаза и т.д.) и гены, принимающие участие в регуляции процессов метаболизма (гены GNB3, метилентетрагидрофолатредуктаза и т.д.) (Минушкина Л.О. и др., 2008; Родыгина Т.И. и др., 2007; Wang X.L., Wang J. 2000; Zwartz K.Y. et al., 2002; Oram J.F., Vaughan A.M., 2006; Zheng, H. et al., 2013). Однако следует отметить, что исследование полиморфизмов генов, предрасполагающих к развитию ИБС, в большинстве случаев проводилось в смешанных популяциях, без выделения групп по гендерным и возрастным характеристикам. Таким образом, роль различных генетических детерминант в развитии ИБС среди женщин молодого и среднего возраста остается неизученной.

Наряду с этим, обнаружение новых биохимических маркеров хронического повреждения и воспаления эндотелия сосудов позволит осуществлять не только оценку риска развития ИБС, но и прогнозировать характер течения заболевания. Содержание циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) в периферической крови в настоящее время предлагается рассматривать в качестве показателя системного повреждения и ремоделирования сосудистого эндотелия, а также предиктора неблагоприятного течения ИБС у больных с острым коронарным синдромом (Lee K.W. et al., 2005; Voos C.J. et al. 2005; Fadini G.P., Avogaro A., 2010). Тем не менее, остается не ясным, связан ли данный маркер эндотелиальной дисфункции (ЭД) с формированием и течением ИБС у женщин молодого и среднего возраста.

Таким образом, выявление новых значимых для прогноза генетических и биохимических маркеров ИБС, в том числе показателей ЭД, наряду с традиционными ФР даст возможность более точно прогнозировать риск развития ИБС у женщин молодого и среднего возраста, а также позволит своевременно осуществлять профилактические мероприятия по снижению заболеваемости и предупреждению фатальных и нефатальных событий, что и определяет актуальность выбранной темы диссертации.

Личное участие автора в получении результатов. Диссертантом обоснованы цель и задачи исследования, самостоятельно проведен аналитический обзор современной зарубежной и отечественной литературы. Автор лично организовала и осуществляла набор женщин в основную и контрольную группу, освоила современные технологии молекулярно-генетического исследования: методику выделения ДНК для создания банка ДНК пациентов с ИБС и лиц контрольной группы; метод полимеразной цепной реакции и рестрикционного анализа. Наряду с планируемым по теме диссертации клинико-функциональным обследованием, диссертант всем лицам, включенным в исследование, самостоятельно выполнила генетическое типирование аллельных вариантов исследуемых генов. Автор участвовала в разработке методики определения циркулирующих эндотелиальных клеток в периферической крови на проточном цитофлуориметре и оптимизации техники

пробоподготовки биологического материала для цитофлуориметрического исследования; самостоятельно осуществляла пробоподготовку биологического материала женщин, включенных в исследование. Обобщение и анализ результатов, полученных в ходе выполнения настоящей работы и изложенных в диссертации, также выполнены лично автором.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 164 страницах машинописного текста, состоит из введения, описания, материала и методов исследования, изложения собственных результатов исследования, обсуждения полученных результатов, выводов и практических рекомендаций. Диссертация содержит 21 таблицу и 16 рисунков. В работе использовано 73 отечественных и 213 иностранных источников литературы.

Цель исследования: разработать способ прогнозирования риска развития ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста на основании новых генетических и биохимических маркеров, а также традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Задачи исследования:

1. Изучить распространенность традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний в группе женщин молодого и среднего возраста с ишемической болезнью сердца (основная группа) и женщин без ишемической болезни сердца (контрольная группа).

2. Определить уровень показателей липидного спектра крови (ОХС, ТГ, ЛПНП, ЛПВП, Лп(а), апоА-1, апоВ) и углеводного обмена (гликемии плазмы натощак, постпрандиальной гликемии, HbA1c) в исследуемых группах и оценить их диагностическую значимость для прогнозирования риска развития ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста.

3. Исследовать встречаемость носительства аллельных вариантов генов eсNOS 4a4b, EDN1 Lys198Asn, PON1 Q192R, ABCA1 C69T, ABCA1 insG 319, GNB3 C825T в основной и контрольной группе и оценить их роль в развитии ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста.

4. Разработать способ оценки дисфункции эндотелия путем определения количества циркулирующих эндотелиальных клеток в периферической крови на проточном цитофлуориметре с использованием моноклональных флуоресцентно меченых антител к CD146 и CD45.

5. Определить количество циркулирующих эндотелиальных клеток в периферической крови, уровень С - реактивного белка и антигена фактора Виллебранда в плазме крови у женщин молодого и среднего возраста с ишемической болезнью сердца и в контрольной группе и проанализировать зависимость данных показателей от аллельных вариантов исследуемых генов.

6. Выявить взаимодействие клинико-анамнестических, биохимических и изученных генетических факторов и разработать математическую модель прогнозирования риска развития ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста.

Научная новизна работы.

Впервые дана оценка распределения аллельных вариантов генов eNOS 4a/4b, EDN1 Lys198Asn, PON1 Q192R, ABCA1 C69T, ABCA1 insG 319, GNB3 C825T у женщин молодого и среднего возраста с ИБС и без ИБС в анамнезе.

Впервые установлена ассоциация аллеля 4a полиморфизма 4a/4b гена эндотелиальной NO синтазы в гетеро- и гомозиготном состоянии с риском развития ИБС у женщин молодого и среднего возраста.

Впервые показано, что у женщин молодого и среднего возраста с атеросклерозом коронарных артерий носительство аллеля G в 319 позиции гена обратного транспортера холестерина ABCA1 выступает протективным фактором в отношении риска развития ИМ.

Впервые установлено, что у женщин со стабильной формой ИБС без ИМ в анамнезе уровень СРБ ниже среди носителей аллеля G в 319 позиции гена обратного транспортера холестерина ABCA1.

Впервые разработана и внедрена в лабораторную практику методика определения количества ЦЭК в периферической крови на проточном цитофлуориметре с использованием моноклональных флуоресцентно меченых антител к CD146 и CD45 из расчета на 3×10^5 лейкоцитов.

Впервые показано, что наличие более 3-х ЦЭК в периферической крови на 3×10^5 лейкоцитов, подсчитанных методом проточной цитофлуориметрии, имеет высокую прогностическую значимость в оценке риска развития ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста.

Впервые показано, что повышенный уровень apoB и apoB/apoA-I ассоциируется с мультифокальным атеросклеротическим поражением коронарного русла у женщин молодого и среднего возраста.

Теоретическая и практическая значимость исследования.

Оценка взаимосвязи клинико-анамнестических и молекулярно-генетических факторов позволила выявить важные патогенетические механизмы развития и течения ИБС у женщин молодого и среднего возраста, заключающиеся в генетически детерминированном изменении функциональной активности сосудистого эндотелия, нарушении структурной целостности эндотелия, а также нарушении липидного обмена и обратного транспорта холестерина из периферических тканей в печень.

Показана целесообразность детекции генетических детерминант 4a/4b гена eNOS и insG319 гена обратного транспортера холестерина ABCA1 для прогнозирования риска развития и характера течения ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста.

Разработана методика определения количества ЦЭК в периферической крови с использованием моноклональных флуоресцентно меченых антител к CD146 и CD45 на проточном цитофлуориметре из расчета на 3×10^5 лейкоцитов.

Определена высокая прогностическая значимость уровня ЦЭК как маркера повреждения и ремоделирования сосудистого эндотелия в развитии ИБС у женщин молодого и среднего возраста.

Предложена математическая модель оценки риска развития ИБС у женщин молодого и среднего возраста с чувствительностью 94% и специфичностью 96%, которая учитывает новые значимые для прогноза генетические и биохимические маркеры наряду с традиционными факторами риска ССЗ.

Использование предложенной модели позволит более точно прогнозировать риск развития заболевания, своевременно проводить профилактические мероприятия, что будет способствовать снижению заболеваемости ИБС среди женщин молодого и среднего возраста.

Методология и методы исследования:

Данная диссертационная работа проведена как наблюдательное аналитическое исследование по типу «случай-контроль».

В **основную группу** включали женщин молодого (менее 45 лет) и среднего возраста (45-59 лет) с диагнозом ИБС, верифицированным по результатам селективной коронарографии (стеноз более 70% по крайней мере в одной из основных коронарных артерий), проходивших лечение в отделении для лечения больных инфарктом миокарда СЗГМУ им И.И. Мечникова и отделении кардиологии №2 ГМПБ №2.

В **контрольную группу (КГ)** включали женщин молодого и среднего возраста без анамнеза и клинических признаков ИБС; для подтверждения отсутствия у них заболевания всем выполнялась нагрузочная проба с физической нагрузкой (тредмил тест). Пробу считали отрицательной, если при достижении испытуемой субмаксимальной частоты сердечных сокращений отсутствовали клинические проявления ишемии миокарда, на ЭКГ не было признаков депрессии сегмента ST более 1 мм.

Критериями исключения для женщин основной и контрольной групп являлись: отказ от участия в исследовании, наличие тяжелой сопутствующей патологии, способной повлиять на результаты исследования (острые и хронические воспалительные заболевания, системные заболевания соединительной ткани, неопластический процесс, заболевания со стороны крови, декомпенсированные врожденные и приобретенные пороки сердца, хроническая почечная и печеночная недостаточность, алкоголизм).

Методы обследования. Сбор данных по анамнезу основного и сопутствующих заболеваний проводился по специально разработанной анкете, в которой особое внимание уделялось факторам риска ИБС и отягощенной наследственности по ССЗ. Всем обследуемым проводилось стандартное физикальное обследование, включающее измерение роста, веса, окружности талии (ОТ) и бедер (ОБ) с последующим расчетом индекса массы тела по Кетле (ИМТ) и соотношения ОТ/ОБ.

Инструментальные методы исследования для основной группы включали: электрокардиографию (ЭКГ), тредмил – тест (по показаниям), коронарографию (КАГ); для контрольной группы – ЭКГ и нагрузочную пробу (тредмил тест) с целью исключения ИБС.

Лабораторные методы исследования включали: метод проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных флуоресцентно

меченых антител к CD146 и CD45 для определения количества циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) в периферической крови из расчета на 3×10^5 лейкоцитов (CYTOMICS FC 500 Beckman Coulter, США); метод полимеразной цепной реакции (термостат программируемый четырехканальный для проведения ПЦР анализа ТП4-ПЦР-01 – “Терцик” ТУ 9452-001-46482062-98, Россия) с последующим рестрикционным анализом для определения частот аллельных вариантов генов eсNOS 4a4b, EDN1 Lys198Asn, PON1 Q192R, ABCA1 C69T, ABCA1 insG319, GNB3 C825T; энзиматический колометрический метод для определения показателей липидного спектра крови (ОХС, ТГ, ЛПНП, ЛПВП) и гексокиназный метод для определения уровня гликемии плазмы на биохимическом анализаторе Cobas Integra 400 plus (Roche, Швейцария); иммунотурбидиметрический метод для определения концентрации в плазме апоА-I, апоВ, Лп(а), HbA1c, СРБ на биохимическом анализаторе Cobas Integra 400 plus (Roche, Швейцария) и антигена фактора Виллебранда (vWF) на автоматическом анализаторе гемостаза STA Compact (Roche, Швейцария). У женщин контрольной группы забор крови для определения уровня параметров липидного профиля крови, апоА-I, апоВ Лп(а), гликемии плазмы, HbA1c, СРБ, vWF, количества ЦЭК в периферической крови, а также для молекулярно-генетического тестирования проводился натощак в утренние часы. У женщин основной группы забор крови осуществлялся при тех же условиях до проведения коронарографии в 1 - 5 сутки госпитализации. У женщин с сохраненной репродуктивной функцией забор крови для определения уровня ЦЭК осуществляли с 10 по 20 день менструального цикла. У женщин с ИБС без подтвержденного СД независимо от уровня гликемии плазмы крови натощак выполнялся тест на толерантность к глюкозе. Исследования проводились на базе ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программной системы STATISTICA for Windows (версия 5.5 Лиц. №АХХR402С29502 ЗФА). Средние величины приведены со стандартным отклонением среднего значения ($M \pm \sigma$), за исключением ЦЭК, значения которых представлены в виде медианы и квартильного размаха. Сопоставление частотных характеристик качественных показателей проводилось с помощью непараметрических методов χ^2 , χ^2 с поправкой Йетса (для малых групп), критерия Фишера. При сравнении частот генотипов полиморфизмов генов в исследуемых группах носители редко встречающегося (мутантного) аллеля в гетеро- и гомозиготном состоянии объединялись в одну группу. Сравнение количественных параметров в исследуемых группах осуществлялось с использованием критериев Манна-Уитни, Колмагорова – Смирнова, Крускала—Уоллиса и медианного χ^2 модуля ANOVA. Связь между исследуемыми показателями оценивали с помощью корреляционного анализа Спирмена (Реброва О.В., 2002; Юнкеров В.И., Григорьев С.Г., 2005). Критерием статистической достоверности получаемых выводов считали общепринятую в медицине величину $p < 0,05$. Пороговые значения

количественных показателей были получены с помощью методов построения классификационных деревьев. Обобщенная оценка по всему комплексу полученных параметров проводилась методом логистического регрессионного анализа.

Положения, выносимые на защиту.

1. У женщин молодого и среднего возраста повышенный уровень триглицеридов и низкое содержание ЛПВП в плазме является одним из ведущих факторов риска ишемической болезни сердца.

2. Носительство аллеля 4a полиморфизма 4a/4b гена эндотелиальной NO синтазы является генетическим фактором риска ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста.

3. Носительство аллеля G в 319 позиции гена ABCA1 у женщин молодого и среднего возраста с атеросклерозом коронарных артерий выступает протективным маркером в отношении риска развития инфаркта миокарда.

4. Определение количества циркулирующих эндотелиальных клеток в периферической крови методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных флуоресцентно меченых антител к CD146 и CD45 имеет высокую прогностическую значимость в оценке риска развития ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста.

Степень достоверности и апробация результатов исследования.

О достоверности результатов диссертационного исследования свидетельствуют достаточное количество наблюдений, наличие контрольной группы, современные методы исследования и данные статистической обработки полученных материалов. Сформулированные в результате работы научные положения, выводы и рекомендации подтверждены достоверными фактическими данными, представленными в приведенных таблицах и на рисунках. Подготовка, статистический анализ и интерпретация полученных данных проведены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа.

Основные результаты исследования опубликованы в 31 научной работе (из них 5 в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ) и доложены на 8 международных конференциях: Российско-германский медицинский форум «Женское здоровье 2012» (г.С-Петербург), «Frontiers in Cardio Vascular Biology congress» 2012 г. (г.Лондон), «The 2nd EFCC-UEMS European Joint Congress Laboratory medicine at the clinical interference» 2012 г. (г. Дубровник), The 5th International Symposium on Women's Health Issues in Thrombosis and Haemostasis 2013 г. (г. Вена), The 20th IFCC-EFLM European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2013 г. (г. Милан), «Europrevent 2015» (г .Лиссабон), Первая Российско-Китайская конференция молодых ученых по профилактике и лечению основных заболеваний, 2015 г. (г. Харбин), «Acute Cardiovascular Care 2015 (г. Вена), 13 Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием: «Молекулярные основы клинической медицины – возможное и реальное» 2010г. (г. С-Петербург), I Международный научно-

образовательный форум молодых кардиологов «Кардиология: на стыке настоящего и будущего» 2012 г. (г. Самара), «Противоречия современной кардиологии: спорные и нерешенные вопросы» 2013г. (г. Самара), «Профилактическая медицина – 2014» (г. С-Петербург), «Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и детству» 2014 г. (г. С-Петербург), VIII Всероссийская конференция «Проблемы женского здоровья и пути их решения» 2014 г. (г. Москва), Российский национальный конгресс кардиологов «Инновации и прогресс в кардиологии» 2014 г. (г. Казань), IX Всероссийская конференция «Проблемы женского здоровья и пути их решения» 2015 г. (г. Москва), Российский национальный конгресс кардиологов 2015 г. (г. Москва), на 2-х городских научно-практических конференциях: «Эндотелиальная дисфункция - актуальная междисциплинарная проблема» 2013 г. (г.С-Петербург), «Актуальные проблемы женского здоровья» 2014 г. (г.С-Петербург), а также на ежегодных конференциях СЗГМУ им. И. И. Мечникова: в 2010 г., 2015 г.

Результаты исследования внедрены в практическую работу отделения кардиологии для лечения больных инфарктом миокарда ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (СПб), отделения кардиологии №2 СПб ГУЗ «Городская многопрофильная больница №2» (СПб). Материалы используются в учебном процессе кафедры факультетской терапии ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, в учебном процессе кафедры клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (СПб), в учебном процессе кафедры госпитальной терапии и кардиологии им. М.С. Кушаковского ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (СПб), в учебном процессе кафедры клинической лабораторной диагностики и генетики Института послевузовского образования ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (СПб).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Всего в исследовании принимали участие 213 человек, из них 121 женщина была включена в основную группу (средний возраст $52,0 \pm 6,0$ лет) и 92 – в контрольную группу (средний возраст $51,1 \pm 7,0$ лет). Все обследуемые женщины имели европеоидное происхождение, проживали в Северо-Западном регионе России не менее 10 лет и не были связаны между собой узами родства. Разделение женщин на возрастные группы проводилось согласно классификации ВОЗ (Валентей Д.И., 1985).

Характеристика обследованных женщин

Женщины основной и контрольной группы были сопоставимы по возрасту и статусу репродуктивной функции ($p>0,05$) (таблица 1). В основной группе на момент включения в исследование 37 (30,6%) женщин находились на лечении по поводу острого инфаркта миокарда, 21 (17,4%) пациентка перенесла ИМ более 1 месяца назад, 22 (18,2%) человека имели стенокардию напряжения на уровне II-III ф. к. и у 41 (33,9%) женщины была стенокардия напряжения II-III ф. к. на фоне постинфарктного кардиосклероза (ПИКС). Средняя продолжительность заболевания по группе составила $1,6 \pm 0,3$ лет, менее 1 года болели 60 (49,6%) человек, более 5 лет ИБС была у 14 (11,6%) женщин.

Таблица 1. Характеристика обследованных женщин на момент включения в исследование

Признак	Основная группа n=121	Контрольная группа n=92	Достоверность различий (p)
Возраст до 45 лет	17 (14,0%)	20 (21,7%)	нд
Возраст 45-59 лет	104 (86,0%)	72 (78,3%)	нд
Менопауза	72 (59,9%)	44 (47,8%)	нд

Примечание: нд – нет достоверности

Распространенность факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний у женщин молодого и среднего возраста с ишемической болезнью сердца и в контрольной группе

По результатам проведенного исследования в группе женщин с ИБС по сравнению с КГ было выявлено увеличение частоты встречаемости таких традиционных ФР ССЗ, как АГ, дислипидемия, абдоминальное ожирение, курение, нарушение углеводного обмена и отягощенный семейный анамнез по ИБС (рисунок 1).

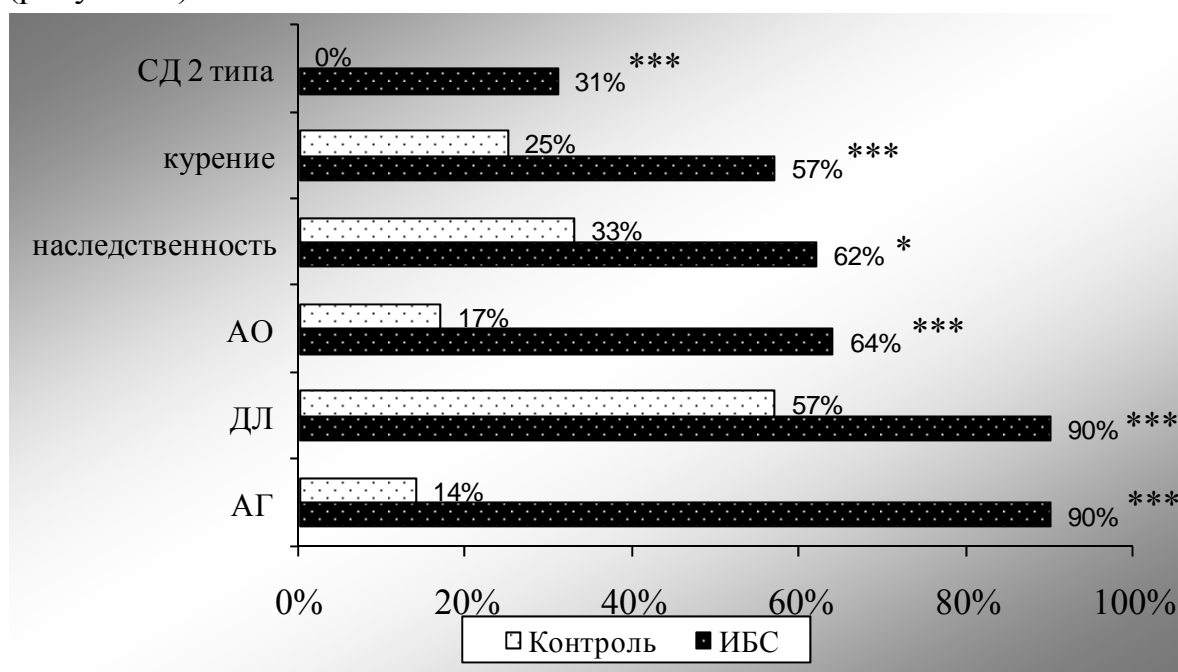


Рисунок 1 – Распределение факторов риска в группе женщин с ИБС и в контрольной группе (* $p < 0,05$, *** $p < 0,0001$)

Наряду с этим, при анализе характера нарушений липидного обмена у обследуемых женщин было обнаружено, что уровень ОХС и ЛПНП превышал референтные значения больше, чем в половине случаев, как в основной (75,6% и 67,0%, соответственно), так и в КГ (67,3% и 55,8%, соответственно), и не различался по среднему значению этих показателей между группами (таблица 2). В то же время уровень ТГ превышал нормальные значения у 63,8% женщин с ИБС против 11,5% лиц КГ ($p < 0,0001$). Средний уровень ТГ в основной группе составил $2,3 \pm 1,4$ ммоль/л, в КГ - $1,1 \pm 0,4$ ммоль/л ($p < 0,0001$). Методом построения классификационных деревьев было найдено пороговое значение уровня ТГ для исследуемых выборок и оказалось, что превышение ТГ более 1,3 ммоль/л в плазме сопровождается увеличением относительного риска развития ИБС для женщин молодого и среднего возраста в 17,6 раз ($CI_{OR} = [7,5-41,0]$).

Таблица 2. Средние значения показателей липидограммы у женщин молодого и среднего возраста с ИБС и в контрольной группе ($M \pm \sigma$)

Показатель	Женщины с ИБС n=94	Контрольная группа n=52	Достоверность различий (p)
ОХС, ммоль/л	$5,9 \pm 1,7$	$5,6 \pm 1,1$	нд
ТГ, ммоль/л	$2,3 \pm 1,4$	$1,1 \pm 0,4$	$< 0,0001$
ЛПНП, ммоль/л	$3,6 \pm 1,3$	$3,5 \pm 1,0$	нд
ЛПВП, ммоль/л	$1,3 \pm 0,4$	$1,6 \pm 0,3$	$< 0,0001$
КА по Климову	$4,0 \pm 1,6$	$2,5 \pm 1,0$	$< 0,0001$
ХС не-ЛПВП, ммоль/л	$4,8 \pm 1,6$	$3,9 \pm 1,1$	$< 0,01$

Примечание: нд - нет достоверности

В качестве дополнительных параметров липидного обмена у обследуемых женщин оценивали значение ХС не-ЛПВП (ОХС минус ЛПВП) и коэффициент атерогенности (КА) по Климову ($(ОХС - ЛПВП)/ЛПВП$). Средний уровень этих показателей был достоверно выше среди женщин с ИБС по сравнению с лицами КГ (таблица 2). При этом превышение порогового уровня ХС не-ЛПВП более 4,1 ммоль/л увеличивало относительный риск развития ИБС у женщин молодого и среднего возраста в 3,1 раза ($CI_{OR} = [1,4-6,1]$), а значение КА более 3,0 - в 4,0 раза ($CI_{OR} = [2,0-8,6]$).

В основной группе женщин также оценивали содержание в плазме апоВ и апоА-I и показатель отношения апоВ/апоА-I. Оказалось, что увеличение концентрации апоВ в плазме выше референтных значений (0,60-1,17 г/л) наблюдалось у 23 (38,3%) пациенток, в то время как уровень апоА-I был ниже нормы (1,08-2,25 г/л) только у 4 (6,6%) человек. Значение апоВ/апоА-I $> 1,0$ встречалось у 11 (18,3%) женщин, что относило этих пациенток к группе высокого риска развития ССЗ, еще 26 (43,4%) человек находились в зоне среднего риска – их уровень апоВ/апоА-I составил от 0,6 до 1,0 (Yusuf S. et al.,

2004). Кроме того, по результатам настоящего исследования было обнаружено, что у женщин молодого и среднего возраста уровень апоВ и апоВ/апоА-I имеет прямое отношение к тяжести поражения коронарного русла атеросклерозом. Так среди пациенток с трех-сосудистым поражением уровень апоВ ($1,26 \pm 0,33$) был достоверно выше по сравнению с лицами, у которых атеросклерозом поражался только один ($0,96 \pm 0,27$) или два ($1,01 \pm 0,36$) сосуда ($p < 0,05$). Среднее значение апоВ/апоА-I ($0,91 \pm 0,24$) также было выше среди больных с трех-сосудистым поражением, чем у женщин с одно-сосудистым поражением ($0,70 \pm 0,29$) ($p < 0,05$).

При анализе такого ФР как ожирение, оказалось, что избыточная масса тела (индекс Кетле $> 24,9$ кг/м²) отмечалась у 98 (81,0%) женщин в группе с ИБС и у 53 (57,6%) человек КГ ($p < 0,0005$). При этом среди лиц КГ, преимущественно регистрировалась избыточная масса тела - 38 (41,3%) человек, в то время как в группе женщин с ИБС - ожирение I степени - 46 (38,0%) человек. Ожирение II и III степени было выявлено только в основной группе, и частота его составила 9,1% и 6,6%, соответственно. Ожирение по абдоминальному типу (ОТ/ОБ $> 0,85$) отмечалось у 77 (63,6%) женщин основной группы и у 16 (17,4%) человек КГ ($p < 0,0001$). Окружность талии (ОТ) более 80 см в группе женщин с ИБС имели 101 (83,5%) человек, а в КГ - 53 (57,6%) человека ($p < 0,005$), среднее значение ОТ в основной группе составило $94,5 \pm 14,6$ см и было больше, чем у женщин без ИБС - $83,5 \pm 10,1$ ($p < 0,0001$). При проведении регрессионного анализа было установлено, что если женщина молодого или среднего возраста имеет ОТ более 80 см, то относительный риск развития у нее ИБС увеличивается в 3,7 раз ($CI_{OR} = [1,7-8,1]$), а если ОТ превышает 101 см - в 50 раз ($CI_{OR} = [3,0-834,8]$).

С целью выявления скрытого нарушения углеводного обмена, независимо от уровня гликемии плазмы венозной крови натощак, в группе женщин с ИБС проводился тест на толерантность к глюкозе, за исключением тех пациенток, у которых был подтвержден диагноз СД 2 типа на момент включения в исследование - 26 (21,5%) человек. Случаев СД 1 типа зарегистрировано не было. По результатам исследования уровня постпрандиальной гликемии оказалось, что среди пациенток с уровнем гликемии плазмы натощак более 6,1 ммоль/л у всех было выявлено нарушение углеводного обмена: у 8 (72,7%) человек - НТГ и у 3 (27,3%) человек - СД 2 типа. Вместе с тем, среди пациенток с уровнем гликемии менее 6,1 ммоль/л у 61 (72,6%) женщины глюкозо-толерантный тест оказался отрицательным, у 15 (17,9%) - выявлено НТГ и у 8 (9,5%) - диагностирован СД 2 типа.

При изучении распределения ФР внутри группы женщин с ИБС в зависимости от возраста было отмечено, что среди пациенток молодого возраста чаще встречается курение, а у женщин среднего возраста - СД 2 типа. При разделении женщин основной группы в зависимости от статуса их репродуктивной функции не было установлено достоверных различий по распределению ФР.

Роль полиморфизмов генов *eсNOS*, *EDN1*, *PON1*, *ABCA1*, *GNB3* в развитии ИБС у женщин молодого и среднего

Частоты аллелей и генотипов исследованных полиморфизмов генов *eсNOS*, *EDN1*, *PON1*, *ABCA1*, *GNB3* в группе женщин с ИБС и в контрольной группе представлены в таблице 3.

Таблица 3. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизмов генов *eсNOS*, *EDN1*, *PON1*, *ABCA1*, *GNB3* у женщин молодого и среднего возраста с ИБС и в контрольной группе

Полиморфизмы		Основная группа N=121	Контрольная группа N=92
eсNOS 4a4b	4b4b n (%)	64 (52,9)*	62 (67,4)
	4a4b n (%)	52 (43,0)	29 (31,5)
	4a4a n (%)	5 (4,1)	1 (1,1)
	аллель 4a	0,74	0,83
	аллель 4b	0,26*	0,17
EDN1 Lys198Asn	LysLys n (%)	72 (59,5)	54 (58,7)
	LysAsn n (%)	39 (32,2)	37 (40,2)
	AsnAsn n (%)	10 (8,3)	1 (1,1)
	аллель Lys	0,76	0,79
	аллель Asn	0,24	0,21
ABCA1 C69T	CC n (%)	45 (37,2)	32 (34,8)
	CT n (%)	57 (47,1)	51 (55,4)
	TT n (%)	19 (15,7)	9 (9,8)
	аллель C	0,61	0,62
	аллель T	0,39	0,38
ABCA1 insG319	NN n (%)	88 (72,7)	71 (77,2)
	NG n (%)	32 (26,5)	21 (22,8)
	GG n (%)	1 (0,8)	0 (0)
	аллель N	0,86	0,89
	аллель G	0,14	0,11
PON1 Q192R	QQ n (%)	61 (50,4)	46 (50,0)
	QR n (%)	52 (43,0)	44 (47,8)
	RR n (%)	8 (6,6)	2 (2,2)
	аллель Q	0,72	0,74
	аллель R	0,28	0,26
GNB3 C825T	CC n (%)	64 (52,9)	47 (51,1)
	CT n (%)	47 (38,8)	33 (35,9)
	TT n (%)	10 (8,3)	12 (13,0)
	аллель C	0,72	0,69
	аллель T	0,28	0,31

Примечание: *p < 0,05; OR(4a4b+4a4a vs. 4b4b) = 1,8 (CI_{OR}=[1,0-3,2])

По результатам проведенного исследования в группе женщин с ИБС по сравнению с КГ наблюдалось достоверное увеличение частоты встречаемости

аллеля 4a полиморфизма 4a4b гена eсNOS в гетеро- и гомозиготном состоянии. Частоты аллелей и генотипов других исследованных полиморфизмов генов EDN1 Lys198Asn, PON1 Q192R, ABCA1 C69T, insG319, GNB3 C825T не отличались между женщинами основной группы и КГ.

Однако при проведении анализа распределения частот аллелей и генотипов исследуемых полиморфизмов генов внутри группы женщин с ИБС оказалось, что у носителей аллеля insG319 гена ABCA1 в гетеро- и гомозиготном состоянии достоверно реже развивался ИМ ($OR=2,8$; $CI_{OR}=[1,3-8,6]$), что может свидетельствовать о влиянии данного полиморфизма на течение ИБС у женщин молодого и среднего возраста (таблица 4).

Таблица 4. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма insG319 гена ABCA1 у женщин молодого и среднего возраста при различных формах ИБС

Полиморфизм		Женщины с ИБС с ИМ в анамнезе N=99	Женщины с ИБС без ИМ в анамнезе N=22
ABCA1 insG319	NN n (%)	76 (76,8)	11 (50,0)*
	NG n (%)	32 (22,2)	10 (45,5)
	GG n (%)	1 (1,0)	1 (4,5)
	аллель N	0,88	0,73
	аллель G	0,12	0,27*

Примечание: * $p < 0,05$; $OR(NG+GG \text{ vs. } NN) = 3,3$ ($CI_{OR}=[1,3-8,6]$)

Также было установлено, что в группе женщин с ИБС у носителей аллеля T825 в гетеро- и гомозиготном состоянии гена GNB3 достоверно чаще встречалась АГ (таблица 5), одновременно с этим, среди пациенток с уже сформировавшейся АГ носительство аллеля T825 ассоциировалось с достоверно более высокими значениями систолического (164 ± 2 и 177 ± 21 мм.рт.ст. для генотипов CC и CT+TT, соответственно, $p < 0,005$) и диастолического артериального давления (101 ± 18 и 111 ± 18 мм.рт.ст. для генотипов CC и CT+TT, соответственно, $p < 0,005$).

Таблица 5. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма C825T гена GNB3 у женщин молодого и среднего возраста с ИБС в сочетании с АГ и без АГ

Полиморфизм		Женщины с ИБС с АГ N=109	Женщины с ИБС без АГ N=12
ABCA1 insG319	CC n (%)	53 (48,6%)*	10 (83,3)
	CT n (%)	46 (42,2)	2 (16,7)
	TT n (%)	10 (9,2)	0 (0)
	аллель C	0,70	0,92
	аллель T	0,30*	0,08

Примечание: * $p < 0,05$; $OR(CT+TT \text{ vs. } CC) = 5,3$ ($CI_{OR}=[1,1-25,2]$)

Методика определения циркулирующих эндотелиальных клеток в периферической крови с использованием проточной цитофлуориметрии

В настоящей работе определение количества ЦЭК в периферической крови осуществляли на проточном цитофлуориметре CYTOMICS FC 500 (BectonCoulter, США) с использованием меченных флуорохромами моноклональных антител к поверхностным маркерам клеток: CD146-PE (phycoerythrin – фикоэритрин (BectonCoulter, США)) в качестве метки для ЦЭК и CD45-PC5 (phycoerythrin + cyanine 5 – фикоэритрин + цианин 5 (BectonCoulter, США)) как панлейкоцитарный маркер. Для исследования использовали цельную венозную кровь, забранную натощак в утренние часы из локтевой вены, среди женщин основной группы до интракоронарных вмешательств. У женщин с сохраненной репродуктивной функцией забор крови производили с 10 по 20 день менструального цикла. При проведении проточной цитофлуориметрии в каждой пробе анализировали 3×10^5 событий. По скатерограммам прямого и бокового светорассеяния лазерного луча исключали из анализа фрагменты разрушенных клеток (дебрис) и анализировали результаты скатерограмм проб методом Буля для двойных позитивных событий. В качестве отрицательного контроля использовали пробу №1 с панлейкоцитарным маркером CD45-PC5, что позволяло выделить область для циркулирующих эндотелиальных клеток (CD146-PE) в пробе №2. Циркулирующие эндотелиальные клетки определяли, как негативные по маркеру CD45 (CD45⁻) и позитивные по маркеру CD146 (CD146⁺) (рисунок 2). Общее количество идентифицированных ЦЭК стандартизировали по отношению к содержанию CD45⁺ лейкоцитов.

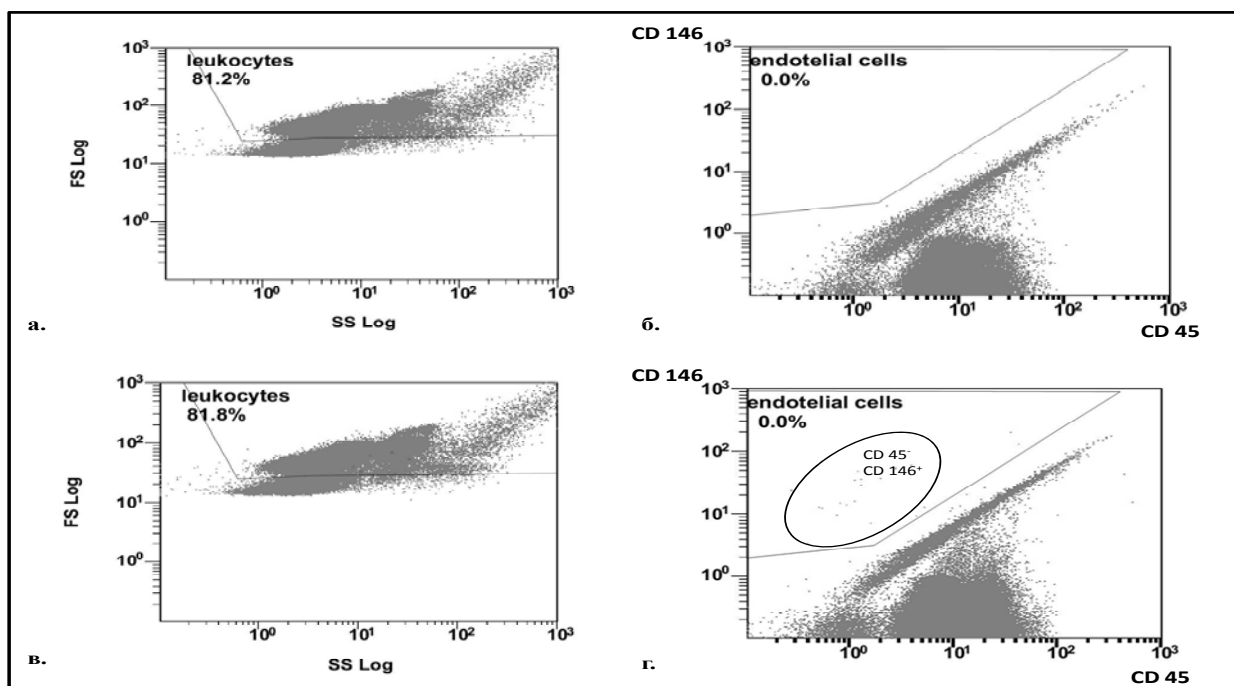


Рисунок 2 – Определение количества циркулирующих эндотелиальных клеток в периферической крови у женщин с ИБС: (а) – скатерограмма прямого и бокового светорассеяния пробы №1; (б) – скатерограмма двойных позитивных событий для пробы №1, позволяет исключить из анализа

(отрицательный контроль) область популяции лейкоцитов и фрагменты разрушенных клеток, неспецифически связанных с CD45 маркером; (в) – скатерограмма прямого и бокового светорассеяния пробы №2; (г) – скатерограмма двойных позитивных событий для пробы №2, циркулирующие эндотелиальные клетки определяют как негативные по маркеру CD45 (CD45⁻) и позитивные по маркеру CD146 (CD146⁺).

Исследование маркеров эндотелиальной дисфункции у женщин молодого и среднего возраста с ишемической болезнью сердца и в контрольной группе

Исследование количества ЦЭК в периферической крови было выполнено у 62 женщин с ИБС и 49 человек КГ. Все пациентки основной группы, которым было выполнено исследование, имели хроническую форму ИБС. По результатам проведенного исследования количество ЦЭК из расчета на 3×10^5 лейкоцитов (ЛЦ) оказалось выше в группе женщин с ИБС - $5(3 \div 9)$ кл/ 3×10^5 ЛЦ в сравнении с КГ - $3(2 \div 6)$ кл/ 3×10^5 ЛЦ ($p < 0,005$). Кроме того, у женщин основной группы уровень ЦЭК был выше среди пациенток с ИМ в анамнезе - $5(3 \div 11)$ кл/ 3×10^5 ЛЦ ($p < 0,05$). Количество ЦЭК в периферической крови в основной группе и КГ не зависело от возраста женщины и состояния ее репродуктивной функции. Методом построения классификационных деревьев было получено пороговое значение уровня ЦЭК в периферической крови для исследуемых выборок. Оказалось, что наличие 3-х и более ЦЭК на 3×10^5 ЛЦ в периферической крови увеличивает относительный риск развития ИБС среди женщин молодого и среднего возраста в 3,9 раза ($CI_{OR} = [1,6-9,4]$), а при уже сформировавшемся заболевании повышает риск развития ИМ в 7,7 раз ($CI_{OR} = [1,7-34,5]$). При проведении корреляционного анализа в группе женщин с ИБС была установлена прямая связь между количеством ЦЭК в периферической крови и уровнем антигена фактора Виллебранда (vFW) ($r = 0,4$ $p < 0,05$).

Определение уровня антигена vFW и СРБ в плазме было выполнено у пациенток основной группы с острым ИМ и хроническими формами ИБС в 1-5 сутки госпитализации в стационар до выполнения им интракоронарных вмешательств. Средние значения антигена vFW оказались достоверно более высокими в группе женщин с острым ИМ (196 ± 89), чем у пациенток с ПИКС (132 ± 45) и стенокардией напряжения II-III ф.кл. без ИМ в анамнезе (138 ± 52) ($p < 0,05$). Средний уровень СРБ в группе женщин с острым ИМ составил $13,2 \pm 11,3$ мг/л, у пациенток ПИКС – $5,0 \pm 4,2$ мг/л, со стенокардией напряжения II-III ф.кл. – $4,8 \pm 2,7$ мг/л и среди женщин со стенокардией напряжения II-III ф.кл. на фоне ПИКС – $4,6 \pm 4,0$ мг/л. Достоверные различия по содержанию СРБ в плазме отмечались между группами пациенток с острым ИМ и хроническими формами ИБС ($p < 0,05$), в то время как между группами с хроническими формами заболевания различий по уровню СРБ найдено не было. При проведении корреляционного анализа у женщин с острым ИМ была установлена прямая связь между уровнем антигена vFW и СРБ в плазме, что

свидетельствует о взаимосвязи процесса воспаления и ЭД у женщин молодого и среднего возраста с острым ИМ ($r=0,56$ $p<0,005$).

Также обнаружено, что среди женщин с ИБС без ИМ в анамнезе уровень СРБ ниже среди носителей аллеля insG319 гена ABCA1 в гетеро- и гомозиготном состоянии ($3,1\pm 1,6$ для генотипов NG+GG и $6,6\pm 2,5$ для генотипа NN, $p<0,05$), что подтверждает гипотезу об участии воспалительных маркеров в формировании нестабильной атеросклеротической бляшки.

Модель прогнозирования риска развития ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста

По результатам проведенного клинико-анамнестического обследования и молекулярно-генетического тестирования было выделено 15 факторов, связь которых с риском развития ИБС у женщин молодого и среднего возраста носила достоверный характер (таблица 6).

Таблица 6. Факторы риска, ассоциированные с развитием ИБС у женщин молодого и среднего возраста (однофакторный анализ)

Фактор	OR (CI)	p
Носительство аллеля 4a полиморфизма 4a4b гена eсNOS	1,8 (1,0-3,2)	<0,05
ЦЭК ≥ 3 кл/ 3×10^5 ЛЦ	3,9 (1,61-9,4)	<0,005
ТГ > 1,3 ммоль/л	17,6 (7,5-41,0)	<0,0001
ЛПВП < 1,6 ммоль/л	9,5 (4,1-21,9)	<0,0001
ХС не-ЛПВП > 4,1 ммоль/л	3,1 (1,4-6,1)	<0,005
КА по Климову > 3,0	4,0 (2,0-8,6)	<0,0005
Сахарный диабет 2 типа	43,9 (2,6-731,4)	<0,0001
Гликемия плазмы > 6,6 ммоль/л	16,2 (3,8-69,6)	<0,0001
ОТ > 101см	50,0 (3,0-834,8)	<0,0001
ОТ/ОБ > 0,87	11,8 (5,3-26,5)	<0,0001
ИМТ > 30кг/м ²	6,0 (3,1-11,5)	<0,05
офисное САД > 135 мм.рт.ст.	116,5 (42,5-319,4)	<0,0001
офисное ДАД > 85 мм.рт.ст.	56,3 (24,3-130,5)	<0,0001
Курение	4,0 (2,2-7,2)	<0,0001
Отягощенный семейный анамнез по ИБС	2,7 (1,5-4,6)	<0,0005

На основе логистического регрессионного анализа была построена модель, позволяющая оценить риск развития ИБС у женщин молодого и среднего возраста по комплексу прогностически значимых параметров. Из 15 факторов прогностически значимыми оказались 9 показателей (таблица 7). Структура модели логистической регрессии включает коэффициенты регрессии (таблица 7) для каждого из оцениваемых факторов риска и уравнение прогноза риска развития заболевания.

Таблица 7. Коэффициенты регрессии для факторов, определяющих прогноз риска развития ИБС у женщин молодого и среднего возраста (логистический регрессионный анализ)

Фактор		Регрессионный коэффициент, b	Ранг прогностической значимости
X1	Количество ЦЭК на 3×10^5 ЛЦ	0,3	1
X2	ТГ, ммоль/л	1,6	2
X3	офисное САД, мм.рт.ст.	0,1	3
X4	Сахарный диабет 2 типа	7,6	4
X5	Отягощенный семейный анамнез по ИБС	2,8	5
X6	Носительство аллеля 4a полиморфизма 4a4b гена eсNOS	1,8	6
X7	ХС не-ЛПВП, ммоль/л	0,2	7
X8	ОТ/ОБ	3,0	8
X9	курение	1,4	9

Свободный член уравнения прогноза риска – b_0 равен -26,4. Вероятность (Y) развития заболевания у конкретного человека может быть рассчитана по следующей формуле:

$$\psi = -26,4 + 0,3 \times X1 + 1,6 \times X2 + 0,1 \times X3 + 7,6 \times X4^* + 2,8 \times X5^{**} + 1,8 \times X6^{***} + 0,2 \times X7 + 3,0 \times X8 + 1,4 \times X9^{****}$$

Примечание: *- при наличии СД 2 типа в формулу подставляется - 1, при отсутствии – 0; ** - при наличии отягощенной наследственности по ИБС в формулу подставляется 1, при отсутствии – 0; *** - при генотипе 4a4b или 4a4a в формулу подставляется -1, при генотипе 4b4b – 0; **** - при наличии фактора курения в формулу подставляется - 1, при отсутствии – 0.

Уровень статистической значимости модели: хи-квадрат=123,0, $p < 0,0001$; OR=326,3.

После расчета Y полученный показатель умножается на 100 и выражается в процентах риска развития заболевания у конкретной женщины.

Разработанная прогностическая модель, включающая наряду с традиционными факторами риска, генетические факторы и маркеры эндотелиальной дисфункции позволяет оценить риск развития ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста с чувствительностью 94% и специфичностью 96%.

ВЫВОДЫ

1. В развитии ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста задействованы все традиционные факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний, среди которых наиболее часто встречаются: артериальная гипертензия, дислипидемия, абдоминальное ожирение, отягощенный семейный анамнез по ИБС и курение.

2. У женщин молодого и среднего возраста с ишемической болезнью сердца и нормальным уровнем гликемии плазмы натощак в 27,4% случаев встречается увеличение уровня постпрандиальной гликемии. Повышенный уровень ОХС и ЛПНП не оказывают существенного влияния на развитие ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста, в то время как превышение уровня ТГ плазмы более 1,3 ммоль/л и снижение ЛПВП менее 1,6 ммоль/л увеличивает риск развития заболевания в 17 и 9,5 раз, соответственно, наряду с этим высокий уровень апоВ и апоВ/апоА-I ассоциируется с мультифокальным поражением коронарного русла атеросклерозом.

3. У женщин молодого и среднего возраста носительство аллеля 4a полиморфизма 4a/4b гена эндотелиальной NO синтазы в 1,7 раз увеличивает риск развития ишемической болезни сердца; при наличии заболевания носительство аллеля Т полиморфизма С825Т гена $\beta 3$ – субъединицы G белка сочетается с достоверно более высоким уровнем систолического и диастолического артериального давления у лиц с артериальной гипертензией, а носительство аллеля G319 гена обратного транспортера холестерина ABCA1 снижает риск развития инфаркта миокарда в 3,3 раза.

4. Разработанный способ определения количества циркулирующих эндотелиальных клеток в периферической крови с использованием моноклональных флуоресцентных меченых антител к CD146 и CD45 и проточной цитофлуориметрии, позволяет прогнозировать риск развития ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста с чувствительностью 84% и специфичностью 43%. Уровень циркулирующих эндотелиальных клеток выше у женщин с ишемической болезнью сердца в сравнении с лицами контрольной группы. Наличие 3-х и более циркулирующих эндотелиальных клеток на 3×10^5 лейкоцитов в периферической крови увеличивает относительный риск развития заболевания среди женщин молодого и среднего возраста в 3,9 раза, а при наличии заболевания повышает риск развития инфаркта миокарда в 7,7 раз.

5. У женщин молодого и среднего возраста с острым инфарктом миокарда уровень С-реактивного белка взаимосвязан с уровнем антигена фактора Виллебранда в плазме, а у женщин с ишемической болезнью сердца без инфаркта миокарда в анамнезе носительство протективного аллеля G в 319

позиции гена обратного транспортера холестерина ABCA1 сочетается с более низким содержанием С-реактивного белка в плазме; уровень антигена фактора Виллебранда у женщин с хроническими формами ишемической болезнью сердца напрямую связан с количеством циркулирующих эндотелиальных клеток в периферической крови.

6. Для женщин молодого и среднего возраста наибольшей прогностической значимостью в стратификации риска развития ишемической болезни сердца обладают такие факторы, как количество циркулирующих эндотелиальных клеток в периферической крови, уровень триглицеридов плазмы, офисное систолическое артериальное давление, сахарный диабет, отягощенный семейный анамнез по ИБС, отношение ОТ/ОБ, носительство аллеля 4a полиморфизма 4a/4b гена эндотелиальной NO синтазы, уровень ХС не-ЛПВП и курение. Разработанная математическая модель, включающая наряду с традиционными факторами риска, генетические факторы и маркеры эндотелиальной дисфункции, позволяет прогнозировать риск развития ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста с чувствительностью 94% и специфичностью 96%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Учитывая высокую распространенность среди женщин молодого и среднего с ИБС таких факторов риска, как АГ, дислипидемия, абдоминальное ожирение и курение, при проведении первичной профилактики заболевания следует особое внимание уделять своевременной коррекции этих факторов у данной популяции женщин.

2. Принимая во внимание высокие прогностические значения уровня ТГ и ЛПВП в развитии ИБС у женщин молодого и среднего возраста при проведении коррекции нарушений липидного обмена у женщин данной популяции необходимо достигать целевых значений уровня ТГ ниже 1,3 ммоль/л и ЛПВП выше 1,6 ммоль/л.

3. Для прогнозирования риска развития ИБС у женщин молодого и среднего возраста рекомендуется проводить детекцию полиморфизма 4a/4b гена эндотелиальной NO синтазы.

4. Для оценки риска развития ИМ у женщин молодого и среднего возраста с уже сформировавшейся ИБС является целесообразным исследование полиморфизма ins319G гена обратного транспортера холестерина ABCA1.

5. Принимая во внимание высокое прогностическое значение уровня ЦЭК в периферической крови для оценки риска развития ИБС у женщин молодого и среднего, предлагается для определения ЦЭК использовать методику, разработанную в настоящем исследовании.

6. У женщин молодого и среднего возраста рекомендуется проводить оценку риска развития ИБС по предложенной математической модели, включающей, наряду с традиционными факторами риска, новые значимые для прогноза генетические факторы и маркеры эндотелиальной дисфункции.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Таким образом, проведенное исследование показало, что наряду с классическими факторами риска важную роль в развитии ИБС у женщин молодого и среднего возраста играет эндотелиальная дисфункция. Установленная ассоциация аллеля 4a полиморфизма 4a4b гена eсNOS с ИБС у женщин позволяет выдвинуть предположение о том, что причиной развития заболевания в молодом и среднем возрасте может являться генетически обусловленное нарушение функциональной активности эндотелия сосудов, вместе с тем увеличение количества ЦЭК в периферической крови свидетельствует о его структурной неполноценности. Представляется перспективным дальнейшее изучение влияния маркеров эндотелиальной дисфункции и генетических детерминант, ассоциированных с развитием ИБС у женщин молодого и среднего возраста, на отдаленный прогноз заболевания.

В связи с полученными данными о том, что гипертриглицеридемия и низкая концентрация ЛПВП в плазме оказывает более мощное влияние на формирование ИБС у женщин молодого и среднего возраста, чем уровень ОХС и ЛПНП, необходимо изучить влияние снижения этих показателей до целевых значений на риск развития ИБС у данной категории больных.

Поскольку оказалось, что у женщин с уже сформировавшимся заболеванием носительство аллеля insG319 гена ABCA1 является протективным в отношении риска развития ИМ, логично предположить, что процессы обратного транспорта холестерина участвуют в стабилизации атеросклеротической бляшки и эта гипотеза требует дополнительного подтверждения.

Использование модели прогнозирования риска развития ИБС у женщин молодого и среднего возраста, которая учитывает наряду с традиционными факторами риска, выявленные генетические факторы и уровень маркеров эндотелиальной дисфункции, позволит формировать группы высокого риска и своевременно осуществлять первичную профилактику заболевания. Ввиду того, что созданная модель показала достаточно высокую чувствительность и специфичность при прогнозировании риска ИБС у женщин молодого и среднего возраста, необходима ее проверка на новой выборке женщин.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Феоктистова, В.С. Возрастные особенности нарушений ритма и проводимости у женщин, переносящих инфаркт миокарда / Н.А. Тростянецкая, Н.С. Третьякова, В.С. Феоктистова, С.А. Болдуева, И.А. Леонова // Вестник Российской Военно-медицинской академии (приложение А). – 2010. – Т.30, №2 - С.55.
2. Феоктистова, В.С. Факторы риска острого инфаркта миокарда у женщин в зависимости от возраста / В.С. Феоктистова, Н.А. Тростянецкая, С.А. Болдуева // Материалы научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины и биологии». – СПб., 2010. – С.10-11.
3. Феоктистова, В.С. Влияние полиморфизма Lys198Asn гена эндотелина 1

в развитии ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста / В.С. Феоктистова, С.А. Болдуева, О.В. Сироткина, М.Г. Колесниченко // Материалы научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины и биологии». – СПб., 2010. – С.77-78.

4. Феоктистова, В.С. Анализ распределения генетических вариантов eсNOS 4a4b, PON1 Q191R, EDN1 Lys198Asn, ABCA1 C69T у женщин с ишемической болезнью сердца молодого и среднего возраста // Кардиоваскулярная терапия и профилактика (Приложение 1). – 2010. – №9(6). – С.337.

5. Феоктистова, В.С. Сравнительный анализ распределения генетических вариантов eсNOS 4a4b, PON1 Q191R, EDN1 Lys198Asn, ABCA1 C69T у женщин с кардиальным синдромом Х и с атеросклеротическим поражением коронарных артерий / В.С. Феоктистова, М.Г. Колесниченко, И.А. Леонова, С.А. Болдуева, О.В. Сироткина // Клинико-лабораторный консилиум. – 2010. - №2-3(33-34). – С.171-172.

6. Феоктистова, В.С. Генетические маркеры, ассоциированные с развитием ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста / В.С. Феоктистова, И.А. Леонова, Н.А. Тростянецкая, Т.В. Вавилова, С.А. Болдуева, О.В. Сироткина // Материалы VI Съезда Российского общества медицинских генетиков. – Ростов-на-Дону, 2010. – С.184.

7. Феоктистова, В.С. Вклад инсулинорезистентности в развитие атеросклероза коронарных артерий и «кардиального синдрома Х» у женщин молодого и среднего возраста / В.С. Феоктистова, М.Г. Колесниченко, С.А. Болдуева, И.А. Леонова // Профилактическая и клиническая медицина". – 2010. – №3-4(36-37). - С.228.

8. Феоктистова, В.С. Генетическая детерминанта кардиального синдрома Х у женщин / В.С. Феоктистова, А.С. Липунова, М.Г. Колесниченко, И.А. Леонова, О.В. Сироткина, С.А. Болдуева // Проблемы женского здоровья. – 2011. – Т.6, №4. – С. 83-84.

9. Феоктистова, В.С. Вклад липопропротеида (а) в развитие атеросклероза коронарных артерий у женщин молодого и среднего возраста / В.С. Феоктистова, Н.С. Третьякова, А.С. Липунова, И.А. Леонова, О.В. Сироткина // Профилактическая и клиническая медицина. – 2011. – №1(38). - С.387-388.

10. Feoktistova, V. EDN1 Lys198Asn is associated with microvascular angina or cardiac syndrome X in women / V. Feoktistova, S. Boldueva, I. Leonova // Cardiovascular Research. – 2012. – Vol. 93., Sup.1. - P. 532-533.

11. Феоктистова, В.С. Полиморфизм 4a/4b гена эндотелиальной NO синтазы и ишемическая болезнь сердца среди женщин с сохраненной репродуктивной функцией / В.С. Феоктистова, О.В. Сироткина, С.А. Болдуева, И.А. Леонова, Н.С. Третьякова, А.С. Липунова // Материалы I Международного научно-образовательного форума молодых кардиологов «Кардиология: на стыке настоящего и будущего». - Самара, 2012. – С.362.

12. Feoktistova, V. New way of endothelial dysfunction research: flow cytometry

testing of circulating endothelial cells / O. Sirotkina, V. Feoktistova, M. Topuzova, Z. Khushvaktova, A. Lipunova, T. Vavilova // *Biochemia Medica*. – 2012. – Vol.22(3). – P.67-68.

13. Феоктистова, В.С. Гендерные особенности течения острого инфаркта миокарда: результаты ретроспективного исследования / С.А. Болдуева, Н.А. Тростянецкая, И.А. Леонова, В.С. Феоктистова, Н.С. Третьякова, И.В. Ярмош // Проблемы женского здоровья. – 2012. - Т.7, №2. – С. 11-16.

14. Феоктистова, В.С. Полиморфизм генов эндотелиальной NO синтазы, эндотелина-1 и параоксоназы-1 как фактор риска кардиального синдрома X у женщин / В.С. Феоктистова, А.С. Липунова, М.Г. Колесниченко, И.А. Леонова, О.В. Сироткина, С.А. Болдуева // Проблемы женского здоровья. – 2012. - Т.7, №3. – С. 24-29.

15. Феоктистова, В.С. Новый подход к оценке дисфункции эндотелия: определение количества циркулирующих эндотелиоцитов методом проточной цитометрии / В.С. Феоктистова, О.В. Сироткина, А.Б. Ласковец, М.П. Топузова, А.С. Липунова, З.О. Хушвактова, Л.Б. Гайковая, Т.В. Вавилова // Тезисы XVIII Всероссийской конференции с международным участием "Тромбозы, кровоточивость, ДВС-синдром: современные подходы к диагностике и лечению". - СПб, 2012. - Приложение №10. - С. 86-87.

16. Feoktistova, V. The circulating endothelial cells level and coronary heart disease in women / O. Sirotkina, V. Feoktistova, A. Laskovets, I. Leonova, L. Gaykovaya, S. Boldueva, T. Vavilova // *Trombosis Research*. -2013. – Vol.131.,Sup.1. – P.91.

17. Феоктистова В.С. Выраженность дисфункции эндотелия у женщин с ишемической болезнью сердца и метаболическим синдромом / В.С. Феоктистова, И.А. Леонова, А.Б. Ласковец, Т.В. Вавилова, С.А. Болдуева, О.В. Сироткина // Материалы III Российского конгресса «Метаболический синдром: Междисциплинарные проблемы». – СПб., 2013. – С.81.

18. Feoktistova, V. Old problem – new solution: the way to determ platelet and endothelial dysfunction in cerebrovascular or cardiovascular diseases / V. Feoktistova, O. Sirotkina, T. Vavilova, S. Boldueva, I. Leonova A. Laskovets // *Biochimica Clinica*. - 2013. – Vol.37. – P.656.

19. Феоктистова, В.С. Молекулярно-генетические маркеры дисфункции эндотелия / В.С. Феоктистова, А.Б. Ласковец, М.П. Топузова, Т.В. Вавилова // Материалы Всероссийской конференции «Противоречия современной кардиологии: спорные и нерешенные вопросы». - Самара., 2013. – С.35-36.

20. Феоктистова, В.С. Особенности болевого синдрома и психологического статуса у больных кардиальным синдромом X / В.Б. Петрова, С.А. Болдуева, И.А., Леонова, А.С. Липунова, В.С. Феоктистова, М.Г. Колесниченко, О.В. Захарова // Профилактическая и клиническая медицина. – 2013. – Т.49, №4. – С.52-58.

21. Феоктистова, В.С. Дисфункция эндотелия у женщин при различных

формах ишемической болезни сердца / В.С. Феоктистова, И.А. Леонова, О.В. Сироткина, С.А. Болдуева // Материалы VIII Всероссийской конференции «Проблемы женского здоровья и пути их решения». - Москва.,2014.- С.35-36.

22. Феоктистова, В.С. Полиморфизм Ins319 гена обратного транспортера холестерина ABCA1 как маркер благоприятного течения ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста / В.С. Феоктистова, О.В. Сироткина, С.А. Болдуева, Т.В. Вавилова, И.А. Леонова // Материалы Российского национального конгресса кардиологов «Инновации и прогресс в кардиологии». – Казань., 2014. – С.483.

23. Феоктистова, В.С. Полиморфизм С825Т гена $\beta 3$ -субъединицы G белка у женщин молодого и среднего возраста и развитие ишемической болезни сердца / В.С. Феоктистова, О.В. Сироткина, С.А. Болдуева // Материалы IX Всероссийской конференции «Проблемы женского здоровья». – Москва., - 2015. – С.52-53.

24. Feoktistova, V. Polymorphism ins319 gene reverse cholesterol transporter ABCA1 as a marker of favorable development of coronary artery disease in young and middle-age women / T. Vavilova, V. Feoktistova, O. Sirotkina, S. Boldueva, I. Leonova, L. Gaykovaya // Thrombosis Research. – 2015. - Vol.135,Suppl.1. – P.76.

25. Feoktistova, V. Cardiac X syndrome – does endothelial dysfunction play an important role? / I. Leonova, A. Lipunova, S. Boldueva, M. Kolesnichenko, T. Vavilova, V. Feoktistova, // Thrombosis Research. – 2015. - Vol.135,Suppl.1. – P.76.

26. Феоктистова, В.С. Влияние полиморфизма С825Т гена $\beta 3$ -субъединицы G белка на распространенность и течение артериальной гипертензии у женщин молодого и среднего возраста с ишемической болезнью сердца / В.С. Феоктистова, С.А. Болдуева, А.А. Степанова // Материалы 3-й научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Трансляционная медицина: от теории к практике» - СПб., 2015. – С.134-135.

27. Феоктистова, В.С. Новый подход к оценке дисфункции эндотелия: определение количества циркулирующих эндотелиальных клеток методом проточной цитометрии // В.С. Феоктистова В.С., Т.В. Вавилова, О.В. Сироткина, С.А. Болдуева, Л.Б. Гайковская, И.А. Леонова, А.Б. Ласковец, А.И. Ермаков / Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – Т.60,№4. – С.23-27.

28. Feoktistova, V. The role of endothelial dysfunction in the development of different forms of coronary artery disease among women // V. Feoktistova, I.A. Leonova, S. Boldueva, O. Sirotkina, A. Lipunova, L. Gaykovaya / EuroPREvent Congress Abstracts. – 2015. – S.191.

29. Feoktistova, V. ABCA1 Ins319 polymorphism as a marker of a favorable course of coronary heart disease at women of young and middle age // V. Feoktistova, I.A. Leonova, O. Sirotkina, S. Boldueva, T. Vavilova, L. Gaykovaya / EuroPREvent Congress Abstracts. – 2015. – S.40.

30. Feoktistova, V. The impact of various clinical, biochemical and genetic factors

on the development of coronary artery disease (CAD) in young and middle aged women // V. Feoktistova, I.A. Leonova, S. Boldueva, O. Sirotkina, T. Vavilova, L. Gaykovaya / EuroPREvent Congress Abstracts. – 2015. – S.41

31. Феоктистова, В.С. Клинические и молекулярно-генетические факторы в стратификации риска ишемической болезни сердца у женщин молодого и среднего возраста // В.С. Феоктистова, С.А. Болдуева, О.В. Сироткина, Т.В. Вавилова, Л.Б. Гайковая, И.А. Леонова / Тромбоз, гемостаз и реология. – 2015. - №3(63). – С.52-59.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ	артериальная гипертензия
АД	артериальное давление
ИБС	ишемическая болезнь сердца
ИМ	инфаркт миокарда
ИМТ	индекс массы тела
КА	коэффициент атерогенности
КГ	контрольная группа
ЛПВП	липопротеины высокой плотности
ЛПНП	липопротеины низкой плотности
НТГ	нарушение толерантности к глюкозе
ОТ/ОБ	отношение окружности талии к окружности бедер
ОХС	общий холестерин
ПИКС	постинфарктный кардиосклероз
СД	сахарный диабет
СРБ	С-реактивный белок
ССЗ	сердечно-сосудистые заболевания
ТГ	триглицериды
ФР	факторы риска
ХС не-ЛПВП	холестерин не связанный с ЛПВП
ЦЭК	циркулирующие эндотелиальные клетки
ЭД	эндотелиальная дисфункция
ABCA1	ген обратного транспортера холестерина ABCA1
EDN1	ген эндотелина 1
ecNOS	ген эндотелиальной NO синтазы
GNB3	ген β_3 -субъединицы G белка
PON1	ген параоксоназы 1
vFW	антиген фактора Виллебранда