

*На правах рукописи*

МЕЛЬНИКОВ ИВАН СЕРГЕЕВИЧ

**РОЛЬ МОНОМЕРНОЙ ФОРМЫ С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА  
В ОЦЕНКЕ РЕЗИДУАЛЬНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО РИСКА  
У ПАЦИЕНТОВ С СУБКЛИНИЧЕСКИМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ  
СОННЫХ АРТЕРИЙ**

Кардиология – 3.1.20

Клиническая лабораторная диагностика – 3.3.8

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена 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).

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук

**Козлов Сергей Геннадьевич**

доктор биологических наук

**Габбасов Зуфар Ахнафович**

**Официальные оппоненты:**

**Арабидзе Григорий Гурамович**, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой терапии и подростковой медицины терапевтического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства Здравоохранения Российской Федерации.

**Вершинина Марина Германовна**, кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры семейной медицины и терапии Федерального государственного бюджетного учреждения дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации.

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 г. в \_\_\_\_\_ на заседании диссертационного совета Д21.1.029.02 по присуждению ученой степени кандидата медицинских наук ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России по адресу: 121552, г. Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15А.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России и на сайте в сети Интернет: <https://cardioweb.ru/>

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор медицинских наук

**Ускач Татьяна Марковна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования и степень её разработанности.** Резидуальный воспалительный сердечно-сосудистый риск определяют по уровню основного биомаркера воспаления С-реактивного белка (СРБ), измеренного высокочувствительным тестом (вчСРБ), 2,0 мг/л и выше [Arnett D.K. и др., 2019]. Рандомизированные исследования (РКИ) показали, что снижение частоты развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий сопоставимо при достижении уровня холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛНП) менее 1,8 ммоль/л или вчСРБ менее 2,0 мг/л и наиболее выражено при сочетанном достижении обоих показателей [Ridker P.M., 2019]. РКИ 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% [Soehnlein O. и Libby P., 2021].

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) [Ridker P.M., 2019]. В местах локального воспаления пСРБ взаимодействует с повреждёнными мембранами клеток и их микрочастиц, а также с окисленными липопротеидами, подвергаясь диссоциации до мономерных субъединиц (мСРБ) [Braig D. и др., 2017]. После диссоциации мСРБ может оставаться связанным с клеточными мембранами и обнаруживается, в том числе, в АСБ [Eisenhardt S.U. и др., 2009], в которых преимущественно локализуется в липидном ядре, вокруг новых микрососудов, в местах скопления макрофагов, Т-клеток и гладкомышечных клеток (ГМК) [Krupinski J. и др., 2006]. 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 [McFadyen J.D. и др., 2018]. мСРБ выявляли на циркулирующих в кровотоке микрочастицах у пациентов с острым инфарктом миокарда [Habersberger J. и др., 2012] и с атеросклерозом периферических артерий [Crawford J.R. и др., 2016].

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 [Eisenhardt S.U. и др., 2009]. В связи с этим, регистрация мСРБ в плазме крови требует разработки новых методов.

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 [Hashimoto H. и др., 2001].

**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.** 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. На втором этапе исследования разработанным способом измерили уровень мСРБ у 80 пациентов обоих полов с бессимптомным атеросклерозом сонных артерий, 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.

**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 прогрессирующим 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 прогрессирующим 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 прогрессирующим 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. Апробация диссертационной работы состоялась на заседании межотделенческой конференции ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России 25 мая 2022 года (протокол №93). Диссертация рекомендована к защите. Основные положения диссертации доложены на российских и зарубежных конгрессах.

**Внедрение в практику.** Результаты работы внедрены в практику и используются в лаборатории клеточного гемостаза НИИЭК им. В.Н. Смирнова ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России (акт внедрения от 18 мая 2022 года).

**Личный вклад автора.** Автор лично разработал дизайн исследования и метод измерения уровня мСРБ в плазме крови, проводил исследования с использованием методов клинической лабораторной диагностики и кардиологии, собирал данные и выполнял их статистический анализ, анализировал литературу, готовил к публикации полнотекстовые статьи и тезисы, выступал с докладами по теме работы.

**Объем и структура 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.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы**

Исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России (протокол № 274 от 29.11.2021 г.). Исследование соответствует положениям Хельсинкской декларации. У всех пациентов было получено информированное согласие в письменной форме.

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 вСРБ и ИЛ-6 и

изучили связь уровней мСРБ, вчСРБ и ИЛ-6 с прогрессированием атеросклероза сонных артерий.

**Дизайн исследования.** В исследование включали мужчин и женщин в возрасте 40—65 лет, относящихся к категории умеренного риска развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) по шкале SCORE, с уровнем ХС ЛНП 2,7—4,8 ммоль/л и бессимптомным гемодинамически незначимым (сужение <50% просвета сосуда) атеросклерозом сонных артерий по данным ультразвукового исследования (УЗИ).

В исследование не включали пациентов с 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.

В 2012-2013 гг. 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. Включенным в исследование пациентам назначали терапию аторвастатином с подбором индивидуальной дозы для достижения целевого уровня ХС ЛНП <2,6 ммоль/л. Все пациенты достигли целевого уровня ХС ЛНП на монотерапии аторвастатином. Пациенты наблюдались кардиологом в течение 7 лет с ежегодной консультацией и контролем показателей липидного обмена. По завершении периода наблюдения всем пациентам выполняли повторное УЗИ сонных артерий,



определяли липидный состав крови, а также однократно определяли уровень мСРБ, вчСРБ и ИЛ-6 в плазме крови. В связи с тем, что гемодинамически значимого стеноза сонных артерий по итогам наблюдения у пациентов выявлено не было, прогрессирующим атеросклерозом считали увеличение числа АСБ [Hashimoto Н. и др., 2001]. Пациентов делили на группы с увеличением количества АСБ (группа с прогрессирующим атеросклерозом) и без увеличения количества АСБ (группа без прогрессирующего 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.

**Ультразвуковое исследование сонных артерий.** УЗИ сонных артерий было выполнено на ультразвуковой системе iU-22 («Phillips», Германия) 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. 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 комплекса интима-медиа (ТИМ) или локальное образование с увеличением ТИМ >1,5 мм [Touboul P.J. и др., 2011]. 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.

**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 клон 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 ГАНСгр (ИмТек, Россия), конъюгированные с флуоресцеином изотиоцианатом (FITC) (ГАНСгр-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 трис-фосфатного буфера (TBS) 10,0 мМ, хлорида натрия 150 мМ, альбумина 2,9 мМ, рН = 7,4.

**Подготовка и анализ проб крови.** Кровь для исследования брали из локтевой вены утром натощак после 12-часового голодания в пробирку, содержащую 3,8% цитрат натрия в соотношении 1 часть антикоагулянта к 9 частям крови. Бедную тромбоцитами плазму получали центрифугированием крови при 2000 g в течение 20 мин при комнатной температуре. Определение уровня вСРБ, ИЛ-6 и показателей липидного обмена в крови проводили в лаборатории клинической биохимии ФГБУ «НМИЦК им. академика Е.И. Чазова» Минздрава России.

**Статистический анализ данных.** Полученные в ходе исследования значения нормального распределения выражены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение, значения с асимметричным распределением – через медиану (верхний и нижний квартили). Проверку статистических гипотез о виде распределения осуществляли с помощью W-теста Шапиро-Уилка (Shapiro-Wilk W test). Сравнительный анализ данных, полученных в двух независимых группах, выполняли при помощи точного критерия Фишера (Fisher's exact test) и U-критерия Манна-Уитни (Mann-Whitney U test), в двух зависимых группах – при помощи критерия Уилкоксона (Wilcoxon signed-rank test), в нескольких группах – критерия ANOVA по Краскелу-Уоллису (Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks). Корреляционный анализ выполняли критерием ранговой корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Все тесты были двусторонними.

## Результаты и их обсуждение

**Способ измерения концентрации мСРБ в плазме крови.** 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). Микросферы, конъюгированные с моноклональными антителами к мСРБ/пСРБ клона МОН328 и к пСРБ клона МОН372 использовали для исключения перекрестной реактивности антител клона 8С8 к пСРБ.

В отсутствие аналита и детектирующих антител функциональные микросферы обладают низкой средней интенсивностью флуоресценции (MFI) по каналу FITC, равной 157, 112 и 82 относительных единиц (отн.ед.) для А5, С4 и Е5, соответственно. При добавлении в пробу детектирующих поликлональных антител к СРБ GANCrp-FITC, в отсутствие СРБ функциональные микросферы так же обладают низкой MFI 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 клонов 8С8, МОН328, МОН372 к формам СРБ определяли в присутствии поликлональных антител к СРБ GANCrp-FITC в пробе, содержащей пСРБ или мСРБ в концентрации 0,25 мг/л. 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. MFI 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.

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 MFI функциональных микросфер С4 по каналу FITC. Зависимость MFI от концентрации мСРБ линейно возрастала при концентрациях мСРБ от 1,0 мкг/л до 100,0 мкг/л. MFI 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.

Ранее в исследованиях Wang J. и соавт. [Wang J. и др., 2015] и Zhang L. и соавт. [Zhang L. и др., 2018] 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 8C8, с помощью проточной цитофлуориметрии.

**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.** Все 80 пациентов завершили семилетний период наблюдения. По окончании наблюдения прирост количества АСБ наблюдался у 45 (56%) пациентов (30 мужчин и 15 женщин). Количество АСБ не изменилось у 35 (44%) пациентов (17 мужчин и 18 женщин). Исходно у пациентов не было выявлено ИБС, артериальной гипертензии, сахарного диабета. Также, исходно пациенты не получали гиполипидемической, антигипертензивной и антитромбоцитарной терапии. Исходные характеристики пациентов приведены в таблице 1.

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) и у 2 человек (стенокардия напряжения) в группе без прогрессирования атеросклероза сонных артерий ( $p = 0,4$ ). Клиническая характеристика пациентов по результатам семилетнего наблюдения представлена в таблице 2, лабораторные показатели – в таблице 3.

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. Количественные ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий у пациентов с прогрессированием и без прогрессирования субклинического атеросклероза сонных артерий приведены в таблице 4.

**Таблица 1** – Клиническая характеристика и лабораторные показатели включенных в исследование пациентов

	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
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, x10 <sup>9</sup>	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** – ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; Ожирение – индекс массы тела  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>, ЛНП – липопротеиды низкой плотности; ЛВП – липопротеиды высокой плотности, СОЭ – скорость оседания эритроцитов. Статистический анализ выполнен критерием Манна-Уитни.

**Таблица 2** – Клиническая характеристика и медикаментозная терапия 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
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
Неблагоприятные сердечно-сосудистые события, всего, n. (%)	5 (11%)	2 (6%)	0,4
Артериальная гипертензия, n. (%)	22 (51%)	16 (43%)	0,8
Сахарный диабет 2 типа, n. (%)	6 (14%)	1 (3%)	0,1
Статины, n. (%)	45 (100%)	35 (100%)	1,0
Аторвастатин, мг	20,0 (20,0; 40,0)	20,0 (20,0; 40,0)	0,7
иАПФ/АРА, n. (%)	16 (36%)	10 (29%)	0,5
β-адреноблокаторы, n. (%)	9 (20%)	10 (29%)	0,4
Диуретики, n. (%)	5 (11%)	4 (11%)	1,0
Антиагреганты, n. (%)	5 (11%)	2 (6%)	0,4
Гипогликемическая терапия, n. (%)	4 (9%)	1 (3%)	0,3

**Примечание** – ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; Ожирение – индекс массы тела  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>, иАПФ – ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента; АРА – антагонисты рецепторов ангиотензина. Статистический анализ выполнен критерием Манна-Уитни.

Таким образом, несмотря на достижение целевого уровня ХС ЛНП  $< 2,6$  ммоль/л, у 56% пациентов наблюдалось прогрессирование атеросклероза сонных артерий. Связь между увеличением ТИМ и неблагоприятным прогнозом у лиц без клинических проявлений атеросклероза была показана в крупных популяционных исследованиях [Sillesen H. и др., 2012; de Weerd M. и др., 2014]. Количество АСБ в сонных артериях связано с частотой развития ишемического инсульта [Hollander M. и др., 2002] и ИБС

[Gerper A.D. и др., 2015]. Скорость роста АСБ в сонных артериях так же связана с частотой развития ишемического инсульта [Carra G. и др., 2003]. Увеличение высоты АСБ в сонных артериях связано с развитием ИБС [Adams A., и др., 2018; Johri A.M. и др., 2016].

**Таблица 3** – Лабораторные показатели 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** – ЛНП – липопротеиды низкой плотности; ЛВП – липопротеиды высокой 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.

**Таблица 4** – Количественные ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий у пациентов исходно и по результатам семилетнего 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>		
	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.

**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. Уровень биомаркеров воспаления в группах пациентов с прогрессированием и без прогрессирования атеросклероза сонных артерий представлен в таблице 2. 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.

Таким образом, 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. У включенных в исследование пациентов уровень традиционных биомаркеров воспаления (вчСРБ, ИЛ-6) находился в пределах нормальных значений, что может быть связано с включением в исследование 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 [Ridker P.M., 2019].

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 ( $r = 0,352$ ,  $p = 0,001$ ). В исследовании Williams R.D. и соавт. уровень мСРБ и вчСРБ так же не коррелировал [Williams R.D. и др., 2020]. В исследовании Zhang L. и соавт. у пациентов с аутоиммунными кожными заболеваниями с повышенным уровнем мСРБ, уровень вчСРБ оставался в пределах нормальных значений [Zhang L. и др., 2018]. Munuswamy R. и соавт. так же указали на отсутствие корреляции уровня мСРБ и вчСРБ у пациентов с ХОБЛ [Munuswamy R. и др., 2021].

**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.** К группе с уровнем мСРБ  $< 5,2$  мкг/л относились 39 пациентов (21 мужчина и 18 женщин), к группе с уровнем мСРБ  $\geq 5,2$  мкг/л — 41 пациент (26 мужчин



и 15 женщин). Пациенты группы с уровнем мСРБ ниже медианы не отличались ни по одному клиническому показателю от пациентов группы с уровнем мСРБ равном и выше медианы. 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. Количественные ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий в зависимости от уровня мСРБ приведены в таблице 5 и на рисунке 1А.

**Таблица 5** – 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 $\geq$ 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.

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).

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 [Wang J. и др., 2015]. Наибольший уровень мСРБ наблюдали у пациентов с острым инфарктом миокарда ( $20,96 \pm 1,64$  мкг/л), в особенности умерших в первые 30 дней после развития инфаркта миокарда ( $36,70 \pm 10,26$  мкг/л), в то время как у пациентов со стабильной стенокардией и здоровых добровольцев уровень мСРБ в плазме крови был ниже порога определения [Wang J. и др., 2015]. 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 [Zhang L. и др., 2018]. Williams R. и соавт. регистрировали уровень мСРБ  $1030,0 \pm 110,0$  мкг/л в сыворотке пациентов с острыми воспалительными заболеваниями и уровнем вчСРБ  $>100$  мг/л [Williams R.D. и др., 2020]. 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 [Munuswamy R. и др., 2021]. 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.

**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.** В подгруппу пациентов с уровнем вчСРБ  $<2,0$  мг/л вошли 54 человека, в том числе 33 (61%) мужчины и 21 (39%) женщина. 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). Пациенты группы с уровнем мСРБ ниже медианы отличались от пациентов группы с уровнем мСРБ равном и выше медианы только по уровню ХС ЛНП ( $p = 0,02$ ). 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. Количественные ультразвуковые параметры атеросклероза

сонных артерий в зависимости от уровня мСРБ в подгруппе пациентов с уровнем вЧСРБ <2,0 мг/л приведены в таблице 6 и на рисунке 1Б.

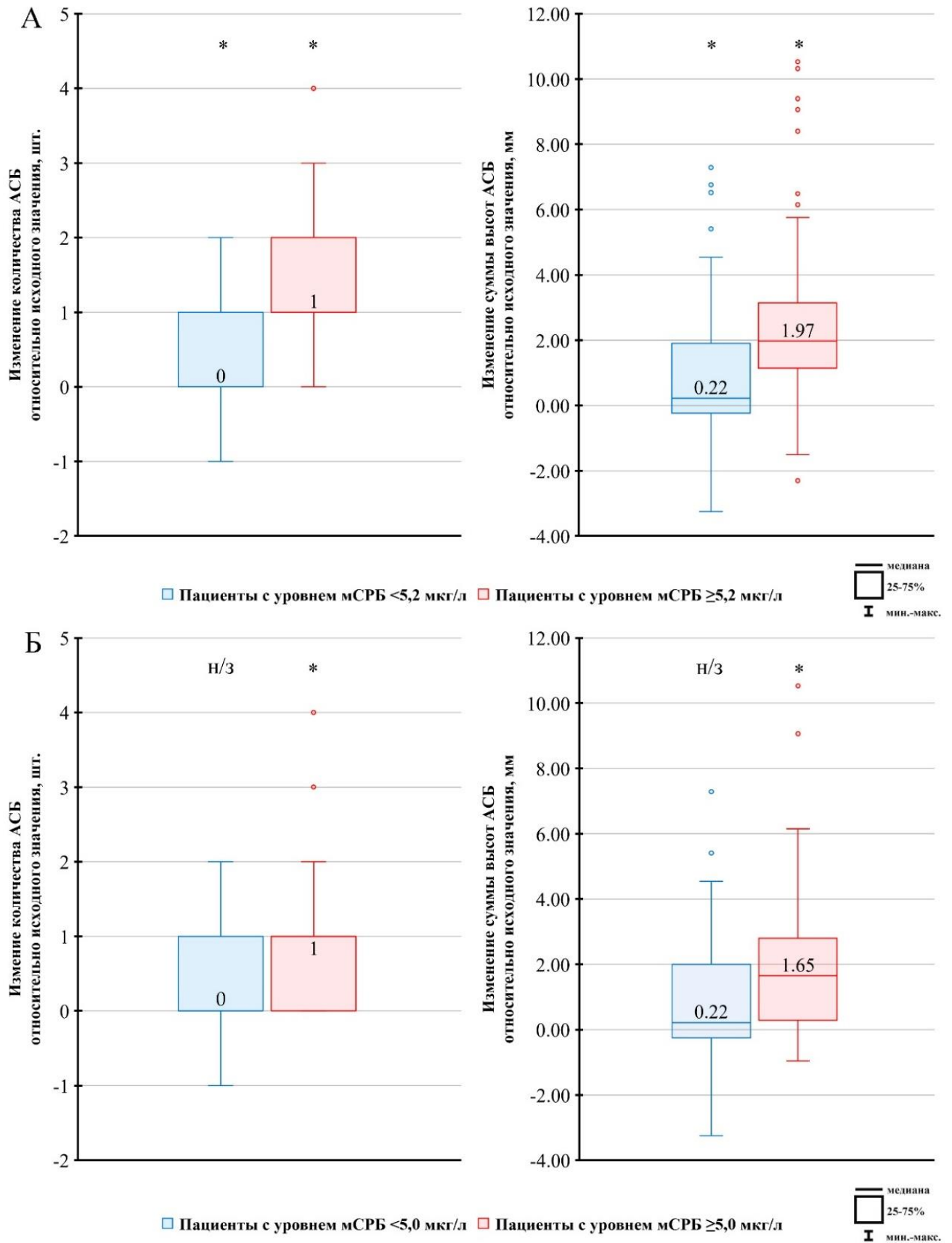
**Таблица 6** – Количественные ультразвуковые параметры атеросклероза сонных артерий в подгруппе пациентов с уровнем вЧСРБ <2,0 мг/л в зависимости от уровня мСРБ

	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.

На основании измерения уровня вЧСРБ 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.

**Ограничения исследования.** Нет данных об исходном уровне биомаркеров воспаления у пациентов. Пациенты изначально наблюдались с целью определения дозы аторвастатина, оптимальной для профилактики прогрессирования атеросклероза сонных артерий. Измерение уровня мСРБ стало возможным только после разработки метода, что произошло позже начала наблюдения пациентов. В российских рекомендациях 2020 г. [Кухарчук В.В. и др., 2020] по профилактике ССЗ целевой уровень ХС ЛНП в категории высокого сердечно-сосудистого риска был понижен до <1,8 ммоль/л. Достижение этого 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. Невозможно стандартизовать метод в связи с отсутствием аналогов. Малое количество неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов в исследовании не позволяет говорить об уровне мСРБ в плазме крови как о биомаркере сердечно-сосудистого риска.



**Рисунок 1** –Изменение количества АСБ и суммарной высоты АСБ относительно исходного значения, в зависимости от уровня мСРБ А) во всей выборке пациентов и Б) в подгруппе пациентов с уровнем вСРБ < 2,0 мг/л. АСБ – атеросклеротическая бляшка; мСРБ – мономерная форма С-реактивного белка; вСРБ – пентамерная форма С-реактивного белка, определенная высокочувствительным тестом; \* -  $p < 0,05$ , н/з - незначимый (критерий Уилкоксона).

## 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.

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 прогрессирующим субклинического нестенозирующего атеросклероза сонных артерий ( $n = 45$ ), по сравнению с пациентами без его прогрессирувания ( $n = 35$ ). 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 прогрессирующим субклинического нестенозирующего атеросклероза сонных артерий у включенных в исследование пациентов. Скорректированное отношение шансов прогрессирувания 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 прогрессирующим субклинического нестенозирующего атеросклероза сонных артерий в подгруппе пациентов с низким резидуальным воспалительным сердечно-сосудистым риском (уровень вчСРБ  $<2,0$  мг/л). Скорректированное отношение шансов прогрессирувания 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 бессимптомным 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.

## СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

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.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

<p><b>АСБ</b> – атеросклеротическая бляшка</p> <p><b>ВСА</b> – внутренняя сонная артерия</p> <p><b>вчСРБ</b> – пентамерная форма С-реактивного белка, определенная высокочувствительным тестом</p> <p><b>ИБС</b> – ишемическая болезнь сердца</p> <p><b>ИЛ</b> – интерлейкин</p> <p><b>ЛВП</b> – липопротеиды высокой плотности</p> <p><b>ЛНП</b> – липопротеиды низкой плотности</p> <p><b>мСРБ</b> – мономерная форма С-реактивного белка</p>	<p><b>ОСА</b> – общая сонная артерия</p> <p><b>пСРБ</b> – пентамерная форма С-реактивного белка</p> <p><b>ССЗ</b> – сердечно-сосудистые заболевания</p> <p><b>ТГ</b> – триглицериды</p> <p><b>ТИМ</b> – толщина комплекса интима-медиа</p> <p><b>ХС</b> – холестерин</p> <p><b>МFI</b> – средняя интенсивность флуоресценции</p> <p><b>SCORE</b> – Systematic Coronary Risk Evaluation, шкала оценки десятилетнего риска смерти от сердечно-сосудистых заболеваний</p>
---	--