

## Биомаркеры каротидного стеноза

С.Г. Щербак<sup>1,2</sup>, Т.А. Камилова<sup>2</sup>, С.В. Лебедева<sup>2</sup>, Д.А. Вологжанин<sup>2</sup>, А.С. Голота<sup>2</sup>,  
С.В. Макаренко<sup>1,2</sup>, С.В. Апалько<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup> Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская больница № 40», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Раннее распознавание подверженных разрыву атеросклеротических поражений у пациентов с каротидным стенозом высокой степени тяжести является важной клинической проблемой для предотвращения ишемического инсульта. Различные патофизиологические механизмы ответственны за прогрессирование и нестабильность бляшек, такие как изменение липидного состава, инфильтрация иммуновоспалительными клетками и деградация внеклеточного матрикса сосудистой стенки матриксными металлопротеиназами, усиленная воспалительная реакция и неоваскуляризация бляшки. Эти особенности являются основной причиной разрыва бляшки и, как следствие, неврологических симптомов. Именно поэтому матриксные металлопротеиназы и воспалительные факторы могут служить в качестве маркеров у пациентов с нестабильным стенозом сонных артерий высокой степени тяжести. Из-за неоднородности атеросклеротических поражений одного биомаркера недостаточно для надежного прогнозирования развития инсульта. Использование комбинации биомаркеров лучше коррелирует с клиническими данными и, следовательно, превосходит анализ отдельных факторов. Для повышения общей чувствительности и специфичности и более надежной диагностики развития инсульта у пациентов с симптоматическим и бессимптомным каротидным стенозом панель биомаркеров должна включать независимые показатели. Дальнейшие доклинические эксперименты и клинические исследования необходимы для оценки значимости и точного определения пороговых уровней таких биомаркеров, прежде чем их можно будет использовать в клинической практике.

**Ключевые слова:** атеросклероз; атеросклеротическая бляшка; каротидный стеноз; нестабильность бляшки; неоваскуляризация бляшки; каротидная эндартекрэктомия; матриксные металлопротеиназы воспалительные факторы; биомаркер; цитокины.

**Для цитирования:** Щербак С.Г., Камилова Т.А., Лебедева С.В., Вологжанин Д.А., Голота А.С., Макаренко С.В., Апалько С.В. Биомаркеры каротидного стеноза. *Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация.* 2021;3(1):104–130. DOI: <https://doi.org/10.36425/rehab64286>

**Поступила:** 07.03.2021 **Принята:** 15.03.2021 **Опубликована:** 04.04.2021

### Атеросклероз

Атерогенез — это хронический прогрессирующий процесс, который развивается в течение десятилетий. Атеросклероз связан с накоплением холестериновых отложений в субэндотелиальных пенистых клетках макрофагального происхождения, прилипанием и проникновением лейкоцитов в артериальную стенку, миграцией сосудистых гладкомышечных клеток (ГМК) в интиму, активацией и агрегацией тромбоцитов, эндотелиальной дисфункцией и продукцией воспалительных цитокинов [1]. Атеросклеротические бляшки с тонкой волокнистой крышкой подвержены разрыву, что может привести к тромбоэмболии и последующему ишемическому инсульту (ИИ), тогда как бляшки с толстым колпачком более

стабильны и имеют более низкий уровень осложнений. Атеросклеротические бляшки в основном состоят из ГМК, макрофагов и Т-лимфоцитов и характеризуются отложением липидов, холестерина, кальция и клеточного дебриса в интиму стенки сосуда [2]. Каротидный атеросклероз является одной из основных причин ИИ [3–5].

Разрывная бляшка в атереме человека имеет тонкую коллагеновую волокнистую крышку и богатое макрофагами липидное ядро. Коллагенолиз играет критическую роль в обмене коллагена в бляшках. Ремоделирование атеросклеротической бляшки и риск разрыва симптоматических бляшек частично опосредованы матриксными металлопротеиназами (matrix metalloproteinase, MMP). Источение

## Biomarkers of Carotid Stenosis

S.G. Scherbak<sup>1,2</sup>, T.A. Kamilova<sup>2</sup>, S.V. Lebedeva<sup>2</sup>, D.A. Vologzhanin<sup>2</sup>, A.S. Golota<sup>2</sup>, S.V. Makarenko<sup>1,2</sup>, S.V. Apalko<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup> Saint Petersburg City Hospital No 40, Saint Petersburg, Russian Federation

Early recognition of rupture-prone atherosclerotic lesions in patients with high-graded carotid stenosis is an important clinical problem for preventing ischemic stroke. Various pathophysiological mechanisms are responsible for the progression and instability of plaques, such as changes in lipid composition, infiltration by immunoinflammatory cells and degradation of the extracellular matrix of the vascular wall by matrix metalloproteinases, enhanced inflammatory response and plaque neovascularization. These features are the main cause of plaque rupture and, as a consequence, neurologic symptoms. Therefore, matrix metalloproteinases and inflammatory factors can serve as possible markers for patients with severe unstable stenosis of carotid arteries. Due to the heterogeneity of atherosclerotic lesions, only one biomarker is not enough to reliably predict the development of a stroke. The use of a combination of biomarkers is better correlated with clinical data and, therefore, exceeds the analysis of individual factors. To increase the overall sensitivity and specificity and more reliable diagnosis of stroke in patients with symptomatic and asymptomatic carotid stenosis, the biomarker panel should include independent biomarkers. Further preclinical experiments and clinical trials are needed to assess the significance and precise definition of the threshold levels of such biomarkers before they can be used in clinical practice.

**Keywords:** atherosclerosis; atherosclerotic plaque; carotid stenosis; plaque instability; plaque neovascularization; carotid endarterectomy; matrix metalloproteinases; inflammatory factors; biomarker; cytokines.

**For citation:** Scherbak SG, Kamilova TA, Lebedeva SV, Vologzhanin DA, Golota AS, Makarenko SV, Apalko SV. Biomarkers of Carotid Stenosis. *Physical and rehabilitation medicine, medical rehabilitation*. 2021;3(1):104–130. DOI:<https://doi.org/10.36425/rehab64286>

**Received:** 07.03.2021 **Accepted:** 15.03.2021 **Published:** 04.04.2021

и ослабление фиброзной крышки из-за уменьшения количества ColI( $\alpha$ 1), основной несущей молекулы внеклеточного матрикса (ВКМ), является механизмом, который делает атерому склонной к разрыву. Расщепленные коллагеназами фрагменты интерстициальных коллагенов становятся доступными для других MMP, включая MMP-3 и MMP-9. Присутствие интерстициальных коллагеназ увеличено в атероматозных (нестабильных) по сравнению с волокнистыми (стабильными) бляшками. Основными клеточными компонентами стенотических поражений являются ГМК и макрофаги. Эндотелиальные клетки (ЭК), ГМК и макрофаги экспрессируют коллагеназы и колокализуются с коллагеном типа I в области плеча (место соединения ядра бляшки с сосудистой стенкой) бляшки [2]. Атеросклероз является локальным проявлением системного заболевания, влияющего на артерии среднего и крупного размера, в котором важную роль играют иммунные факторы [3]. Несколько атерогенных цитокинов и факторов роста, включая фактор некроза опухолей альфа (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF $\alpha$ ), интерлейкин-1 $\beta$

(interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ), эпидермальный фактор роста (epidermal growth factor, EGF), сосудистый эндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor, VEGF), тромбоцитарный фактор роста (platelet-derived growth factor, PDGF), трансформирующий фактор роста- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ), основной фактор роста фибробластов (basic fibroblast growth factor, bFGF) и ангиотензин II, в том числе секретируемые в каротидной бляшке, участвуют в клеточной пролиферации, миграции и апоптозе и могут регулировать активность и экспрессию MMP и их тканевых ингибиторов (tissue inhibitor of matrix metalloproteinases, TIMP) в атеросклеротической каротидной бляшке [2].

Стеноз каротидной артерии — независимый фактор риска развития ишемического цереброваскулярного заболевания и когнитивного расстройства с распространенностью 9,3% у пациентов старше 70 лет. В европеоидной популяции атеросклероз сонной артерии обычно встречается в месте бифуркации сонной артерии с участием дистальной общей сонной артерии и проксимальных внутренних

### Список сокращений

ВКМ — внеклеточный матрикс  
 ГМК — гладкомышечная клетка  
 ГМ-КСФ — гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор  
 ИБС — ишемическая болезнь сердца  
 ИИ — ишемический инсульт  
 ИМ — инфаркт миокарда  
 КС — каротидный стеноз  
 КЭЭ — каротидная эндартерэктомия  
 ЛПВП — липопротеины высокой плотности  
 ЛПНП — липопротеины низкой плотности  
 М-КСФ — макрофагальный колониестимулирующий фактор  
 ОКС — острый коронарный синдром  
 ПМН — полиморфноядерные нейтрофильные лейкоциты  
 СРБ — С-реактивный белок  
 ССЗ — сердечно-сосудистое заболевание  
 ТИМС — толщина интимо-медиального слоя  
 Х-ЛПВП — холестерин в комплексе с липопротеинами высокой плотности  
 Х-ЛПНП — холестерин в комплексе с липопротеинами низкой плотности  
 ФР — фрактальная размерность  
 ЭК — эндотелиальные клетки  
 CEUS (contrast-enhanced ultrasound) — ультразвуковое исследование с контрастным усилением  
 Col I–III (Types I, II, III collagen) — коллаген типа I, II, III  
 cTnI (cardiac troponin I) — сердечный тропонин I  
 MMP (matrix metalloproteinase) — матриксная металлопротеиназа  
 SAA (serum amyloid A) — сывороточный амилоид A  
 TIMP (tissue inhibitor of matrix metalloproteinases) — тканевый ингибитор матриксных металлопротеиназ

сонных артерий [6]. Раннее распознавание атеросклеротических поражений, подверженных разрыву, у пациентов с тяжелым каротидным стенозом (КС) является важной клинической задачей для предотвращения ИИ. Различные патофизиологические механизмы ответственны за прогрессирова-

ние и нестабильность бляшек, такие как деградация компонентов внеклеточного матрикса, усиленная воспалительная реакция и неоваскуляризация. Эти особенности являются основной причиной разрыва бляшки и, как следствие, неврологических симптомов. Именно поэтому MMP и воспалительные факторы могут также служить в качестве маркеров у пациентов с нестабильным КС высокой степени тяжести [7]. Более чем у 20% пациентов с КС <50% сужения просвета сонной артерии обнаружены сложные бляшки (наличие очагов кальцификации, кровоизлияния, разрыв фиброзного колпачка). Почти во всех сонных артериях со стенозом <50% имеется бляшка с липидным некротическим ядром, в 1/3 артерий — внутрибляшечное кровоизлияние [8].

### Стабильность каротидных бляшек

Оптимизированная стратификация риска настоятельно необходима для отбора очень немногих пациентов, кандидатов на каротидную эндартерэктомию (КЭЭ), до клинических событий, вызванных нестабильностью бляшек [9]. Нестабильность каротидных бляшек коррелирует с риском церебрального инфаркта [10]. Поскольку исследователи часто приравнивают неврологические симптомы к нестабильности бляшек, важно отметить, что разные биомаркеры могут быть связаны либо с неврологическими симптомами, либо с нестабильностью бляшки. Однако не все ИИ вызваны нестабильными бляшками. Только 15–20% всех ИИ объясняют атеросклеротическим КС. Биомаркеры, которые значимо различаются у пациентов со стабильными и нестабильными бляшками, имеют большую ценность по сравнению с маркерами, соответствующими симптомам [7].

Состав каротидной бляшки является основным фактором, определяющим риск церебральной ишемии. С патофизиологической точки зрения, переход от стабильной к нестабильной атеросклеротической бляшке является следствием сложных молекулярных и клеточных механизмов [11, 12]. Нестабильные бляшки, склонные к разрыву, характеризуются большим липидным некротическим ядром, покрытым тонким фиброзным колпачком. В таких уязвимых бляшках количество ГМК снижается посредством индукции апоптоза, главным образом, воспалительными макрофагами и лимфоцитами. Как следствие, количество компонентов ВКМ, секретлируемых ГМК, уменьшается, а фиброзный колпачок истончается. Апоптоз макрофагов также способствует истончению фиброзного колпачка и увеличению некротического ядра. Эффективное удаление апоптотических клеток фагоцитами нарушается, что приводит к на-

коплению апоптотических клеток и снижению противовоспалительного воздействия фагоцитов [9].

ВКМ, состоящий в основном из фибриллярных интерстициальных коллагенов и эластина, играет важную роль в поведении как первичных, так и рестенозных поражений сосудистой стенки. Изменения в составе ВКМ играют важную роль в атерогенном процессе, в частности, реорганизация ВКМ является ключевой характеристикой гипертензивного сосудистого ремоделирования. Макромолекулы ВКМ, в частности коллагенов ColI( $\alpha$ 1) и ColIII( $\alpha$ 1), которые синтезируются главным образом ГМК, являются основными компонентами атеросклеротических бляшек и обеспечивают прочность волокнистой крышки бляшки на растяжение. Коллагеназы семейства MMP деградируют ColI( $\alpha$ 1) и ColIII( $\alpha$ 1), что приводит к потере устойчивости к механическим нагрузкам и разрыву волокнистого колпачка бляшки. Разрыв атеросклеротической бляшки — решающий фактор в развитии ИМ и ИИ [2].

Активация тирозинкиназного рецептора эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFR) связана с физиологией и патофизиологией сердечно-сосудистой системы, а ингибирование активности EGFR — потенциальная терапевтическая стратегия лечения ряда сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), так как уровень EGF в плазме позитивно коррелирует с диастолическим артериальным давлением и жесткостью сонной артерии, а его повышение индуцирует гипертрофическое ремоделирование сонной артерии. Вклад EGFR в развитие атеросклероза у человека подтверждается повышенной экспрессией лигандов EGFR клетками, вовлеченными в атерогенез [13, 14]. EGFR и его лиганды, включая EGF, присутствуют в атеросклеротических бляшках и играют важную роль в судьбе бляшки. V. H. Rao и соавт. [2] исследовали функциональное влияние EGF и EGF-регулируемых MMP на интерстициальные коллагены и стабильность каротидных бляшек, а также на ГМК из каротидных бляшек, удаленных при КЭЭ у пациентов с бессимптомным/стабильным и симптоматическим/нестабильным КС. Анализировали транскрипты и белки MMP-9, MMP-1, EGFR, коллагенов ColIII( $\alpha$ 1) и ColIII( $\alpha$ 1) в ГМК, выделенных из каротидных бляшек и обработанных EGF. Обработка EGF значительно уменьшает экспрессию мРНК коллагенов ColI( $\alpha$ 1) и ColIII( $\alpha$ 1) в ГМК из каротидных бляшек, причем эффект EGF на экспрессию EGFR, MMP-9, MMP-1, ColI( $\alpha$ 1) и ColIII( $\alpha$ 1) в 3–4 раза сильнее в ГМК из каротидных бляшек симптоматических пациентов, чем бессимптомных. Ингибиторы EGFR

(например, соединение AG1478) подавляют EGF-индуцированную экспрессию MMP-9 и активируют продукцию ColI( $\alpha$ 1) и ColIII( $\alpha$ 1) в ГМК обеих групп. Таким образом, установлен механизм, с помощью которого MMP-1 и MMP-9, индуцированные активацией EGFR, деградируют интерстициальные коллагены, что приводит к нестабильности бляшек у пациентов с КС. Избирательная блокада как EGFR, так и MMP-9 может быть новой стратегией стабилизации уязвимых к разрыву бляшек у пациентов с КС [2].

Большинство исследований, оценивающих стабильность бляшки, основаны на качественных классификационных схемах, не имеющих стандартизации, что приводит к противоречивым результатам. У бессимптомных субъектов с КС измеряли концентрацию в плазме холестерина в комплексе с липопротеинами низкой плотности (Х-ЛПНП), холестерина в комплексе с липопротеинами высокой плотности (Х-ЛПВП) и триглицеридов и проводили фрактальный анализ во всех сегментах сонной артерии, пораженных атеросклерозом. Фрактальный анализ — это новый, легкодоступный, воспроизводимый и недорогой метод количественного измерения нестабильности бляшки, который измеряет пространственную сложность и может помочь в более тонком морфологическом описании бляшки. Фрактальная размерность (ФР) является мерой неравномерности профиля бляшки на ее длинной оси, которая не зависит от других характеристик бляшки. ФР — безразмерная величина, которая показывает, как анализируемая структура заполняет пространство: чем выше ФР, тем более сложным и нерегулярным является объект. Как способ количественной оценки нерегулярности каротидной бляшки ФР негативно коррелирует с плазматическими уровнями Х-ЛПВП и позитивно — с уровнем триглицеридов крови. Корреляция между уровнями ЛПВП и ФР бляшки отражает роль ЛПВП в приобретении морфологических признаков нестабильности. Кроме того, ФР коррелирует с отношением триглицеридов к ЛПВП в плазме, известным маркером высокоатерогенной дислипидемии. Анализ чувствительности к терапии, снижающей уровень липидов, показал, что между пациентами, принимающими и не принимающими статины, отсутствует разница по ФР бляшек. В многофакторном анализе с поправкой на использование статинов уровень Х-ЛПВП и отношение триглицеридов к ЛПВП в плазме оставались значимо ассоциированными с ФР. Анализ соотношения факторов риска показывает повышенную ФР в контексте дерегулированного профиля липидов, придавая фрактальному анализу биологиче-

ский смысл. Негативная корреляция между X-ЛПВП и ФР бляшки соответствует ассоциации между низкими плазматическими уровнями X-ЛПВП и морфологическими особенностями каротидных бляшек высокого риска. Низкий уровень циркулирующего X-ЛПВП и, как следствие, снижение экспорта холестерина из макрофагов бляшек приводят к накоплению в бляшке пенистых клеток, которое коррелирует с неровностью поверхности атеросклеротических бляшек [15].

### Роль воспаления

Атеросклероз является воспалительным заболеванием, а не просто накоплением липидов. Многие воспалительные медиаторы — цитокины, хемокины и рецепторы — играют важную роль в атерогенезе. Считается, что воспалительный инфильтрат вокруг места разрыва бляшки ответственен за дестабилизацию уязвимой бляшки. Воспаление в нестабильной каротидной бляшке вызывает острое церебральное событие. Инфильтрация атеросклеротического поражения иммунными клетками, такими как макрофаги и Т-лимфоциты, может привести к инфаркту миокарда (ИМ) или ИИ [16]. Воспаление стенки кровеносного сосуда является важным компонентом атеросклероза и вызывает отек, рост *vasa vasorum*, инфильтрацию иммунных клеток и высокую метаболическую активность в воспаленных бляшках [17]. Установлено, что в регуляции атерогенеза участвуют адаптивный и врожденный иммунитет. Несколько растворимых и внутрибляшечных воспалительных медиаторов влияют на функции иммунных и сосудистых клеток.

Одной из наиболее изучаемых воспалительных молекул является С-реактивный белок (СРБ), продуцируемый печенью в ответ на инфекцию или повреждение ткани. Сывороточный уровень СРБ <1,0 мг/л в исходном состоянии повышается в 1000 раз в острой фазе иммунного ответа. СРБ может связываться с окисленным или деградированным ЛПНП, активирующим комплемент, и индуцировать экспрессию адгезионных молекул, поглощение X-ЛПНП макрофагами, и продукцию хемокинов, таких как MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), привлекающих моноциты и другие иммуновоспалительные клетки к артериальной стенке. Учитывая сильную ассоциацию между хроническими воспалительными заболеваниями и повышенным риском заболеваний коронарной артерии, возник вопрос о том, является СРБ «наблюдателем» или активным игроком в атерогенных механизмах [6].

В отличие от данных о положительной ассоциации между воспалением/уязвимостью каротидной

бляшки и циркулирующими биомаркерами воспаления (СРБ, TNF $\alpha$  и IL-6) [18], и в подтверждение данных Н. Grufman и соавт. [17] об отсутствии корреляции между циркулирующими уровнями СРБ и воспалением каротидных бляшек, удаленных при КЭЭ, А. Bonaventura и колл. [6] показали, что внутрибляшечные, но не системные уровни высокочувствительного СРБ (high-sensitive C-reactive protein, hsCRP) коррелируют с признаками воспаления внутри каротидных бляшек, особенно в проксимальной части бляшки, и с уязвимостью каротидной бляшки к разрыву, подчеркивая роль потенциально атерогенного СРБ в разрыве бляшки и тромбозе. Эти авторы исследовали корреляции внутрибляшечных и сывороточных уровней hsCRP с внутрибляшечными воспалительными и сосудистыми клетками у пациентов с тяжелым КС. Одинаковая экспрессия hsCRP обнаруживается на уровне белка во всех образцах проксимальных и дистальных частей каротидных бляшек, несмотря на почти необнаружимые уровни мРНК. Поэтому можно предположить, что СРБ проникает в субинтимальную область бляшки из кровотока. Внутрибляшечный уровень hsCRP позитивно коррелирует с содержанием нейтрофилов, тотальных макрофагов, M1-макрофагов (клетки HLA-DR+) и негативно — с количеством M2-макрофагов (CD163+). Нет корреляции между сывороточным hsCRP и показателями уязвимости бляшки ни в дистальных, ни в проксимальных частях бляшек. Содержание hsCRP >2,9% в бляшке коррелирует с 6-кратным увеличением риска большого сердечно-сосудистого нежелательного события (major adverse cardiac events, MACE) независимо от возраста, пола и использования статинов. Атерогенная роль локальных отложений СРБ способствует привлечению моноцитов/макрофагов и образованию пенистых клеток в бляшке. СРБ участвует в дифференцировке моноцитов человека в провоспалительный фенотип макрофагов M1 и ингибирует фенотип макрофагов M2. Таким образом, внутрибляшечный, но не циркулирующий, СРБ является атерогенным фактором, потенциально полезным для оценки риска ССЗ у пациентов с тяжелым каротидным атеросклерозом.

Проспективное обсервационное исследование биологической активности симптоматических каротидных бляшек у пациентов с КС  $\geq 50\%$  и недавним (в течение 24 ч) острым событием, включая малый инсульт, однократную транзиторную ишемическую атаку или повторяющуюся транзиторную ишемическую атаку, проведено с помощью серийного измерения ряда сывороточных и мочевых марке-

ров. Малый инсульт определяли как любой новый неврологический дефицит, который сохраняется >24 ч без необходимости помощи в повседневных делах. Уровни маркеров нестабильности каротидной бляшки, которые отражают активность воспалительного инфильтрата бляшки, такие как белок PAPP-A (pregnancy-associated protein A), hsCRP, MMP, воспалительные цитокины IL-6 и IL-8, TNF $\alpha$  и T-клеточный маркер CD40L (CD40-ligand), значительно повышены у всех пациентов на момент регистрации. Экспрессия клеточного PAPP-A в каротидных бляшках, удаленных у пациентов, подвергшихся КЭЭ, коррелирует с гистопатологическим состоянием бляшек: PAPP-A значительно выше у пациентов с нестабильными и разорванными бляшками (7,0–7,4 мМЕ/л), чем у пациентов со стабильными бляшками (4,0 мМЕ/л) [19].

Повышенный уровень СРБ в сыворотке отражает тенденцию к разрыву бляшки и высокую атеросклеротическую нагрузку. Уровни hsCRP и IL-6 являются факторами риска развития каротидного атеросклероза и предикторами прогрессирования атеросклероза внутричерепной сонной артерии, ишемического (но не геморрагического) инсульта и смертности после ИИ. Это может сделать hsCRP полезным маркером для определения типа инсульта. На экспрессию СРБ влияет генетический фон. 5 из 7 транскриптов гена *CRP/PTX1* (pentraxin 1) человека кодируют белки. Белок, продуцируемый транскриптом *CRP-001*, известный как СРБ, является членом семейства пентаксинов, высокоустойчивым к протеолизу. Экспрессия гена *CRP* регулируется на транскрипционном уровне цитокинами IL-1, IL-6 и TNF $\alpha$ . В диапазоне 0,5–10 мг/л тест на hsCRP используется для определения низких, но постоянных уровней субклинического воспаления. Полиморфизм гена *CRP* исследован в разных этнических группах. Полиморфизм *CRP 1009A>G* и связанные с ними гаплотипы ассоциированы с более низкими сывороточными концентрациями hsCRP. Полиморфизмы *CRP +1444C/T* и *CRP -757T>C* ассоциированы с симптоматическим КС независимо от традиционных факторов сосудистого риска, генотип *CRP +1444 CC* является фактором риска тяжелого (>70%) КС и дальнейших ишемических событий у пациентов с симптоматическим каротидным атеросклерозом. Некоторые полиморфизмы в других участках генома также влияют на уровень hsCRP. Например, гомозиготный статус T-аллеля полиморфизма *CD14 -C260T* независимо связан с уровнями hsCRP и придает повышенный ишемический риск [20]. Высокие уровни hs-CRP в сыворотке спо-

собны предсказать наличие каротидной бляшки, но не связаны со степенью стеноза [3].

18-фтордезоксиглюкозная (18F-FDG) позитронно-эмиссионная томография — метод выявления воспаленных атеросклеротических бляшек *in vivo* у пациентов с тяжелым КС. Обнаружена положительная взаимосвязь между интенсивностью воспалительного процесса атеросклеротических поражений, демонстрируемой поглощением 18F-FDG, и уровнями циркулирующих воспалительных маркеров hsCRP, IL-6 и TNF $\alpha$  [18].

Медиаторы костного метаболизма глубоко вовлечены в поздние фазы каротидного атерогенеза. Фактор FGF-23 (fibroblast growth factor 23), секретируемый остеоцитами и остеобластами в ответ на гиперфосфатемию, действует как регулятор минерального обмена. Уровни FGF-23 связаны с эндотелиальной дисфункцией, сосудистой кальцификацией, артериальной жесткостью и атеросклеротическим риском в целом. Сывороточные и внутрибляшечные уровни FGF-23 оценивали у пациентов с тяжелым КС до и через 30 мин после КЭЭ. На основании гистологических критериев (наличие разрывов или трещин, изъязвления или эрозии, атероматозной микроэмболии, тромбоза и геморрагии в атероме) пациенты были разделены на группы с осложненной и неосложненной бляшкой. У пациентов с осложненными бляшками наблюдаются более высокая внутрибляшечная и сывороточная экспрессия FGF-23 и больший макрофагальный инфильтрат, чем у пациентов с неосложненной каротидной бляшкой. Эти наблюдения подтверждают гипотезу о том, что FGF-23 связан с нестабильностью бляшек при тяжелом КС. Интересно, что хотя уровни FGF-23 в сыворотке повышаются после КЭЭ у пациентов обеих групп, этот подъем значим только у пациентов с осложненной бляшкой [21].

FGF-23 активирует некоторые пути внутриклеточной сигнальной трансдукции, регулирующие секрецию медиаторов воспаления, таких как IL-6 и IL-8. FGF-23 экспрессируется макрофагами, инфильтрирующими осложненные и неосложненные атеросклеротические поражения сонной артерии. Тем не менее не обнаружено существенных различий в сывороточных уровнях IL-6, IL-8, MCP-1 и VEGF между пациентами с осложненными и неосложненными бляшками, то есть их измерение в периферической крови не является полезным для различения пациентов этих групп. Отсутствие связи между FGF-23 и макрофагальными цитокинами, вероятно, указывает на то, что макрофаги действуют не изолированно, а представляют собой один из кле-

точных компонентов, способствующих бляшечным осложнениям. Иммунный процесс, лежащий в основе формирования осложнений бляшек, действительно чрезвычайно сложен и требует взаимодействия различных ветвей иммунного ответа. Такое перекрестное взаимовлияние сигналов в параллельных иммунных путях контролируется регуляторными Т-клетками, которые действуют на различные эффекторы, такие как макрофаги, резидентные клетки, В и Т-лимфоциты. Среди них ключевую роль играют Т-хелперы-17. Несколько эндогенных и экзогенных триггеров, в том числе *Chlamydomphila pneumoniae*, индуцируют высвобождение IL-17, то есть инфекционные агенты могут усилить атерогенный иммунный ответ у пациентов с КС. Учитывая, что макрофаги глубоко вовлечены во все фазы атерогенеза, их цитокины не могут использоваться в качестве отличительных маркеров у пациентов с критической стадией КС. Однако фактор FGF-23, в отличие от других провоспалительных макрофагальных цитокинов, действует на поздних стадиях атеросклеротического заболевания и может использоваться как маркер осложнений каротидной бляшки [21].

Облигатная внутриклеточная грамотрицательная бактерия *S. pneumoniae* может играть важную роль в патогенезе (инициировании и прогрессировании) окклюзионного заболевания периферической артерии. *S. pneumoniae* обнаружена в каротидных бляшках 68% пациентов с внутренним КС, которым была выполнена КЭЭ. Эти патогены заражают несколько типов клеток (миоциты, макрофаги, ЭК и т.д.), не вызывая их апоптоз, но усиливая пролиферацию. Предполагаемым механизмом этого влияния является иммуновоспалительный ответ, который вызывает инфекция *S. pneumoniae*. Хроническая инфекция *S. pneumoniae* может привести к дестабилизации каротидной бляшки. *S. pneumoniae* активирует воспалительные клетки, которые мигрируют в сторону инфекционного очага и продуцируют цитокины. Повышенная концентрация цитокинов приводит к дисфункции сосудистого эпителия и прогрессированию атеросклероза. Цитокины усиливают окислительный стресс, инициируют апоптоз и ингибируют синтез оксида азота — важной защитной молекулы в сосудистой сети. Многофакторный анализ выявил статистически значимую корреляцию между присутствием *S. pneumoniae*, цитокинов TGF- $\beta$ , FGF, TNF $\alpha$ , VEGF и степенью атеросклероза. Эти факторы могут ускорить развитие атероматозных бляшек и их дестабилизацию. Отсутствие цитокинов в контрольных образцах стенки здоровой каротидной артерии, взятых у молодых доноров, которым был поставлен

диагноз смерти мозга, является признаком здоровой интимы без некроза (TNF $\alpha$ ) и необходимости регенерации (VEGF). В контрольных образцах внутренней каротидной артерии *S. pneumoniae* также не обнаружена. Присутствие FGF у некоторых здоровых доноров обусловлено активностью фибробластов интимы, ответственных за синтез эластина и коллагена внеклеточного матрикса. Активированные лейкоциты и ЭК стимулируют миофибробласты к синтезу эластина и коллагена. В конечном итоге это приводит к дестабилизации атероматозной бляшки [22].

Считается, что избирательное удерживание циркулирующих аполипопротеин-B100-содержащих липопротеиновых комплексов в субэндотелиальном пространстве посредством специфических взаимодействий с протеогликанами артериальной стенки является ведущим событием в атерогенезе. Липопротеины представляют собой супрамолекулярные комплексы, которые доставляют нерастворимые липиды из тканей, где они синтезируются, в ткани, которые их метаболизируют или хранят. АпоB100 — основной структурный аполипопротеин липопротеиновых комплексов низкой (ЛПНП) и очень низкой плотности. Липопротеины давно вызывают большой интерес из-за их вовлеченности в атерогенез. Хотя хорошо известно, что высокие уровни X-ЛПНП и низкие уровни X-ЛПВП связаны с повышенным риском развития ССЗ, клинические исследования показывают, что лучшими предикторами являются уровни апо-100 и апоAI. Разработан комплексный метод характеристики аполипопротеинового компонента плазменных фракций липопротеинов очень низкой плотности, ЛПНП и ЛПВП у пациентов, перенесших КЭЭ, для идентификации дифференциально экспрессируемых белков по отношению к здоровым нормолипидемическим субъектам. Протеомный анализ позволил идентифицировать повышенные уровни белка SAA (serum amyloid A) во всех фракциях липопротеинов у пациентов с тяжелым каротидным атеросклерозом, в ЛПНП до 14-кратного количества. SAA накапливается субэндотелиальном пространстве стенки артерии и может оказывать токсичное действие [23].

Сывороточный амилоид А принадлежит к семейству острофазовых белков, синтезируемых главным образом в печени и циркулирующих в основном в ассоциации с ЛПВП. Во время реакции острой фазы концентрация SAA в плазме может возрасти до 1000 раз в результате активации воспалительными цитокинами или пептидными гормонами. Количество SAA увеличено у пациентов с атеросклерозом коронарных и периферических артерий.

Показаны атерогенные эффекты SAA, такие как активация моноцитов и образование пенистых макрофагов, хемотаксис нейтрофилов, усиление секреции провоспалительных цитокинов моноцитами-макрофагами и лимфоцитами, индукция эндотелиальной дисфункции. AP-SAA осаждается в атеросклеротических зонах на всех стадиях развития поражения в ассоциации с областью поражения и площадью иммуноокрашивания на apoAI и apoB100. Экспрессия белка и мРНК SAA продемонстрирована в атеросклеротических бляшках. ЛПНП-ассоциированный SAA представляет собой маркер внутрисосудистого воспаления у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС), более чувствительный, чем СРБ и свободный SAA. Продemonстрирована сильная независимая связь между SAA и будущими сердечно-сосудистыми событиями. Увеличение до 14 раз в ЛПНП у пациентов с КС указывает на наличие прогрессирующих каротидных поражений [23].

Интерлейкин IL-33, член семейства IL-1, влияет на многие клетки иммунной системы: стимулирует дифференцировку и выживаемость тучных клеток, продукцию ими провоспалительных цитокинов; стимулирует дегрануляцию, адгезию и выживание эозинофилов, продукцию ими IL-8 и супероксида; активирует базофилы, что приводит к увеличению продукции цитокинов и адгезивности; переключает дифференцировку предшественников остеокластов в альтернативно активированные макрофаги, усиливает продукцию TNF $\alpha$  и IL-6 активированными макрофагами и IL-13-индуцированную поляризацию макрофагов; способствует дифференцировке дендритных клеток из гемопоэтических предшественников, продукции Th-клетками цитокинов Th2-типа. Кроме того, IL-33 активирует ЭК, стимулируя экспрессию хемокина MCP-1, адгезионных молекул ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1), VCAM-1 (vascular adhesion molecule-1) и эндотелиального селектина (E-selectin) в этих клетках, тем самым способствуя адгезии лейкоцитов; активирует экспрессию IL-1 и uPA (urokinase plasminogen activator) в ЭК и способствует uPA-зависимому ангиогенезу. IL-33 увеличивает экспрессию мРНК ростовых факторов GM-KCF (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор) человеческими ЭК в 925–1300 раз, M-KCF (макрофагальный колониестимулирующий фактор) — в 14–300 раз. GM-KCF и M-KCF активно участвуют в патогенезе расстройств с воспалительным компонентом, в том числе атеросклероза. IL-33, IL-1 $\beta$ , GM-KCF и M-KCF, экспрессируемые эндотелиальными клетками, обнаружены в бляшках, изолированных

у пациентов с тяжелым (>90%) КС во время КЭЭ. Таким образом, усиление экспрессии IL-33 и КСФ в ЭК человека может представлять собой дополнительный механизм, посредством которого IL-33 способствует воспалительной активации стенки сосуда [24].

Белок NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin) является членом семейства малых внеклеточных белков липокалинов и хранится в гранулах нейтрофилов человека, а также может выделяться макрофагами, гепатоцитами, эпителиальными и другими клетками во время воспаления и травмы. Липокалин NGAL имеет множество функций, регулирующих дифференцировку, апоптоз, выживание, миграцию, инвазию клеток и гомеостаз железа. NGAL — провоспалительный участник атеросклеротического процесса. Статистически значимая корреляция наблюдается между сывороточными уровнями NGAL и показателем тяжести ишемической болезни сердца (ИБС) по шкале SYNTAX (Synergy Between PCI With TAXUS and Cardiac Surgery). Мультивариантный анализ подтвердил значение повышенной сывороточной концентрации NGAL как биомаркера тяжести ИБС и независимого фактора риска ИБС высокой степени тяжести ( $p < 0,01$ ) [25].

Экспрессия NGAL обнаружена в ЭК, ГМК и макрофагах в атеросклеротических поражениях человека. Повышенная экспрессия NGAL в бляшках ассоциируется с нестабильным фенотипом (атероматозным и фиброатероматозным) бляшек, характеризующимся высоким содержанием липидов, большим количеством макрофагов, низким содержанием ГМК и внутрибляшечным кровоизлиянием. NGAL, индуцированный провоспалительными медиаторами в макрофагах, ГМК и ЭК в каротидных бляшках симптоматических пациентов, вовлечен в создание локальной и системной провоспалительной среды, характерной для атеросклероза. Экспрессия мРНК NGAL в бляшках, извлеченных при КЭЭ у пациентов с симптоматическим КС, повышена по сравнению с бессимптомными пациентами ( $p < 0,001$ ). Уровни NGAL выше в нестабильных каротидных бляшках и бляшках с высокими уровнями IL-6 и IL-8. Экспрессия NGAL усиливается под действием IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-17, TNF $\alpha$ , HGF и гипоксии. В экспериментах *in vitro* показано, что NGAL активирует секрецию IL-6, IL-8 и MCP-1 в макрофагах, ГМК и ЭК и, по-видимому, является непосредственным триггером воспалительной среды в атеросклеротической ткани человека, которая, как известно, представляет собой место хронического воспаления. NGAL может связываться с MMP-9 с образованием димерного комплекса NGAL/MMP-9, предотвращая тем самым



деградацию MMP-9 и повышая собственную стабильность. Показаны более высокие уровни NGAL и комплексов NGAL/MMP-9 в бляшках при наличии геморрагии внутри бляшки или люминального тромба. Таким образом, хотя NGAL является белком острой фазы, его экспрессия ассоциирована с высокими уровнями MCP-1, IL-6 и IL-8 в атеросклеротической ткани [26].

Среди иммунных клеток, инфильтрирующих атеросклеротические поражения, полиморфноядерные нейтрофильные лейкоциты (ПМН) идентифицированы как важный фактор хронического неспецифического воспаления, возникающего на ранних стадиях атерогенеза. Рост числа циркулирующих нейтрофилов и усиленная продукция ими IL-8 у здоровых людей являются индикатором риска будущего развития ССЗ. Терапия статинами способна отменить, по крайней мере частично, повышенную активность ПМН. Инфильтрация ПМН происходит в хронически воспаленных артериях, а истощение ПМН уменьшает образование бляшек. У пациентов с каротидными бляшками как циркулирующие (цПМН), так и внутрибляшечные (бПМН) нейтрофилы продуцируют хемокин IL-8, ангиогенный фактор VEGF и протеолитический фермент эластазу, способствующую деградации матрикса, ослаблению стенки сосуда и разрыву бляшки. Плотность ПМН в каротидной бляшке коррелирует с плотностью микрососудов в ней и локальной продукцией ферментов, деградирующих матрикс (эластазы и MMP). В каротидных бляшках ПМН локализованы в участках максимального стеноза вблизи новообразованных сосудов (неососудов), их число сильно ассоциировано со склонностью бляшек к разрыву, что указывает на роль ПМН в дестабилизации бляшек. Эти данные объясняют корреляцию между количеством ПМН и сердечно-сосудистой смертностью при каротидном атеросклерозе. Авторы предполагают в качестве рабочей гипотезы, что большее число циркулирующих ПМН увеличивает пул клеток, потенциально доступных для миграции в сосудистую стенку. Таким образом, и цПМН, и бПМН — важный источник эластазы, VEGF и IL-8, который способствует образованию и прогрессированию бляшек ангиогенными эффектами и хемотаксической активностью в отношении воспалительных клеток, таких как моноциты/макрофаги и сами ПМН. Число цПМН является независимым предиктором смертности от всех причин и от ССЗ у пациентов с каротидным атеросклерозом [1].

Известно, что циркулирующие биомаркеры, включая СРБ и IL-6, надежно предсказывают основные сердечно-сосудистые события, включая ИМ.

В большинстве клинических исследований основное внимание уделено взаимосвязи между биомаркерами и субклиническим атеросклерозом [увеличением толщины интимо-медиального слоя (ТИМС) артериальной стенки], который представляет собой раннюю стадию заболевания. Стадия воспаления и/или неоваскуляризации у пациентов с атеросклеротической каротидной бляшкой — это продвинутая стадия заболевания по сравнению с увеличением ТИМС. В настоящее время степень КС используется для прогнозирования риска будущих цереброваскулярных событий у пациентов с атеросклерозом сонных артерий. Однако эта стратегия представляется субоптимальной. Согласно данным эпидемиологических исследований, до 5% женщин и 12% мужчин старше 80 лет страдают от бессимптомного умеренного (50–70%) атеросклеротического КС, 1 и 3% страдают от тяжелого КС, определяемого как уменьшение диаметра сосуда  $\geq 70\%$ . Хорошо известно, что каротидный атеросклероз создает значительный риск ипсилатеральных цереброваскулярных событий. Около 20% ИИ происходят главным образом из-за разрыва и эмболизации каротидных бляшек. Помимо риска инсульта, наличие тяжелого бессимптомного КС связано со снижением когнитивных функций. Патогенный механизм включает в себя хроническую гипоперфузию и микроэмболию. Идентификация подходящих биомаркеров может обеспечить лучшую стратификацию риска и оптимизацию лечения [1].

В качестве инструментов для оценки риска у пациентов с атеросклеротическими каротидными поражениями предложены несколько сывороточных воспалительных маркеров: фибриноген, сывороточный амилоид А (SAA), IL-6 и фосфолипаза Lp-PLA2 (lipoprotein-associated phospholipase A2), одобренные Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA) в качестве предикторов ИИ. Наиболее широко применяемым в современной клинической практике остается hsCRP, который воспроизводимо прогнозирует риск развития инсульта. Идентификация признаков бляшки *in vivo*, предсказывающих ее прогрессирование или нестабильность, сывороточных биомаркеров, отражающих активность процессов, вовлеченных в рост или дестабилизацию бляшек, могут оказать большую помощь при выборе соответствующего лечения. В таблице приведены данные об ассоциации между каротидным атеросклерозом и биомаркерами [1].

Белок острой фазы пентаксин РТХ3 является атеропротективным при экспериментальном ате-

**Таблица.** Биомаркеры каротидного атеросклероза [1]

Маркер	Наличие бляшки	Тяжесть стеноза	Симптомы	Неоваскуляризация
hsCRP	++	-	++	НД
Фибриноген	+++	-	НД	НД
sVCAM-1	+	НД	НД	НД
IL-6	+++	-	++	НД
S100A12	+	НД	+	НД
Лейкоциты	++	-	НД	НД
Моноциты	++	-	НД	НД
TNF $\alpha$	НД	+	НД	НД
Pentraxin-3	НД	+	НД	НД
L-selectin	НД	+	НД	НД
Неоптерин	НД	+	НД	НД
MMP-7	НД	НД	+	НД
s-RAGE	НД	НД	+	НД
T-CD3+HLA-DR+	+	НД	НД	НД
В-клетки CD20+CD69+	+	НД	НД	НД
В-клетки CD19+CD86+	НД	+	+	НД
Длина лейкоцитарных теломер	НД	НД	+	НД
Lp-PLA2	+	НД	НД	НД
FABP4	НД	НД	+	НД

Примечание. «+» — клинически доказанная ассоциация; «-» — ассоциация не установлена; НД — нет данных.

росклерозе, уровни РТХ3 в плазме ассоциированы с наличием бляшек и распространенного сосудистого заболевания. Фибриноген более надежно ассоциирован с наличием бляшки, чем СРБ, sVCAM и скорость седиментации эритроцитов. Уровень IL-6 повышен в сыворотке лиц с КС. Кальцийсвязывающий белок S100A12, участвующий в воспалительном сигналинге, повышен у пациентов с атеросклеротическими поражениями сонных артерий. Примечательно, что ни один из этих маркеров не коррелирует со степенью стеноза. Сывороточные уровни TNF $\alpha$  и L-селектина, лектинподобной адгезионной молекулы поверхности лейкоцитов ассоциируются с размером бляшек [1].

**Маркеры воспаления и нестабильность бляшки.** Сосудистое воспаление не только играет важную роль в развитии атеросклероза, но и способствует острому началу тромботических осложнений [23]. Бляшки с более высоким риском острого атеротромботического или атероэмболического события, включая инсульт и острый ИМ, то есть нестабильные бляшки, имеют некоторые отличительные особенности, такие как более тонкая фиброзная крышка, лежащая на большом некротическом ядре, и сильная внутривенная воспалительная реак-

ция. Нестабильность бляшки, оцененная с помощью магнитно-резонансной томографии, коррелирует с активацией цитокинов IL-6 и TNF $\alpha$ , маркеров активации эндотелия E-cadherin и VCAM-1, а также воспалительных маркеров hsCRP и РТХ3. Уровень неоптерина в сыворотке, продукта катаболизма гуанозинтрифосфата, секретируемый активированными макрофагами, коррелирует с наличием каротидных поражений со сложной морфологией, которая указывает на уязвимость бляшек у пациентов со стабильной ИБС. Установлена ассоциация между гистологическими признаками нестабильности каротидной бляшки и сывороточными уровнями циркулирующих MMP-1, MMP-7, TIMP-1 и IL-8. MMP, деградирующие ВКМ, играют ключевую роль в ремоделировании сосудов при ССЗ, а также в процессе дестабилизации бляшек [27].

**Маркеры воспаления и неврологические симптомы.** Цитокин IL-6 воспроизводимо ассоциируется с наличием симптоматического КС. Растворимая форма макрофагального рецептора CD36, участвующего в поглощении ЛПНП, коррелирует с наличием неврологических симптомов и ультразвуковых признаков уязвимости бляшек. Интересно, что бессимптомные и пациенты с неврологической симп-

томатикой не отличались по уровням СРБ, гликозилированного гемоглобина и липидному профилю. Плазматический уровень suPAR (soluble urokinase plasminogen activator receptor, растворимая форма рецептора, секретируемая ЭК и иммунными клетками путем протеолитического расщепления клеточно-поверхностного рецептора в воспалительной среде) выше у пациентов с симптоматическим КС, чем у бессимптомных пациентов. Другой растворимый рецептор конечных продуктов гликозилирования (receptor for advanced glycosylation end products, RAGE) ассоциирован с наличием симптомов у пациентов с каротидным атеросклерозом [1].

**Циркулирующие липиды, воспаление и прогрессирование бляшки.** Уровень Х-ЛПНП считается одним из наиболее важных факторов риска развития атеросклеротической бляшки, фармакологическое снижение воспаления сосудов повышает стабильность бляшек за счет снижения уровней Х-ЛПНП [28]. При этом у многих людей с признаками атеросклеротического заболевания уровень Х-ЛПНП находится в нормальном диапазоне, хотя они могут иметь измененную структуру фракций липопротеинов. Концентрация sdLDL (small dense low-density lipoprotein) связана с повышенным риском ССЗ и прогрессированием атеросклероза коронарных и сонных артерий. Липопротеины TGRL (triglyceride-rich lipoprotein) и sdLDL независимо предсказывают увеличение каротидной ТИМС и ассоциированы с воспалительной активацией периферических мононуклеаров и ЭК. Эти данные свидетельствуют о том, что содержание холестерина и триглицеридов в липопротеинах определяет специфические классы липопротеинов с атерогенными и воспалительными свойствами [1].

Молекула FABP4 (fatty acid binding protein 4), связанная с воспалением и липидным метаболизмом, идентифицирована как один из участников кардиометаболических нарушений, включая липотоксический стресс в макрофагах и связанное с ними воспаление. Генетический вариант низкой экспрессии FABP4 (FABP4 -87TC, rs77878271) у пациентов с прогрессирующим каротидным атеросклерозом ассоциирован с более низким уровнем общего холестерина. У носителей этого аллельного варианта с ожирением показана уменьшенная ТИМС артериальной стенки и более низкая распространенность каротидных бляшек [29]. Плазматические уровни FABP4 выше у пациентов с каротидным атеросклерозом как в циркуляции, так и внутри атеросклеротического поражения, чем у пациентов, перенесших инсульт другого происхождения. Кроме того, экспрессия FABP4 коррелирует с маркерами клеточ-

ной поверхности моноцитов/макрофагов CD36, CD68 и CD163, а также с наличием Т-клеток CD4+ в бляшке [1].

Метаболическое воспаление может быть связано с изменением профиля таких циркулирующих цитокинов как адипокины (резитин, лептин и адипонектин) [28, 30].

**Циркулирующие лейкоциты и прогрессирование бляшки.** Анализ циркулирующих лейкоцитов — ценный инструмент оценки и иммуновоспалительного статуса пациента. Субпопуляции лимфоцитов и моноцитов могут быть изменены у пациентов с атеросклерозом. Увеличенное количество нейтрофилов повышает относительный риск сердечно-сосудистой смерти вдвое у пациентов с КС >50% [31]. У пациентов с неврологическими симптомами обнаружены признаки активации моноцитов, в частности, они экспрессируют высокие концентрации адгезионных молекул CD11b и тромбоспондина 1. Эти маркеры коррелируют с наличием моноцитарно-тромбоцитарных агрегатов, которые участвуют в патогенезе атеросклероза и атеротромбоза [32]. У пациентов с КС активированы Т- и В-лимфоциты CD3+ HLA-DR+ и CD20+ CD69+, экспрессия MMP-9 в мононуклеарных клетках периферической крови [33], а также экспрессия CD74 (В-клеточный полипептид главного комплекса гистосовместимости) [34]. Количество циркулирующих В-клеток CD19+ CD86+ коррелирует со степенью КС и риском развития инсульта [35]. Показана ассоциация между укорочением лейкоцитарных теломер, прогрессированием каротидного атеросклероза и частотой сердечно-сосудистых событий [36].

**Циркулирующие маркеры воспаления и толщины интимо-медиального слоя.** Увеличение ТИМС считается ранним признаком доклинического атеросклероза. Уровни IL-6, hsCRP, фибриногена и моноцитов в плазме крови ассоциированы с ТИМС. Между пациентами с субклиническим атеросклерозом и пациентами с каротидными бляшками нет существенных различий в уровнях hsCRP в бляшке. Метаанализ 20 исследований (49097 пациентов) показал значимую связь между ТИМС и сывороточными уровнями hsCRP, фибриногена и лейкоцитов [37], MMP-10 [38]. Мультиэтническое исследование атеросклероза (Multiethnic Study of Atherosclerosis, MESA) продемонстрировало большее количество Т-клеток памяти CD3+ CD4+ CD45RA-CD45RO+ CCR7- и меньшее количество наивных Т-клеток у пациентов с увеличенной ТИМС [38].

**Маркеры воспаления и терапевтическое вмешательство.** Помимо основного эффекта на сниже-

ние холестерина, высокодозная терапия статинами снижает концентрацию циркулирующих маркеров воспаления. Показана связь между снижением холестерина ЛПНП и исчезновением признаков воспаления каротидной бляшки. В настоящее время выбор лечения каротидных бляшек зависит от тяжести стеноза. Определение воспалительного и иммунного профиля, основного патогенного элемента в развитии атеросклеротического заболевания, может привести к лучшей стратификации бессимптомных пациентов. В частности, основные цитокины, такие как IL-6 и TNF $\alpha$ , достоверно предсказывают наличие и характеристики бляшки, в то время как MMP, по-видимому, участвуют в ее дестабилизации [1]. Таким образом, воспалительные факторы могут коррелировать с прогрессирующим КС, однако, недостаточно специфичны для выявления нестабильных бляшек [7].

### Симптоматический статус каротидного стеноза

Термин «бессимптомный» КС использовался для обозначения пациентов без ипсилатеральных симптомов, а также пациентов с предшествовавшими симптомами без неврологических событий в период  $\geq 6$  мес. Изучение данных предыдущих исследований дает основания предполагать, что использование различных определений симптоматического статуса КС может значительно влиять на результаты. Именно поэтому всех пациентов с историей КС-ассоциированных симптомов следует считать симптоматическими. Порог в 6 мес для дискриминации пациентов с давними и недавними симптомами обоснован тем, что большинство каротидных бляшек стабилизируется в течение 6 мес после неврологического события [39].

Каротидные бляшки могут подвергаться нескольким эпизодам разрыва и тромбоза и оставаться при этом клинически молчаливыми. Стратификация риска у бессимптомных субъектов с атеросклеротическим экстракраниальным стенозом внутренней каротидной артерии является серьезной проблемой современной неврологии и сосудистой медицины. В общей популяции у 10–15% пациентов в возрасте старше 55–60 лет имеется значительный ( $\geq 50\%$ ) КС. Дестабилизация каротидной бляшки и разрыв с образованием тромба являются причиной 20–25% случаев ИИ вследствие эмболизации ипсилатеральных внутричерепных артерий и/или увеличения тяжести стеноза, приводящих к нарушению гемодинамики. Трансформация бессимптомного КС в симптоматический происходит не часто ( $\approx 0,3$ – $2,0\%$  случаев в год),  $\approx 80\%$  инвалидизирующих инсультов проис-

ходит без каких-либо предупреждающих сигналов. Имиджинговые исследования в значительной степени неэффективны для стратификации бессимптомных субъектов с КС в отношении риска развития инсульта [39].

У больных КС на современной фармакотерапии (статины и ингибиторы ангиотензинпревращающего гормона) медианные значения общего холестерина и Х-ЛПНП не отличаются. Уровни Х-ЛПВП значительно ниже ( $p < 0,001$ ), а триглицеридов выше ( $p = 0,03$ ) при симптоматическом КС, чем при бессимптомном. Уровни IL-6, hsCRP, остеопротегерина и липопротеинассоциированной фосфолипазы A2 (Lp-PLA2) выше у симптоматических больных, а TIMP ниже по сравнению с бессимптомными. Несмотря на то, что повышение уровней остеопротегерина и Lp-PLA2 указывает на дестабилизацию каротидной бляшки, и значимые различия в уровнях IL-6, TIMP и триглицеридов между симптоматическими и асимптоматическими субъектами, в мультипараметрической модели эти биомаркеры не были независимыми маркерами трансформации бессимптомного статуса КС в симптоматический, и их добавление к Х-ЛПВП не обеспечило дополнительной информативности по сравнению с одним Х-ЛПВП. Низкий уровень Х-ЛПВП является единственным независимым предиктором неврологических симптомов КС, что согласуется с ассоциацией между низким Х-ЛПВП и фенотипом нестабильной каротидной бляшки. Низкий уровень Х-ЛПВП увеличивает вероятность ассоциированных с КС симптомов в 1,8 раза. Повышенный уровень Х-ЛПВП защищает от прогрессирования внутричерепного атеросклероза. Низкое отношение ЛПВП/ЛПНП связано с повышенным содержанием липидов и сниженным содержанием фиброзного содержимого, предрасполагающим атеросклеротическую бляшку к симптоматической трансформации. Эти данные позволяют использовать уровень Х-ЛПВП в рутинной стратификации лиц с бессимптомным КС в группы риска. Низкий уровень Х-ЛПВП — потенциальная терапевтическая мишень у пациентов с КС.

Однако сегодня фармакологическая интервенция, повышающая уровень Х-ЛПВП клинически неэффективна и не снижает риск симптоматической трансформации каротидных бляшек [39].

Экспрессию сывороточных IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, MMP-8, MMP-9, TNF $\alpha$ , hsCRP и VEGF у симптоматических и бессимптомных пациентов с внутренним КС  $\geq 70\%$  измеряли до и через 1; 6 и 24 ч после КЭЭ. Оценку тканевых биомаркеров (IL-1 $\beta$ ,

IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, MMP-8, MMP-9, TNF $\alpha$  и VEGF) проводили в удаленных каротидных бляшках. Пиковые значения сывороточной концентрации MMP-8, MMP-9, IL-6 и IL-10 наблюдались через 6 ч после КЭЭ, hsCRP, TNF $\alpha$  и VEGF — через 24 ч после КЭЭ. У симптоматичных пациентов выявлены более высокие сывороточные концентрации MMP-8, MMP-9, IL-1, IL-4, IL-8, hsCRP и TNF $\alpha$  и более высокие тканевые концентрации MMP-8, MMP-9, IL-1 $\beta$ , IL-6 и VEGF, чем у бессимптомных пациентов. Обнаружена значительная разница между симптоматическими и бессимптомными пациентами по тканевым уровням IL-6 (30,95 и 9,33 пг/мл соответственно,  $p=0,028$ ). Системный и тканевой воспалительный ответ возникает даже после КЭЭ, судя по активности цитокинов через 6 и 24 ч после КЭЭ. Симптоматические пациенты демонстрируют более высокие сывороточные и бляшечные концентрации воспалительных биомаркеров по сравнению с бессимптомными пациентами [40].

#### Каротидная эндартерэктомия: до и после

Каротидная эндартерэктомия (КЭЭ) — метод профилактики ИИ [41]. Цель вмешательства — остановить эмболизацию нестабильной бляшкой каротидной бифуркации, которая является наиболее распространенным патогенным механизмом церебральной ишемии из-за атеросклероза сонных артерий. Однако неинвазивное распознавание нестабильных бляшек на ранних стадиях и до начала острого клинического события остается проблематичным. Большинство специалистов, участвующих в лечении инсульта, неохотно предпринимают операцию на сонной артерии сразу после инсульта и откладывают ее на 4–8 нед., опасаясь геморрагической трансформации церебрального инфаркта [19]. Польза от КЭЭ максимальна у пациентов с неврологическими симптомами, оперированных в течение 2 нед. после цереброваскулярного события. В руководстве SPREAD [42] рекомендуется проводить каротидную хирургию как можно раньше — в течение 2 нед. после события — пациентам с транзиторной ишемической атакой, малым инсультом или стабилизированным неврологическим дефицитом; в то время как пациентам с инвалидирующим инсультом или крупноочаговым инфарктом и/или отеком мозга при КТ-сканировании ранняя КЭЭ не рекомендуется. Однако это неприятие раннего лечения после острого инсульта не является оправданным. Анализ профилактики инсультов (на 1000 КЭЭ за 5 лет) показал, что эффективность операции быстро снижается с течением времени, прошедшего

с момента последних неврологических симптомов. Польза КЭЭ, по-видимому, зависит не только от степени КС, но и от задержки операции после манифестации, в связи с чем сделан вывод, что в идеале эта процедура должна быть выполнена в течение 2 нед. после последних симптомов. Раннее лечение (медикаментозное и/или хирургическое) всех пациентов с транзиторной ишемической атакой или малым инсультом может предотвратить около 80% раннего повторного инсульта [19].

В исследовании P. Jaroslav и соавт. [7] пациенты с КС высокой степени тяжести (>70%), которым назначена КЭЭ, разделены на 4 группы: бессимптомные пациенты со стабильными и нестабильными бляшками и симптоматические пациенты со стабильными и нестабильными бляшками. По данным исследования, уровни MMP-1, MMP-7, MMP-9 и TIMP-1 в сыворотке значительно увеличены у пациентов с неврологическими симптомами и нестабильными бляшками. Они надежно отражают нестабильность каротидных бляшек и риск развития инсульта. Из-за неоднородности атеросклеротических поражений одного маркера недостаточно для надежного прогнозирования развития ИИ, предпочтительнее использование панели биомаркеров. MMP-1, MMP-7 и TIMP-1 ассоциированы либо с симптомами, либо с нестабильностью бляшек, а MMP-9 — главным образом с неврологическими симптомами. Что касается воспалительных факторов, повышенные уровни TNF $\alpha$  и IL-6 связаны с нестабильностью бляшек, повышенные уровни IL-10 наблюдаются только в группе пациентов с симптомами и нестабильными бляшками. hsCRP больше связан с неврологическими симптомами, чем с нестабильностью бляшек, фибриноген — с обоими. Эти данные указывают на патофизиологические различия между клинической симптоматикой и нестабильностью бляшек [7].

Риск церебрального инсульта для уязвимых каротидных бляшек выше, но для их идентификации нет специфических маркеров. Целью исследования было выявление уязвимых каротидных бляшек у пациентов, перенесших КЭЭ. Высокочувствительный С-реактивный белок (hsCRP) и фактор VEGF оценивали перед операцией у пациентов, перенесших операцию на сонной артерии. Нестабильность каротидных бляшек определяли по «биологической уязвимости» с гистологической оценкой бляшек из КЭЭ, оценивая плотность микрососудов, толщину фиброзного колпачка, кальцификацию, воспалительный инфильтрат и липидное ядро, и по «структурной уязвимости» бляшек, удаленных во время КЭЭ или стентирования. Уязвимые бляшки (30%)

коррелировали с более высокими уровнями hsCRP ( $>5$  мг/л,  $p=0,01$ ) и VEGF ( $>500$  пг/л,  $p=0,01$ ) [43].

Риск клинически значимого рестеноза после КЭЭ в течение года наблюдения составляет 2,5%. При прогрессировании каротидного рестеноза может потребоваться повторное вмешательство. Ранний (в течение 24 мес) рестеноз связан с миоинтимальной пролиферацией. Фактор PDGF является основным фактором, ответственным за пролиферацию сосудистых гладкомышечных клеток. Фактор VEGF стимулирует ангиогенный ответ в разных моделях *in vivo*. Выраженное повышение уровней VEGF и PDGF прогнозирует рестеноз, особенно у пациентов, гомозиготных по нормальному аллелю гена маннозосвязывающего лектина *MBL2* по сравнению с пациентами — носителями мутантных вариантов полиморфного гена *MBL2* (pR52C, cC/T, rs5030737; pG54D, cG/A, rs1800450; pG57E, cG/A, rs1800451). Каждый вариант уменьшает количество функциональных субъединиц MBL у гетерозиготных лиц в 5–10 раз, а у гомозигот присутствуют только малые количества дисфункционального MBL. Через год после операции клинически значимый ( $>70\%$ ) рестеноз наблюдался у 5% пациентов. Анализ соотношения между значениями  $\Delta$ VEGF и  $\Delta$ PDGF и рестенозом обнаружил высокосignificantную корреляцию у пациентов с нормальным генотипом по MBL. Напротив, корреляция не обнаружена у пациентов с любыми вариантами гена *MBL* [44].

КЭЭ, удаляя атеросклеротическую бляшку со стенки сосуда, обнажает интиму, состоящую главным образом из ГМК, белков ВКМ и воспалительных клеток. Ишемия/реперфузия каротидной артерии во время операции сопровождается выбросом PDGF и VEGF. Оба фактора роста необходимы для образования матрикса, пролиферации и миграции ГМК и запускают неоинтимальную гиперплазию. Кроме того, во время ишемии/реперфузии активируется лектиновый путь комплемента, инициированный связыванием MBL с внутриклеточными компонентами ЭК. Таким образом, к развитию рестеноза приводят высвобождение ростовых факторов и активация комплемента. После КЭЭ рестеноз встречается прежде всего у пациентов, гомозиготных по нормальному аллелю *MBL2*. Этот генотип связан с высокими уровнями MBL и комплемент-активирующей способностью в сочетании с повышением активности PDGF и VEGF в раннем послеоперационном периоде.

При острых гипоксических состояниях экспрессия PDGF и VEGF повышается и опосредует инициируемый гипоксией ангиогенез. Результаты

экспериментальных исследований и клинических наблюдений однозначно указывают на роль PDGF в миоинтимальной пролиферации, ответственной за рестеноз сонных артерий. Ингибирование рецепторов PDGF антителами, антисмысловыми олигонуклеотидами или низкомолекулярным таргетным ингибитором иматинибом, введенными до экспериментальной артериальной травмы, значительно уменьшает последующую неоинтимальную пролиферацию. Ингибирование рецепторов PDGF трапидилом (триазолопиримидином) успешно использовалось у пациентов для профилактики рестеноза после чрескожной транслюминальной коронарной ангиопластики. Подобные, хотя и несколько противоречивые результаты получены о связи между VEGF и рестенозом. VEGF как сильный митоген ЭК может вызвать пролиферацию ЭК и неоваскуляризацию гладкомышечных тканей. Таким образом, ранний каротидный рестеноз ( $>50\%$ ) после КЭЭ с высокой вероятностью встречается у пациентов, гомозиготных по нормальному аллелю *MBL2*, и ассоциирован с выраженным повышением сывороточных уровней VEGF и/или PDGF после операции [44].

Фактор GDF-15 (growth differentiation factor-15), член семейства цитокинов TGF- $\beta$ , обычно слабо экспрессируется в большинстве паренхиматозных тканей, но во время острофазовых ответов, стимулированных провоспалительными цитокинами IL-1, TNF $\alpha$  и TGF- $\beta$ , усиленно экспрессируется макрофагами. В каротидных бляшках человека GDF-15 локализован совместно с макрофагами и ГМК и ассоциирован с наличием кальцификации в бляшке. В экспериментальных моделях атеросклероза мышцей дефицит фактора GDF-15 замедляет образование атеросклеротических поражений и повышает стабильность бляшек благодаря нарушению миграции макрофагов и увеличивает отложение коллагена. С другой стороны, повышенный сывороточный уровень GDF-15 является фактором риска ССЗ, а также смертности от всех причин и сердечно-сосудистой смертности у здоровых лиц без ССЗ [45].

Фактор GDF-15 значимо ассоциирован с повышением уровня hsCRP. Между циркулирующим GDF-15 и другими циркулирующими воспалительными маркерами (IL-6, TGF- $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-1), а также циркулирующими факторами VEGFA и IL-10 не обнаружено значимых ассоциаций. Плазматический уровень GDF-15 независимо предсказывает вторичные сердечно-сосудистые атеросклеротические события у женщин ( $p=0,005$ ), проходящих КЭЭ, но не у мужчин ( $p=0,5$ ). Эта ассоциация у женщин оставалась значимой в модели, учитывающей воз-

раст, пол, ЛПВП, триглицериды, историю ИБС, историю периферического вмешательства, неврологические симптомы, контрлатеральный стеноз и скорость клубочковой фильтрации, и в полной модели с добавлением NTproBNP (N-terminal pro b-type natriuretic peptide) и hsCRP ( $p=0,007$ ), что предполагает потенциальное использование GDF-15 в качестве биомаркера для профилактики рецидива у женщин. Добавление плазматического GDF-15 к клинической модели, включающей в себя hsCRP и NTproBNP, увеличивает прогностическое значение IDI (integrated discrimination improvement index) у женщин, но не у мужчин [45].

Воспалительные клетки и макрофаги участвуют в апоптозе ГМК, что объясняет, почему при разрыве фиброзного колпачка во время острого события, такого как инсульт, в избытке обнаруживаются макрофаги и только несколько ГМК. У женщин больше ГМК в бляшках, чем у мужчин, что свидетельствует о большей стабильности бляшки. Считается, что кальцификация усиливает миграцию ГМК, а также играет роль в пролиферации ГМК в процессе атерогенеза. Поэтому прогностическое значение плазматического GDF-15 у пациентов с каротидным атеросклерозом не может быть объяснено характеристиками каротидной бляшки. Морфология атеросклеротической бляшки также отличается у мужчин и женщин: у мужчин субстратом для тромботических событий с большей вероятностью служит разрыв бляшки, тогда как у женщин чаще эрозия бляшек. Механизмы, лежащие в основе эрозии бляшек, указывают на эндотелиальную дисфункцию, которую усиливает GDF-15. Таким образом, высокий уровень циркулирующего GDF-15 предсказывает риск вторичного сердечно-сосудистого события у женщин с тяжелым каротидным атеросклерозом, проходящих КЭЭ. Эта ассоциация может включать в себя эндотелиальную дисфункцию, то есть микрососудистое воспаление, которое чаще наблюдается у женщин, чем мужчин [45].

КЭЭ может вызвать травму мозга, связанную с интраоперационной ишемией/гиперперфузией, включая микро- и макроэмболы, приводящие к ишемическому повреждению и отеку головного мозга. Через 12 и 48 ч после КЭЭ в сыворотке пациентов значительно повышен уровень белка YKL-40 по сравнению с уровнями до операции ( $p=0,00032$  и  $p=0,00044$  соответственно). Существенной разницы в уровнях сывороточного YKL-40 между симптоматическими и бессимптомными пациентами не выявлено во всех трех измерениях. Установлена достоверная связь между уровнем YKL-40 в сыворотке и возрастом пациентов

( $p=0,004$ ). Вероятно, это связано с тем, что каротидный атеросклероз прогрессирует с увеличением возраста пациентов. Гепарин-, хитин и коллагенсвязывающий провоспалительный гликопротеин YKL-40, известный и как CHI3L1 (chitinase 3-like 1), продуцируют стволовые клетки, нейтрофилы, макрофаги, реактивные астроциты и раковые клетки. Этот белок стимулирует продукцию VEGF, играет роль в ангиогенезе, воспалении, пролиферации и дифференцировке клеток. YKL-40 также является биомаркером повреждения головного мозга при различных неврологических заболеваниях, включая болезнь Альцгеймера, менингит, травму головного мозга и глиому головного мозга. Это означает, что YKL-40 может быть ценным неинвазивным маркером повреждения головного мозга после КЭЭ [41].

Разрыв каротидной бляшки сопровождается резким снижением внутрибляшечной экспрессии микроРНК miR-221, экспрессирующейся в ГМК сосудов. Циркулирующая некодирующая РНК (circR)-284 является потенциальным ингибитором активности miR-221. Сывороточные уровни miR-221 и circR-284 измеряли у бессимптомных пациентов и пациентов с острой симптоматикой (ургентное ишемическое цереброваскулярное событие, связанное с сонной артерией, в течение предыдущих 5 дней), подвергшихся КЭЭ. Сывороточные miR-221 и circR-284 проявляют противоположный временной паттерн экспрессии у пациентов симптоматической группы. Экспрессия miR-221 значительно снижена, circR-284 — повышена у пациентов ургентной группы по сравнению с бессимптомными пациентами. circR-284 обладает сайтом связывания miR-221, экспрессируется в каротидной бляшке и может участвовать в регуляции активности miR-221. Отношение сывороточных уровней circR-284: miR-221, значительно повышенное в ургентной группе ( $p=0,0002$ ), обладает приемлемой чувствительностью и специфичностью относительно обнаружения разрыва бляшки и предложено в качестве биомаркера разрыва каротидной бляшки и инсульта. Это изменение экспрессии позволяет идентифицировать пациентов с недавним (до 5 дней) цереброваскулярным событием. Пара функционально связанных некодирующих сывороточных circR-284: miR-221 предложена в качестве диагностического биомаркера ИИ, связанного с сонной артерией, а также разрыва атеросклеротической бляшки, и в качестве прогностического биомаркера риска инсульта [4, 46].

Несмотря на успешное снижение уровня Х-ЛПНП, существует значительный риск развития атеросклеротического ССЗ, что, в конечном итоге, делает бо-

лее эффективными терапевтическими мишенями другие липиды или липопротеины. Даже у пациентов с тяжелым КС и высоким риском ИИ инфаркт миокарда ответственен за >50% периоперационных смертей и вызывает больше послеоперационных смертей, чем инсульт, снижая этим эффективность КЭЭ, особенно у пациентов с бессимптомным КС. ApoB является основным аполипопротеином ЛПНП, но присутствует и в липопротеинах средней плотности, что делает его измерение более точной оценкой общей концентрации липопротеиновых частиц и, таким образом, лучшим фактором прогноза сердечно-сосудистого риска у пациентов, перенесших КЭЭ, по сравнению со всеми другими липопротеинами. У пациентов, перенесших КЭЭ по поводу тяжелого стеноза внутренней сонной артерии, отношение атерогенных аполипопротеинов А-II/В показало самую сильную ассоциацию с первичным результатом по сравнению с другими липидными показателями риска, что значительно улучшило прогностическую модель, основанную на сердечно-сосудистых факторах риска, включая ЛПНП, ЛПВП и триглицериды. Это привело к переклассификации 8,9% всех пациентов и 13,6% пациентов с исходной сывороточной концентрацией ЛПНП <100 мг/дл. Отношение А-II/В значительно улучшает прогноз общей выживаемости, в том числе у пациентов с низким уровнем ЛПНП после КЭЭ. Следовательно, это соотношение может обеспечить эффективный диагностический инструмент и терапевтическую мишень для методов снижения липидов [47].

Сопоставление транскриптома каротидных бляшек, удаленных с помощью КЭЭ, с исходными у пациентов связало высокую экспрессию рецептора TLR7 с лучшими результатами лечения и меньшим количеством ишемических сердечно-сосудистых и цереброваскулярных событий в течение 8 лет наблюдения после КЭЭ. Рецепторы TLR (Toll-like receptor) распознают эндогенные молекулы, которые высвобождаются во время повреждения и гибели клеток. Связывание TLR7 бляшек *ex vivo* синтетическим лигандом имиквимодом (низкомолекулярное производное имиквидазохинолинамина, индуктор цитокинов) вызывает дозозависимую секрецию цитокинов IL-10, TNF $\alpha$ , GM-CSF и IL-12/IL-23p40 в Т-клетках, макрофагах и сосудистых ГМК, которую блокирует ингибирование TLR7. Уровни мРНК TLR7 в бляшках коррелируют с экспрессией рецепторов IL-10 ( $p < 0,0001$ ) и GM-CSF ( $p < 0,0001$ ). IL-10 представляет собой иммуносупрессирующий цитокин, препятствующий атеросклерозу. Эти данные показывают, что

TLR7-сигналинг поддерживает противовоспалительный ответ в атеросклеротических бляшках через IL-10, и, наоборот, имиквимод индуцировал дозозависимую секрецию провоспалительных цитокинов, таких как TNF $\alpha$ . GM-CSF увеличивает апоптоз макрофагов в прогрессирующих поражениях. Эти эффекты опосредуются IL-23, который секретируется после активации TLR7 [16].

TLR7 экспрессируется в атеросклеротических бляшках Т-клетками и макрофагами, инфильтрирующими бляшки, и в капиллярных ЭК. Не известно, существует ли общая активация TLR7 во время формирования новых сосудов или она является специфическим для атеросклероза процессом. Первоначально было удивительно, что TLR7 связан с защитными механизмами у пациентов, учитывая то, что активация TLR вредна при атеросклерозе [48]. Тем не менее существует TLR7-зависимый противовоспалительный механизм [49]. Некоторые субпопуляции Т-клеток и макрофагов могут опосредовать заживление, вызывая противовоспалительные реакции [50]. Активация TLR7 модулирует баланс между индукцией и подавлением воспаления. Хотя ответ на эндогенные лиганды TLR7 в бляшках неизвестен, можно предположить, что в атерогенезе это равновесие склоняется в пользу воспаления, а после удаления бляшки TLR7 может быть частью модуляции воспалительных реакций, противодействующей эффекту провоспалительных цитокинов [16].

Диаметр сосудов регулируется L-аргинин/NO-зависимым сигнальным путём. Оксид азота (NO) образуется в процессе превращения L-аргинина в L-цитруллин. Синтез NO может быть блокирован аналогом (метаболитом) L-аргинина — асимметричным диметиларгинином (asymmetric dimethylarginine, ADMA). Способность ADMA ингибировать синтез NO делает его маркером атеросклероза. Уровень ADMA в циркуляции повышается при гипоксии, ИИ и КС [51]. В отличие от L-аргинина, повышенный предоперационный уровень ADMA ассоциирован с плохой церебральной перфузией, предположительно по причине его сосудосуживающих свойств, с дисфункцией эндотелия и более выраженным атеросклерозом, а также с каротидным рестенозом после КЭЭ. Если уровень L-аргинина ниже 35 мкмоль/л, концентрация белка S100B повышается через 24 ч после операции, а уровни лактата, индикатора анаэробного метаболизма мозга, — во время реперфузии [44]. Низкая предоперационная концентрация L-аргинина предсказывает потребность в интраоперационном шунте. Обратная корреляция между дооперационной



концентрацией L-аргинина, с одной стороны, и югулярного лактата и S100B во время зажима сонной артерии, с другой стороны, указывает на нейропротекторные свойства L-аргинина — донора NO. Уровень S100B в сыворотке крови является чувствительным маркером целостности и дисфункции гематоэнцефалического барьера и ишемического повреждения головного мозга даже при клинически неосложненной КЭЭ [52]. L-аргинин влияет на перфузию головного мозга посредством регуляции сосудистого тонуса. Концентрация L-аргинина в сыворотке крови до операции — единственный независимый маркер, который позволяет прогнозировать необходимость интраоперационного шунта во время КЭЭ. Активация L-аргинин-зависимого сигнального пути может быть частью ишемического preconditionирования у пациентов с атеросклерозом и предотвратить гипоксическое повреждение головного мозга, вызванное ишемией/реперфузией во время КЭЭ [44].

Пациентов с уровнем L-аргинина в сыворотке <35 мкмоль/л включили в группу высокого риска декомпенсированного церебрального кровообращения во время поперечного зажима сонной артерии. Важно отметить, что это пороговое значение является крайне низким по сравнению со здоровыми лицами и несет повышенный риск смерти. Тяжесть контралатерального КС не является предиктором шунтовой зависимости во время КЭЭ. Пациенты с уровнем L-аргинина ниже порогового более подвержены анаэробному метаболизму, что выражается в увеличении продукции югулярного лактата и дисфункции ГЭБ или ишемии, выраженной повышением югулярного уровня S100B, даже без клинических осложнений КЭЭ. Результаты данного исследования позволяют предполагать, что у пациентов с предоперационным артериальным уровнем L-аргинина >35 мкмоль/л низка вероятность интраоперационной потребности в шунте. Таким образом, пред- и интраоперационная оценка артериальной концентрации L-аргинина и ADMA может быть клинически целесообразным для предотвращения ишемических инцидентов во время КЭЭ и улучшения клинического исхода [44].

Сердечный тропонин I (сTnI), компонент сократительного аппарата кардиомиоцита, является предпочтительным биомаркером для диагностики ИМ, поскольку обладает высокой тканевой специфичностью и клинической чувствительностью. Даже небольшое повышение уровня сTnI в периоперационном периоде отражает клинически значимое поражение миокарда с ухудшением кардиологического прогноза. Периоперационное повреждение сердца

во время КЭЭ определяли на основании послеоперационного повышения уровня сTnI в отсутствие ишемии миокарда. ИМ определяли по повышению послеоперационного уровня сTnI >0,5 нг/мл с болью в груди, ишемическими симптомами или электрокардиографическими показателями ишемии, такими как новая депрессия сегмента ST или повышение сегмента ST  $\geq 1$  мм в двух или более смежных отведениях. Максимальная частота периоперационного поражения сердца наблюдалась у пациентов с сопутствующей субклинической ИБС (11,5%), но частота периоперационного инсульта и смерти и общая выживаемость у них не отличались от показателей у пациентов без субклинической ИБС. Частота периоперационного повреждения сердца повышена у пациентов с субклинической ИБС (13,6 против 0,5% в общей популяции пациентов ( $p < 0,01$ ), но это не повлияло на общую смертность в течение 4 лет после КЭЭ. Устранение факторов риска и выборочная коронарная реваскуляризация, основанная на регулярном наблюдении за сердечными рисками, могут улучшить исход КЭЭ. Таким образом, пациенты с субклинической ИБС могут пройти КЭЭ с приемлемыми краткосрочными и долгосрочными результатами при условии, что они получают коронарную реваскуляризацию и оптимальное периоперационное лечение [53].

Учитывая распространенность бессимптомной ишемии миокарда после КЭЭ, следует проводить исследования с использованием строго определенных пороговых уровней сTnI. КЭЭ сопровождается повышением уровня сTnI (>0,5 нг/мл) в 14% случаев. Проведено сравнение послеоперационного сердечного повреждения, определяемого по повышению уровня сTnI, после КЭЭ у пациентов с низким и высоким хирургическим риском по критериям системы SAPPHERE (Stenting and Angioplasty with Protection in Patients at High Risk for Endarterectomy), которая учитывает степень сердечной и дыхательной недостаточности. У всех пациентов перед операцией, а также в 1; 3 и 7-й послеоперационные дни проведены полное кардиологическое обследование и оценка уровня сTnI. Послеоперационные значения уровня сTnI в диапазоне 0,05–0,5 нг/мл классифицировались как ишемия миокарда, значения >0,5 нг/мл — как ИМ: 14% пациентов с высоким риском и 9% пациентов с низким риском имели значения сTnI >0,5 нг/мл. Все пациенты с повышенными уровнями сTnI были бессимптомными. У всех пациентов после операции значение сTnI увеличилось с пиком в 1-й послеоперационный день. Изменения электрокардиограммы наблюдались у 90% па-

циентов с асимптоматическим повышением сTnI и ни у одного — без повышения [54, 55].

Липопротеин (а) [Lp(a)] представляет собой липопротеин низкой плотности, синтезируемый и секретируемый печенью, и содержит липидное ядро из Х-ЛПНП и аполипопротеина В-100 (основного структурного аполипопротеина ЛПНП и липопротеинов очень низкой плотности [23]), соединенных дисульфидным мостиком. Высокие сывороточные концентрации Lp(a) ассоциированы с ИМ, ИИ и стенозом с обызвествлением аортального клапана. В 24-месячном наблюдении пациенты с тяжелым КС и высокими (>10 мг/дл) уровнями Lp(a), проходящие эндартерэктомию, имели больше случаев ОКС по сравнению с пациентами с низкими (<10 мг/дл) уровнями Lp(a). Не обнаружено достоверной корреляции между уровнями Lp(a) сыворотки и параметрами бляшек, за исключением слабой положительной связи с ГМК в проксимальных участках бляшек. После поправки на пол, наличие дислипидемии и хронической ИБС концентрация Lp(a)  $\geq 10$  мг/дл оставалась прогностическим фактором ОКС у пациентов с тяжелым КС после КЭЭ [56].

### Васкуляризация бляшки

Важным компонентом атерогенеза является образование новых микрососудов внутри стенки больного сосуда — процесс, известный как неоваскуляризация. Прогрессирование атеросклеротического заболевания приводит к внутрибляшечной гипоксии, которая вызывает локальное воспаление и локальную неоваскуляризацию. Новообразованные сосуды (неососуды) в атеросклеротических поражениях способствуют росту и уязвимости бляшек. Именно поэтому идентификация *in vivo* неоваскуляризации атеросклеротического поражения может считаться критерием бляшек высокого риска. Каротидная неоваскуляризация ассоциируется с сывороточным уровнем multifunctional glycoprotein CD146 (MUC18), который участвует в клеточной миграции, ангиогенезе, иммунном ответе и экстравазации лейкоцитов [53]. Показана корреляция между степенью неоваскуляризации бляшек и количеством циркулирующих классических моноцитов CD14+ CD16-CCR2+ [1].

Неоваскуляризация — маркер нестабильности бляшек [57]. Большинство атеросклеротических поражений васкуляризируется, поэтому неососуды также могут способствовать прогрессированию и уязвимости бляшек. Незрелые, негерметичные кровеносные сосуды из нестабильных бляшек растут аномально и, будучи плохо интегрированы

с ГМК, могут способствовать нестабильности бляшки путем облегчения инфильтрации воспалительных клеток и развития геморрагических осложнений. Неоваскуляризация считается самым важным предиктором уязвимости каротидной бляшки. Наличие внутрибляшечных сосудов и внутрибляшечная геморрагия связаны с появлением симптомов в иных случаях длительно протекающих бессимптомных стадий заболевания сонной артерии. В растущей бляшке уменьшенная диффузия кислорода приводит к гипоксии и высвобождению ангиогенных факторов роста. Внутри бляшки образуются сосуды *vasa vasorum* с незрелой структурой. Отсутствие перicytes в этих сосудах увеличивает проницаемость и предрасполагает сосуды к разрыву [9].

Ультразвуковое исследование с контрастным усилением (contrast-enhanced ultrasound, CEUS) представляет собой новый инструмент для визуализации каротидных бляшек и внутрибляшечных сосудов и активной реорганизации бляшек с повышенной уязвимостью, а также для характеристики морфологии бляшек с микроизъязвлениями и определения фенотипа высокого риска в период длительного бессимптомного состояния. Метод CEUS с использованием микропузырьков, таргетирующих ключевые в формировании бляшек эндотелиальные молекулы, перспективен для обнаружения каротидного атеросклероза на самых ранних стадиях заболевания. В частности, для обнаружения воспалительного фенотипа бляшки использовали CEUS с микропузырьками, связывающими P-селектин и VCAM-1, ключевые молекулы трафика лейкоцитов, который является ранней стадией воспалительных процессов, связанных с образованием бляшек. Микропузырьки, таргетирующие P-селектин и VCAM-1, связываются преимущественно с участками поражений. Использование метода CEUS рекомендовано для оценки атеросклеротических каротидных поражений, подверженных риску разрыва. На более поздней стадии заболевания наиболее изученным параметром для прогнозирования уязвимости бляшек является неоваскуляризация, обнаружить которую помогают микропузырьки, конъюгированные с рецептором VEGFR. Коммерчески доступные микропузырьки для CEUS уже использовались для диагностики у миллионов пациентов и считаются безопасными. Однако есть противопоказания, которые следует учитывать: аллергия на контрастный агент, нестабильная стенокардия, ИМ, острая сердечная недостаточность, значительный сердечный шунт и эндокардит. В настоящее время одобрены и используются в клинической практике четыре

вида микропузырьков второго поколения: Optison (перфлуртрен-белковые микросферы), Definity (перфлуртрен-липидные микросферы), SonoVue (гексафторидные микропузырьки в фосфолипидных капсулах) и Levovist (гранулы, состоящие из галактозы и пальмитиновой кислоты) [9].

Считается, что внутрибляшечное кровоизлияние возникает из-за нарушения тонкостенных микрососудов, выстланных прерывистым эндотелием без поддержки ГМК. Оно является одним из критериев уязвимости бляшек, так как делает каротидные бляшки нестабильными и обычно сопровождается неоваскуляризацией, распространяющейся из *vasa vasorum* адвентиции через медиа в утолщенную интиму каротидной атеромы. Микрососудистая пролиферация — основной фактор уязвимости бляшек у пациентов с КС. Поэтому важно найти маркер для обнаружения хрупких микрососудов. Образцы, полученные при КЭЭ, окрашивали на эндотелиальные маркеры CD31 (PECAM-1, маркер сосудистых ЭК и тромбоцитов) и CD105 (эндоглин, рецептор TGF- $\beta$ ). Среднее число микрососудов с экспрессией CD31 составляло 5,8, с экспрессией CD105 — 9,2 ( $p=0,04$ ). CD105 является лучшим маркером микрососудов в каротидных бляшках, чем CD31, для оценки нестабильности бляшек коронарной артерии [10].

Внутрибляшечное содержание ГМК, ЭК и воспалительных клеток, уровни ангиогенных факторов VEGF, PDGF, ангиопоэтина и рецептора VEGFR-2 в стабильных и нестабильных бляшках исследовали у пациентов с прогрессирующим КС >70%. По сравнению со стабильными поражениями сонных артерий в нестабильных каротидных бляшках интимальная неоваскуляризация, возникающая из сосудов адвентиции, прилегающей к бляшке, увеличена почти вдвое, что значимо коррелирует с накоплением воспалительных клеток ( $p < 0,001$ ). В нестабильных поражениях уровень VEGF повышен, а ангиопоэтина — снижен по сравнению со стабильными. В крови пациентов с нестабильными бляшками уровень VEGF также выше, чем у пациентов со стабильными бляшками. Значимые корреляции показывают тесную связь между стабильностью бляшек, экспрессией ангиогенных факторов, неоваскуляризацией и воспалением у пациентов с прогрессирующим КС [58].

Для выделения ангиогенных участков ВКМ (содержащего хрупкие CD105-позитивные тонкостенные сосуды) и неангиогенных сосудистых областей (CD105-негативные, покрытые ГМК) бляшек, удаленных во время КЭЭ, и идентификации пат-

терна генной экспрессии использовали лазерную микродиссекцию. Ангиогенные молекулы Notch-3, DLL4 (delta-like-4), Tie-2, ангиопоэтин-1 (Ang-1), рецептор RAGE (receptor for advanced glycation end products) и антиангиогенный фактор эндостатин были активированы в этих участках. Локализация CD105-позитивных микрососудов внутри интимы и совместная локализация Notch-3, DLL4, Tie-2 и Ang-1 в одних и тех же сосудах указывает на множественные/синергетические сигнальные механизмы ангиогенеза. Знание комбинированных эффектов ангиогенных и антиангиогенных факторов может помочь в разработке новых терапевтических средств, предназначенных для стабилизации бляшек или предотвращения их образования при лечении атеросклероза [59].

VEGF является основным ангиогенным фактором, регулирующим рост, функцию и гомеостаз, проницаемость и вазодилатацию сосудов. Нормальный ангиогенез восстанавливает нормоксию стенки сосуда и способствует разрешению воспаления, а патологический усиливает прогрессирование атеросклероза, инфильтрацию макрофагов и толщину стенки сосуда, стабилизируя гипоксию и некроз. В частности, неоангиогенез бляшек способствует их прогрессированию к разрыву. ГМК, расположенные под ранними атероматозными поражениями и стимулированные накоплением липидов в артериальной стенке, приобретая ангиогенный фенотип, могут стать основным источником VEGF. Инфильтрирующие ПМН вносят вклад в локальную продукцию VEGF [1].

Задача, стоящая перед клиницистами, заключается в выявлении пациентов с бессимптомным КС с риском нестабильности бляшек. Предполагается, что локально высвобожденные ангиогенные факторы роста способствуют нестабильности бляшек. В процесс неоваскуляризации вовлечено множество проангиогенных факторов, включая фактор HGF (hepatocyte growth factor), плейотропный цитокин с сильным митогенным и морфогенным действием на различные типы клеток, в том числе ЭК и ГМК. Бляшки, извлеченные при КЭЭ у симптоматических и бессимптомных пациентов, изучены на плотность микрососудов и экспрессию ангиогенных ростовых факторов. Оценили циркулирующие биомаркеры в венозной крови у тех же пациентов и здоровых возрастных контролей. Продемонстрированы (1) большая плотность неососудов в бляшках симптоматических пациентов с повышенной экспрессией фактора HGF и его рецептора MET по сравнению с бляшками бессимптомных паци-

ентов; (2) большая активация эндоглина (CD105), HGF и MET у пациентов; (3) повышенные сывороточные уровни HGF у симптоматических пациентов по сравнению с бессимптомными пациентами и здоровым контролем (1033 против 78,9 пг/мл,  $p=0,002$ ); (4) снижение сывороточного уровня PDGF у симптоматических пациентов (531 против 1097 пг/мл,  $p=0,036$ ); (5) увеличение экспрессии мРНК HGF в 5 раз ( $p=0,001$ ) и MET в 3 раза ( $p=0,011$ ) в симптоматических и асимптоматических бляшках. Как в симптоматических, так и в бессимптомных бляшках присутствуют MET-позитивные ГМК. Используемая в исследовании технология суспензионных чипов имеет потенциал для идентификации циркулирующих биомаркеров, которые коррелируют с риском разрыва бляшек [5].

Ангиогенез зависит не только от инвазии и пролиферации ЭК, он также требует покрытия сосудистых отростков муральными клетками (перипитами и ГМК) для стабилизации сосудов. Эти процессы координируются многими факторами, включая PDGF и его рецептор. Блокада рецептора PDGF в моделях мыши ингибирует ангиогенез, что согласуется с ролью PDGF в высвобождении проангиогенных факторов и отсутствием муральных клеток. PDGF вызывает приток ГМК на поверхность открытых кровеносных сосудов. В свете этих данных можно предположить, что низкий уровень PDGF у пациентов с неврологическими симптомами по сравнению с бессимптомными пациентами может привести к увеличению количества «протекающих» сосудов и большей нестабильности бляшек. Таким образом, нестабильность бляшек может быть опосредована индуцируемым HGF образованием новых микрососудов и снижением стабильности сосудов в результате снижения экспрессии PDGF [5].

Выявлена локальная экспрессия гена *HGF* в каротидных бляшках. Учитывая, что фактор HGF регулирует пролиферацию и апоптоз ЭК, его присутствие в бляшках может способствовать атерогенезу. Экспрессия HGF в каротидных бляшках у пациентов с неврологическими симптомами коррелирует с повышением системных уровней HGF у этих пациентов. Показана сильная ассоциация между увеличением числа новых сосудов в каротидных бляшках и инсультом. Повышенная неоваскуляризация в симптоматических бляшках связана с увеличением экспрессии HGF и MET. Наличие HGF в атеросклеротических поражениях и отсутствие в здоровой каротидной артерии свидетельствует о том, что HGF может участвовать в патогенезе этой болезни. HGF стимулирует инвазивность моноцитов и привлече-

ние их в бляшку. Взаимодействие ГМК с моноцитами приводит к продукции HGF клетками обоих типов и поддерживает воспалительную реакцию. Поскольку HGF является мощным ангиогенным фактором, его присутствие в атеросклеротических поражениях способствует неоваскуляризации бляшки и ассоциировано с неоваскуляризованными областями внутри бляшки. Ангиогенез и миграция ЭК через ВКМ требуют его деградации матриксными металлопротеиназами, которые индуцирует HGF. HGF может использоваться в качестве биомаркера для скрининга бессимптомных пациентов с каротидной болезнью средней степени тяжести, а также в качестве терапевтической мишени для таргетирования неоваскуляризации через сигнальный путь HGF/MET [5].

Изменение циркулирующих субпопуляций Т-клеток может отражать локальный иммунный процесс в бляшках. Васкуляризованные каротидные бляшки сильно воспалены. У пациентов с КС исследовали 8 сегментов сонной артерии (общая сонная артерия, каротидная луковица, внутренняя и наружная сонная артерия билатерально). Измеряли общую площадь бляшки и проводили контрастное ультразвуковое исследование (CEUS) с использованием контрастного агента гексафторида серы. Неоваскуляризация (CEUS+) обнаружена в 24% бляшек, и у 68% пациентов было по меньшей мере 1 поражение CEUS+. У каждого пациента количество циркулирующих Т-лимфоцитов CD4+ HLA-DR+ негативно коррелирует со степенью стеноза, неоваскуляризацией (числом поражений CEUS+,  $p=0,002$ ) и общей площадью бляшки. Не обнаружено никакой связи между другими субпопуляциями циркулирующих Т-клетками и неоваскуляризацией, общей площадью бляшки и степенью стеноза. У пациентов с неоваскуляризацией в  $\geq 1$  бляшке значительно увеличена общая площадь бляшки по сравнению с пациентами с неоваскуляризацией в  $\leq 1$  бляшке. Число Т-клеток CD4+ HLA-DR+, общее число лейкоцитов и лимфоцитов не связаны с факторами сердечно-сосудистого риска и продолжающимся лечением. Неососуды бляшки высокопроницаемы и способствуют экстравазации лейкоцитов. Соответственно, процент Т-клеток CD4+ HLA-DR+ в 2,6 раза выше среди Т-клеток, изолированных из каротидных бляшек, по сравнению с их долей в крови. Таким образом, показана связь между морфологическими признаками каротидной бляшки, васкуляризацией и Т-клеточными маркерами [60].

Моноциты первыми из лейкоцитов привлекаются в развивающиеся атеросклеротические пораже-

ния. Внутри бляшки моноциты дифференцируются в макрофаги, которые составляют значительную часть клеточных компонентов бляшки. Известно, что моноциты играют ключевую роль в иницировании и прогрессировании атеросклероза и участвуют в дестабилизации бляшек, генерируя сигналы, способствующие воспалению и неоангиогенезу. Субпопуляции моноцитов у пациентов с прогрессирующими атеросклеротическими бляшками могут дифференциально влиять на атеротромбоз и стать новым биомаркером стратификации сердечно-сосудистых рисков. В клиническом исследовании «IMaging Della PLAcca Carotidea» (NCT03333330) у пациентов с бессимптомным КС (40–70%) оценивали максимальный стеноз общей сонной артерии, каротидной луковицы и внутренней сонной артерии, общую площадь бляшки и степень неоваскуляризации прогрессирующих каротидных бляшек. Оценивали абсолютное число циркулирующих моноцитов CD14+, классических (CD14<sup>high</sup>CD16<sup>-</sup>), промежуточных (CD14<sup>high</sup>CD16<sup>+</sup>) и неклассических (CD14<sup>low</sup>CD16<sup>+</sup>) моноцитов и Т-лимфоцитов HLA-DR+ в крови. Степень неоваскуляризации бляшки ассоциирована со значительно меньшим количеством циркулирующих моноцитов CD14+ и классических моноцитов независимо от системной воспалительной активности (нормальный уровень hsCRP и IL6). Моноциты фенотипа CD14<sup>high</sup>CD16+ являются лучшими предикторами будущих сердечно-сосудистых событий. Уменьшение числа циркулирующих CD14+ и классических моноцитов CD14<sup>high</sup>CD16- у пациентов с повышенной неоваскуляризацией бляшек может быть следствием их перераспределения из крови в бляшки; однако эта гипотеза не доказана. По мнению авторов, подсчет абсолютного числа клеток может быть важнее, чем определение процентов. Эти данные свидетельствуют о том, что системный воспалительный статус не всегда отражает локальное воспалительное состояние бляшек и что анализ субпопуляций моноцитов может служить новым инструментом для характеристики атеросклеротического фенотипа [57].

Неоангиогенез включает в себя перекрестные связи между различными типами клеток (ЭК, ГМК, моноциты/макрофаги) и связан с активацией ключевых сигнальных путей, в первую очередь путь VEGF/VEGFR, который участвует в пролиферации и миграции ЭК. Повышенная местная продукция VEGF-A описана в уязвимых высоковазкуляризованных прогрессирующих каротидных бляшках, обогащенных воспалительными клетками.

Уровни циркулирующего VEGF-A при этом не отражают усиление ангиогенного ответа внутри бляшки на гипоксию [57].

### Панель биомаркеров

Несколько циркулирующих биомаркеров вовлечены в симптоматическую трансформацию атеросклеротической каротидной бляшки и ассоциированы с эрозией, воспалением, разрывом бляшек и тромбозом. Поскольку отдельные биомаркеры не обладают достаточной дискриминирующей способностью, чтобы влиять на принятие клинических решений, предложен «многомаркерный подход», способный предоставить клинически полезную информацию [39]. Проблема биомаркеров заключается в том, что они часто влияют друг на друга. Так, если уровень одного из них повышается, другие тоже повышаются. Сочетание таких биомаркеров не обязательно приводит к повышению прогностического значения отдельных факторов. Чтобы создать панель биомаркеров для более надежного прогноза инсульта, необходимы независимые маркеры для повышения общей чувствительности и особенно специфичности. Для этой цели может потребоваться комбинация сывороточных биомаркеров (miR-145 [53], СРБ [61], D-димера и фибриногена [62], sICAM-1, MMP-9, TIMP-1, hsCRP, sVCAM-1 [20]), обеспечивающая более эффективный прогностический индекс.

Изъязвление бляшки, обнаруженное при ультразвуковом исследовании, является прямым признаком разрыва бляшки [63]. Изъязвленная каротидная бляшка считается причиной ИИ по механизму локального тромбоза и эмболии из артерии в артерию. Продемонстрированы различные особенности изъязвленной и неизъязвленной каротидной атеросклеротической бляшки. У пациентов с изъязвленными бляшками объем гипоехогенных бляшек и степень стеноза выше, чем у пациентов с неизъязвленными бляшками. Изъязвленная бляшка положительно ассоциирована со стенозом и объемом бляшек после коррективной операции на пол и возраст. Уровни MMP-9 и hsCRP у пациентов с изъязвленными бляшками значительно превышают уровни в группе неизъязвленной бляшки. У пациентов с изъязвленными бляшками степень КС коррелирует с уровнями MMP-9 и hsCRP и вовлечены в патогенез ОИИ. При стенозе  $\geq 50\%$  наблюдается значимое повышение уровней MMP-9 и hsCRP по сравнению с КС  $< 50\%$  ( $p < 0,01$ ) [8]. Авторы предлагают использовать MMP-9 и hsCRP в качестве мишени адьювантной терапии КС на молекулярном уровне.

В качестве эндокринного органа жировая ткань секретирует широкий спектр медиаторов (адипоцитокинов), которые участвуют в атеросклеротическом процессе. Баланс про- и противовоспалительных адипоцитокинов играет роль в определении риска ССЗ. Среди них лептин ассоциирован с прогрессированием атеросклероза и худшим клиническим исходом, особенно у пациентов с ожирением, а адипонектин является сильным протективным фактором. Продемонстрировано прогностическое значение соотношения уровней сывороточного лептина и адипонектина (LAR) относительно исходов ИИ. Метаболические аномалии (такие как ожирение и диабет) резко влияют на уровни адипоцитокинов в циркуляции, поэтому адипоцитокины могут быть более точными биомаркерами ССЗ у некоторых категорий пациентов, а не в общей популяции. Проведено исследование корреляций уровней адипонектина и лептина, а также LAR с циркулирующими и внутрибляшечными показателями воспаления у пациентов с экстракраниальным внутренним КС высокой степени (>70%), прошедших КЭЭ. Адипонектин отрицательно коррелирует с гликемией, инсулином и С-пептидом (фрагмент молекулы проинсулина), а уровни лептина в сыворотке — положительно. Уровни адипонектина отрицательно ассоциированы с системным, но не внутрибляшечным воспалением (циркулирующими лейкоцитами, нейтрофилами, моноцитами), а также с уровнями MMP-8, MMP-9 и IL-6, что подтверждает протективную роль адипонектина при слабом системном воспалении. Отмечена слабая положительная связь между LAR и циркулирующими лейкоцитами и нейтрофилами. У пациентов с низким уровнем циркулирующего адипонектина ( $\leq 2,56$  мкг/мл) увеличено количество лейкоцитов и нейтрофилов по сравнению с группой высокого адипонектина ( $> 2,56$  мкг/мл). При этом пороговом уровне пациенты с низким уровнем адипонектина в сыворотке имеют более высокий риск ОКС ( $p=0,0003$ ). Внутрибляшечные липиды негативно коррелируют с циркулирующими уровнями адипонектина и LAR. Уровни адипонектина в сыворотке положительно ассоциированы с концентрациями Х-ЛПВП, циркулирующих маркеров системного воспаления (лейкоцитами, MMP и IL-6) и липидов бляшек, которые являются маркерами нестабильности, и отрицательно — с концентрациями триглицеридов. У пациентов с низкими концентрациями адипонектина показан более низкий уровень общего холестерина и Х-ЛПВП, а также повышенная гликемия по сравнению с пациентами с высоким уровнем адипонектина [64].

Считается, что LAR — более эффективный параметр для оценки риска ССЗ, чем отдельные молекулы. Результаты показывают, что лептин может оказывать более сильное влияние на метаболизм глюкозы, чем липидов. С другой стороны, подчеркивается тот факт, что лептин может играть второстепенную роль в качестве биомаркера сосудистого воспаления у пациентов с тяжелым КС, вопреки тому, что наблюдается у пациентов с ожирением, у которых этот адипоцитокин является валидированным регулятором сосудистого воспаления. Между лептином и внутрибляшечными биомаркерами достоверной корреляции не наблюдалось. Напротив, адипонектин является более перспективным биомаркером сосудистого воспаления у пациентов с прогрессирующим атеросклерозом. Результаты исследования показывают, что высокий уровень адипонектина в сыворотке является защитным при атерогенезе, потенциально ингибирующим проатеросклеротические пути. Уровни адипонектина в сыворотке могут использоваться в качестве предиктора ОКС у пациентов с тяжелым КС. Важно отметить, что эта функция не зависит от других известных факторов, таких как пол, возраст и диабет. Авторы уверены в том, что дисрегуляция адипоцитокинов может быть патофизиологически релевантна более поздним стадиям заболевания [64].

Проведена количественная оценка продукции цитокинов, хемокинов и MMP в клетках, изолированных из каротидных бляшек, для картирования воспалительной среды, ответственной за нестабильность. Количество моноцитов/макрофагов, инфильтрирующих бляшку, связано с уязвимостью бляшек к разрыву, и воспалительный инфильтрат особенно велик в участках эрозии и разрыва бляшек. Продукция *in vitro* ряда медиаторов в нестабильных бляшках симптоматических пациентов значительно выше, чем у бессимптомных, в том числе TNF $\alpha$ , IL1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, М-КСФ, ГМ-КСФ, MMP-3 и MMP-9, хемокинов CCL2, CCL5, CCL20, CXCL9 и CXCL10, что подтверждает неразрывную связь между воспалением, деградацией матрикса и уязвимостью бляшек к разрыву при атеросклерозе [65].

Классическая (M1) активация в ответ на бактериальный липополисахарид и интерферон IFN $\gamma$  отражает поляризацию Th1-лимфоцитов. Макрофаги M1 продуцируют провоспалительные цитокины IL-1, IL12 и TNF $\alpha$ . В ответ на воспалительные сигналы генерируется альтернативный (M2) макрофагальный фенотип. Прогрессирование атеросклеротического поражения коррелирует с преобладанием макрофагов M1 над M2. В бляшках присутствуют несколько

внутриклеточных и поверхностных маркеров поляризации макрофагов M1 и M2 и смесь M1/M2 с сегрегацией этих двух фенотипов в разных частях бляшки, причем активация M1 преобладает в зонах, подверженных разрыву. При каротидном атеросклерозе преобладают макрофаги M1. Клетки, изолированные из каротидных бляшек, вызывающих неврологические симптомы, также поддерживают *in vitro* M1-поляризацию макрофагов [66]. Провоспалительные цитокины макрофагального происхождения TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$  и IL-6, факторы GM-CSF и M-CSF, хемокины CCL5, CCL20 и CXCL9, протеиназы MMP-1, MMP-3 и MMP-9 в симптоматических бляшках экспрессируются на достоверно более высоком уровне по сравнению с бессимптомными. Экспрессия TIMP3 и TIMP4 обнаружена у большинства пациентов, но без существенной разницы между пациентами с симптоматическим и бессимптомным атеросклерозом [65].

Дифференциальная секреция классической триады провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$  и IL-6 макрофагального происхождения у пациентов с неврологическими симптомами и без них указывает на важное место этих медиаторов в провоспалительной микросреде атеросклеротической бляшки высокого риска, виновной в появлении неврологических симптомов. Дифференциальная секреция IFN $\gamma$ -индуцибельных хемокинов CCL5, CXCL9 и CCL20 представляет собой «сигнатуру» IFN $\gamma$ , которая характеризует каротидную бляшку высокого риска. Важно отметить, что эта цитокиновая/хемокиновая сигнатура симптоматического каротидного атеросклероза соответствует макрофагальному фенотипу M1 [65].

Таким образом, даже изолированные клетки атеромы поддерживают *in vitro* провоспалительное программирование, характерное для поляризации макрофагов M1. Повышенная экспрессия M-CSF и GM-CSF в нестабильной бляшке указывает на важную роль дифференцировки макрофагов. В частности, GM-CSF придает макрофагам провоспалительные свойства, включая продукцию воспалительных цитокинов, таких как TNF $\alpha$  и IL6, и их участие в патогенезе болезни. Уровни GM-CSF значимо коррелируют с IL1 $\alpha$ , IL1 $\beta$  и TNF $\alpha$  при атеросклерозе. Следует отметить, что различия в экспрессии цитокинов, хемокинов и MMP были выраженными, несмотря на то, что большинство пациентов в этом исследовании получали длительную терапию статинами. Это говорит о том, что индивидуализированная терапия, направленная на модуляцию воспаления, может обеспечить преимущество по сравнению со стандартным лечением [65].

### Дополнительные биомаркеры

Эндотелиальная активация, вызванная воспалением в каротидной бляшке, а также системное воспаление могут способствовать образованию тромбов. Исследование каротидных бляшек, удаленных у пациентов с ИИ, показало, что изъязвление и тромбоз чаще встречаются у пациентов с неврологическими симптомами. Идентификация белков протеома крови, которые влияют на воспаление у пациентов с каротидным атеросклерозом, может дать представление о причине образования тромбов и биомаркеры для выявления пациентов, которым угрожает развитие симптоматического КС. Пациентов с историей предшествующего разрыва каротидной бляшки, проявлявшегося как инсульт или транзиторная ишемическая атака (симптоматические), сравнивали с пациентами без клинических признаков разрыва бляшки (асимптоматические). Анализ сыворотки симптоматических и бессимптомных пациентов, перенесших КЭЭ, и здоровых людей соответствующего возраста выявил 4 дифференциально экспрессирующихся протеина:  $\alpha$ (1)-антитрипсин (A1AT), гаптоглобин (HPT), витамин D-связывающий белок (VTDB), экспрессия которых подавлена, и предшественник  $\alpha$ (2)-гликопротеина (LRG), который активирован у симптоматических пациентов. HPT и A1AT — острофазовые реактанты, известные как факторы риска инсульта. Гаптоглобин имеет несколько функций, благодаря которым он может служить кофактором симптоматического атеросклероза. Это реагент острой фазы, который связывает свободный гемоглобин, и индуктор противовоспалительных цитокинов. HPT также может связывать гемоглобин с ЛПВП, что делает его потенциально атерогенной молекулой. VTDB (vitamin D binding protein) является основным плазматическим носителем витамина D и его метаболитов. Кроме того, VTDB выполняет другие важные функции, включая утилизацию актина, транспорт жирных кислот, активацию макрофагов и усиление хемотаксиса нейтрофилов и макрофагов. Актиновые нити из поврежденных клеток могут усилить тромбоз. VTDB из активированных ЭК имеет хемотаксическую функцию и служит фактором роста ГКМ сосудов. У пациентов, которые были симптоматическими до КЭЭ, более низкие уровни VTDB, что способствует нестабильности атероматозной бляшки. Уровень белка LRG (leucine-rich  $\alpha_2$ -glycoprotein precursor) повышен у симптоматических пациентов, проходящих КЭЭ. Это реагент острой фазы, индуцируемый провоспалительными цитокинами, токсичный для лимфоцитов. Идентификация этих бел-

ков предполагает, что эти биомаркеры могут помочь в выявлении пациентов с высоким риском развития каротидного атеросклероза [66].

Циркулирующие биомаркеры, секретируемые воспалительными клетками и непосредственно участвующие в атерогенезе, такие как неоптерин и sCD163, указывают на уязвимость бляшек к разрыву [57].

### Заключение

Идентификация биомаркеров, связанных с атерогенезом, прогрессированием заболевания и признаками нестабильности бляшек, такими как воспаление или неоваскуляризация атеросклеротической каротидной бляшки, может дать новые инструменты для стратификации гетерогенной популяции пациентов на группы риска. Важной причиной ишемического инсульта является трансформация покоящегося атеросклеротического поражения сонной артерии в нестабильную бляшку, уязвимую для разрыва и тромбоэмболии. Большинство атеросклеротических поражений васкуляризируется, и неососуды могут способствовать прогрессированию и уязвимости бляшек. Изучение ассоциаций биомаркеров воспаления и неоваскуляризации и их комбинаций у пациентов с КС в сопоставлении с клиническими данными, такими как неврологические симптомы и/или нестабильность бляшки, позволяет оценить их прогностическое значение для определения риска последующих цереброваскулярных событий. Каротидные бляшки, вызвавшие ишемические неврологические симптомы, характеризуются микросредой, благоприятствующей привлечению воспалительных клеток, провоспалительной поляризации макрофагов и дальнейшему прогрессированию заболевания. Сложные высокорисковые бляшки ассоциированы с повышением экспрессии биомаркеров воспаления. Следовательно, определение циркулирующих воспалительных маркеров имеет потенциал для идентификации людей с нестабильными воспаленными атеросклеротическими бляшками. Ориентация на молекулярную основу образования бляшек может позволить раннее выявление заболевания и улучшить стратификацию риска. Например, повышенные уровни некоторых ММР и hsCRP могут использоваться в качестве дополнительных методов диагностики КС на молекулярном уровне.

Увеличенное число микрососудов в нестабильных бляшках может быть источником активированных эндотелиальных клеток, которые важны для адгезии и активации лейкоцитов. Инфильтра-

ция лейкоцитов и других воспалительных клеток приводит к высвобождению матриксных металлопротеиназ, которые вызывают разрушение бляшек. Морфологическая природа «незрелых» неососудов может облегчить разрыв, что усугубляет провоспалительную микросреду.

Сегодня нет клинически подтвержденных биомаркеров для прогнозирования риска развития инсульта у бессимптомных пациентов. Молекулярная характеристика нестабильного атеросклероза необходима для поиска таргетной терапии, стабилизирующей бляшки. Необходимы новые терапевтические мишени и новые конечные точки для оценки эффективности лечения. Дальнейшие наблюдения, особенно масштабные проспективные клинические исследования, необходимы для оценки значимости таких биомаркеров. Кроме того, правильные пороговые уровни должны быть точно интерпретированы и тщательно переоценены, прежде чем их можно будет использовать в клинической практике.

### Источник финансирования

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

### Funding source

This study was not supported by any external sources of funding.

### Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

### Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

### Вклад авторов

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

### Author contribution

All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.



## Список литературы / References

1. Marino F, Tozzi M, Schembri L, et al. Production of IL-8, VEGF and elastase by circulating and intraplaque neutrophils in patients with carotid atherosclerosis. *PLoS One*. 2015;10(4):e0124565. doi: 10.1371/journal.pone.0124565
2. Rao VH, Kansal V, Stoupa S, Agrawal DK. MMP-1 and MMP-9 regulate epidermal growth factor-dependent collagen loss in human carotid plaque smooth muscle cells. *Physiol Rep*. 2014;2(2):e00224. doi: 10.1002/phy2.224
3. Ammirati E, Moroni F, Norata GD, et al. Markers of inflammation associated with plaque progression and instability in patients with carotid atherosclerosis. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:718329. doi: 10.1155/2015/718329
4. Bazan HA, Hatfield SA, Brug A, et al. Carotid plaque rupture is accompanied by an increase in the ratio of serum circR-284 to miR-221 levels. *Circ Cardiovasc Genet*. 2017;10(4):pii: e001720. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.117.001720
5. Chowdhury M, Ghosh J, Slevin M, et al. A comparative study of carotid atherosclerotic plaque microvessel density and angiogenic growth factor expression in symptomatic versus asymptomatic patients. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2010;39(4):388–395. doi: 10.1016/j.ejvs.2009.12.012
6. Bonaventura A, Mach F, Roth A, et al. Intraplaque expression of C-reactive protein predicts cardiovascular events in patients with severe atherosclerotic carotid artery stenosis. *Mediators Inflamm*. 2016;2016:9153673. doi: 10.1155/2016/9153673
7. Jaroslav P, Christian R, Stefan O, et al. Evaluation of serum biomarkers for patients at increased risk of stroke. *Int J Vasc Med*. 2012;2012:906954. doi: 10.1155/2012/906954
8. Sun R, Wang L, Guan C, et al. Carotid atherosclerotic plaque features in patients with acute ischemic stroke. *World Neurosurg*. 2018;112:e223–e228. doi: 10.1016/j.wneu.2018.01.026
9. Alonso A, Artemis D, Hennerici MG. Molecular imaging of carotid plaque vulnerability. *Cerebrovasc Dis*. 2015;39(1):5–12. doi: 10.1159/000369123
10. Fukumitsu R, Takagi Y, Yoshida K, Miyamoto S. Endoglin (CD105) is a more appropriate marker than CD31 for detecting microvessels in carotid artery plaques. *Surg Neurol Int*. 2013;4:132. doi: 10.4103/2152-7806.119081
11. Folkersen L, Persson J, Ekstrand J, et al. Prediction of ischemic events on the basis of transcriptomic and genomic profiling in patients undergoing carotid endarterectomy. *Mol Med*. 2012;18(1):669–675. doi: 10.2119/molmed.2011.00479
12. Perisic L, Aldi S, Sun Y, et al. Gene expression signatures, pathways and networks in carotid atherosclerosis. *J Intern Med*. 2016;279(3):293–308. doi: 10.1111/joim.12448
13. Forrester SJ, Kawai T, O'Brien S, et al. Epidermal growth factor receptor transactivation: mechanisms, pathophysiology, and potential therapies in the cardiovascular system. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2016;56:627–653. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-070115-095427
14. Ulu N, Mulder GM, Vavrinc P, et al. Epidermal growth factor receptor inhibitor PKI-166 governs cardiovascular protection without beneficial effects on the kidney in hypertensive 5/6 nephrectomized rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2013;345(3):393–403. doi: 10.1124/jpet.113.203497
15. Moroni F, Magnoni M, Vergani V, et al. Fractal analysis of plaque border, a novel method for the quantification of atherosclerotic plaque contour irregularity, is associated with pro-atherogenic plasma lipid profile in subjects with non-obstructive carotid stenoses. *PLoS One*. 2018;13(2):e0192600. doi: 10.1371/journal.pone.0192600
16. Karadimou G, Folkersen L, Berg M, et al. Low *TLR7* gene expression in atherosclerotic plaques is associated with major adverse cardio- and cerebrovascular events. *Cardiovasc Res*. 2017;113(1):30–39. doi: 10.1093/cvr/cvw231
17. Grufman H, Gonçães I, Edsfieldt A, et al. Plasma levels of high-sensitive C-reactive protein do not correlate with inflammatory activity in carotid atherosclerotic plaques. *J Int Med*. 2014;275(2):127–133. doi: 10.1111/joim.12133
18. Poredos P, Spirkoska A, Lezaic L, et al. Patients with an inflamed atherosclerotic plaque have increased levels of circulating inflammatory markers. *J Atheroscler Thromb*. 2017;24(1):39–46. doi: 10.5551/jat.34884
19. Setacci C, de Donato G, Chisci E, et al. Deferred urgency carotid artery stenting in symptomatic patients: clinical lessons and biomarker patterns from a prospective registry. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2008;35(6):644–651. doi: 10.1016/j.ejvs.2008.02.003
20. Yu H, Huang Y, Chen X, et al. High-sensitivity C-reactive protein in stroke patients — the importance in consideration of influence of multiple factors in the predictability for disease severity and death. *J Clin Neurosci*. 2017;36:12–19. doi: 10.1016/j.jocn.2016.10.020
21. Del Porto F, Proietta M, di Gioia C, et al. FGF-23 levels in patients with critical carotid artery stenosis. *Intern Emerg Med*. 2015;10(4):437–444. doi: 10.1007/s11739-014-1183-3
22. Janczak D, Ziolkowski P, Szydełko T, et al. The presence of some cytokines and Chlamydia pneumoniae in the atherosclerotic carotid plaque in patients with carotid artery stenosis. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2015;69:227–232. doi: 10.5604/17322693.1140498
23. Lepedda AJ, Nieddu G, Zinellu E, et al. Proteomic analysis of plasma-purified VLDL, LDL, and HDL fractions from atherosclerotic patients undergoing carotid endarterectomy: identification of serum amyloid A as a potential marker. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:385214. doi: 10.1155/2013/385214
24. Montanari E, Stojkovic S, Kaun C, et al. Interleukin-33 stimulates GM-CSF and M-CSF production by human endothelial cells. *Thromb Haemost*. 2016;116(2):317–327. doi: 10.1160/TH15-12-0917
25. Katagiri M, Takahashi M, Doi K, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin concentration reflects severity of coronary artery disease in patients without heart failure and chronic kidney disease. *Heart Vessels*. 2016;31(10):1595–1602. doi: 10.1007/s00380-015-0776-8

26. Eilenberg W, Stojkovic S, Piechota-Polanczyk A, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is associated with symptomatic carotid atherosclerosis and drives pro-inflammatory state in vitro. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2016;51(5):623–631. doi: 10.1016/j.ejvs.2016.01.009
27. Johnson JL, Jenkins NP, Huang WC, et al. Relationship of MMP-14 and TIMP-3 expression with macrophage activation and human atherosclerotic plaque vulnerability. *Med Inflamm.* 2014;2014:276457. doi: 10.1155/2014/276457
28. Norata G, Ballantyne C, Catapano A. New therapeutic principles in dyslipidaemia: focus on LDL and Lp(a) lowering drugs. *Eur Heart J.* 2013;34(24):1783–1789. doi: 10.1093/eurheartj/ehs088
29. Saksi J, Ijas P, Mayranpaa MI, et al. Low-expression variant of fatty acid-binding protein 4 favors reduced manifestations of atherosclerotic disease and increased plaque stability. *Circ Cardiovasc Gen.* 2014;7(5):588–598. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.113.000499
30. Van de Voorde J, Pauwels B, Boydens C, Decaluwe K. Adipocytokines in relation to cardiovascular disease. *Metab Clin Exp.* 2013;62(11):1513–1521. doi: 10.1016/j.metabol.2013.06.004
31. Mayer FJ, Gruenberger D, Schillinger M, et al. Prognostic value of neutrophils in patients with asymptomatic carotid artery disease. *Atherosclerosis.* 2013;231(2):274–280. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.10.002
32. Ammirati E, Moroni F, Magnoni M, Camici PG. The role of T and B cells in human atherosclerosis and atherothrombosis. *Clin Exp Immunol.* 2015;179(2):173–187. doi: 10.1111/cei.12477
33. Sternberg Z, Ghanim H, Gillotti KM, et al. Flow cytometry and gene expression profiling of immune cells of the carotid plaque and peripheral blood. *Atherosclerosis.* 2013;229(2):338–347. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.04.035
34. Martin-Ventura JL, Madrigal-Matute J, Munoz-Garcia B, et al. Increased CD74 expression in human atherosclerotic plaques: contribution to inflammatory responses in vascular cells. *Cardiovasc Res.* 2009;83(3):586–594. doi: 10.1093/cvr/cvp141
35. Mantani PT, Ljungcrantz I, Andersson L, et al. Circulating CD40+ and CD86+ B cell subsets demonstrate opposing associations with risk of stroke. *Arterioscl Thromb Vasc Biol.* 2014;34(1):211–218. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.302667
36. Baragetti A, Palmen J, Garlaschelli K, et al. Telomere shortening over 6 years is associated with increased subclinical carotid vascular damage and worse cardiovascular prognosis in the general population. *J Int Med.* 2015;277(4):478–487. doi: 10.1111/joim.12282
37. Willeit P, Thompson SG, Agewall S, et al. Inflammatory markers and extent and progression of early atherosclerosis: meta-analysis of individual-participant-data from 20 prospective studies of the PROG-IMT Collaboration. *Eur J Prev Cardiol.* 2016;23(2):194–205. doi: 10.1177/2047487314560664
38. Olson NC, Doyle MF, Jenny NS, et al. Decreased naive and increased memory CD4+ T cells are associated with subclinical atherosclerosis: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *PLoS ONE.* 2013;8(8):e71498. doi: 10.1371/journal.pone.0071498
39. Musialek P, Tracz W, Tekieli L, et al. Multimarker approach in discriminating patients with symptomatic and asymptomatic atherosclerotic carotid artery stenosis. *J Clin Neurol.* 2013;9(3):165–175. doi: 10.3988/jcn.2013.9.3.165
40. Gabrile SA, Antonangelo L, Capelozzi VR, et al. Analysis of the acute systemic and tissue inflammatory response following carotid endarterectomy. *Int Angiol.* 2016;35(2):148–156.
41. Iłżecki M, Iłżecka J, Przywara S, et al. Effect of carotid endarterectomy on brain damage markers. *Acta Neurol Scand.* 2017;135(3):352–359. doi: 10.1111/ane.12607
42. SPREAD. Stroke prevention and educational awareness diffusion. Hyperphar Group: Milano; 2007. 696 p. Available from: <http://www.spread.it/>
43. Fittipaldi S, Pini R, Pasquinelli G, et al. High sensitivity C-reactive protein and vascular endothelial growth factor as indicators of carotid plaque vulnerability. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 2016;57(6):861–871.
44. Szabo P, Lantos J, Nagy L et al. l-Arginine pathway metabolites predict need for intra-operative shunt during carotid endarterectomy. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2016;52(6):721–728. doi: 10.1016/j.ejvs.2016.10.008
45. Gohar A, Gonçalves I, Vrijenhoek J, et al. Circulating GDF-15 levels predict future secondary manifestations of cardiovascular disease explicitly in women but not men with atherosclerosis. *Int J Cardiol.* 2017;241:430–436. doi: 10.1016/j.ijcard.2017.03.101
46. Bazan HA, Hatfield SA, O'Malley CB, et al. Acute loss of miR-221 and miR-222 in the atherosclerotic plaque shoulder accompanies plaque rupture. *Stroke.* 2015;46(11):3285–3287. doi: 10.1161/STROKEAHA.115.010567
47. Duschek N, Stojakovic T, Ghai S, et al. Ratio of apolipoprotein A-II/B improves risk prediction of postoperative survival after carotid endarterectomy. *Stroke.* 2015;46(6):1700–1703. doi: 10.1161/STROKEAHA.115.009663
48. Cole JE, Kassiteridi C, Monaco C. Toll-like receptors in atherosclerosis: a 'Pandora's box' of advances and controversies. *Trends Pharmacol Sci.* 2013;34(11):629–636. doi: 10.1016/j.tips.2013.09.008
49. Dominguez-Villar M, Gautron A-S, Marcken M, et al. TLR7 induces anergy in human CD4+ T cells. *Nat Immunol.* 2015;16(1):118–128. doi: 10.1038/ni.3036
50. Foks AC, Lichtman AH, Kuiper J. Treating atherosclerosis with regulatory T cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015;35(2):280–287. doi: 10.1161/ATVBAHA.114.303568
51. Pekarova M, Koudelka A, Kolarova H, et al. Asymmetric dimethyl arginine induces pulmonary vascular dysfunction via activation of signal transducer and activator of transcription 3 and stabilization of hypoxia-inducible factor 1-alpha. *Vasc Pharmacol.* 2015;73:138–148. doi: 10.1016/j.vph.2015.06.005
52. Arfvidsson B, Nilsson TK, Norgren L. S100B concentrations increase perioperatively in jugular vein blood despite limited metabolic and inflammatory response to clinically uneventful carotid endarterectomy. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53(1):111–117. doi: 10.1515/cclm-2014-0283

53. Jia L, Hao F, Wang W, et al. Circulating miR-145 is associated with plasma highsensitivity C-reactive protein in acute ischemic stroke patients. *Cell Biochem Funct.* 2015;33(5):314–319. doi: 10.1002/cbf.3116
54. Galyfos G, Sigala F, Tsioufis K, et al. Postoperative cardiac damage after standardized carotid endarterectomy procedures in low- and high-risk patients. *Ann Vasc Surg.* 2013;27(4):433–440. doi: 10.1016/j.avsg.2012.06.028
55. Galyfos G, Zografos G, Filis K. Regarding “cardiac morbidity of carotid endarterectomy using regional anesthesia is similar to carotid stent angioplasty”. *Vasc Endovascular Surg.* 2015;49(1-2):45–46. doi: 10.1177/1538574415587513
56. Rigamonti F, Carbone F, Montecucco F, et al. Serum lipoprotein (a) predicts acute coronary syndromes in patients with severe carotid stenosis. *Eur J Clin Invest.* 2018;48(3). doi: 10.1111/eci.12888
57. Ammirati E, Moroni F, Magnoni M, et al. Circulating CD14<sup>+</sup> and CD14<sup>high</sup>CD16<sup>-</sup> classical monocytes are reduced in patients with signs of plaque neovascularization in the carotid artery. *Atherosclerosis.* 2016;255:171–178. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.10.004
58. Pelisek J, Well G, Reeps C, et al. Neovascularization and angiogenic factors in advanced human carotidartery stenosis. *Circ J.* 2012;76(5):1274–1282. doi: 10.1253/circj.11-0768
59. Slevin M, Turu MM, Rovira N, et al. Identification of a ‘snapshot’ of co-expressed angiogenic markers in laser-dissected vessels from unstable carotid plaques with targeted arrays. *J Vasc Res.* 2010;47(4):323–335. doi: 10.1159/000265566
60. Ammirati E, Magnoni M, Moroni F, et al. Reduction of circulating HLA-DR<sup>+</sup> T cell levels correlates with increased carotid intraplaque neovascularization and atherosclerotic burden. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2016;9(10):1231–1233. doi: 10.1016/j.jcmg.2015.10.010
61. Shimizu K, Shimomura K, Tokuyama Y, et al. Association between inflammatory biomarkers and progression of intracranial large artery stenosis after ischemic stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2013;22(3):211–217. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2011.07.019
62. Liu LB, Li M, Zhuo WY, et al. The role of hs-CRP, D-dimer and fibrinogen in differentiating etiological subtypes of ischemic stroke. *PLoS One.* 2015;10(2):e0118301. doi: 10.1371/journal.pone.0118301
63. Naylor AR. Identifying the high-risk carotid plaque. *Cardiovasc Surg.* 2014;55(2 Suppl 1):11–20.
64. Liberale L, Carbone F, Bertolotto M, et al. Serum adiponectin levels predict acute coronary syndrome (ACS) in patients with severe carotid stenosis. *Vascul Pharmacol.* 2018;102:37–43. doi: 10.1016/j.vph.2017.12.066
65. Shalhoub J, Viiri LE, Cross AJ, et al. Multi-analyte profiling in human carotid atherosclerosis uncovers pro-inflammatory macrophage programming in plaques. *Thromb Haemost.* 2016;115(5):1064–1072. doi: 10.1160/TH15-08-0650
66. Stoger JL, Gijbels MJ, van der Velden S, et al. Distribution of macrophage polarisation markers in human atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2012;225(2):461–468. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.09.013

## Информация об авторах

**Щербак Сергей Григорьевич**, д.м.н., профессор [Sergey G. Scherbak, Dr. Sci. (Med.), Professor]; адрес: Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9 [address: 7/9 Universitetskaya Embankment, 199034, Saint Petersburg, Russia]; e-mail: b40@zdrav.spb.ru; eLibrary SPIN: 1537-9822

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5047-2792>

**Камилова Татьяна Аскарровна**, к.б.н. [Tatyana A. Kamilova, Cand. Sci. (Biol.)]; e-mail: kamilovaspb@mail.ru; eLibrary SPIN: 2922-4404

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6360-132X>

**Лебедева Светлана Владимировна** [Svetlana V. Lebedeva, MD]; e-mail: dr.lebedeva@gmail.com

**Вологжанин Дмитрий Александрович**, д.м.н. [Dmitry A. Vologzhanin, Dr. Sci. (Med.)]; e-mail: volog@bk.ru; eLibrary SPIN: 7922-7302

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1176-794X>

**Голота Александр Сергеевич**, к.м.н., доцент [Alexander S. Golota, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor]; e-mail: golotaa@yahoo.com; eLibrary SPIN: 7234-7870

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5632-3963>

**Макаренко Станислав Вячеславович** [Stanislav V. Makarenko, MD]; e-mail: st.makarenko@gmail.com; eLibrary SPIN: 8114-3984

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1595-6668>

**Апалько Светлана Вячеславовна**, к.б.н. [Svetlana V. Apalko, Cand. Sci. (Biol.)]; e-mail: svetlana.apalko@gmail.com eLibrary SPIN: 7053-2507

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3853-4185>