

**Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр  
профилактической медицины»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

*На правах рукописи*

Гомыранова Наталия Вячеславовна

**Изучение взаимосвязи биохимических маркеров атерогенных нарушений  
с биологическим и хронологическим старением сосудов**

03.01.04. – Биохимия

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научные руководители:  
доктор биологических наук,  
профессор  
Метельская Виктория Алексеевна;  
доктор медицинских наук,  
профессор  
Ткачева Ольга Николаевна

МОСКВА

2018

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>5</b>
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>12</b>
1.1 Эпидемиология возраст-ассоциированных заболеваний.....	12
1.2 Морфологическая структура артериальной стенки и изменения, приводящие к нарушению ее физиологических свойств.....	14
1.3 Способы определения артериальной жесткости.....	21
1.4 Механизмы и проявления биологического старения сосудов, независимые от хронологического возраста.....	22
1.5 Роль нарушений в системе транспорта липидов плазмы крови в развитии дисфункции сосудистой стенки, приводящие к ее жесткости и патологическим изменениям.....	24
1.5.1 Гетерогенность апоВ содержащих липопротеидов.....	26
1.5.2 Липопротеид (а).....	29
1.6 Связь функциональных и патологических нарушений в сосудистой стенке с системой инсулинзависимой утилизации глюкозы.....	31
1.7 Воспаление, окислительный стресс и жесткость сосудистой стенки.....	37
1.8 Нарушения системы гемостаза и жесткость сосудистой стенки.....	41
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИСЛЕДОВАНИЯ....</b>	<b>43</b>
2.1 Клинико-инструментальные методы.....	45
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....</b>	<b>52</b>
3.1 Характеристика пациентов: клинико-антропометрические данные.....	52
3.2 Взаимосвязь нарушений системы липопротеидов плазмы крови с биологическим и хронологическим возрастом сосудов.....	54
3.3 Особенности субфракционного распределения апо В-содержащих липопротеидов.....	59
3.4 Инсулинзависимая утилизация глюкозы.....	66
3.5 Хроническое воспаление/система гемостаза.....	69
3.6 Корреляты скорости распространения пульсовой волны с факторами риска ССЗ.....	72
3.7 Моделирование рисков на основе анализа ассоциаций СРПВ с	77

традиционными и новыми факторами риска ССЗ.....	
<b>3.8 Оценка диагностической значимости биомаркеров.....</b>	<b>83</b>
<b>3.9 Значение вариаций субфракционного спектра апо В- содержащих липопротеидов в детерминации риска наличия жестких артерий.....</b>	<b>89</b>
<b>ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ .....</b>	<b>95</b>
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>	<b>108</b>
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>110</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....</b>	<b>113</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....</b>	<b>114</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>115</b>

В настоящей работе использованы следующие термины:

- **Хронологический возраст сосудов** – соответствует возрасту человека;
- **Биологический возраст сосудов** – соответствует степени жесткости сосудистой стенки (молодые сосуды - с нормальной жесткостью, СРПВ  $\leq 10$  м/с; старые сосуды – жесткие, СРПВ  $> 10$  м/с).

|

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность проблемы

Болезни системы кровообращения, включая сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), сохраняют лидирующие позиции среди основных причин заболеваемости, инвалидности и смертности в развитых странах, в том числе, в России [6]. В международных эпидемиологических исследованиях было показано, что хронологический (паспортный) возраст человека является одним из основных факторов риска этих заболеваний. Полученные к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что важнейшую роль в детерминации биологического возраста играет физиологическое состояние стенки артерий, а старение сосудов, в свою очередь, сопряжено со старением всего организма и развитию заболеваний [6, 126, 195]. Это связано с тем, что появляющиеся с возрастом структурно-функциональные изменения артериальной стенки создают условия, которые способствуют началу и/или прогрессированию ССЗ [5]. Имеются данные о том, что скорость и степень возрастных изменений в сосудистой стенке зависит от множества факторов и их взаимодействий между собой, а именно: наследственности, образа жизни, факторов окружающей среды и наличия сопутствующих заболеваний. В итоге, артериальная жесткость все чаще рассматривается как важный фактор, определяющий уровень сердечно-сосудистого риска [5, 6, 34, 195].

Достижения последних лет в области изучения биологии сосудов позволили выявить некоторые механизмы старения сосудов. Так, было показано, что зависимые от возраста изменения сосудов проявляются в виде расширения диаметра аорты, утолщения стенки артерий (в основном, за счет утолщения интимы), дисфункции сосудистого эндотелия и повышении показателей жесткости артерий [194]. Именно увеличение жесткости сосудов считается главным признаком их старения и связано с отложением кальция в стенке сосуда, повышением количества коллагена и снижением содержания эластина, развитием

дисфункции эндотелия [5, 126, 217]. Артериальную жесткость рассматривают в качестве предвестника атеросклероза; показана значимая ассоциация между СРПВ и наличием атеросклеротических бляшек в коронарных артериях [96], а такие показатели артериальной жесткости [5], как скорость распространения пульсовой волны (СРПВ) и индекс аугментации, считают суррогатными кардиоваскулярными маркерами [87, 141]. Повышенную жесткость артерий эластического типа считают независимым фактором риска развития сердечно-сосудистых и церебро-васкулярных заболеваний и рассматривают в качестве маркера риска их развития [56].

Таким образом, сочетание ряда взаимосвязанных возрастных нарушений приводит к увеличению жесткости артерий и, в итоге, к серьезным гемодинамическим нарушениям.

Наиболее признанным показателем жесткости и, соответственно, старения сосудистой стенки в настоящее время является СРПВ [6]. Измерение СРПВ является простым, неинвазивным, надежным и воспроизводимым методом определения жесткости артерий. По данным изменения СРПВ можно количественно оценить биологическое старение сосудов [117, 118].

Наряду с увеличением жесткости сосудов существенный вклад в развитие их возрастных изменений вносят нарушения ряда биохимических систем организма, в том числе, транспорта липидов в составе липопротеидов плазмы крови, инсулинзависимой утилизации глюкозы клетками, а также сочетание этих нарушений [5, 6]. В качестве пусковых механизмов возрастных изменений сосудистой стенки рассматривают окислительный стресс, хроническое воспаление, повышенную склонность к тромбообразованию [7, 44, 79, 168].

Липопротеиды плазмы крови, в составе которых происходит транспорт холестерина (ХС) и триглицеридов (ТГ), постоянно контактируют с эндотелием и, таким образом, вовлечены в регуляцию эндотелиальной функции. Действительно, образование и накопление липопротеидов низкой плотности (ЛНП), особенно мелких плотных частиц ЛНП, а также, химически модифицированных, т.е. окисленных, гликозилированных липопротеидов, ассоциировано с биологическим

старением [33, 44, 158]. В связи с этим изучение связи различных показателей системы липопротеидов с жесткостью сосудов (как индикатором их старения) представляется актуальной задачей.

В литературе имеются данные о связи между сочетанным повышением уровня глюкозы, нарушением ее инсулинзависимой утилизации и наличием атерогенной дислипидемии (ДЛП), с одной стороны, и повышенной жесткостью сосудистой стенки, с другой. Окислительный стресс, обусловленный избытком активных форм кислорода и проявляющийся в виде хронического воспаления и/или дисфункции сосудистого эндотелия, также способствует раннему старению сосудов.

Вместе с тем, следует отметить, что описанные механизмы сосудистого старения изучались, в основном, в экспериментах на животных и в культурах клеток. Вопрос о том, существует ли взаимосвязь между возрастными характеристиками сосудов, определяемыми с помощью клинико-инструментальных методов, и биохимическими маркерами, которые свидетельствуют о высоком атерогенном потенциале и определяются в крови лабораторными методами, и каков характер такой взаимосвязи, остается нерешенным.

На основании накопленных к настоящему времени данных литературы было сформулировано предположение о том, что нарушения функционирования метаболических систем организма, сопряженные с повышенным атерогенным потенциалом, в определенной мере способствуют преждевременному биологическому старению сосудов, что, в совокупности, может привести к раннему атеросклерозу и артериосклерозу.

Исходя из вышесказанного, представляется целесообразным выяснить: вовлечены ли в процессы сосудистого старения, связанного или не связанного с хронологическим возрастом человека, сочетания кардиометаболических нарушений в системе липопротеидов, а также наличие гипергликемии и/или инсулинорезистентности [6] и проявлений хронического воспаления и/или окислительного стресса. Поскольку известно, что чем более выражены

возрастные изменения стенки сосуда, тем быстрее развивается атеросклероз, который в свою очередь ускоряет возрастные изменения [6, 93, 142], ассоциацию биохимических маркеров атерогенности с процессами старения сосудистой стенки важно оценить именно у лиц без клинических проявлений атеросклероза.

#### **Цель исследования:**

Изучить взаимосвязь между биохимическими маркерами атеротромбогенных нарушений с биологическим (структурно-функциональным) и хронологическим возрастом сосудов у лиц без клинических проявлений атеросклероза и выяснить возможность их использования в качестве биомаркеров сосудистого старения.

#### **Задачи работы:**

1) Выявить наличие и изучить характер связи с биологическим (СРПВ) и хронологическим возрастом сосудов биохимических показателей функциональной активности ряда метаболических систем, включая:

- липид-транспортную систему крови: определение спектра липидов и липопротеидов, уровня аполипопротеинов АІ и В, липопротеида (а);
- систему инсулин-опосредованного поглощения глюкозы клетками: определение уровня глюкозы, гликированного гемоглобина, С-пептида, инсулина, расчет индекса инсулинорезистентности НОМА-ІR;
- систему гемостаза: определение уровня фибриногена, активности фактора Виллебранда;
- выраженность хронического воспаления: определение уровня интерлейкина-6 (ІЛ-6), высокочувствительного С-реактивного белка (вчСРБ).

2) Изучить связь СРПВ с субфракционным спектром апо В-содержащих липопротеидов; сравнить два метода определения концентрации мелких плотных ЛНП.

3) Определить корреляционные связи между СРПВ, как показателем



жесткости артерий, и биохимическими факторами, вовлеченными в патогенез атеротромбоза, в зависимости от хронологического возраста.

4) С помощью математических моделей оценить и проанализировать вклад факторов риска ССЗ и биохимических показателей, а также их сочетаний в детерминацию риска наличия жестких сосудов.

5) Разработать и предложить комплексный маркер, позволяющий оценивать состояние сосудистой стенки до проведения клинико-инструментальных исследований.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Биологический возраст сосудов определяется совокупностью метаболических (биохимических) процессов, протекающих в плазме крови, и физиологическими особенностями функционирования артериальной стенки.
2. Жесткость сосудов у молодых (ускоренное, или преждевременное биологическое старение) ассоциируется с повышенным уровнем АД, избыточной массой тела, атерогенными сдвигами в спектре липопротеидов, нарушениями углеводного обмена в виде повышенной концентрации С-пептида и сниженной чувствительности тканей к действию инсулина, а также начальными проявлениями хронического воспаления артериальной стенки и склонностью к тромбообразованию.
3. Эластичность сосудистой стенки у лиц старшего возраста сопряжена с низким уровнем ТГ и ЛОНП и сохраняется, несмотря на незначительно повышенные уровни глюкозы и HbA1c, а также более высокие показатели хронического воспаления и тромбообразования.
4. Жесткость артериальной стенки у лиц старшей возрастной группы (сочетание хронологического и биологического старения) ассоциируется с проатерогенными изменениями субфракционного спектра апо В-содержащих липопротеидов, гипергликемией, повышенным уровнем HbA1c, С-пептида и, как следствие, развитием инсулинорезистентности.

### Научная новизна

Впервые в зависимости от хронологического возраста (годы) проведен комплексный сравнительный анализ результатов клинико-инструментальной оценки состояния артериальной стенки (биологического возраста сосудов) и уровнем ключевых биохимических показателей, характеризующих состояние метаболизма. Выявлены зависимые и/или независимые от хронологического возраста человека взаимосвязи между жесткостью сосудов и показателями липид-транспортной системы, проявлениями инсулинорезистентности, признаками хронического воспаления.

Впервые показано, что в относительно молодом возрасте (до 45 лет), повышенная СРПВ чаще сочетается с основными факторами риска ССЗ, что свидетельствует о высоком суммарном риске этих заболеваний у молодых людей.

Впервые сформирован комплекс показателей, детерминирующих развитие жестких сосудов у молодых, к которым относятся повышенное АД, избыточная масса тела, нарушения углеводного обмена и атерогенный липидный профиль.

Впервые в мире проведен анализ субфракционного спектра липопротеидов низких плотностей в зависимости от возраста и СРПВ; выявлены особенности субфракционного распределения этих липопротеидов у младших с жесткими сосудами и у старших с эластичными. Установлено, что преждевременное формирование жестких сосудов у лиц младшего возраста связано с повышенной долей ЛОНП и ЛПП В и концентрацией в них ХС.

Впервые обнаружено, что эластичность сосудистой стенки у лиц старшего возраста сопряжена с низким уровнем ТГ и ЛОНП и сохраняется, несмотря на незначительно повышенные по сравнению с младшими уровни глюкозы и HbA1c, а также более высокие показатели хронического воспаления и тромбообразования. Жесткость сосудов у хронологически старшей группы сопряжена с увеличенной долей более мелких подфракций ЛПП (ЛПП В и ЛПП А), близких к ЛНП.

Полученные результаты позволили обнаружить специфику реализации механизмов утилизации ТГ-богатых липопротеидов в зависимости от хронологического и биологического возраста.

### **Практическая значимость**

Результаты работы позволяют полагать, что применение различных подходов, включая контроль АГ, дислипидемии, нарушений углеводного обмена вполне обосновано с точки зрения снижения биологического возраста сосудов.

Для оценки вероятности ускоренного биологического старения сосудов на основании полученных данных сформирован простой доступный для практического здравоохранения малоинвазивный КМ. Определены оптимальные пороговые значения показателей, составивших КМ: это уровни АД, ИМТ, ТГ и С-пептида. Предложенный КМ целесообразно использовать при прогнозировании вариантов старения сосудов у конкретного пациента и учета обнаруженных нарушений при планировании индивидуальных профилактических мероприятий. При разработке целенаправленных персонализированных профилактических мероприятий следует учитывать и полученные в работе данные по возрастной специфике коррелятов СРПВ, свидетельствующих о наличии у молодых большего числа факторов риска, ассоциированных с повышенной СРПВ.

Определена значимость характеристики субфракционного спектра липопротеидов низких плотностей и возможность детекции мелких плотных частиц ЛНП простым методом. Анализ субфракционного распределения липопротеидов низких плотностей с помощью системы Липопринт целесообразно использовать для научных исследований; доступный автоматизированный энзиматический метод – для широкого использования в лабораторной диагностике нарушений липидного профиля даже при нормолипидемии.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Эпидемиология возраст-ассоциированных заболеваний

Болезни системы кровообращения, включая сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), сохраняют лидирующие позиции среди основных причин заболеваемости, инвалидности и смертности в развитых странах, в том числе, в России [3, 18, 19]. По имеющимся оценкам, к 2025 году смертность от ССЗ в мировом масштабе, вероятно, превысит таковую от других хронических неинфекционных заболеваний (ХНИЗ) [7, 50, 215].

Согласно результатам эпидемиологических исследований, хронологический возраст человека является одним из основных факторов риска ССЗ [5]. И хотя последовательные механизмы влияния возраста на развитие ССЗ остаются неясными, имеются данные о том, что формирование патологических изменений сердечно-сосудистой системы сопряжено с процессом старения артериальной стенки сосудов, что, в свою очередь, способствует развитию ССЗ [115].

В настоящее время нет четкого определения процесса старения. Так, отечественные ученые И.И. Мечников, В.М. Дильман под термином «старение» понимали «...болезнь, имеющую свои специфические симптомы», и отождествляли понятие «...нормального хронологического старения с возрастной патологией».

Связь между физиологическим старением и ассоциированными с ним заболеваниями активно обсуждается и в настоящее время. Долгое время считалось, что причиной развития ССЗ у лиц старшего возраста является более длительное воздействие известных факторов риска ССЗ, а специфическое влияние старения как таковое имело разные трактовки [53]. Как полагают, это связано с тем, что при формировании ассоциированных с возрастом структурно-функциональных изменений сосудистой стенки создаются условия, которые способствуют началу и/или прогрессированию ССЗ [6,7]. Имеются данные о том, что скорость и выраженность возрастных изменений в артериальной стенке

зависит от множества факторов и их взаимодействий между собой, включая наследственную предрасположенность, стиль жизни, факторы окружающей среды и сопутствующие заболевания [7].

Увеличение толщины стенки сонных артерий и их жесткости обнаруживают у больных с АГ, метаболическим синдромом или СД; эти различия сохраняются и после поправки на возраст [120]. Повышенную жесткость артерий, как независимый фактор риска смерти как от ССЗ, так и от всех причин отмечали у больных АГ, у пожилых, у лиц с нарушенной толерантностью к глюкозе и у больных с хронической почечной недостаточностью [56]. Интересно, что у больных с хронической почечной недостаточностью обнаружен и сниженный уровень в крови недавно обнаруженного белка Клото, который, как полагают, является независимым маркером артериальной жесткости у таких больных [107]. В исследовании, выполненном на популяционной выборке, была показана независимая ассоциация между повышенным уровнем белка Клото и низкой вероятностью развития ССЗ [170].

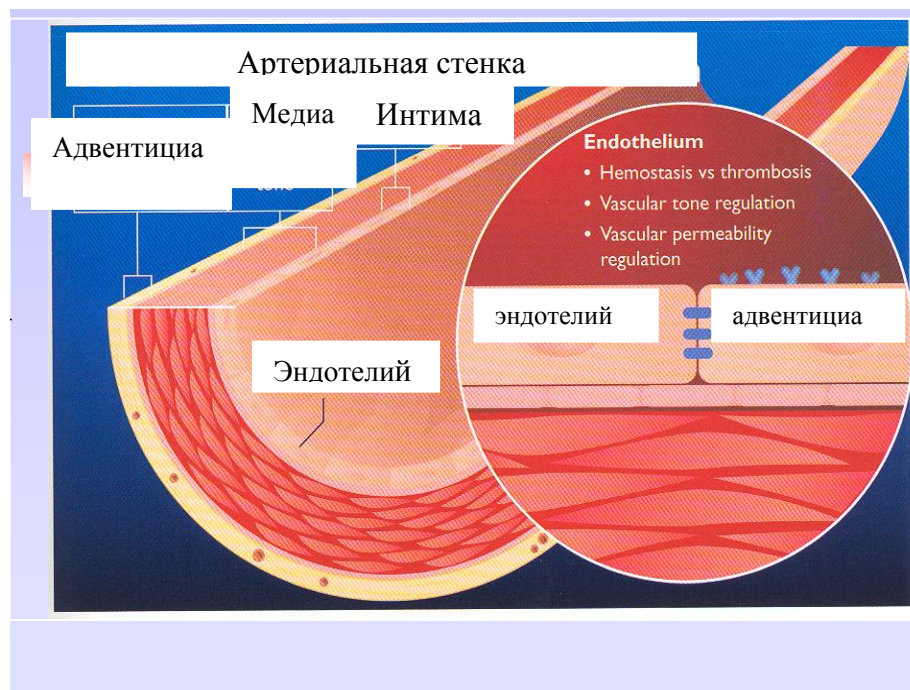
Несмотря на противоречивость, в литературе имеются данные о более выраженном увеличении артериальной жесткости с возрастом у женщин, особенно в период постменопаузы [120]. Недавно в Корее было проведено исследование по определению влияния старения на параметры артериальной жесткости, такие как СРПВ и индекс аугментации, у здоровых лиц с наличием кардиоваскулярных факторов риска или без них. В исследовании приняло участие 1 750 человек 17-87 лет, которые были практически здоровы и не принимали антигипертензивных, сахароснижающих и липид-снижающих препаратов. Оказалось, что у лиц более молодого возраста (1 и 2 квартили распределения когорты по возрасту) и центральное, и пульсовое давление были ниже у женщин по сравнению с мужчинами, однако в возрасте около 45 лет пульсовое давление у женщин резко нарастало, причем таким образом, что женщины 50 лет и старше уже имели более высокие показатели, чем мужчины. Аналогичная тенденция имела место по показателю центральной пульсовой волны [120].

Известно, что как суммарный и остаточный риск ССЗ, так и биологическое старение сосудов сопряжены с отклонениями ряда биохимических показателей крови, детерминирующих развитие атеротромбоза. К ним можно отнести нарушения спектра липопротеидов – основной системы транспорта липидов, включая перекисное окисление липидов, активацию факторов воспаления, нарушения инсулин-зависимой утилизации глюкозы, тромбообразования [6]. В детерминации биологического возраста человека ключевую роль играет физиологическое состояние сосудов, патологические изменения в которых приводят к старению организма и развитию ССЗ [5, 126, 195]. По данным ряда исследований, структура и функция сосудов определенным образом программируются во время ранних периодов жизни; такие программы включают ряд механизмов, которые могут обусловить формирование морфологических и функциональных факторов сердечно-сосудистого риска [149, 150].

## **1.2 Морфологическая структура артериальной стенки и изменения, приводящие к нарушению ее физиологических свойств**

В норме артерии имеют хорошо развитую трехслойную структуру: интима, медиа и адвентиция (Рисунок 1); при этом каждый из слоев выполняет определенную роль в системной циркуляции.

Внутренняя оболочка, или интима, которая представляет собой монослой эндотелиальных клеток, непосредственно прилегающих к базальной пластине (мембране), долгое время считалась инертным барьером, разделяющим кровоток и внутренние мышечные слои артерий. Эндотелиальные клетки интимы артерий образуют уникальную поверхность, постоянно контактирующую с кровью. В эндотелиальных клетках артерий протекают крайне важные, тонко регулируемые процессы, обеспечивающие сосудистый гомеостаз, который часто нарушается при развитии заболеваний артерий [35, 180].



**Рисунок 1 - Артериальная стенка: структура и функции**

Средняя оболочка сосудистой стенки, или медиа, находится между средней и внутренней эластической мембраной. Медиа эластических артерий, например, аорты, характеризуется наличием хорошо развитых концентрических слоев гладкомышечных клеток (ГМК), чередующихся со слоями обогащенного эластином экстрацеллюлярного (внеклеточного) матрикса (ЭЦМ). Сосудистый эндотелий регулирует гемостаз и сосудистую проницаемость, тогда как медиа служит основным детерминантом эластичности артерий. Очевидно, что нарушение этих функций сопряжено с нарушением кровоснабжения органов и тканей. В самом наружном слое артериальной стенки (адвентиции) локализованы сосуды и нервные окончания [41].

Сосуды отличаются между собой строением среднего слоя:

1. В аорте и крупных артериях преобладают эластические и коллагеновые волокна (сосуды эластического типа), что обеспечивает их упругость и растяжимость.
2. В артериях среднего и мелкого калибра, а также в артериолах, прекапиллярах и венулах преобладают гладкомышечные элементы, обладающие высокой сократимостью (сосуды мышечного типа).

3. В средних и крупных венах содержатся мышцы с низкой сократительной активностью. Мелкие, средние и некоторые крупные вены имеют клапаны (больше всего их в венах нижних конечностей).

В процессе естественного старения (увеличения хронологического возраста) артериальная стенка теряет свою эластичность и становится ригидной (жесткой). Жесткость отражает способность сосудистой стенки выдерживать силу потока крови и противостоять деформации. Наиболее характерными и хорошо описанными изменениями являются увеличение просвета сосуда, сопряженное с утолщением (ремоделированием) его стенки, и снижение эластических свойств крупных артерий эластического типа, что носит название атеросклероза [101, 120]. Увеличение артериальной жесткости является результатом сочетания ряда возрастных и патологических нарушений и может приводить к серьезным негативным отрицательным гемодинамическим нарушениям.

Главной мишенью атеросклероза является артериальная стенка крупных и средних сосудов, очаги атеросклеротического поражения формируются в субэндотелиальном пространстве между слоями интимы и меди.

Важно отметить, что процесс биологического старения сосудов разных бассейнов отличается гетерогенностью: так, в дистальных артериях мышечного типа изменений, обусловленных увеличением жесткости, не происходит, что отличает этот процесс от атерогенеза [144].

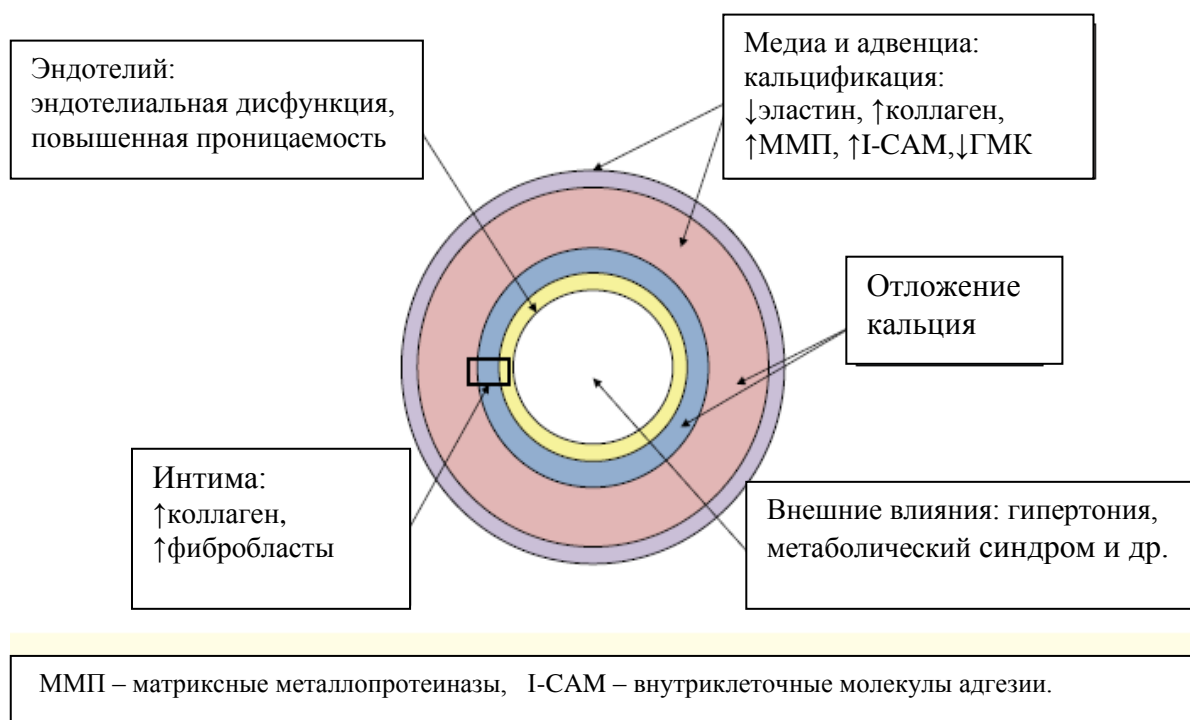
Увеличение жесткости, или ригидности, артерий является как признаком физиологических процессов, связанных с возрастом [40, 143], так и маркером повышенного кардиоваскулярного риска, в частности, у больных артериальной гипертонией (АГ) [128], СД [121], почечной недостаточности в конечной стадии [129]. Кроме того, ускоренному развитию артериальной жесткости способствуют избыточное потребление алкоголя и курение [130].

С возрастом сосудистая система постоянно подвергается ремоделированию, причем даже в отсутствие признаков ССЗ. В последние годы, благодаря успехам в изучении биологии сосудов, удалось установить некоторые механизмы сосудистого старения (Рисунок 2). Это вызывает изменение нормального



функционирования сосудов и развития сердечно-сосудистой патологии [59, 126, 217]. Жесткость сосудистой стенки, или ригидность, сопряжена с развитием ранних атеросклеротических повреждений, а также со скоростью и степенью возрастной утраты важнейших структурных элементов артериальной стенки. При этом, чем более выражены возрастные изменения стенки сосуда, тем быстрее развивается атеросклероз, который в свою очередь ускоряет возрастные изменения [5, 93, 141].

Естественное старение крупных артерий эластического типа детерминировано, в первую очередь, компонентами экстрацеллюлярного (внеклеточного) матрикса (ЭЦМ) артериальной стенки. Действительно, если гладкомышечные клетки (ГМК) определяют, в основном, механические свойства мелких артерий мышечного типа, то компоненты ЭЦМ вовлечены в развитие жесткости эластических артерий и вносят вклад в развитие АГ [196].



**Рисунок 2 - Механизмы сосудистого старения**

Основными компонентами ЭЦМ эластических артерий являются белки эластин, коллаген и ряд так называемых интегрин-связывающих матриксных

белков, включая фибулин-5, который участвует в регуляции формирования эластогенных тканей [213]. Фибриллярный белок эластин - гликопротеин с молекулярной массой 70 кД, принадлежит к группе склеропротеинов. Эластин обеспечивает обратимую растяжимость артериальной стенки во время сердечных сокращений, а коллаген придает ей прочность и препятствует разрыву при повышении давления [196].

Коллаген в организме человека, в том числе, в артериальной стенке представлен разными подтипами, которые существенно различаются и по структуре, и по функции. В норме в артериальной стенке человека 70-75% приходится на коллаген типа-1, 20-25% - тип III и 1-2% на тип V [139]. Механические свойства артерий во многом определяются вариациями соотношения разных подтипов коллагена, при этом изменения в пропорциях подтипов коллагена артерий влияют на жесткость сосудов независимо от изменений его абсолютного содержания.

В процессе старения, а также при ряде заболеваний волокна эластина фрагментируются и разрушаются, что приводит к повышению жесткости артериальной стенки [85]. Было показано, что жесткость артерий - важный независимый предиктор смерти от ССЗ среди больных АГ, СД, с заболеваниями почек в конечной стадии, а также у лиц среднего и пожилого возраста [136].

При разрушении эластина механическая нагрузка, обусловленная потоком крови, переносится на волокна коллаген, которые в 100-1000 раз жестче, чем волокна эластина. Поскольку эластин – один из наиболее стабильных белковых компонентов ЭЦМ, он способен деградировать под действием протеолитических ферментов с «эластазоподобной» активностью. Это протеазы практически всех классов, включая сериновые (нейтрофильная и панкреатическая эластазы) и цистеиновые (катепсин) протеазы, а также некоторые ферменты из семейства матриксных металлопротеиназ (ММП). Именно с активностью ММП связана регуляция структуры ЭЦМ, метаболизма эластина и коллагена и, в итоге, артериальной жесткости. Помимо увеличенной экспрессии ММП, к разрушению

ЭЦМ может привести и сниженная экспрессия тканевых ингибиторов ММП, в первую очередь, тканевого ингибитора ММП-1.

Эластиновые волокна, разрушившиеся в процессе старения или при повреждении сосудистой стенки, обычно не восстанавливаются, поскольку экспрессия эластина, как показано на животных моделях, во взрослом состоянии «выключена» [196].

В такой ситуации усиливается продукция коллагена, за счет чего соотношение эластин/коллаген снижается, и механические свойства артерий обеспечиваются более жесткой коллагеновой структурой. На некоторых животных моделях с индуцированной гипертензией было показано увеличение экспрессии эластина, однако в значительно меньшей степени, чем экспрессии коллагена, так что соотношение эластин/коллаген оставалось смещенным в сторону повышенного содержания коллагена [210]. Еще в одной модели гипертензии было продемонстрировано постоянство отношения эластин/коллаген, однако адекватной сборки вновь синтезированного эластина не происходило; это позволило авторам сделать вывод о том, что механические свойства артериальной стенки не зависят напрямую от количества в ней эластина. Таким образом, в силу стабильности и низкой скорости метаболизма и эластина, и коллагена, остановить изменения в составе ЭЦМ и вернуть артериям нормальные механические функции весьма затруднительно [196].

Одним из механизмов формирования ригидной артериальной стенки является образование фиброзной ткани, что обусловлено избыточной продукцией коллагена, сниженной его деградацией или сочетанием этих процессов. Кроме того, в процессе старения изменяется и структура коллагеновых волокон, что проявляется в уменьшении длины цепочек и степени их скручивания, а также в увеличении количества перекрестных связей.

Артериальная стенка может стать более жесткой за счет кальцификации эластических волокон. Наличие отложений кальция в меди крупных артерий существенно увеличивается с возрастом; обнаружена сильная корреляция между содержанием кальция в аорте человека и артериальной жесткостью. В

эксперименте на крысах было показано, что накопление кальция в артериальной стенке сопровождается увеличением СРПВ [66].

Жесткость эластиновых и коллагеновых фибрилл увеличивается за счет дополнительных перекрестных сшивок в присутствии конечных продуктов гликирования (КПГ). В ходе физиологического старения КПГ накапливаются медленно, однако у больных СД этот процесс значительно ускорен. КПГ индуцируют образование в молекуле коллагена белок-белковых связей. В отличие от обычных перекрестных связей, которые формируются лишь в отдельных участках белковой молекулы и на ее концах, КПГ вызывают образование таких связей по всей длине молекулы коллагена. Перекрестные связи, образованные в присутствии КПГ, могут препятствовать ферментативному расщеплению коллагена и замедлять его деградацию, в результате чего содержание коллагена в артериальной стенке возрастает. Образование перекрестных связей, индуцированное КПГ, происходит и в эластине, а при старении этот процесс ускоряется [12, 36, 111].

Несмотря на то, что в большинстве исследований основное внимание уделялось абсолютному содержанию коллагена, полученные результаты весьма противоречивы [55, 58].

Следует еще раз отметить важную роль экстрацеллюлярного (внеклеточного) матрикса, опосредующего жесткость артериальной стенки. Интересными представляются и данные о наличии значительных ассоциаций между маркерами метаболизма коллагена и показателями липидного профиля крови: уровнем ТГ, ХС ЛВП и ХС ЛНП, хотя различий между пациентами с АГ и здоровыми лицами обнаружено не было [139]. Еще в одном исследовании была описана достоверная взаимосвязь между липопротеидами и ММП-2, ММП-3 и ММП-9, что можно рассматривать как свидетельство ассоциации между атеросклерозом, деградацией коллагена и артериальной жесткостью [151].

### 1.3 Способы определения артериальной жесткости

Следует отметить, что жесткость сосудов связана, главным образом, с артериосклерозом - генерализованным заболеванием меди сосудистой стенки, который не является синонимом атеросклероза - в основном очагового поражения интимы сосудов.

Для измерения жесткости в настоящее время используют три методических подхода: оценку системной, локальной и регионарной жесткости.

С целью оценки системной артериальной жесткости определяют ее податливость, т.е. изменение площади сечения сосудов при определенном уровне давления [15]. Этот метод основан на теоретических предпосылках и не имеет доказательной базы [117, 159].

Метод определения локальной жесткости сосудов позволяет проводить прямое измерение толщины сосудистой стенки. Он характеризуется высокой точностью и позволяет определять как показатели артериальной жесткости, так и исследовать влияние на нее медикаментозной терапии [15]. Однако высокая стоимость метода определения локальной жесткости сосудов не позволяет использовать его в широкой врачебной практике, а также в рамках эпидемиологических исследований.

В настоящее время более доступными являются косвенные методы определения регионарной жесткости. Общепринятым показателем жесткости и, соответственно, старения сосудистой стенки в настоящее время считается скорость распространения пульсовой волны (СРПВ) [5, 117, 122, 159]. Для оценки жесткости аорты, как правило, используется метод измерения СРПВ в каротидно-феморальном бассейне; этот неинвазивный, хорошо воспроизводимый и доступный метод считается «золотым стандартом» в медицинской практике. Метод заключается в определении временной разницы между началом подъема пульсовой волны на сонной и бедренной артериях ( $\Delta t$ ). Расстояние ( $D$ ), которое проходит пульсовая волна, принимается как расстояние между двумя участками артериальной системы, а СРПВ вычисляется как отношение расстояния  $D$  (в

метрах) ко времени прохождения волной этого расстояния  $\Delta t$  (в секундах):  
 $СРПВ = D/\Delta t$  [15].

Еще в 1929 г. в лаборатории Г.Ф. Ланга было сделано заключение, что СРПВ [15] – надежный и обоснованный показатель эластичности аортальной стенки. Было показано, что аортальная СРПВ является сильным независимым предиктором ССЗ и фатальных исходов у пациентов с СД и болезнью почек в конечной стадии [51, 174]. Высокая СРПВ у пациентов с АГ также ассоциирована с ССЗ и высокой смертностью [116].

#### **1.4 Механизмы и проявления биологического старения сосудов, независимые от хронологического возраста**

В детерминации биологического возраста человека ключевую роль играет физиологическое состояние сосудов, которое, в свою очередь, приводит к старению организма и развитию ССЗ [126]. По данным ряда исследований, структура и функция сосудов определенным образом программируются во время ранних периодов жизни; такие программы включают ряд механизмов, которые могут обусловить формирование морфологических и функциональных факторов сердечно-сосудистого риска [149, 150].

Было замечено, что увеличение жесткости как в средних, так и крупной упругой артерии связано с наличием факторов риска ССЗ, в том числе артериальной гипертонией, дислипидемией, ожирением, курением, сахарным диабетом, и старением, каждый из которых также способствуют развитию атеросклероза [168, 173, 201].

Согласно результатам экспериментальных работ, существенный вклад в развитие возрастных изменений сосудов, вносят такие нарушения, как транспорт липидов в составе липопротеидов плазмы крови и инсулин-зависимое поглощение глюкозы клетками, а также сочетание этих нарушений [7]. В качестве механизмов, инициирующих возрастные изменения сосудистой стенки, рассматривают окислительный стресс и хроническое воспаление [77, 168].

Наиболее частой морфологической основой ССЗ является развитие атеросклеротических поражений артериальной интимы с формированием атеросклеротических бляшек. Атеросклеротическая бляшка состоит из ядра, представляющего собой скопление пенистых клеток, происходящих из макрофагов, наполненных липидами, в основном, эфирами ХС [4]. Макрофаги проникают из кровотока в субэндотелиальное пространство коронарных, брахицефальных артерий или артерий, интенсивно работающих мышечных органов, в том числе нижних конечностей. В составе атеросклеротических бляшек обнаруживают также белки соединительной ткани, в частности, эластин и коллаген в разной пропорции, которые образуют покрывающую липидное ядро капсулу – «покрышку». Наибольшую опасность представляют «нестабильные» бляшки с крупным рыхлым липидным ядром и тонкой соединительнотканной покрышкой, которая легко разрушается продуцируемыми макрофагами ММП. При этом если на месте истонченной покрышки бляшки повреждается эндотелий внутренней поверхности артерии, образуется тромб, который может полностью закупорить просвет артерии, что приведет к ишемии и некрозу ткани, ранее кровоснабжаемой пораженной артерией. В результате развиваются наиболее опасные острые осложнения: инфаркт миокарда, мозговой инсульт, поражения периферических органов, аневризма аорты.

Однако в ряде случаев патологические изменения артерий могут носить другой характер, обусловленный биологическими изменениями, в основном, соединительнотканых белков, сходных с теми, которые развиваются в сосудах при старении всего организма. При этом эластичные ткани стенки артерий замещаются более жесткими волокнами коллагена, развивается биологическое старение сосудов. На эти процессы похожи не зависящие от старения всего организма процессы нарушения структуры соединительной ткани, особенно повышение содержания коллагена и уменьшения количества эластина, но развиваются они локально в стенках артерий, и морфологические изменения приводят к их дисфункции во многом связанной с развитием артериальной жесткости, которая диагностируется по нарастанию СРПВ.

К другим механизмам биологического старения сосудов можно отнести нарушения в системе транспорта липидов и спектра липопротеидов плазмы крови, гипергликемию и инсулинорезистентность, нарушения тромбообразования и фибринолиза, хроническое воспаление, эндотелиальную дисфункцию и окислительный стресс.

### **1.5 Роль нарушений в системе транспорта липидов плазмы крови в развитии дисфункции сосудистой стенки, приводящие к ее жесткости и патологическим изменениям**

В то время как структурные и функциональные нарушения сердечно-сосудистой системы при хронологическом физиологическом старении нарастают, наличие сердечно-сосудистых факторов риска ускоряет и усугубляет патологические изменения в сосудистых стенках [168]. Одним из метаболических нарушений, вовлеченных в атерогенез, является атерогенная дислипидемия.

Липопротеиды плазмы крови представляют собой липид-белковые комплексы, транспортирующие ТГ, ХС и его эфиры, фосфолипиды в водной среде – плазме крови. Липопротеиды состоят из гидрофобного неполярного ядра, содержащего ТГ и эфиры ХС, которое покрыто гидрофильной полярной оболочкой, в составе которой находятся ХС, фосфолипиды и белки, или аполипопротеины (апо). Выделяют пять основных классов липопротеидов: хиломикроны (ХМ), липопротеиды очень низкой, промежуточной, низкой и высокой плотности соответственно: ЛОНП, ЛПП, ЛНП и ЛВП [4, 10].

Липопротеиды, организованные по одному принципу, транспортируются в плазме крови направленно, что определяется именно апобелками, входящими в их состав. Так, основным апобелком всех липопротеидов низких плотностей является апо В (апо В-100 в эндогенных липопротеидах и апо В-48 в ХМ). Именно присутствием в частице апо В определяется направленность транспорта липидов из мест их синтеза и/или всасывания во внепеченочные клетки – так называемый прямой транспорт.



ХМ представляют собой липопротеиды экзогенного происхождения, образуются в клетках тонкого кишечника (энтероцитах) и обеспечивают экзогенный транспорт липидов, доставляя липиды, поступающие с пищей.

ЛОНП служат основной транспортной формой образующихся в печени эндогенных ТГ; в ходе гидролиза ТГ в плазме крови под действием специфических ферментов – липаз – ЛОНП превращаются в ЛПП и затем в ЛНП. В печени же образуются и ЛВП, основным белковым компонентом которых является апо АI, определяющий захват избытка ХС с клеточных мембран и доставку его в печень для утилизации и выведения из организма, осуществляя так называемый обратный транспорт ХС.

Многочисленными исследованиями было показано, что высокий уровень в крови общего ХС, ХС ЛНП и ТГ наряду со сниженным уровнем ХС ЛВП увеличивает риск развития ИБС, связанной с атеросклерозом [9, 148].

Наряду с этим нарушения транспорта липидов в составе липопротеидов вносят существенный вклад в развитие возрастных изменений артериальной стенки [142]. Действительно, липопротеиды плазмы крови постоянно контактируют с эндотелием сосудистой стенки и вовлечены в процессы регуляции эндотелиальной функции. При этом влияние апо В-содержащих липопротеидов низких плотностей и ЛВП связано не только с их количеством в плазме крови, но и качеством липопротеидовых частиц, обусловленных составом их компонентов и структурой и определяющим их функциональную активность.

В соответствии с недавно проведенными исследованиями, нарушения в виде сниженного уровня ХС ЛВП в плазме крови могут привести к увеличению артериальной жесткости и диастолической дисфункции левого желудочка у больных гипертонической болезнью независимо от возраста, пола, массы тела, статуса курения, а также уровня общего ХС, ХС ЛНП, ТГ [31, 61, 73]. О связи нарушений липидного профиля с состоянием сосудистой стенки свидетельствуют и результаты ряда исследований, показавших, что терапия статинами, даже краткосрочная (8-недельная), сопровождается улучшением показателей

эластичности сосудистой стенки, в том числе достоверным снижением индекса сосудистой жесткости более чем на 20% [8, 16].

Связь между высоким уровнем ТГ в плазме крови и повышенным риском ИБС доказана во многих эпидемиологических и клинических исследованиях [39, 103]. Наряду с этим, в литературе имеются данные и о наличии слабой, но достоверной корреляции между содержанием в плазме крови ТГ и показателями артериальной жесткости. Примечательно, что атерогенность триглицерид-богатых липопротеидов обусловлена не столько повышенным уровнем самих ТГ, сколько холестерином, особенно эфиров ХС, транспортируемым в составе этих липопротеидов. Это приводит к тому, что сердечно-сосудистый риск может быть повышен даже в отсутствие выраженной гиперхолестеринемии или при нормолипидемии [74, 211].

Известно, что в одной частице ЛНП содержится одна молекула апо В; это дает основания полагать, что концентрация апо В в плазме крови более точно отражает количество частиц ЛНП, чем уровень ХС ЛНП. Действительно, результаты некоторых [140, 163], но не всех [217] проспективных популяционных исследований указывают на более тесную корреляцию кардиоваскулярных эпизодов с уровнем апо В, чем с уровнем ХС ЛНП.

В последние годы ограничения в способности предсказывать кардиоваскулярный риск способствовали развитию усилий, направленных на поиск новых маркеров риска и совершенствование методов углубленного анализа и оценки системы транспорта липидов, помимо традиционного измерения уровней в плазме крови ХС, входящего в состав ЛНП и ЛВП [11].

### **1.5.1 Гетерогенность апо В-содержащих липопротеидов**

Липопротеиды плазмы крови гетерогенны и представлены в виде субфракций, которые варьируют по размеру, плотности, химическому составу, электрическому заряду и функциональной активности [49, 57, 114].

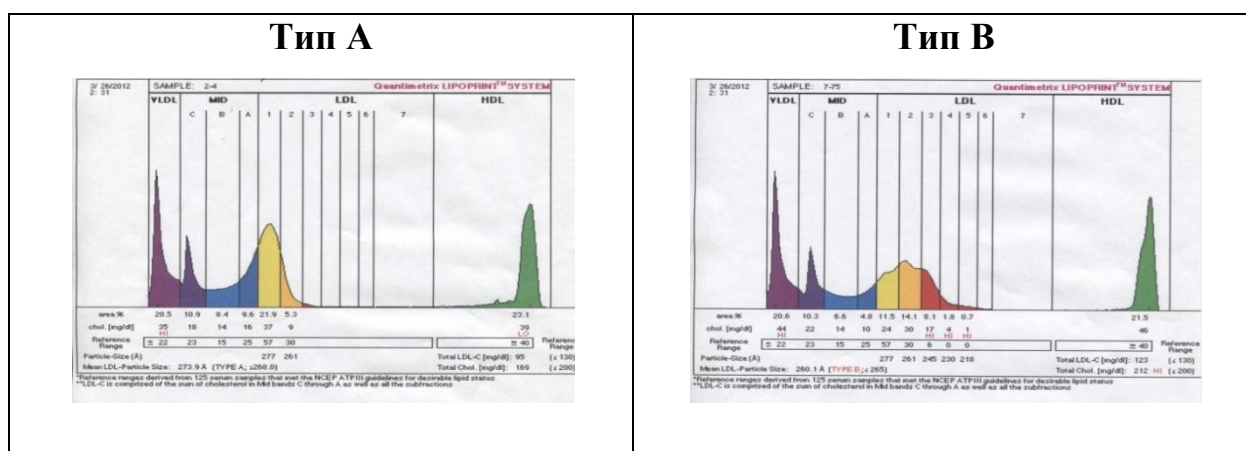
Среди липопротеидов низких плотностей, основным апо белком которых является высокомолекулярный апо В, выделяют несколько субфракций: ЛОНП, три субфракции ЛПП (С, В и А) и ЛНП: крупные (ЛНП1), средние (ЛНП2) и мелкие плотные частицы (ЛНП3, ЛНП4-ЛНП7). Все апо В-содержащие липопротеиды потенциально атерогенны, независимо от их размера, однако мелкие плотные частицы ЛНП3-7 обладают повышенным атерогенным потенциалом. Они не распознаются апо В-рецепторами (за счет изменений конфигурации молекулы апо В) и дольше циркулируют в кровотоке, легче проникают в артериальную стенку, активнее связываются с протеогликанами в субэндотелиальном пространстве и в большей степени подвержены химической модификации (окисление, ацетилирование, гликирование). Более того, модифицированные ЛНП способствуют высвобождению из макрофагов провоспалительных цитокинов и металлопротеиназ, еще более усугубляя проатерогенные изменения, а также вызывают деградацию коллагена [49, 57, 178].

Гетерогенность липопротеидов была продемонстрирована с использованием ряда аналитических методов: это ультрацентрифугирование в градиенте плотности [86], ядерно-магнитная резонансная (ЯМР) - спектроскопия [72], нативный градиентный электрофорез в 2-16%-м полиакриламидном геле (ПААГ) [38] и неградиентный электрофорез в 3%-м ПААГ с использованием системы Lipoprint Systems [92, 165, 188].

С помощью электрофоретических методов среди апо В-содержащих липопротеидов низких плотностей выделяют ЛОНП, три субфракции ЛПП (ЛПП С, ЛПП В и ЛПП А) и до 7 субфракций ЛНП: ЛНП 1 – самые крупные функционально активные частицы, средние ЛНП 2 и мелкие ЛНП 3-7 [38, 92].

Различия в степени гетерогенности липопротеидов низких плотностей у разных лиц могут быть обусловлены как наследственными факторами, так и факторами внешней среды. Индивидуальный субфракционный профиль липопротеидов низких плотностей во многом определяется возрастом и полом пациента, а также его липидным спектром [138].

Субфракционный профиль, характерный для лиц с нормолипидемией, представлен преимущественно крупными частицами ЛНП1 и ЛНП2 и обозначается как профиль «А», тогда как профиль с преобладанием более мелких и плотных частиц ЛНП3-ЛНП7, обозначаемый как профиль «В» (Рисунок 3) характерен, в основном, для пациентов с дислипидемией и для больных ИБС [28, 38]. Мелкие плотные частицы действительно характеризуются меньшим средним диаметром частиц (<26,5 нм) и флотируют в более высоком диапазоне гидратированной плотности (1,048-1,065 г/мл) по сравнению с более крупными ЛНП 1 и ЛНП 2 (1,019-1,048 г/мл).



**Рисунок 3 - Субфракционный спектр липопротеидов низких плотностей**

Установлено, что при появлении и накоплении в крови подфракций мелких плотных частиц ЛНП риск ССЗ возрастает [109]. В исследовании, выполненном на пациентах, перенесших инфаркт миокарда [38], было показано, что субфракционный профиль типа «В» ассоциирован с трехкратным повышением риска заболевания, независимо от пола, возраста и ИМТ. Аналогичные данные были получены в ряде других исследований [24, 165].

У пациентов с низким уровнем ХС ЛНП, в том числе, обусловленным терапией статинами, часто сохраняется так называемый остаточный (скрытый) сердечно-сосудистый риск, который, как было показано, во многом детерминирован повышенным содержанием мелких плотных липопротеидовых частиц [119]. Детальный анализ субфракционного спектра липопротеидов низких

плотностей помимо традиционной неатерогенной нормолипидемии и атерогенной гиперхолестеринемии позволил выделить еще два принципиально важных фенотипа нарушений липидного профиля: это неатерогенная гиперхолестеринемия (гипербетапопротеидемия) и атерогенная нормолипидемия, и сформулировать положение о том, что атерогенность липидного спектра определяется именно наличием мелких плотных частиц ЛНП [154, 156]. Такой подход служит основанием для пересмотра уровня сердечно-сосудистого риска и реклассификации пациентов в соответствии с их фенотипом липидного профиля.

### 1.5.2 Липопротеид(а)

В 1963 г. норвежский врач К. Берг описал один из многочисленных генетических вариантов ЛНП, названный липопротеидом (а), или Лп(а) [47]. Лп(а) представляет собой частицу ЛНП, содержащую помимо апо В еще один белок, гликопротеин апо (а), продуцируемый печенью.

Высокий уровень Лп(а) ассоциируется с повышенным сердечно-сосудистым риском, причем такая связь была подтверждена в ряде эпидемиологических и когортных исследований [193]. Так, было показано, что уровень Лп(а) в плазме крови, превышающий более 25-35 мг/дл, ассоциируется с повышенным риском развития сердечно-сосудистых осложнений в 1,4-1,7 раза как у больных ИБС, так и среди лиц без клинических признаков ИБС [48, 65, 112, 152].

Стоит отметить, что повышенный уровень Лп(а) обнаруживают у пациентов с заболеваниями почек [127]; это, по-видимому, связано с тем, что именно в почках происходит катаболизм Лп(а), а также у лиц с гетеро- и гомозиготной семейной гиперхолестеринемией, у которых уровень Лп(а) существенно выше, чем при нормальном содержании ХС в плазме крови [113, 132, 207].

Концентрация Лп(а) в плазме крови обратно коррелирует с детерминированной генетически молекулярной массой апо(а): чем меньше диаметр частиц Лп(а), тем выше их уровень в плазме крови. Поскольку уровень

Лп(а) детерминирован генетически, его концентрация в плазме крови отдельного человека на протяжении жизни практически не меняется, однако обнаружены существенные межиндивидуальные различия, например, показаны различия в концентрации Лп(а) в зависимости от этнической принадлежности, причем они сохраняются и после коррекции на генотипическую изменчивость. Согласно имеющимся в литературе данным, концентрация Лп(а) в плазме крови колеблется от 0,1 до 200 мг/дл; при этом среди больных ИБС частота высокого (более 30 мг/дл) уровня Лп(а) достигает у мужчин 39%, у женщин - 48%, тогда как у лиц без ИБС она составляет 12-15% [13, 48, 132]. У женщин была обнаружена независимая связь повышенной концентрации Лп(а), низкомолекулярных форм апо(а) и их сочетания с наличием и выраженностью коронарного и каротидного атеросклероза [1]. Более того, было показано, что Лп(а) является независимым фактором риска развития атеросклероза коронарных артерий, причем, более значимым, чем сдвиги в субфракционном спектре апоВ-содержащих липопротеидов низких плотностей [2].

Результаты хотя и немногочисленных исследований свидетельствуют о наличии взаимосвязи между повышенным уровнем Лп(а) и артериальной жесткостью, определяемой по СРПВ и лодыжечно-плечевому индексу [175].

Механизмы, опосредующие ассоциацию между уровнем Лп(а) и кардиоваскулярным риском, в настоящее время остаются невыясненными. Очевидно, что атеротромботический эффект Лп(а) обусловлен как его сходством с ЛНП, поскольку в состав обоих липопротеидов входит молекула апо В, определяющая их участие в прямом транспорте ХС [186], так и его негативным влиянием на процесс фибринолиза, связанным со структурным сходством молекул апо(а) и плазминогена [88]. Более того, подобно ЛНП, Лп(а) проникает в сосудистую стенку, индуцируя воспаление и вызывая окислительный стресс, поскольку Лп(а) транспортирует окисленные фосфолипиды, способные ускорять прогрессирование атеросклероза, опосредуя апоптоз макрофагов и способствуя образованию пенных клеток [175]. Лп(а) связывается и с провоспалительным белком-хемоаттрактантом моноцитов-1 (MCP-1). Все эти процессы тормозят

опосредуемый ЛВП процесс обратного транспорта ХС и способствуют накоплению липидов в артериальной стенке. Индуцируемое Лп(а) угнетение лизиса фибринового сгустка приводит к усиленному тромбообразованию [183]. Именно эти процессы объясняют, по крайней мере, частично, положительную связь между повышенным уровнем Лп(а) в плазме крови и жесткостью артерий.

### **1.6 Связь функциональных и патологических нарушений в сосудистой стенке с системой инсулинзависимой утилизации глюкозы**

В развитии артериальной жесткости помимо нарушений в системе транспорта липидов могут принимать участие другие метаболические факторы. Существенное влияние на сосудистую жесткость оказывают и нарушения углеводного обмена [52]. К ним можно отнести подчас скрытые нарушения инсулинзависимого метаболизма и транспорта глюкозы, в том числе, гипергликемию, а также повышенные уровни в сыворотке крови HbA1c, инсулина и С-пептида, что проявляется в виде инсулинорезистентности. Независимая связь между уровнем глюкозы натощак и аортальной СРПВ была установлена в исследовании на популяции здоровых лиц [52]. Согласно данным литературы, около трети взрослых американцев и две трети больных ИБС имеют нарушения метаболизм глюкозы [33, 158]. В исследовании FinnDiane study было показано, что артериальная жесткость ассоциируется с диабетической нефропатией, ретинопатией и ССЗ [81].

К настоящему времени известно несколько механизмов негативного влияния повышенного уровня глюкозы в крови, или гипергликемии, на сосудистую стенку. Так, гипергликемия индуцирует повышенную продукцию супероксид радикала в электронно-транспортной цепи митохондрий. Еще одним механизмом может быть токсичное действие избытка глюкозы на артериальную стенку, приводящее к увеличению ее жесткости [82]. В совокупности эти нарушения вовлечены в формирование эндотелиальной дисфункции и вносят, тем самым, опосредованный вклад в нарастание артериальной жесткости [100].

Иными словами, артериальная жесткость связана с развитием ССЗ и рассматривается в качестве промежуточного маркера, отражающего связь между гипергликемией и сосудистыми осложнениями. Необратимое изменение структуры стенки сосуда с возрастом может, скорее всего, ускорить атерогенное воздействие биохимических нарушений, имеющих место при ИБС, СД Т2 и других хронических неинфекционных заболеваниях [100].

К механизмам, определяющим связь углеводного обмена с жесткостью сосудистой стенки, можно отнести гликирование белков с образованием, так называемых конечных продуктов гликирования (КПГ), которые формируют поперечные сшивки молекул коллагена; при этом его структура становится более жесткой по сравнению с нормальным белком. Аналогично с коллагеном в аорте происходит гликирование эластина [26, 27, 78, 111].

Одним из важнейших КПГ является гликированный гемоглобин (HbA1c): поскольку его уровень отражает процент гемоглобина крови, связанного с молекулами глюкозы и считается интегральным показателем гликемии. Кроме того, HbA1c в значительной мере детерминирует скорость изменения сосудистой стенки и является предиктором ССЗ даже независимо от уровня гликемии натощак [6, 79, 187].

В литературе описана взаимосвязь между артериальной жесткостью и уровнем постпрандиальной глюкозы, при этом, согласно результатам некоторых исследований, уровень глюкозы, измеренный после приема пищи, играет более значимую роль в повышении сосудистой жесткости, чем гликемия натощак [90]. Показан существенный вклад повышенного уровня постпрандиальной глюкозы в формирование сосудистой жесткости как у больных СД Т2 [164, 204], так и у лиц без СД [67, 95]. Так, в исследовании, выполненном на объединенной когорте лиц с СД Т2 типа и без признаков заболевания, было установлено, что гликемия натощак, уровень глюкозы через 2 часа после приема пищи и показатель инсулинорезистентности – индекс НОМА-IR были независимо связаны с артериальной жесткостью после поправки на возраст, пол, среднее АД, частоту



сердечных сокращений (ЧСС), ИМТ, функцию почек и лечение антигипертензивными препаратами [204].

Среди нарушений углеводного обмена, связанных с повышенной жесткостью артериальной стенки и, соответственно, с ускоренным старением сосудов, важное место принадлежит инсулинорезистентности. В литературе описана взаимосвязь между инсулинорезистентностью и старением, например, показана ассоциация между проявлением инсулинорезистентности в виде снижения функциональной активности  $\beta$ -клеток у пожилых, но не у молодых людей [160].

Резистентность тканей к инсулину – это нарушение биологического действия инсулина, проявляющееся в уменьшении инсулинзависимого транспорта глюкозы, преимущественно в печени, скелетных мышцах, жировой ткани, что приводит к развитию хронической гиперинсулинемии и запускает целый ряд биохимических и клинических нарушений [30]. Важно, что инсулинорезистентность – это нарушение, которое сопряжено со сниженной инсулинзависимой утилизацией глюкозы тканями организма при его нормальном содержании в плазме крови. В то же время, роль именно повышенного уровня инсулина (а не гипергликемии), как медиатора артериальной жесткости, окончательно не установлена. В когорте пожилых лиц с АГ, но без признаков СД было показано, что как среднее пульсовое давление, так и СРПВ отрицательно коррелируют с чувствительностью к инсулину, причем эта связь не зависела от толерантности к глюкозе [171]. Было обнаружено, что ассоциация между инсулинорезистентностью и артериальной жесткостью не зависит от возраста, пола, уровня САД, ЧСС и метаболического статуса обследуемых [172]. Получены данные о том, что увеличение жесткости артерий связано с индексом НОМА-IR независимо от уровня глюкозы у здоровых лиц [25, 104].

При инсулинорезистентности, когда имеют место нарушения передачи инсулинового сигнала к клетке, инсулин оказывает пролиферативный эффект через относительно сохранный ростовой митоген-активируемый киназный путь [64], вызывая гиперпродукцию коллагена, пролиферацию гладкой мускулатуры

сосудов, активацию провоспалительных цитокинов. Кроме того, инсулинорезистентность сопровождается снижением ингибирующего действия оксида азота на пролиферацию гладкомышечных клеток артериальной стенки, что, в итоге, приводит к гипертрофии и фиброзу сосудистой стенки [69].

Говоря о связи инсулинорезистентности с повышенной СРПВ, следует остановиться и на роли С-пептида. С-пептид – это небольшой пептид, состоящий из 31 аминокислоты и представляющий собой фрагмент молекулы предшественника инсулина проинсулина, который, в свою очередь, состоит из А-цепи, соединительного пептида (С-пептид) и В-цепи. В бета-клетках поджелудочной железы С-пептид вырезается пептидазами и вместе с инсулином попадает в кровоток. До отщепления С-пептида инсулин не активен [177].

В ответ на повышение концентрации глюкозы С-пептид секретируется в кровоток в эквимольных количествах с инсулином. Время полураспада С-пептида в крови дольше, чем у инсулина и составляет около 30 мин., однако активностью инсулина он не обладает, поэтому его уровень в плазме крови считается более стабильным индикатором секреции инсулина, чем быстро меняющийся уровень гормона. Физиологической концентрацией С-пептида считают концентрацию 1,0 нмоль/л; референтные величины (норма) концентрации С-пептида в сыворотке крови у взрослых колеблются в пределах 2,34-5,67 нмоль/л (0,78-1,89 нг/мл). Существенно сниженный уровень С-пептида < 0,25 нмоль/л натощак свидетельствует о выраженной инсулиновой недостаточности [6, 161].

Долгое время считали, что обеспечение корректного процессинга инсулина с образованием дисульфидных связей между А- и В-цепями является единственной функцией С-пептида. Действительно, хотя аминокислотная последовательность С-пептида варьируется довольно в широких пределах, в его молекуле имеются определенные консервативные участки, включая N-концевую область, обогащенный глицином центральный сегмент и С-терминальный пентапептид [146, 177].

Однако исследования последних двух десятилетий позволили установить ключевую роль С-пептида в регуляции целого ряда физиологических процессов в различных клетках и тканях и считать его биоактивным соединением [197]. Во-первых, было обнаружено, что С-пептид регулирует Ca-зависимые внутриклеточные сигнальные пути. Свое действие он оказывает, либо связываясь в наномолярных концентрациях с G-белок-сопряженным рецептором на поверхности клетки (хотя он до сих пор не идентифицирован), либо непосредственно внутри клетки уже после интернализации. Тем не менее, установлено, что этот рецептор отличается от рецептора к инсулину и другим гормонам, а связывание С-пептида с рецептором происходит стереоспецифическим путем. Константа связывания С-пептида с рецептором равна  $3 \cdot 10^{-9}$  М. Насыщение связывания происходит уже при концентрации около 1,0 нМ, что объясняет отсутствие эффектов С-пептида у здоровых людей.

Результаты ряда исследований позволили предположить непосредственное положительное влияние эндогенного инсулина и С-пептида на эндотелиальную дисфункцию [99]. С-пептид опосредует активацию митоген-активируемых протеин киназ (MAP-киназ), Na(+),K(+)-АТФазы [216] и эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) [98, 108, 197], путем положительной регуляции транскрипции гена eNOS.

Среди эффектов С-пептида: устранение патологических изменений у больных СД Т1, включая гломерулярную гиперфильтрацию, воспаление сосудистого эндотелия и демиелинизацию нейронов. Более того, этот пептид влияет на синтез гликогена в скелетных мышцах. В экспериментах *in vitro* С-пептид способствовал дезагрегации олигомеров инсулина, увеличивая, тем самым, его биодоступность.

Исследований, посвященных роли С-пептида в процессах инсулинзависимой утилизации глюкозы, и связи их с артериальной жесткостью не так много. В литературе имеются данные о том, что повышенная концентрация этого соединения в плазме крови ассоциируется с различными микро- и макрососудистыми эффектами. Так, С-пептид был обнаружен в сосудистой стенке

апо Е-дефицитных мышей, что было сопряжено с развитием локального воспаления [190]. Кроме того, С-пептид индуцирует пролиферацию мезангиальных клеток человека. Иными словами, С-пептид способен оказывать провоспалительное действие в различных тканях, в основном у больных СД, но не у здоровых людей [198].

Получены данные о том, что повышение концентрации С-пептида в крови у больных СД Т2 вносит вклад в развитие атеросклероза [98]. Имеются данные о провоспалительном действии С-пептида в сосудистой стенке. Так, Marx и соавторы впервые обнаружили отложения С-пептида в субэндотелиальном пространстве грудной аорты у больных СД [133].

Повышенный уровень С-пептида в крови помимо дисфункции эндотелия приводит к его накоплению в интиме артерий. Согласно результатам, полученный *in vitro*, С-пептид способен оказывать хематактический эффект на провоспалительные клетки, вовлеченные в патогенез атеросклероза, а именно: моноциты/макрофаги и CD4+-лимфоциты [133]. Кроме того, С-пептид оказывает действие на гладкомышечные клетки меди сосудов, индуцируя их пролиферацию и последующую миграцию в зону формирующейся атеромы. В одном из исследований изучали влияние старения на метаболизм глюкозы у обезьян *Macaca fascicularis*. Обнаружили, что возраст-ассоциированные изменения выражались в сниженной секреции инсулина и С-пептида, а у самок и в снижении чувствительности к инсулину, о которой судили по величине НОМА-IR [212]. Вместе с тем, авторы отмечают необходимость дальнейших исследований, в том числе и на людях.

Была показана связь между инсулинорезистентностью, особенно сочетающейся с ожирением, и высокой распространенностью повышенной жесткости артериальной стенки, причем оба эти нарушения были сопряжены с повышенным риском ССЗ. Действительно, лица с избыточной массой тела и ожирением имеют более жесткие артерии, чем лица того же возраста, но без ожирения. К факторам, связанным с повышенной жесткостью сосудов, относят дисфункцию эндотелия, гиперхолестеринемию, инсулинорезистентность и

повышенный уровень С-пептида [133, 169]. В популяционном исследовании, включавшем почти 4 000 человек 30-85 лет, обнаружили выраженную корреляцию между уровнем в сыворотке крови С-пептида и составом тела (соотношение между постной и жирной массой), а также увеличение этих показателей с возрастом [123].

В группе 15-летних подростков, чьи матери во время беременности имели гестационный диабет, была обнаружена положительная связь между СРПВ и уровнем С-пептида и инсулина в пуповинной крови исследований. Авторы заключают, что наличие гиперинсулинемии повышает вероятность развития жестких артерий уже в раннем подростковом возрасте [179].

В совокупности, накопленные к настоящему времени данные позволяют заключить, что С-пептид является биологически активным соединением, пептидным гормоном, выполняющим в организме множество физиологических функций, хотя молекулярные механизмы его действия остаются до конца не изученными [199].

### **1.7 Воспаление, окислительный стресс и жесткость сосудистой стенки**

Среди множества патофизиологических процессов, вовлеченных в формирование жесткости артериальной стенки, важную роль может играть хроническое вялотекущее воспаление, которое считается одной из причин атеросклеротического поражения артерий [23, 214]. Жесткость артерий во многом определяется постоянным обновлением эластина и коллагена, происходящим в ЭЦМ сосудистой стенки. Матриксные металлопротеиназы (ММП) сосудистой стенки участвуют в деградации коллагена и их активность, как было показано, связана с артериальной жесткостью. Детерминантами артериальной жесткости крупных магистральных артерий помимо структурных элементов служат регуляторы их функциональной активности, в частности, медиаторы сосудистого тонуса. Повышение активности ММП может быть сопряжено с окислительным

стрессом, нарушением эндотелиальной функции, повышением содержания провоспалительных цитокинов [77, 202].

В ряде исследований показана связь между жесткостью артериальной стенки и уровнем в крови СРБ [17, 131, 147]. Так, показано, что у детей, чьи родители страдали АГ, обнаруживали повышенную артериальную жесткость еще до возрастания у них АД, что может быть связано с тем, что причиной жесткости артерий может быть сосудистое воспаление в раннем возрасте и ассоциированное с ним снижение биодоступности оксида азота [131]. Согласно результатам 20-летнего проспективного наблюдения за лицами мужского пола было обнаружено, что уровень вчСРБ был единственным независимым предиктором повышения СРПВ [137].

Остается неясным, что же в данном случае является первичным: воспаление, которое запускает процесс формирования жестких сосудов и развитие АГ, или высокое АД, которое приводит к увеличению жесткости артерий и запускает каскад реакций воспаления. Полагают, что, поскольку уровень вчСРБ может быть повышен до развития АГ, вероятнее всего именно хроническое вялотекущее воспаление вносит определяющий вклад в повышенную жесткость артериальной стенки, а не наоборот [29]. Со старением сосудов часто ассоциировано образование и накопление в плазме крови химически модифицированных липопротеидов, особенно ЛНП, в том числе мелких плотных, окисленных или гликированных частиц (ЛНПмод) [33, 44, 158]. Бринкли и коллеги считают, что окислительные изменения плазменных ЛНП являются маркером окислительного стресса, и ключевым игроком в патогенезе атеросклероза. Окисление компонентов ЛНП (липидных и белковых) также может играть роль в развитии артериальной жесткости [54].

ЛНПмод индуцируют дисфункцию эндотелия, выстилающего артериальную стенку, и, тем самым, вносят существенный вклад в патогенез атеросклероза. Имеются данные об ассоциации степени эндотелиальной дисфункции с количеством и плотностью частиц ЛНП, с уровнем ЛНПмод, с подверженностью ЛНП к окислению, а также с титром аутоантител к ЛНПок [42]. Среди

механизмов, согласно которым ЛНПмод оказывают негативное влияние на продукцию NO, можно назвать: 1) способность ЛНПмод ингибировать стимулируемый агонистом транспорт аргинина в эндотелиальные клетки; 2) ЛНПмод способны опосредовать снижение экспрессии eNOS, причем, как на уровне иРНК, так и на уровне белка, приводя, тем самым, к прямому угнетению продукции NO [92]; 3) ЛНПмод усиливают продукцию асимметричного диметиларгинина (АДМА), который является конкурентным антагонистом NOS, и может снижать продукцию NO путем субстратного конкурирования с L-аргинином [79]; 4) ЛНПмод усиливают синтез кавеолина-1 – мембранного белка, который, как известно, способен связывать и инактивировать eNOS, снижая, таким образом, продукцию NO. Снижая продукцию NO, ЛНПмод способствуют генерации тромбина и агрегации тромбоцитов [21]. Кроме того, ЛНПмод нарушают баланс других продуцируемых эндотелием соединений, включая простациклин и эндотелин-1, за счет чего агрегация тромбоцитов еще более активизируется [101, 39].

Для больных, перенесших мозговой инсульт, было показано, что жесткость артерий связана со степенью системного воспаления [181]; это, по мнению авторов, служит свидетельством влияния циркулирующих в крови медиаторов воспаления на жесткость сосудов. Связь между провоспалительными цитокинами, в том числе ФНО-а, ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6, с одной стороны, и показателями артериальной жесткости и дисфункции сосудистого эндотелия, с другой, обнаружена как в экспериментальных, так и в клинических исследованиях [63, 70, 182, 205]. Интерлейкин (ИЛ)-6 – это плеiotропный провоспалительный цитокин, участвующий в патогенезе как атеросклероза, а также ряда других заболеваний.

В литературе имеется и немало сведений о том, что в регуляции жесткости крупных кровеносных сосудов в условиях *in vivo* участвует и продуцируемый эндотелием оксид азота (NO) [106, 208, 209], и именно снижение его биодоступности индуцирует развитие дисфункции сосудистого эндотелия.

Накопленные к настоящему времени данные свидетельствуют о наличии значимой связи между уровнем вЧСРБ и артериальной жесткостью, хотя и носят

несколько противоречивый характер. Так, одни авторы обнаружили, что повышенный уровень вчСРБ в здоровой популяции связан с СРПВ, но не с индексом аугментации (Aix), тогда как другие показали достоверную независимую ассоциацию между вчСРБ и Aix, которая усиливалась со степенью воспаления [102, 214].

При анализе связи между уровнем вчСРБ и жесткостью артерий у больных АГ были обнаружены гендерные различия: оказалось, что после введения поправки на возраст, факторы риска ССЗ и прием антигипертензивных и липид-снижающих препаратов уровень вчСРБ положительно коррелировал с толщиной комплекса интима-медия только у мужчин и отрицательно коррелировал с центральным индексом аугментации только у женщин [80].

Для объяснения роли вчСРБ в опосредовании повышенной жесткости артерий (при АГ) предложено несколько механизмов. Высокий уровень вчСРБ ассоциирован с инсулинорезистентностью и СД, которые, в свою очередь, связаны с артериальной жесткостью. Однако, несмотря на достоверную связь между уровнем глюкозы в плазме крови и СРПВ, ассоциаций между глюкозой, вчСРБ, ИЛ-6 и ФНО-альфа обнаружено не было. Более того, методом множественной регрессии было показано, что ассоциация между СРПВ и вчСРБ не зависела от наличия факторов риска ССЗ.

Согласно данным литературы, уровень в плазме крови провоспалительных цитокинов – ФНО-альфа как первичного провоспалительного цитокина, и ИЛ-6 – цитокина мессенджера, которые индуцируют синтез СРБ в печени, положительно коррелирует с СРПВ, отражающей жесткость артериальной стенки. В свою очередь, повышенный уровень вчСРБ сопряжен со сниженной продукцией эндогенного вазодилататора – оксида азота [45, 208]. Примечательно, что вчСРБ и повышенная СРПВ являются не только независимыми предикторами заболеваемости и смертности от ССЗ, но и, согласно результатам Роттердамского исследования, маркерами прогрессирования этих заболеваний [45, 89, 134].

Важно отметить, что хроническое воспаление само по себе не заменяет и не уменьшает значимость традиционных факторов риска, а служит механизмом,



обеспечивающим связь между этими факторами, в том числе, дислипидемию, и нарушениями функционирования артериальной стенки [125].

### **1.8 Нарушения системы гемостаза и жесткость сосудистой стенки**

В качестве маркеров биологического старения сосудов, сопряженного с хронологическим (паспортным) возрастом человека, можно рассматривать нарушения в системе гемостаза в виде усиленного тромбообразования.

Тромбоциты непосредственно вовлечены в патофизиологию коронарного тромбоза и прогрессирование атеросклероза [22]. Помимо классического каскада активации тромбоцитов, модифицированные (в основном, окисленные) ЛНП (ЛНПмод) ускоряют активацию тромбоцитов и усиливают их тромбогенность, стимулируя высвобождение тканевого фактора и воспаление [60]. С коронарным атеротромбозом ассоциируется и атерогенная дислипидемия.

Провоспалительные окисленные ЛНП способны активировать тромбоциты, индуцировать апоптоз и воспаление, участвуют в развитии эндотелиальной дисфункции, в дифференциации моноцитов-макрофагов и росте атеросклеротической бляшки, вовлечены в формирование ее нестабильности и, в итоге, в развитие ишемических осложнений [60].

Фактор Виллебранда (vWF) – еще один активный регулятор свертывания крови. Этот довольно большой гликопротеин (мол. масса от 500000 до 20 млн), который образуется в клетках сосудистого эндотелия и секретируется в субэндотелиальное пространство и плазму крови. Фактор Виллебранда способен к так называемой самоассоциации с образованием длинных палочковидных структур, которые связываются с тромбоцитами и обуславливают его непосредственное участие в агрегации тромбоцитов и образовании тромбов [192, 206]. Фактор Виллебранда вовлечен в процесс тромбообразования и в качестве шаперона для фактора коагуляции VIII [176].

Связь vWF с ИБС и ее факторами риска изучали и в условиях *in vitro*, и *in vivo* на животных моделях, а также на людях: как одномоментных, так и в

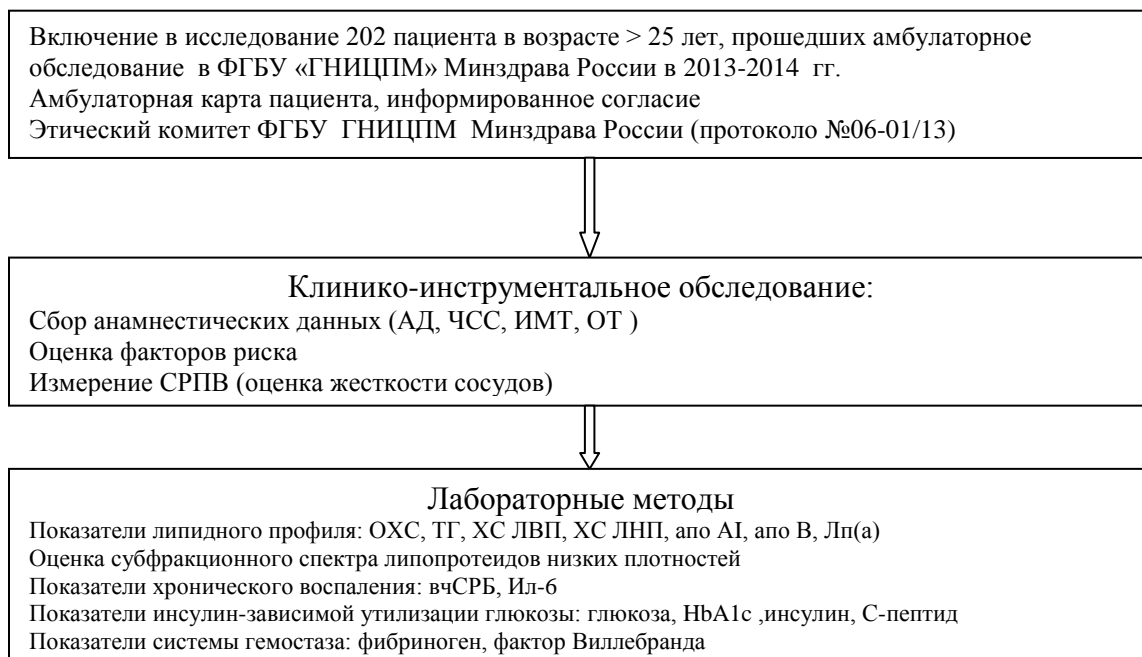
проспективных исследованиях. Обнаружена протективная роль ЛВП, которые препятствуют самоассоциации vWF и его адгезии к сосудистой стенке [83]. Интересно, что если у здоровых людей была обнаружена только слабая ассоциация между уровнем vWF и ИБС, то связь у больных с ИБС оказалась намного сильнее [176, 192].

Таким образом, анализ публикаций отечественных и зарубежных авторов позволил заключить, что преждевременное (ускоренное) старение сосудов сопряжено с нарушениями, которые затрагивают как метаболические процессы: транспорт липидов, поступление в кровоток глюкозы и ее утилизации клетками, усиление провоспалительной активности сосудистого эндотелия и окислительного стресса, так и структурно-функциональные характеристики артериальной стенки, определяющие ее эластичность или жесткость. На основании этого было выдвинуто предположение о том, что не всегда хронологический возраст человека определяет биологический возраст его сосудов, и обоснована необходимость сравнительного изучения различных вариантов хронологического и биологического возраста, с тем, чтобы понять, что же детерминирует ускоренное развитие артериальной жесткости в молодом возрасте и какие факторы способствуют сохранению эластичных сосудов в зрелом и пожилом возрасте.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование является открытым одномоментным нерандомизированным; выполнено в соответствии с принципами Хельсинской Декларации. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБУ «ГНИЦПМ» Минздрава России (№06-01/13). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных (Приложение 1).

В исследование включено 202 пациента обоего пола 25-75 лет (68 мужчин и 134 женщины), прошедших амбулаторное обследование в ФГБУ «ГНИЦПМ» Минздрава России, не имевших клинических проявлений заболеваний, связанных с атеросклерозом, не получавших регулярной терапии сердечно-сосудистыми препаратами и соответствующих критериям включения/исключения.



**Рисунок 4 - Дизайн исследования**

Критерии включения: мужчины и женщины в возрасте 25-75 лет без клинических проявлений атеросклеротических заболеваний, не получавшие регулярной терапии сердечно-сосудистыми препаратами.

Критерии не включения/исключения: семейная гиперхолестеринемия; сахарный диабет 1 и 2 типа; прием сахароснижающих препаратов; АГ 2 и 3 степени (и/или регулярный прием гипотензивной терапии); клинические проявления атеросклероза: ИБС, включая инфаркт миокарда; цереброваскулярные заболевания, включая мозговой инсульт; периферический атеросклероз, включая перемежающуюся хромоту; патология клапанов сердца; сердечная недостаточность; дыхательная недостаточность; онкологические заболевания; аутоиммунные заболевания; заболевания щитовидной железы; психические заболевания; диффузные болезни соединительной ткани; беременность или ее планирование для женщин, а также период лактации.

При выявлении критериев исключения участник выбывал из исследования на любом этапе.

На этапе скрининга проводили сбор анамнестических данных; физикальный осмотр врача, общий анализ крови.

У всех включенных в исследование собирали антропометрические и демографические данные, проводили клинико-инструментальное обследование, осуществляли забор крови для лабораторных и биохимических анализов.

На этапе включения в исследование измеряли рост и вес пациентов, рассчитывали индекс массы тела (ИМТ) по формуле: вес (кг)/рост ( $m^2$ ). Массу тела измеряли с точностью до 0,1 кг, рост – с точностью до 0,5 см. При ИМТ  $\geq 30$  кг/ $m^2$  диагностировали ожирение (ВНОК, 2009). Измеряли окружность талии (ОТ); при ОТ больше 102 см у мужчин и 88 см у женщин диагностировали абдоминальное ожирение.

Оценивали статус курения, выделяя никогда не куривших, куривших в прошлом и тех, кто курит в настоящее время (выкуривающие хотя бы одну сигарету/папиросу в сутки).

Артериальное давление (АД) измеряли в положении пациента сидя после 5-10-минутного отдыха 2 раза через 5 мин. на правой руке; рассчитывали среднее значение из двух измерений; ЧСС измеряли в течение 60 с в положении пациента сидя после отдыха.

## 2.1 Клинико-инструментальные методы

(набор пациентов и клинико-инструментальное обследование выполнены в Отделе профилактики возраст-ассоциированных заболеваний ФГБУ «ГНИЦПМ» Минздрава России (руководитель – д.м.н., профессор Ткачева О.Н.)

**Оценка жесткости сосудов.** Жесткость сосудов определяли по скорости распространения пульсовой волны (СРПВ) на приборе SphygmoCor (AtCorMedical, Австралия) с использованием метода аппланационной тонометрии. Метод заключается в определении расстояния, которое проходят пульсовые волны. Данное расстояние измеряется между сонной артерией и яремной вырезкой грудины и вычитается из расстояния между яремной вырезкой грудины и точкой регистрации над бедренной артерией [15].

Жесткими считали артерии при СРПВ  $>10$  м/с; при СРПВ  $\leq 10$  м/с артерии считали эластичными [187].

**Лабораторные методы** биохимические исследования проводили в Клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «ГНИЦПМ» Минздрава России (заведующая лабораторией - Гомыранова Н.В.) и в Отделе изучения биохимических маркеров риска хронических неинфекционных заболеваний (руководитель – д.б.н. профессор Метельская В.А.).

Кровь для исследования брали натощак из локтевой вены в вакуумную пробирку. Сыворотку и плазму крови получали центрифугированием в течение 20 мин при 1000g при  $t=4^{\circ}\text{C}$ ; для получения цитратной плазмы, в которой определяли показатели системы гемостаза, кровь забирали в пробирки с 3,8% раствором трехзамещенного цитрата натрия в соотношении 1:9. Полученный материал разделяли на аликвоты и хранили при  $-26^{\circ}\text{C}$  до проведения анализов.

Стандартизацию и контроль качества анализа биохимических параметров проводили в соответствии с требованиями «Федеральной системы внешней оценки качества клинических лабораторных исследований».

### *Анализ спектра липопротеидов*

Концентрацию общего ХС и ТГ определяли на биохимическом анализаторе «Сапфир» с использованием диагностических наборов фирмы «ДиаС» (Германия). Концентрацию ХС липопротеидов высокой плотности (ЛВП) определяли в супернатанте после осаждения из сыворотки апо В-содержащих липопротеидов. Уровень ХС липопротеидов низкой плотности (ЛНП) вычисляли по формуле Фридвальда:  $\text{ХС ЛНП (при расчете в ммоль/л)} = \text{ХС общий} - \text{ТГ}/2,2 - \text{ХС ЛВП}$  (при уровне ТГ не выше 4,5 ммоль/л). За норму принимали концентрацию ОХС < 5,0 ммоль/л, ТГ < 1,7 ммоль/л, ХС ЛНП < 3,0 ммоль/л; ХС ЛВП < 1,0 ммоль/л для мужчин и < 1,2 ммоль/л для женщин.

Концентрацию в сыворотке крови аполипопротеинов (апо) А, апо В и уровень Лп(а) определяли иммунотурбидиметрическим методом на том же анализаторе с использованием наборов фирмы «ДиаС» (Германия). Нормальными считали значения для апо А1 в пределах 115-190 мг/дл (мужчины) и 115-220 мг/дл (женщины); для апоВ: 60-138 мг/дл (мужчины) и 52-129 мг/дл (женщины); для Лп(а) не выше 30 мг/дл.

### *Анализ субфракционного спектра апо В-содержащих липопротеидов*

низких плотностей проводили сравнительно с использованием двух методов:

1. Метод электрофореза в готовых трубочках с 3% полиакриламидным гелем с последующим сканированием и компьютерной обработкой данных. (Липопринт ЛНП система (Quantimetrix Lipoprint LDL System, США). Метод позволяет идентифицировать следующие липопротеиды и их субфракции: ЛОНП; 3 субфракции ЛПП - ЛППС, ЛППВ, ЛППА; до 7 субфракций ЛНП – крупные ЛНП1 и менее крупные ЛНП2; мелкие ЛНП3 и еще более мелкие ЛНП4-ЛНП7, а также суммарные ЛВП.

#### *Принцип метода*

Электрофорез липопротеидов проводят в стеклянных трубочках с ПААГ, состоящим из уже заполимеризованных концентрирующего и разделяющего слоев и жидкого загрузочного слоя, содержащего липофильную краску. Согласно экспериментальным данным и результатам корреляционного анализа по

сравнению различных методов оценки спектра липопротеидов, краска, используемая при электрофорезе (Судан черный В/ Sudan Black В) и уже включенная в состав загрузочного геля, окрашивает только холестерин, но не триглицериды или фосфолипиды [145]. Краска связывается с липопротеидами пропорционально содержанию ХС в каждой подфракции, окрашенные липопротеиды подвергаются электрофорезу и распределяются в зависимости от размера частиц в зоны идентичного размера. Быстрее всего мигрируют ЛВП, затем мелкие плотные ЛНП, крупные ЛНП, ЛПП и ЛПОНП. Если в сыворотке содержатся хиломикроны, они остаются на старте. Индивидуальные субфракции определяются по их подвижности ( $R_f$ ), при этом в качестве стартовой и конечной референсных точек принимают ЛОНП ( $R_f=0$ ) и ЛВП ( $R_f=1$ ) На рисунке 5 приведены значения  $R_f$  для каждой липопротеидовой субфракции [20].

Трубочки с гелем сканируют на входящем в комплект сканере (ArtixScan M1 MICROTEK); типичные спектры представлены на Рисунке 3. Прилагаемая к комплекту компьютерная программа позволяет определить средний размер частиц каждой липопротеидной субфракции, а также процентное содержание (долю) каждой липопротеидной субфракции (за 100% принимается сумма площадей под кривой всех липопротеидов сыворотки крови) и концентрацию ХС в каждой субфракции на основании данных о содержании ХС ЛНП в данном образце крови.

Чувствительность Липопринт-системы, определяемая как минимальная концентрация ХС ЛОНП, ХС ЛНП, составляет, соответственно: для ЛОНП  $\geq 2,02$  мг/дл (0,05 ммоль/л), для суммарной фракции ЛНП  $\geq 8,30$  мг/дл (0,22 ммоль/л)

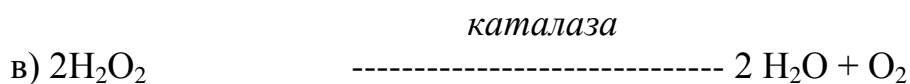
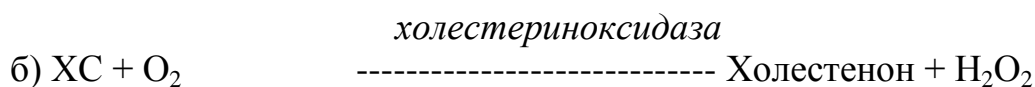
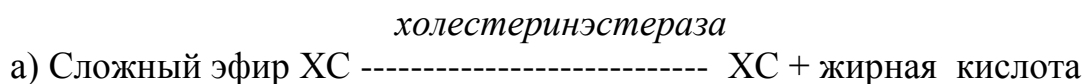
1. Энзиматический метод с использованием реактивов фирмы «Randox» (Великобритания).

*Принцип метода* [37, 91].

Метод позволяет отделить мелкие плотные ЛНП от других липопротеидов низких плотностей. Определение концентрации ХС, входящего в состав мелких плотных ЛНП в сыворотке крови проводили на биохимическом анализаторе «Сапфир-400» (Япония).

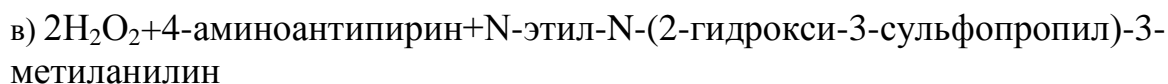
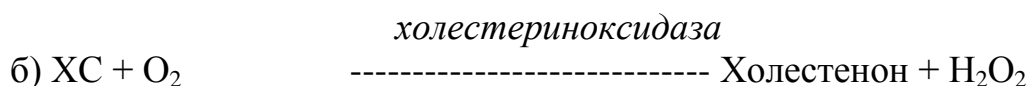
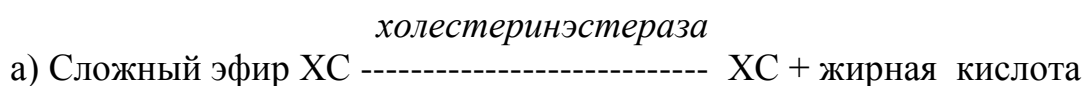
Анализ проводится на основании двух групп реакций:

1) *Элиминация липопротеидов.* Под воздействием детергентов и фермента сфингомиелиназы (Реактив 1) хиломикроны, ЛОНП, ЛПП, крупные и средние частицы ЛНП и ЛВП переводятся в реакционноспособные соединения, которые при воздействии трех ферментов (холестеринэстеразы, холестериноксидазы и каталазы) распадаются с образованием неокрашенных соединений:



## 2). *Специфическое определение ХС в мелких плотных ЛНП*

При воздействии других детергентов, содержащихся в реактиве 2, мелкие ЛНП приводятся в реакционноспособные соединения и при воздействии тех же ферментов (холестеринэстеразы, холестериноксидазы) и впоследствии пероксидазы образуют окрашенное соединение.



Интенсивность полученной в ходе реакции хинонеминовой окраски (при 600 нм) прямо пропорциональна концентрации ХС в составе мелких ЛНП в пробе. В ходе второй реакции каталаза ингибируется азидом натрия, содержащимся в реактиве 2.



Минимально выявляемая концентрация ХС мелких плотных ЛНП в пробе, определяемая с приемлемым уровнем воспроизводимости, составляет 0,1 ммоль/л; для взрослых мужчин и женщин 0,25-1,11 ммоль/л; для людей старше 50 лет 0,28-1,27 ммоль/л.

*Уровень глюкозы* определяли глюкозооксидазным методом на биохимическом анализаторе «Сапфир-400» (Япония) с помощью ферментативных диагностических наборов фирмы «ДиаС» (Германия). Нормогликемией считали значения 3,9-6,4 ммоль/л.

*Измерение концентрации гликированного гемоглобина (HbA1c)* проводили количественным иммунотурбидиметрическим методом с усилением латексными частицами, без измерения общего гемоглобина на анализаторе «Сапфир-400» (Япония) с помощью набора фирмы «ДиаС» (Германия). Нормальными считали значения в пределах 4-6%.

*Концентрацию инсулина и С-пептида* определяли количественным методом хемилюминисцентного иммуноанализа на микрочастицах (ХИАМ) с помощью автоматизированного иммунохимического анализатора «ARCHITECT i2000sr» (США) с использованием наборов фирмы «Abbott» (США). Пределы нормальных значений для инсулина составили – 2-25 мкЕд/мл, для С-пептида – 0,78-5,19 нг/мл.

*Инсулинорезистентность* оценивали по индексу НОМА-IR (Homeostatic Model Assessment) на основании данных измерения концентрации глюкозы и инсулина натощак: (Концентрация глюкозы в крови натощак, ммоль/л) x (Концентрация инсулина в крови натощак, мкЕд/мл)/22,5 [135].

*Концентрацию интерлейкина-6 (ИЛ-6)* измеряли помощью иммуноферментного анализа согласно инструкции производителя (eBioscience, an Affymetrix Company, Австрия); повышенным считали уровень ИЛ-6  $\geq 4,0$  пг/мл (верхняя квартиль).

*Концентрацию С-реактивного белка (вчСРБ)* определяли высокочувствительным иммунотурбидиметрическим методом с применением карбоксилированных полистироловых частиц на биохимическом анализаторе

«Сапфир-400» (Япония) с использованием наборов фирмы «ДиаС» (Германия). Для оценки сердечно-сосудистого риска использовали значения: низкий риск  $< 1,0$  мг/л; умеренный риск 1-3 мг/л; высокий риск  $> 3$  мг/л.

*Концентрацию фибриногена* в плазме крови определяли *по методу Клауса* на коагулометрическом анализаторе ACL Elite (США), используя реагент, который представляет собой очищенный бычий тромбин. В ходе определения фибриноген разведенной плазмы взаимодействует с тромбином, добавленным в повышенной концентрации (для исключения действия антитромбинов). В этих условиях время реакции образования сгустка зависит только от количества в образце фибриногена. Нормальной концентрацию фибриногена считали – 2-4 г/л.

*Определение активности фактора Виллебранда (vWF)* в плазме крови проводили с помощью латексного турбидиметрического анализа на этом же анализаторе (латексные частицы, покрытые специфическими поликлональными антителами, агглютинируют в присутствии фактора Виллебранда). В норме активность фактора Виллебранда составляет 41,1-125,9% .

*Статистический анализ* результатов проводили с использованием пакетов статистических программ: Statistica v.10, IBM SPSS Statistics v.20 и SAS v.9.4. Для непрерывных величин представлены как средние значения (Mean) и стандартное отклонение (SD), так и медиана (M) и минимальный-максимальный размах. Для анализа таблиц сопряженности применяли критерий  $\chi^2$  Пирсона. Сравнение средних в четырех группах проводилось с помощью дисперсионного анализа (ANOVA), сравнение медиан - с помощью его непараметрического аналога критерия Краскала-Уоллиса. Для оценки вероятности наличия жестких артерий на основании комплекса биохимических показателей крови применяли логистическую регрессию с определением отношения шансов (ОШ) в однофакторных и многофакторных моделях. Шансом называли вероятность наличия исследуемого признака к вероятности его отсутствия. Для построения 95% доверительного интервала (ДИ) и точечной оценки ОШ применяли модель бинарной логистической регрессии. Статистическую значимость моделей оценивали с помощью метода максимального правдоподобия. Чувствительность и

специфичность маркеров определяли при помощи ROC-анализа. Различия при  $p < 0,05$  считали статистически значимыми.

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1 Характеристика пациентов: клинико-антропометрические данные

В Таблице 1 представлены клинико-антропометрические характеристики всей когорты (n=202). Средний возраст участников составил  $48,5 \pm 12,8$  лет. Среди них 33,2% составляли мужчины (n=67) и 66,8% - женщины (n=135).

Курят в настоящее время 36 человек (17,8%), у 41 пациента (20,3 %) диагностировали АГ 1 степени, более половины участников (58,4%) имели избыточную массу тела, у 46,5% - выявлено абдоминальное ожирение. Гиперхолестеринемия выявлена у 146 человек (72,2%), гипертриглицеридемия у 40 пациентов (19,8%), гипергликемия натощак - у 60 человек (29,7%)

**Таблица 1 - Клинико-антропометрические характеристики пациентов**

Показатель	Значение
Возраст, лет	48,5±12,8
Пол (м/ж), %	33,2/66,8
СРПВ, м/с	10,5±2,7
Статус курения, %	17,8
АГ 1 ст., %	20,3
САД, мм рт.ст.	122,4±16,7
ДАД, мм рт.ст.	76,5±10,3
ЧСС, уд/мин.	71,9±9,2
Избыточная масса тела, %	58,4
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	27,3±5,5
Абдоминальное ожирение, %	46,5
Окружность талии, см	98,2±11,4/88,5±15,1
Гиперхолестеринемия > 5,0 ммоль/л, %	72,2
Гипертриглицеридемия > 1,7 ммоль/л, %	19,8
Повышенный уровень ХС ЛНП > 3,0 ммоль/л, %	81,2
Сниженный уровень ХС ЛВП < 1,0 ммоль/л/1,2 ммоль/л (м/ж), %	40,6
Гипергликемия натощак > 5,6 ммоль/л, %	29,7

Средние уровни САД и ДАД составили ( $122,4 \pm 16,7$  и  $76,5 \pm 10,3$  мм рт.ст., соответственно), ИМТ  $27,3 \pm 5,5$  кг/м<sup>2</sup>, ОТ (м/ж)  $98,2 \pm 11,4/88,5 \pm 15,1$  см. В Таблице 2 приведены клинико-антропометрические характеристики обследованных лиц в зависимости от хронологического возраста. Можно видеть достоверные различия между группами младших и старших пациентов по СРПВ, а также ИМТ, САД и ДАД, которые были статистически значимо выше в старшей возрастной группе.

**Таблица 2 - Сравнительная характеристика пациентов в группах, различающихся по возрасту**

<b>Показатель</b>	<b>Младшие (45 лет и моложе) n=86</b>	<b>Старшие (46-75 лет) n=116</b>	<b>p</b>
	Me; мин-макс		
СРПВ	9,2 (5,4-13,7)	11,0 (6,7-22,7)	0,0000
Возраст, лет	37 (23-45)	56 (46-76)	0,0000
Пол (м/ж)	31/52	25/66	0,2064
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	25,0 (17,0-40,0)	27,4 (18,0-45,1)	0,0009
САД, мм рт.ст.	113 (91-170)	123 (90,6-185)	0,0008
ДАД, мм рт.ст.	73 (55-100)	78 (55-110)	0,0078

Примечание: Сравнение показателей для младшей и старшей групп проводили по критерию Манна-Уитни.

Учитывая тот факт, что биологический возраст сосудов соответствует степени жесткости артериальной стенки (молодые сосуды - с нормальной жесткостью, СРПВ  $\leq 10$  м/с; старые сосуды – жесткие, СРПВ  $> 10$  м/с), были сформированы следующие группы: 1-я группа - младшие с эластичными сосудами («Мл-эл», n=56; СРПВ= $8,1 \pm 1,16$  м/с); средний возраст  $35 \pm 6,4$  лет; 2-я группа – младшие с жесткими сосудами (Мл-жс», n=30; СРПВ= $11,0 \pm 0,92$  м/с); средний возраст  $38 \pm 5,7$  лет; 3-я группа - старшие с эластичными сосудами («Ст-эл», n=39; СРПВ= $8,8 \pm 0,92$  м/с); средний возраст  $57 \pm 7,1$  лет; 4-я группа - старшие с

жесткими сосудами («Ст-жс», n=77; СРПВ=12,8±2,43 м/с); средний возраст 58±8,3 лет (Рисунок 5).



**Рисунок 5 - Группы пациентов, включенных в анализ**

### **3.2 Взаимосвязь нарушений системы липопротеидов плазмы крови с биологическим и хронологическим возрастом сосудов**

С целью изучения вопроса о взаимосвязи между СРПВ, как показателем биологического возраста сосудов, у лиц разного хронологического возраста было проведено сравнение 4-х групп пациентов: младшие (в возрасте  $\leq 45$  лет) с эластичными или жесткими сосудами и старшие (в возрасте  $> 45$  лет) с эластичными или жесткими сосудами.

В Таблице 3 представлены показатели липидного профиля включенных в исследование пациентов в соответствующих группах. В группе младших с жесткими сосудами (2-я группа) по сравнению с младшими с эластичными сосудами (1-я группа) выявлены более высокие уровни общего ХС, в основном, за счет повышенного уровня ХС ЛНП. Обнаружены различия по уровню ТГ и Лп(а) между старшими пациентами с жесткими сосудами (4-я группа) по сравнению с

пациентами того же возраста с эластичными сосудами (3-я группа). Действительно, в группе старших пациентов уровень ТГ был выше у лиц с жесткими сосудами по сравнению с лицами с эластичными сосудами, а уровень Лп(а) – достоверно ниже. При этом у лиц с эластичными сосудами обнаружены зависимые от возраста различия: у старших уровни общего ХС, ХС ЛНП и ХС-неЛВП оказались более высокими, чем у лиц 45 лет и моложе.

**Таблица 3 - Уровень липидов сыворотки крови пациентов, различающихся по СРПВ (M±SD)**

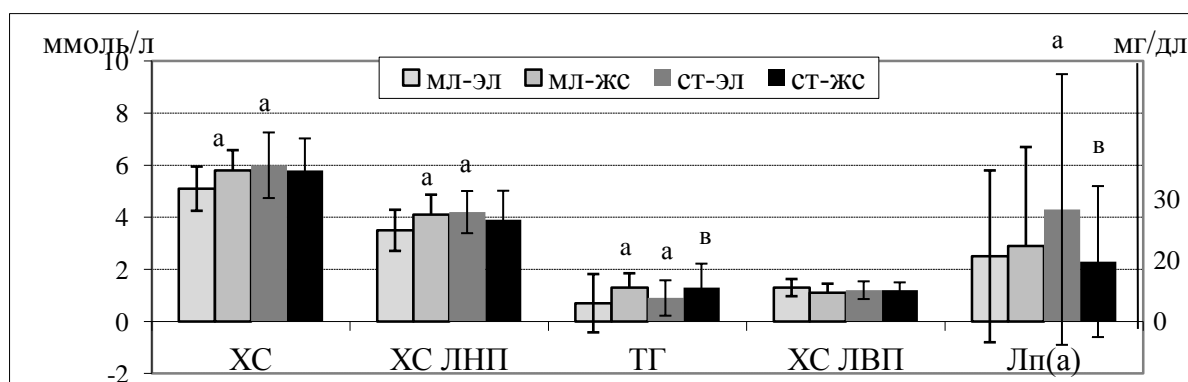
Группы	ХС	ТГ	ХС ЛНП	ХС-неЛВП	ХС ЛВП	Лп(а)
	ммоль/л					мг/дл
1. Младшие-эластичные	5,1±0,85	1,0±1,12	3,5±0,79	3,9±0,91	1,3±0,33	24,8±32,9
2. Младшие-жесткие	5,8±0,78	1,3±0,55	4,1±0,77	4,6±0,95	1,1±0,35	29,4±38,1
3. Старшие-эластичные	6,0±1,26	1,2±0,68	4,2±0,81	4,7±1,21	1,2±0,34	42,8±52,4
4. Старшие-жесткие	5,8±1,23	1,6±0,92	3,9±1,12	4,6±1,22	1,2±0,30	23,4±28,6
Р 2-1	0,0009	н.д.	0,0016	0,0003	н.д.	н.д.
Р 3-1	7,98*10 <sup>-5</sup>	н.д.	0,00016	9,61*10 <sup>-5</sup>	н.д.	н.д.
Р 4-1	0,0002	0,001	0,012	0,0001	н.д.	н.д.
Р 4-2	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.
Р 4-3	н.д.	0,0206	н.д.	н.д.	н.д.	0,0137

Поскольку распределение обследованной когорты по уровню ТГ и Лп(а) носит непараметрический характер, был проведен анализ показателей липидного профиля, выраженных в виде медианы (Me; мин-макс) (Таблица 4). При этом удалось выявить различия в уровне ТГ, ассоциированные как с жесткостью сосудов, так и с возрастом. Дополнительные различия в уровне Лп(а) были выявлены только среди лиц с эластичными сосудами: этот показатель оказался достоверно выше в группе старших (по сравнению с младшими с эластичными).

**Таблица 4 - Уровень липидов сыворотки крови пациентов, различающихся по СРПВ (Ме; мин-макс)**

Группы	ХС	ТГ	ХС ЛНП	ХС-неЛВП	ХС ЛВП	Лп(а)
	ммоль/л					мг/дл
1.Младшие-эластичные	5,0 (3,6-6,6)	0,7 (0,3-7,9)	3,4 (2,1-4,9)	3,87 (2,3-5,5)	1,3 (0,6-2,0)	7,0 (1,2-118,0)
2.Младшие-жесткие	5,7 (4,5-7,3)	1,3 (0,4-2,7)	4,1 (2,9-5,8)	4,7 (3,1-6,5)	1,0 (0,7-2,0)	5,9 (2,0-129,0)
3. Старшие-эластичные	5,7 (3,7-10,2)	0,9 (0,5-3,7)	4,2 (2,1-7,7)	4,6 (2,3-8,3)	1,3 (0,7-2,0)	19,0 (1,1-250,0)
4.Старшие-жесткие	5,7 (3,3-8,3)	1,3 (0,5-5,4)	3,8 (1,4-6,4)	4,5 (1,7-7,4)	1,2 (0,6-2,0)	11,5 (0,3-129,0)
P 2-1	0,0017	0,0002	0,005	0,0009	н.д.	н.д.
P 3-1	0,0002	0,002	0,0005	0,0005	н.д.	0,042
P 4-1	0,001	0,0005	0,022	0,0005	н.д.	н.д.
P 4-2	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.
P 4-3	н.д.	0,004	н.д.	н.д.	н.д.	0,043

Результаты совокупного анализа спектра липопротеидов представлены на Рисунке 6.



Примечание: Достоверность различий между группами  $p < 0,05$ :  
<sup>a</sup> по сравнению с мл-эл; <sup>b</sup> по сравнению с ст-эл

**Рисунок 6 - Уровень липидов сыворотки крови пациентов, различающихся по СРПВ (M±SD)**



В Таблицах 5 и 6 представлены результаты определения содержания основных белковых компонентов ЛВП - апо АІ и липопротеидов низких плотностей – апо В, соответственно.

**Таблица 5 - Уровень аполипопротеинов сыворотки крови пациентов, различающихся по СРПВ (M±SD)**

Группы	апо АІ	апо В	апо В/АІ
	мг/дл		
1. Младшие-эластичные	169±28,6	89±24,4	0,55±0,19
2. Младшие-жесткие	167±31,6	111±23,8	0,70±0,21
3. Старшие-эластичные	178±32,7	108±27,6	0,62±0,19
4. Старшие-жесткие	171±30,9	111±29,4	0,67±0,20
Р 2-1	н.д.	0,0001	0,001
Р 3-1	н.д.	0,0014	н.д.
Р 4-1	н.д.	1,63*10 <sup>-5</sup>	0,0006
Р 4-2	н.д.	н.д.	н.д.
Р 4-3	н.д.	н.д.	н.д.

Показано, что при одинаковом содержании апо АІ независимо от возраста пациентов и степени жесткости артериальной стенки уровень апо В оказался выше во всех группах по сравнению с младшими с эластичными сосудами (1-я группа). При этом величина отношения апо В/АІ как показателя атерогенности спектра липопротеидов, была достоверно выше в обеих группах с жесткими сосудами (2-я и 4-я группы) по сравнению с младшими с эластичными артериями (1-я группа).

Дополнительный анализ уровней аполипопротеинов по значениям медианы (Ме; мин-макс), представленный в Таблице 6, позволил обнаружить различия в показателе апо В/АІ в группе старших с эластичными сосудами (3-я группа), где

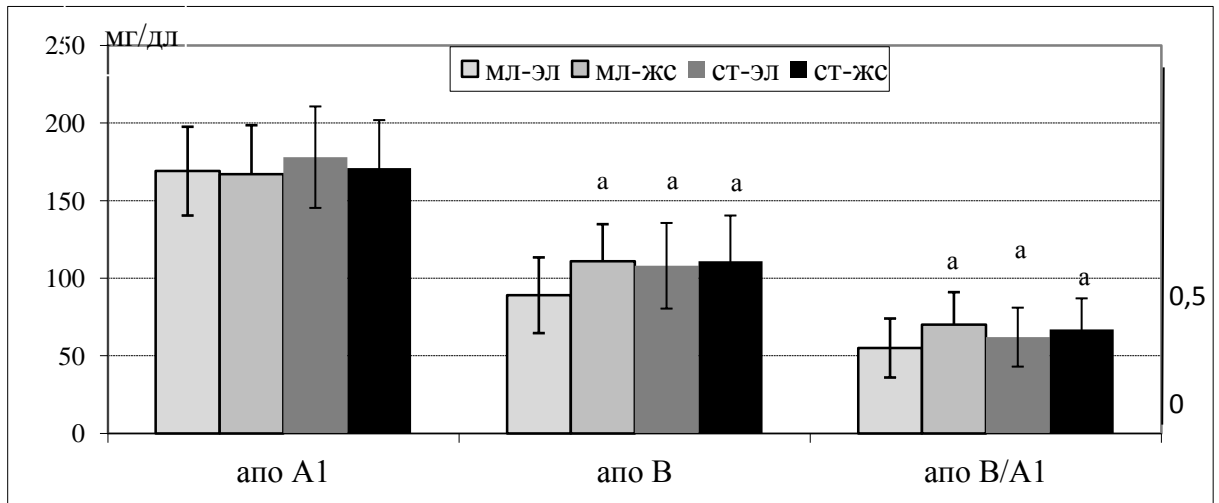
этот показатель оказался достоверно выше по сравнению с группой младших с эластичными сосудами (1-я группа).

**Таблица 6 - Уровень аполипопротеинов сыворотки крови пациентов, различающихся по СРПВ (Ме; мин-макс)**

Группы	апо АІ	апо В	апо В/АІ
	мг/дл		
1. Младшие-эластичные	177 (110-350)	85,5 (48,0-141,0)	0,48 (0,23-1,03)
2. Младшие-жесткие	166 (112-248)	111,5 (55-161)	0,71 (0,22-1,3)
3. Старшие-эластичные	173 (117-250)	109,0 (65-190)	0,58 (0,38-1,1)
4. Старшие-жесткие	174 (98-229)	109,0 (51-175)	0,67 (0,22-1,2)
Р 2-1	н.д.	0,0001	0,0002
Р 3-1	н.д.	0,0007	0,018
Р 4-1	н.д.	0,00006	0,000045
Р 4-2	н.д.	н.д.	н.д.
Р 4-3	н.д.	н.д.	н.д.

Итак, сравнительный анализ параметров липидного профиля показал, что группа лиц моложе 45 лет, но имеющих жесткие (биологически старые) сосуды, характеризуется более атерогенным липидным профилем, чем младшие с эластичными сосудами: высоким уровнем ХС, ТГ, ХС ЛНП при отсутствии различий в концентрации ХС, входящего в состав потенциально антиатерогенных ЛВП, и апо АІ во всех группах. При этом более высокие значения апо В и апо В/АІ были сопряжены с более высокими показателями как хронологического (годы), так и биологического (СРПВ) возраста. Иными словами, удалось обнаружить определенный вклад нарушений в системе липопротеидов в изменения СРПВ, как

показателя сосудистого старения, связанного или не связанного с хронологическим (паспортным) возрастом человека. Результаты совокупного анализа уровня аполипопротеинов представлены на Рисунке 7.



Примечание: Достоверность различий между группами  $p < 0,05$ :

<sup>a</sup> по сравнению с мл-эл

**Рисунок 7 - Уровень аполипопротеинов сыворотки крови пациентов, различающихся по СРПВ ( $M \pm SD$ )**

### 3.3 Особенности субфракционного распределения апо В-содержащих липопротеидов

Одним из путей поиска показателей (биомаркеров), позволяющих выявлять ранние, часто скрытые, нарушения является углубленный анализ нарушений основных метаболических систем организма, связанных с развитием заболевания. В настоящей работе в качестве такого подхода было проведено изучение субфракционного спектра липопротеидов низких плотностей.

Для определения концентрации ХС в составе мЛНП использовали два методических подхода:

1) Электрофорез в готовых трубочках с 3% полиакриламидным гелем с последующим сканированием и компьютерной обработкой данных – Липопринт ЛНП система (Quantimetrix Lipoprint LDL System, США). Метод позволяет

выделить и определить содержание ХС в подфракциях ЛНП, в частности, мЛНП (ЛНП3-ЛНП7).

2) Энзиматический метод с использованием реактивов фирмы Randox (Великобритания), при котором входящие в наборы специфические детергенты позволяют отделить мЛНП от других липопротеидов низких плотностей.

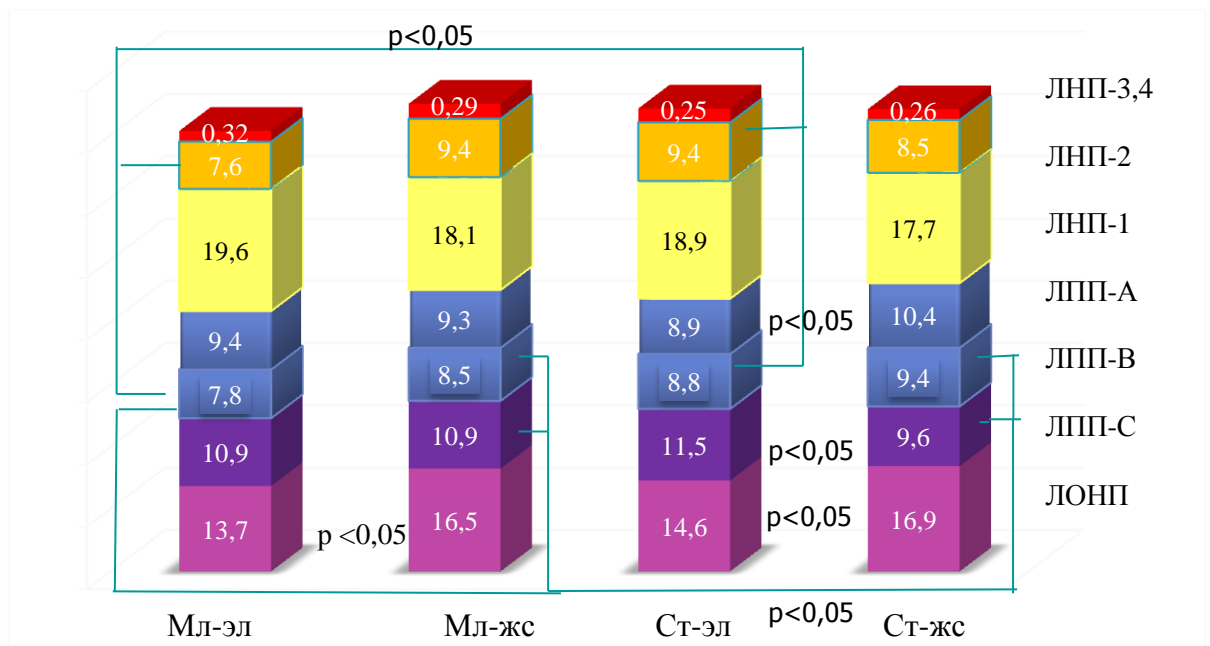
В Таблицах 7 и 8 представлены результаты сравнительного анализа субфракционного спектра липопротеидов плазмы крови обследуемых лиц, проведенного с использованием системы Липопринт. Из Таблицы 7, в которой приведено субфракционное распределение липопротеидов низких плотностей в виде доли каждой субфракции (в %), видно, что, независимо от возраста пациентов, у лиц с жесткими сосудами доля ЛОНП выше (группы 2 и 4), чем у пациентов соответствующих возрастным групп, имеющих эластичные сосуды. В группе старших с жесткими сосудами (4-я группа) в пределах фракции ЛПП доля наиболее крупных частиц ЛПП-С была ниже, чем в группах старших с эластичными сосудами (3-я группа) и младших с жесткими сосудами (2-я группа). В то же время, доля мелких частиц ЛПП-В и, особенно подфракции ЛПП-А, оказались выше в группе старших с жесткими сосудами (4-я группа).

Таким образом, у старших пациентов с жесткими сосудами в диапазоне подфракции ЛПП отмечен сдвиг в сторону более мелких частиц, близких по плотности к ЛНП. Подтверждением этих данных служит прямая корреляционная связь между СРПВ и долей ЛОНП ( $r=0.310$ ;  $p=10^{-5}$ ) и относительно мелких ЛПП-В ( $r=0.284$ ;  $p=6 \cdot 10^{-5}$ ), и обратная зависимость между СРПВ и долей крупных частиц ЛПП-С ( $r=0.145$ ;  $p=0.045$ ) и ЛНП-1 ( $r=0.152$ ;  $p=0.035$ ).

Из данных Таблицы 8 следует, что у младших с жесткими сосудами (2-я группа) по сравнению с теми, у кого сосуды оставались эластичными (1-я группа) содержание ХС было выше в ЛОНП и субфракциях ЛПП-В и ЛНП-2. В группе старших пациентов с жесткими сосудами по сравнению с теми, у кого сохранились эластичные сосуды, оказался более низким уровень ХС в субфракции ЛПП-С. При сравнении групп с эластичными сосудами, но

различающихся по возрасту, была выявлена более высокая концентрация ХС в ЛОНП и в субфракциях ЛПП-С, ЛПП-В, ЛНП-2, в то время как в группах с жесткими сосудами различий выявлено не было. В группах, различающихся и по возрасту, и по жесткости (1-я и 4-я) достоверно более высоким оказался уровень ХС в ЛОНП и в субфракциях ЛПП-В, ЛПП-А.

Суммарный анализ субфракционного спектра липопротеидов представлен на Рисунке 8.



**Рисунок 8 - Анализ субфракционного спектра липопротеидов низких плотностей по размеру частиц (доля субфракции, %)**

**Таблица 7 - Субфракционный спектр липопротеидов низких плотностей пациентов, различающихся по СРПВ  
(процентное содержание)**

Группы	ЛОНП	ЛПП-С	ЛПП-В	ЛПП-А	ЛНП-1	ЛНП-2	ЛНП-3	ЛНП-4
1. Младшие-эластичные	13,7±4,32	10,9±3,44	7,8±1,48	9,4±2,83	19,6±4,29	7,6±4,12	1,41±2,03	0,32±1,53
2. Младшие-жесткие	16,5±3,94	10,9±3,44	8,5±1,35	9,3±3,12	18,1±4,43	9,4±5,31	2,09±2,57	0,29±0,78
3. Старшие-эластичные	14,6±4,69	11,5±4,69	8,8±1,83	8,9±2,04	18,9±4,49	9,4±4,39	1,98±4,69	0,25±0,46
4. Старшие-жесткие	16,9±4,01	9,6±2,58	9,4±1,83	10,4±3,10	17,7±4,43	8,5±4,99	1,46±1,64	0,26±0,51
Р 2-1	0,0036	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.
Р 3-1	н.д.	н.д.	0,0067	н.д.	н.д.	0,042	н.д.	н.д.
Р 4-1	н.д.	н.д.	8,43 x 10 <sup>-7</sup>	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.
Р 4-2	н.д.	0,029	0,0116	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.
Р 4-3	0,0078	0,0002	н.д.	0,0120	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.

**Таблица 8 - Уровень холестерина в субфракциях апо В-содержащих липопротеидов пациентов, различающихся по СРПВ (ммоль/л)**

Группы	ЛОНП	ЛПП-С	ЛПП-В	ЛПП-А	ЛНП-1	ЛНП-2	ЛНП-3	ЛНП-4	Средний размер частиц ЛНП
1. Младшие-эластичные	0,70±0,27	0,55±0,19	0,40±0,11	0,49±0,20	0,98±0,28	0,39±0,25	0,07±0,12	0,02±0,09	270,9±4,49
2. Младшие-жесткие	0,95±0,27	0,63±0,21	0,49±0,12	0,54±0,21	1,04±0,31	0,54±0,33	0,12±0,15	0,02±0,04	269,9±4,50
3. Старшие-эластичные	0,88±0,33	0,69±0,19	0,53±0,16	0,54±0,18	1,16±0,42	0,59±0,32	0,12±0,15	0,02±0,03	270,0±3,56
4. Старшие-жесткие	0,99±0,34	0,57±0,23	0,55±0,16	0,62±0,22	1,01±0,37	0,50±0,34	0,08±0,11	0,03±0,04	270,4±3,86
Р 2-1	0,0001	н.д.	0,0005	н.д.	н.д.	0,0256	н.д.	н.д.	н.д.
Р 3-1	0,0059	0,0007	4,26 x 10 <sup>-6</sup>	н.д.	0,015	0,0019	н.д.	н.д.	н.д.
Р 4-1	1,49 x 10 <sup>-6</sup>	н.д.	2 x 10 <sup>-7</sup>	0,0012	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.
Р 4-2	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.
Р 4-3	н.д.	0,004	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.

В Таблице 9 представлены результаты энзиматического определения суммарного содержания ХС в мелких плотных ЛНП. Для сравнительного исследования была использована сыворотка крови 65 пациентов, случайно отобранных из всей обследованной когорты.

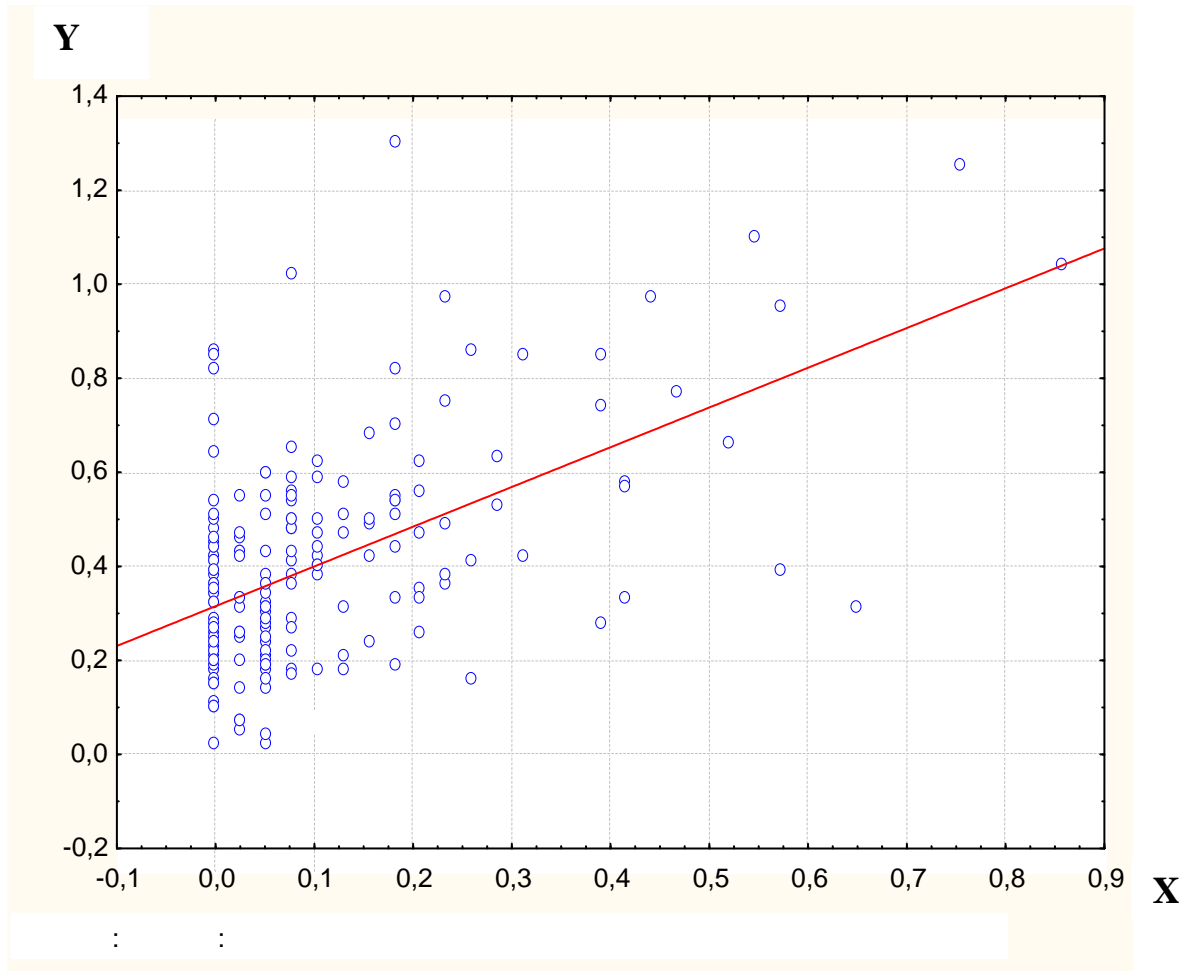
**Таблица 9 - Уровень холестерина, входящего в состав мелких плотных ЛНП в сыворотке крови пациентов, различающихся по СРПВ**

Группы	ХС в мелких плотных ЛНП, ммоль/л	
	М±SD	Me (мин-макс)
1. Младшие-эластичные	0,32±0,17	0,30 (0,02-0,85)
2. Младшие-жесткие	0,40±0,23	0,35 (0,02-1,02)
3. Старшие-эластичные	0,45±0,26	0,37 (0,10-1,30)
4. Старшие-жесткие	0,44±0,23	0,42 (0,05-1,25)
Р 2-1	0,074	н.д.
Р 3-1	0,0034	0,019
Р 4-1	н.д.	0,0019
Р 4-3	н.д.	н.д.

Объединенный анализ данных по средним значениям (со стандартным отклонением) и медиане распределения когорты (с минимальным и максимальным значением) позволил выявить достоверные различия в содержании ХС в мелких плотных ЛНП. Наиболее высокая концентрация ХС (0,44 и 0,42 ммоль/л) обнаружена в группе старших с жесткими сосудами, что статистически значимо отличало эту группу от младших с эластичными артериями. Выше, чем у младших с эластичными сосудами был уровень ХС в мелких плотных ЛНП и в группе старших с эластичными сосудами. Различия между лицами моложе 45 лет в зависимости от жесткости сосудов оказались на уровне тенденции.



На Рисунке 9 представлена корреляционная зависимость между концентрацией ХС в мелких плотных частицах ЛНП, определенная двумя методами (Липопринт и Рэндокс). Обнаружена умеренно выраженная положительная корреляция между двумя показателями: коэффициент корреляции (r) составил 0,545 (p=0,00005). Уравнение регрессии выглядит следующим образом:  $Y = 0,315 + 0,845 * X$ .



**Рисунок 9 - Сравнение результатов определения ХС в мелких плотных частицах ЛНП, полученных методами Липопринт (X) и Рэндокс (Y)**

Таким образом, нами показана сопоставимость двух лабораторных методов количественной оценки мелких плотных ЛНП, которые могут быть использованы в зависимости от поставленной аналитической задачи: Липопринт ЛНП система – для научных исследований с более полной характеристикой субфракционного

спектра, а энзиматический метод Randox – для более широкого использования в лабораторной диагностике нарушений липидного спектра.

### 3.4 Инсулинзависимая утилизация глюкозы

Наряду с атерогенными сдвигами липидного профиля к факторам, способствующим ускоренному развитию атеросклероза и артериосклероза, относят нарушения углеводного обмена. Исходя из этого, в обследованной когорте были проанализированы показатели инсулинзависимого поглощения глюкозы клетками, в том числе уровни глюкозы, HbA1c, С-пептида и инсулина, а также значения показателя инсулинорезистентности HOMA-IR.

**Таблица 10 - Биохимические показатели инсулинзависимой утилизации глюкозы в крови пациентов, различающихся по СРПВ (M±SD)**

Группы	Глюкоза, ммоль/л	HbA1c %	С-пептид, нг/л	Инсулин, мкЕд/мл	HOMA-IR
1. Младшие-эластичные	5,0±0,62	5,1±0,37	1,6±0,86	7,7±5,86	1,8±1,62
2. Младшие-жесткие	5,5±1,41	4,9±0,68	2,2±0,95	9,8±5,01	2,4±1,29
3. Старшие-эластичные	5,5±0,8	5,2±0,5	1,7±0,79	8,3±5,3	2,0±1,5
4. Старшие-жесткие	6,3±1,67	5,4±0,84	2,1±0,69	9,4±5,2	2,8±2,11
Р 2-1	н.д.	н.д.	0,008	н.д.	н.д.
Р 3-1	0,008	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.
Р 4-1	$6,93 \times 10^{-7}$	0,008	0,0006	н.д.	0,007
Р 4-2	0,02	0,01	н.д.	н.д.	н.д.
Р 4-3	0,005	н.д.	0,006	н.д.	н.д.

В Таблицах 10 и 11 представлены параметры углеводного обмена пациентов, включенных в исследование и разделенных на группы по хронологическому и биологическому возрасту. При анализе средних величин (таблица 10) оказалось, что в обеих группах старших пациентов (группы 3 и 4) уровень глюкозы был выше по сравнению с младшими с эластичными сосудами (1-я группа); более того уровень глюкозы у старших с жесткими сосудами (4-я группа) был значимо выше, чем у старших с эластичными сосудами (3-я группа) и у младших с жесткими сосудами (2-я группа). Эти различия ассоциировались с достоверно более высокой долей HbA<sub>1c</sub> в общей массе гемоглобина у лиц старшей группы с жесткими сосудами (4-я группа) по сравнению с младшими как с эластичными (1-я группа), так и с жесткими сосудами (2-я группа).

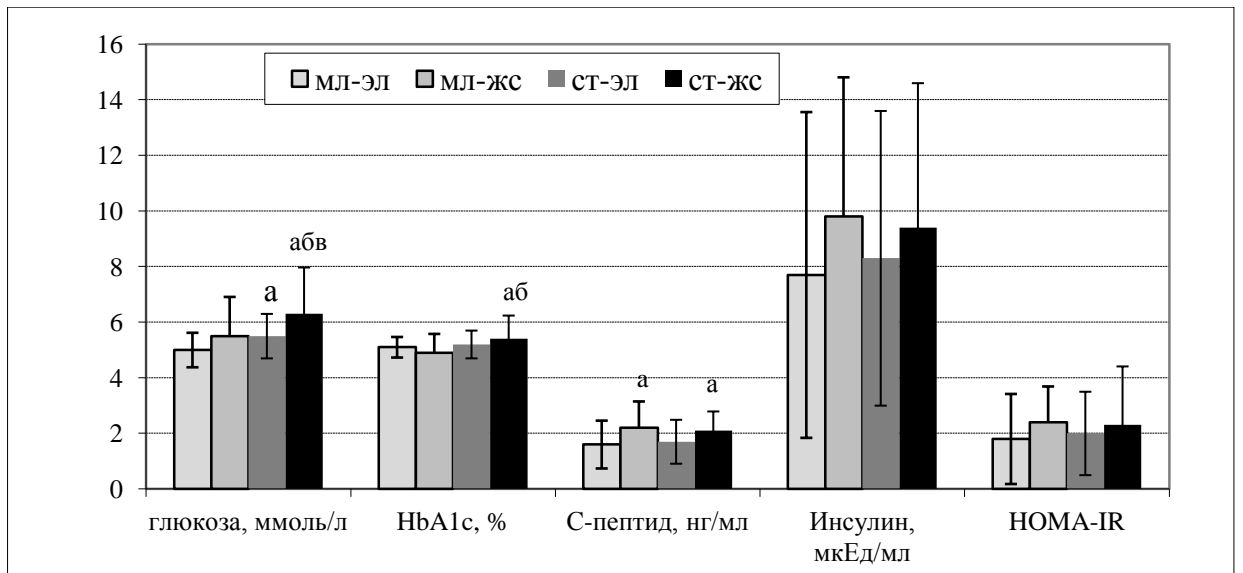
Несмотря на то, что достоверных различий в концентрации инсулина между группами пациентов, различающихся по возрасту и жесткости артериальной стенки, обнаружить не удалось, было показано, что группа младших с жесткими сосудами (2-я группа) отличается от лиц с эластичными сосудами этого же возраста (1-я группа) более высоким уровнем С-пептида в плазме крови. Индекс инсулинорезистентности HOMA-IR был выше только в группе старшей возрастной группы с жесткими сосудами (4-я группа) по сравнению с группой младших пациентов с эластичной сосудистой стенкой (1-я группа).

При дополнительном анализе показателей углеводного обмена, представленных в виде медиан распределения, удалось выявить, что у лиц младшей возрастной группы с жесткими сосудами (2-я группа) по сравнению с теми, кто имел эластичные сосуды (1-я группа), значения показателей углеводного обмена - глюкозы, инсулина, С-пептида и HOMA-IR - были выше, а уровень HbA<sub>1c</sub> был практически одинаковым.

**Таблица 11 - Биохимические показатели инсулинзависимой утилизации глюкозы в крови пациентов, различающихся по СРПВ (Ме; мин-макс)**

Группы	Глюкоза ммоль/л	НbA1c %	С-пептид нг/л	Инсулин мкЕд/мл	НОМА-IR
1.Младшие- эластичные	5,0 (3,6-7,2)	5,1 (4,3-6,1)	1,3 (0,59-4,6)	6,2 (1,04-33,5)	1,39 (0,26-10,12)
2. Младшие- жесткие	5,2 (4,3-12,5)	5,0 (3,3-7,3)	2,0 (0,7-4,0)	8,8 (2,0-22,9)	1,93 (0,44-5,90)
3.Старшие- эластичные	5,3 (3,8-7,8)	5,2 (4,0-6,1)	1,4 (0,6-3,9)	6,3 (3,1-24,8)	1,39 (0,62-6,98)
4.Старшие- жесткие	5,8 (4,4-11,5)	5,3 (4,0-8,4)	2,1 (0,9-3,8)	7,4 (3,1-25,4)	1,98 (0,65-8,92)
Р 2-1	0,0490	н.д.	0,0041	0,0096	0,0031
Р 3-1	0,0075	0,0668	н.д.	н.д.	н.д.
Р 4-2	0,0012	0,0089	н.д.	н.д.	н.д.
Р 4-3	0,0098	н.д.	0,0028	н.д.	0,0198

Таким образом, сравнение лиц старшего возраста, различающихся по СРПВ, показало, что пациенты с жесткими сосудами (4-я группа) по сравнению с теми, у кого сосуды сохранились эластичными (3-я группа), отличались более высокими уровнями глюкозы, С-пептида и НОМА-IR, тогда как концентрации инсулина и НbA1c были одинаковыми. При сравнении лиц разного возраста с эластичными (1-я и 3-я группы) и жесткими сосудами (2-я и 4-я группы) у последних были обнаружены более высокие концентрации глюкозы и НbA1c при одинаковом уровне инсулина, С-пептида и НОМА-IR.



Примечание: Достоверность различий между группами  $p < 0,05$ :

<sup>а</sup> по сравнению с мл-эл; <sup>б</sup> по сравнению с мл-жс; <sup>в</sup> по сравнению с ст-эл

**Рисунок 10 - Уровень показателей углеводного обмена пациентов, различающихся по биологическому и хронологическому возрасту ( $M \pm SD$ )**

### 3.5 Хроническое воспаление /система гемостаза

С целью изучения показателей хронического воспаления, которое рассматривается как фактор риска заболеваний, ассоциированных с патологией артериальной стенки (атеросклерозом и/или артериосклерозом), в обследуемой когорте было проведено определение уровней интерлейкина-6 (ИЛ-6), вчСРБ, фибриногена и активности фактора Виллебранда.

При анализе данных, представленных в виде средних значений (Таблица 12), различий в показателях воспаления (ИЛ-6 и вчСРБ) не обнаружено ни в зависимости от возраста, ни в зависимости от жесткости артериальной стенки. Вместе с тем, среди лиц старшего возраста (3-я и 4-я группы) выявлены статистически значимые различия: более высокий уровень фибриногена и фактора Виллебранда по сравнению с младшими с эластичными сосудами (1-я группа). При сравнении двух групп разного возраста с жесткими сосудами (4-я и

2-я группы) обнаружены более высокие значения уровня фибриногена и фактора Виллебранда.

**Таблица 12 - Биохимические показатели хронического воспаления и окислительного стресса в крови пациентов, различающихся по СРПВ (M±SD)**

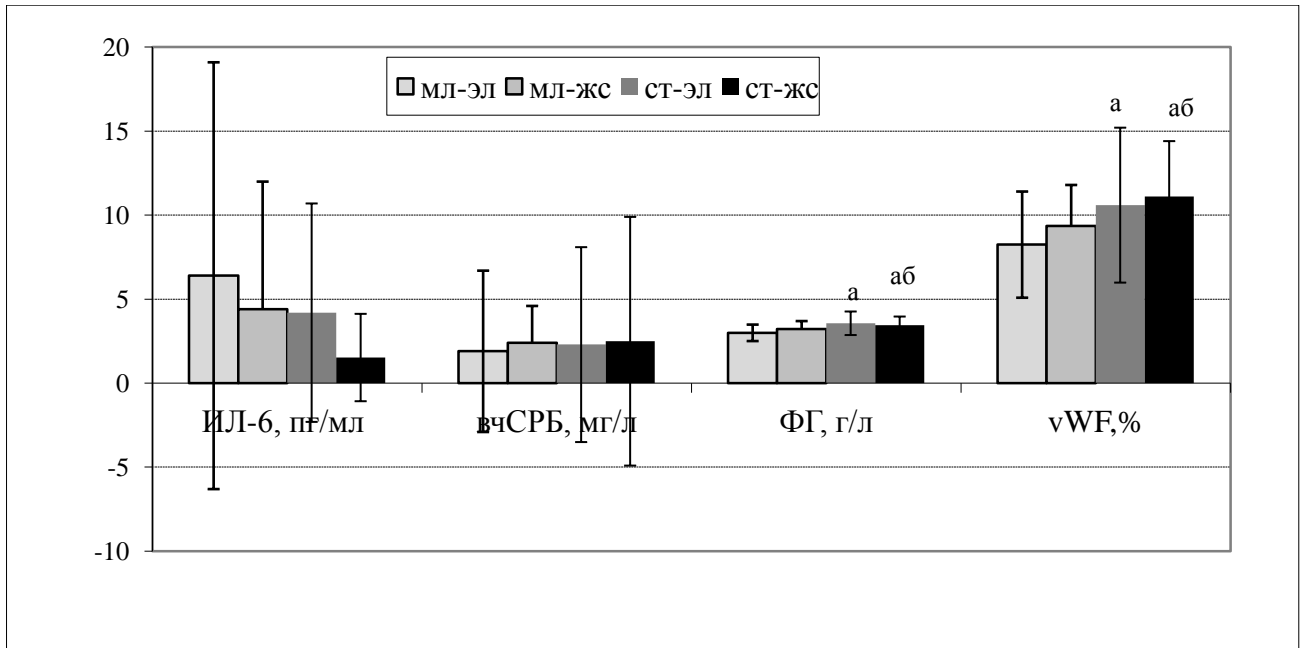
Группы	ИЛ-6, пг/мл	вчСРБ, мг/л	Фибриноген, г/л	Фактор Виллебранда, %
1. Младшие- эластичные	6,42±12,7	2,7±4,84	3,02±0,49	90,5±31,6
2. Младшие- жесткие	4,41±7,6	2,8±2,24	3,22±0,48	91,6±24,5
3. Старшие- эластичные	4,19±6,5	4,1±5,87	3,57±0,70	109,0±46,1
4. Старшие- жесткие	1,53±2,6	4,5±7,36	3,45±0,52	108,0±33,1
Р 2-1	н.д.	н.д.	0,082	н.д.
Р 3-1	н.д.	н.д.	$2,71 \times 10^{-5}$	0,022
Р 4-1	0,002	н.д.	$5,12 \times 10^{-6}$	0,003
Р 4-2	0,006	н.д.	0,045	0,019
Р 4-3	0,0032	н.д.	н.д.	н.д.

Как видно из Таблицы 13, в которой данные представлены в виде медианы, среди лиц младшего возраста выявлена слабо выраженная тенденция к более высоким значениям вчСРБ и фибриногена в группе с жесткими сосудами (2-я группа) по сравнению с эластичными (1-я группа) при отсутствии отличий в активности фактора Виллебранда и уровне ИЛ-6. Среди лиц старшего возраста в группе с эластичными сосудами (3-я группа) по сравнению с 4-й группой обнаружен более высокий уровень ИЛ-6. В то же время, при сравнении двух групп разного возраста с эластичными сосудами среди старших (3-я группа) обнаружены более высокие значения уровня фибриногена и фактора Виллебранда

и тенденция к более высокому уровню вчСРБ, чем у молодых (1-я группа). У лиц с жесткими сосудами, т.е. с высокой СРПВ (2-я и 4-я группы), активность фактора Виллебранда и уровень фибриногена также были выше среди лиц старшего возраста (4-я группа по сравнению со 2-й).

**Таблица 13 - Биохимические показатели хронического воспаления и окислительного стресса в крови пациентов, различающихся по СРПВ (Ме; мин-макс)**

Группы	ИЛ-6, пг/мл	вчСРБ, мг/л	Фибриноген, г/л	Фактор Виллебранда, %
1.Младшие- эластичные	2,0 (0,05-49,7)	1,9 (0,3-35,6)	2,98 (1,8-4,1)	82,5 (33,2-150,0)
2.Младшие- жесткие	1,0 (0,5-34,0)	2,4 (0,6-12,5)	3,29 (2,36-4,34)	93,5 (28,7-136,0)
3.Старшие- эластичные	2,0 (0,05-33,0)	2,3 (0,3-32,0)	3,48 (2,5-5,6)	106,0 (40,0-230,0)
4.Старшие- жесткие	0,5 (0,14-12,7)	2,5 (0,3-36,0)	3,46 (2,44-5,19)	111,0 (6,6-238,0)
Р 2-1	н.д.	0,0885	0,0976	н.д.
Р 3-1	н.д.	0,0755	0,0001	0,0529
Р 4-1	0,006	0,024	0,0000	0,0007
Р 4-2	0,0093	н.д.	0,0348	0,0088
Р 4-3	0,00005	н.д.	н.д.	н.д.



Примечание: Достоверность различий между группами  $p < 0,05$ :

<sup>a</sup> по сравнению с мл-эл; <sup>б</sup> по сравнению с мл-жс

**Рисунок 11 - Уровень показателей воспаления и гемостаза в крови пациентов, различающихся по СРПВ ( $M \pm SD$ )**

### **3.6 Корреляты скорости распространения пульсовой волны с факторами риска ССЗ**

Для выявления факторов, связанных с повышенной СРПВ и, соответственно с повышенной жесткостью артериальной стенки, были построены и проанализированы логистические регрессионные модели. В Таблице 14 представлены результаты анализа моделей линейной регрессии, полученных для всей когорты прямым пошаговым методом. Модель 1, включающая широкий спектр параметров: пол, возраст, основные факторы риска ССЗ, показатели липидного и углеводного обмена, воспаления и системы гемостаза, оказалась значима ( $R^2=0,270$ ;  $p < 0,00001$ ). В соответствии с этой моделью, СРПВ независимо коррелирует с возрастом и уровнем С-пептида, которые объясняют 27% вариации уровня СРПВ.



Значимой оказалась и Модель 2, включающая, возраст, САД, ДАД, ИМТ, уровень ТГ, глюкозы и HbA1c, С-пептида, а также показателей субфракционного спектра липопротеидов низких плотностей, определенного двумя методами (электрофорез в ПААГ с расчетом доли каждой субфракции и анализ содержания ХС в мелких плотных ЛНП):  $R^2 = 0,312$ ;  $p < 0,0000$ . В рамках этой модели СРПВ ассоциируется с возрастом, уровнем САД и концентрацией глюкозы в крови, которые также могут влиять на СРПВ.

**Таблица 14 - Модели линейной регрессии, полученные для всей когорты прямым пошаговым методом**

Предиктор	$\beta \pm SE$	p
<b>Модель 1: СРПВ=4,58+0,090*(возраст)+ 0,750*(С-пептид)</b>		
Возраст	0,090±0,014	0,000
С-пептид	0,750±0,221	0,0009
<b>Модель 2: СРПВ=0,859+0,652*(возраст)+0,505*(глюкоза)+0,028*(САД)</b>		
Возраст	0,065±0,015	0,000029
САД	0,028±0,0119	0,0192
Глюкоза	0,505±0,143	0,000541

При анализе данных по всей включенной в исследование когорте пациентов была обнаружена достоверная корреляция между СРПВ и возрастом ( $R=0,4553$ ,  $p < 0,001$ ); в связи с этим возник вопрос, различаются ли корреляты СРПВ с факторами риска ССЗ, связанных с атеросклерозом, в зависимости от возраста. Для ответа на этот вопрос был проведен анализ коррелятов СРПВ путем определения парных ранговых коэффициентов корреляции Спирмана, а также с использованием метода множественной линейной регрессии в двух возрастных подгруппах пациентов: младшей 25-45 лет и старшей 46-75 лет.

Как видно из Таблицы 15, в группе младших была обнаружена положительная корреляция между СРПВ, с одной стороны, и ИМТ и уровнем фибриногена, с другой, тогда как в старшей группе корреляция между СРПВ и

перечисленными факторами риска ССЗ отсутствовала. Значения коэффициентов корреляции между СРПВ и уровнем в плазме крови липидных и апобелковых компонентов липопротеидов свидетельствовали о том, что в младшей возрастной группе все факторы атерогенности системы липопротеидов положительно и достоверно коррелировали с СРПВ, причем первое место по значимости (величине R) занимало отношение апоВ/АІ, затем уровень апо В и ТГ. Близкими к ним, но более низкими были величины коэффициентов корреляции СРПВ с уровнем общего ХС, ХС ЛНП и ХС-нелВП.

У пациентов старшей возрастной группы достоверная корреляция между СРПВ и упомянутыми показателями содержания ХС в атерогенных ЛНП и ЛОНП отсутствовала, а корреляция с показателем апо В/АІ, а также уровнем апо В и ТГ была более слабой, но оставалась достоверной для апоВ/АІ и содержания ТГ и на уровне тенденции к достоверности для апоВ. Из показателей углеводного обмена в группе младших с СРПВ достоверно коррелировали следующие параметры: уровень глюкозы и инсулина натощак и показатель НОМА-ІR. У старших имела место тенденция к положительной корреляции СРПВ с инсулином натощак и индексом НОМА-ІR.

Для оценки характера взаимосвязи выявленных коррелятов с СРПВ был проведен их анализ методом множественной линейной регрессии с построением математических моделей.

При построении моделей учитывали парную корреляцию показателей между собой. Модель 3 (младшая группа) включала следующие показатели: возраст, САД, ІМТ, общий ХС, ІnТГ, глюкоза, ІnНbА1с, фибриноген. Из данных Таблицы 16 видно, что у лиц младшего возраста в рамках предложенной регрессионной модели, описывающей 36,7% исходных данных ( $R^2=0,3671$ ;  $p<0,00001$ ), СРПВ независимо коррелирует с тремя показателями: положительно с возрастом и ІМТ и отрицательно – с НbА1с.

**Таблица 15 - Ранговые коэффициенты корреляции между СРПВ и факторами риска ССЗ, связанными с атеросклерозом, для младшей и старшей групп**

Показатель	Ранговый коэффициент Спирмана (R)			
	Младшие	p	Старшие	p
Возраст, лет	<b>0,3076</b>	<b>0,0047</b>	0,0067	0,9501
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	<b>0,4410</b>	<b>0,0000</b>	0,1715	0,1165
САД, мм рт.ст.	0,1152	0,3152	-0,1404	0,1920
ДАД, мм рт.ст.	0,1226	0,2848	-0,0793	0,4628
<b>ПАРАМЕТРЫ СПЕКТРА ЛИПОПРОТЕИДОВ</b>				
Общий ХС, ммоль/л	<b>0,3196</b>	<b>0,0032</b>	0,0056	0,6015
ХС ЛНП, ммоль/л	<b>0,3192</b>	<b>0,0033</b>	0,0155	0,8855
ХС ЛВП, ммоль/л	-0,1796	0,1042	-0,0464	0,6656
ХС-неЛВП ммоль/л	<b>0,3389</b>	<b>0,0017</b>	0,0831	0,4390
ТГ, ммоль/л	<b>0,3527</b>	<b>0,0011</b>	<b>0,2662</b>	<b>0,0117</b>
Лп(а), мг/дл	-0,1469	0,1850	-0,1595	0,1333
апо АІ, мг/дл	-0,1410	0,2036	-0,0438	0,6818
апо В, мг/дл	<b>0,3673</b>	<b>0,0006</b>	<b>0,2054</b>	<b>0,0521</b>
апо В/АІ	<b>0,3935</b>	<b>0,0002</b>	<b>0,2202</b>	<b>0,0370</b>
<b>ПАРАМЕТРЫ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА</b>				
Глюкоза, ммоль/л	<b>0,2369</b>	<b>0,2369</b>	0,1698	0,1204
НbА1с, %	-0,1215	0,2832	-0,0353	0,7415
Инсулин, мЕд/мл	<b>0,3802</b>	0,0010	<b>0,2255</b>	<b>0,0687</b>
НОМА-IR	<b>0,3689</b>	0,0014	<b>0,2441</b>	<b>0,0510</b>
<b>ПАРАМЕТРЫ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ</b>				
вчСРБ, мг/л	0,1153	0,3085	-0,0390	0,7167
Фибриноген, г/л	<b>0,2883</b>	<b>0,0100</b>	0,0539	0,6159

**Таблица 16 - Оценка взаимосвязи между СРПВ и факторами риска методом множественной линейной регрессии**

Предиктор	$\beta \pm SE$	p
<b>Модель 3 - младшие:</b>		
СРПВ=0,314*(возраст)+0,384*(ИМТ) -0,272*(lnHbA1c)		
Возраст	0,314 ± 0,100	0,0025
ИМТ	0,384 ± 0,099	0,0003
lnHbA1	-0,272 ± 0,098	0,0075
<b>Модель 4 - старшие:</b>		
СРПВ= 0,316*( lnТГ)-0,254*(САД)		
lnТГ	0,316 ± 0,101	0,0024
САД	-0,254 ± 0,092	0,0137

Модель 4 (старшая возрастная группа) включала такие корреляты СРПВ, как apoB, САД, lnТГ, lnHbA1c. Независимыми показателями, связанными с СРПВ, оказались другие по сравнению с младшими факторы риска ССЗ - уровень ТГ и САД ( $R^2 = 0,1498$ ;  $p < 0,001$ ). Следует отметить, что модель 4 описывает только 15% исходных данных, что может быть связано с более слабой зависимостью СРПВ от проанализированных факторов риска в старшем возрасте по сравнению с младшими. При этом в старшей группе с эластичными сосудами уровень САД отрицательно и достоверно коррелировал с СРПВ ( $R = -0,4468$ ,  $p = 0,008$ ), тогда как у лиц того же возраста с жесткими сосудами корреляция между этими показателями отсутствовала ( $R = 0,0112$ ,  $p = 0,9346$ ). В младшей группе взаимосвязи между СРПВ и САД выявлено не было ни у лиц с эластичными, ни у лиц с жесткими артериями.

Ограничением представленного анализа можно считать отсутствие поправки на пол, что, однако, обусловлено отсутствием корреляции между полом и СРПВ как во всей группе (коэффициент корреляции Спирмана  $R = 0,0325$ ,

$p=0,647$ ;  $n=202$ ), так и отдельно среди лиц моложе 45 лет ( $R=0,1435$ ,  $p=0,183$ ;  $n=86$ ) и старше 45 лет ( $R=0,0028$ ,  $p=0,966$ ;  $n=116$ ).

### 3.7 Моделирование рисков на основе анализа ассоциаций СРПВ с традиционными и новыми факторами риска ССЗ

Для отбора показателей, позволяющих детерминировать жесткость артериальной стенки при контроле возраста и пола применяли логистическую регрессию с определением отношения шансов (ОШ) и 5-95% доверительных интервалов (ДИ) в однофакторных и многофакторных моделях.

**Таблица 17 - Параметры, ассоциированные с повышенной СРПВ**

Показатель	ОШ (5-95% ДИ)	p
САД, мм рт.ст.	3,07 (1,12-8,41)	0,0004
ДАД, мм рт.ст.	5,58 (1,91-16,29)	0,0002
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	5,20 (1,89-14,29)	0,0277
ОХС, ммоль/л	3,76 (1,38-10,24)	0,0162
ХС ЛНП, ммоль/л	2,42 (0,91-6,42)	0,0128
ХС неЛВП, ммоль/л	2,82 (1,06-7,55)	0,0001
ТГ, ммоль/л	6,66 (2,39-18,60)	0,0022
ХС ЛВП, ммоль/л	0,69 (0,28-1,74)	н.д.
апо АI, мг/дл	1,36 (0,53-3,51)	0,0008
апо В $\geq 100$ мг/дл	4,66 (1,69-12,81)	0,052
апо В/ АI	1,50 (0,58-3,87)	0,0001
Глюкоза $\geq$ , ммоль/л	5,38 (1,83-15,82)	0,001
НbA1c, $\geq$ %	1,68 (0,60-4,67)	0,0024
С-пептид $\geq$ нг/мл	6,64 (2,13-20,74)	0,0007
Фибриноген $\geq$ г/л	3,23 (1,20-8,66)	0,0001
Фактор Виллебранда %	1,58 (0,60-4,17)	0,0018
Интерлейкин-6 пг/мл	2,83 (0,67-11,93)	0,0001

В Таблице 17 приведены результаты оценки вероятности наличия жестких артерий (СРПВ > 10м/с) у лиц, относящихся к 4-5-му квинтилям распределения когорты по соответствующему показателю, по сравнению с 1-м квинтилем.

Оценка риска наличия жестких сосудов по значению АД показала, что его уровень в 3 раза выше у лиц, относящихся к 5-му квинтилю распределения когорты по САД: ОШ=3,07 (ДИ 1,12-8,41),  $p=0,0004$ , и более, чем в 5,5 раз выше у лиц из 5-го квинтиля распределения по ДАД: 5,58 (ДИ 1,91-16,29),  $p=0,0002$ . Значимым оказалось и наличие ожирения: риск жестких сосудов у пациентов из 5-го квинтиля более чем в 5 раз превышал риск для пациентов из 1-го квинтиля: ОШ=5,20 (ДИ 1,89-14,29),  $p=0,028$ .

По уровню общего ХС, среди лиц, относящихся к 5-ому квинтилю распределения когорты по ХС, риск повышенной СРПВ (более 10м/с) в 3,8 раз выше, чем у тех, кто попал в 1-й квинтиль: ОШ= (ДИ 3,76-10,24),  $p=0,0162$ . Значимая зависимость обнаружена и для ХС, входящего в состав ЛНП и всех апо В-содержащих липопротеидов (неЛВП). Риск наличия жестких сосудов (СРПВ>10м/с) среди пациентов, относящихся к четвертому и пятому квинтилям распределения когорты по уровню ТГ, более чем в 6 раз выше, чем у лиц 1-го квинтиля: ОШ=6,66 (ДИ 2,39-18,60) и ОШ=6,435 (ДИ 2,25-18,33), соответственно;  $p=0,0022$ . Стоит отметить, что различий между пациентами 1-5 квинтилей по уровню ХС, входящего в состав потенциально антиатерогенных ЛВП, обнаружено не было.

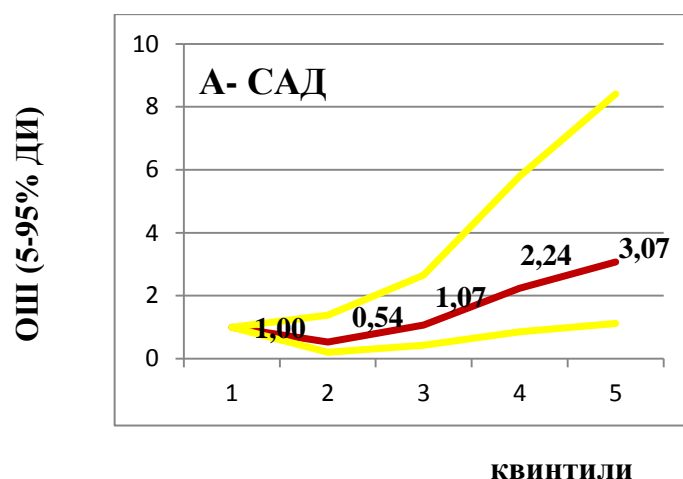
Риск наличия жестких сосудов СРПВ>10м/с среди пациентов, относящихся к 5-ому квинтилю по уровню апо В, более чем 4,5 раз выше, чем у лиц из 1-го квинтиля: ОШ=4,66 (ДИ 1,69-12,81)  $p=0,0052$ , а по уровню отношения апоВ/АІ лица из 4-го квинтиля распределения когорты имеют риск наличия жестких артерий, в 2,5 раза превышающий такой для 1-квинтиля: ОШ=2,51 (ДИ 0,95 ÷ 6,65)  $p=0,0001$ .

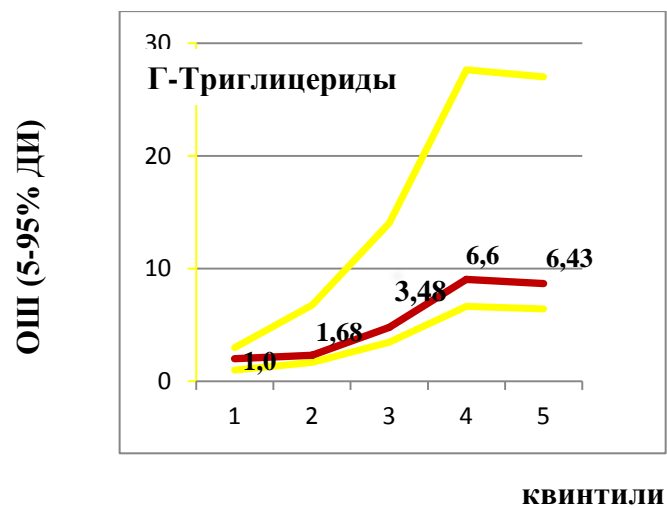
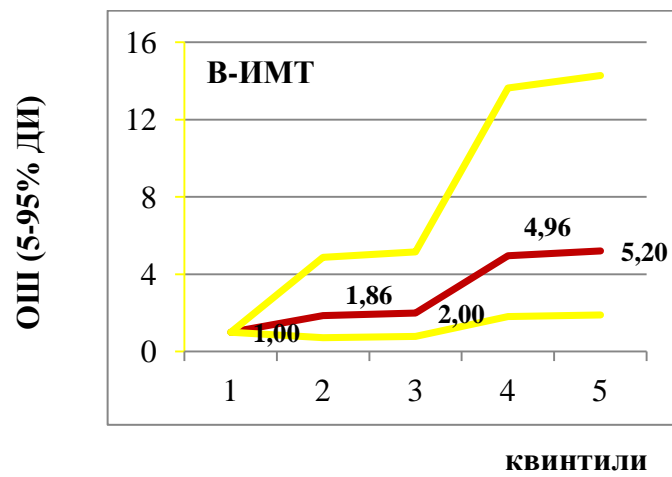
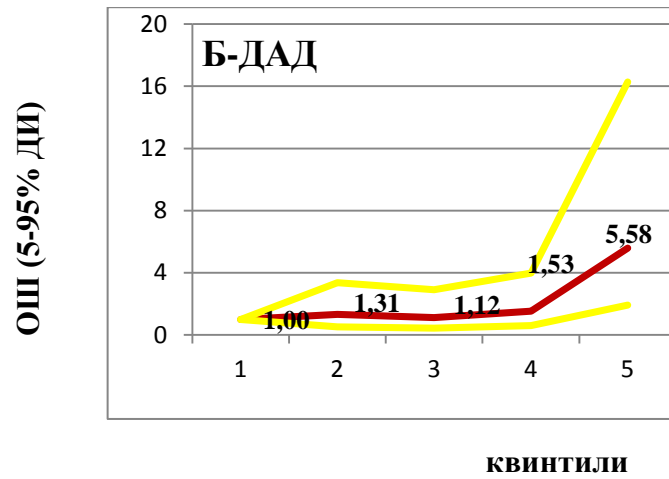
Риск наличия жестких сосудов СРПВ>10м/с среди пациентов, по уровню глюкозы относящихся к 5-ому квинтилю распределения когорты по этому показателю, практически в 5,4 раза выше, чем у лиц из 1-го квинтиля: ОШ=5,38

(ДИ 1,38-15,82)  $p=0,001$ . При оценке риска по уровню HbA1c получены не столь однозначные результаты. Так, риск жестких артерий на 97% ниже среди пациентов, относящихся к 2-ому квинтилю, по сравнению с 1-м: ОШ=0,97 (ДИ 0,38-2,48), а у лиц 5-го квинтиля распределения по этому же показателю - на 68% его величина оказалась выше, чем у лиц с HbA1c из 1-го квинтиля: ОШ=0,60 (ДИ 1,68-4,67),  $p=0,0024$ . Среди пациентов, относящихся к 4-ому квинтилю распределения по уровню С-пептида, риск наличия жестких сосудов (СРПВ>10м/с) почти в 8 раз выше, чем у лиц из 1-го квинтиля: ОШ=7,95 (ДИ 2,50-25,23),  $p=0,0007$ .

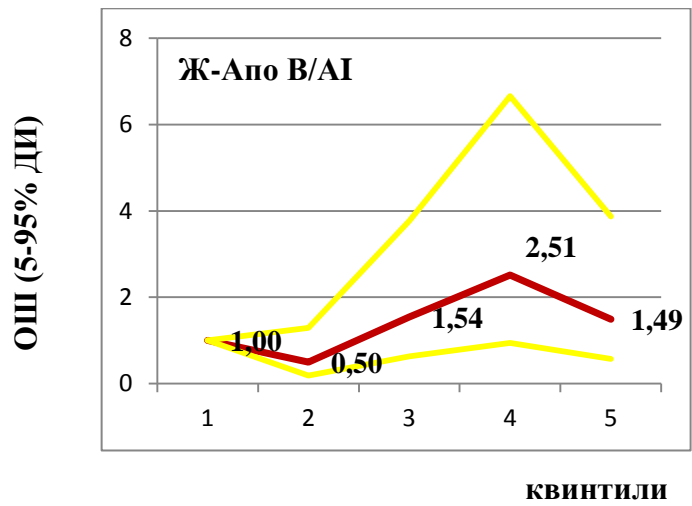
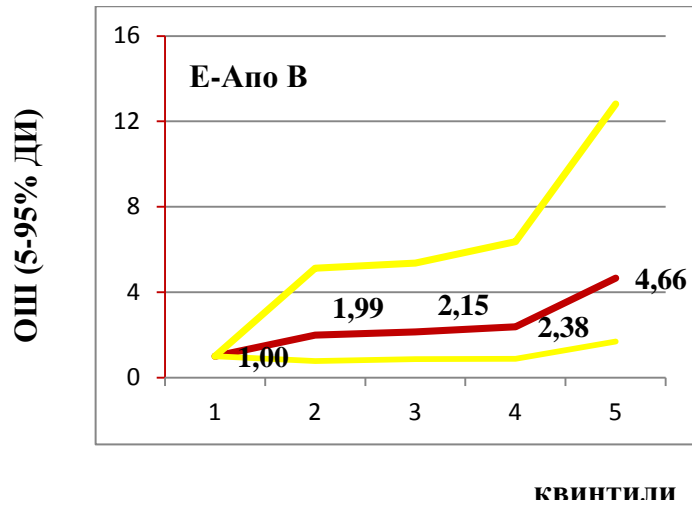
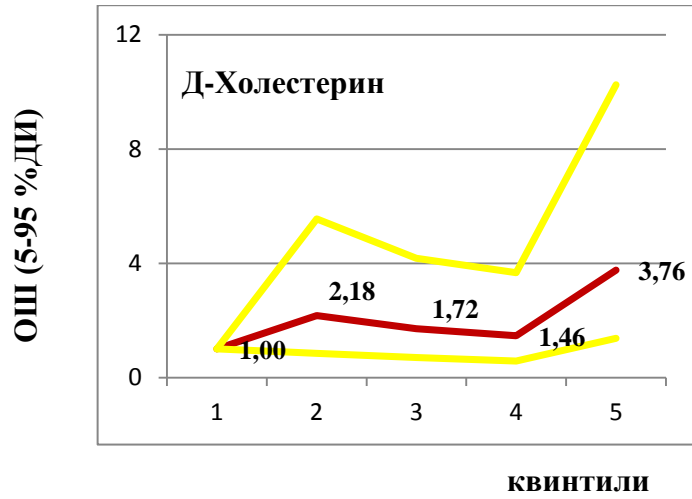
Из показателей системы гемостаза с повышенным риском наличия жестких артерий были сопряжены такие показатели, как уровень фибриногена в 4-м квинтиле: ОШ=3,23 (ДИ 1,2-8,67),  $p=0,0001$ , и активность фактора Виллебранда в 3-м и 4-м квинтилях, соответственно: ОШ=3,01 (ДИ 1,21-7,50) и ОШ=3,24 (ДИ 1,22-8,63),  $p=0,0018$ . Примечательно, что ОШ для обоих показателей снижается к 5-квинтилю до 0,98 (0,36-2,68) для фибриногена и до 1,58 (ДИ 0,60-4,17) для фактора Виллебранда.

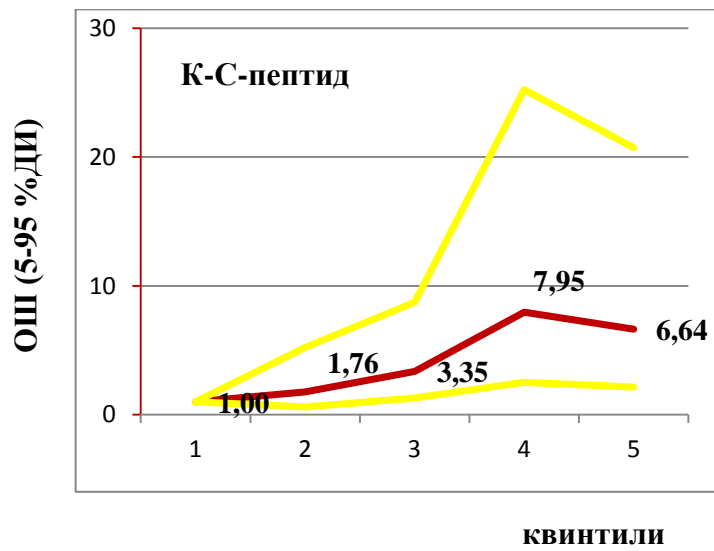
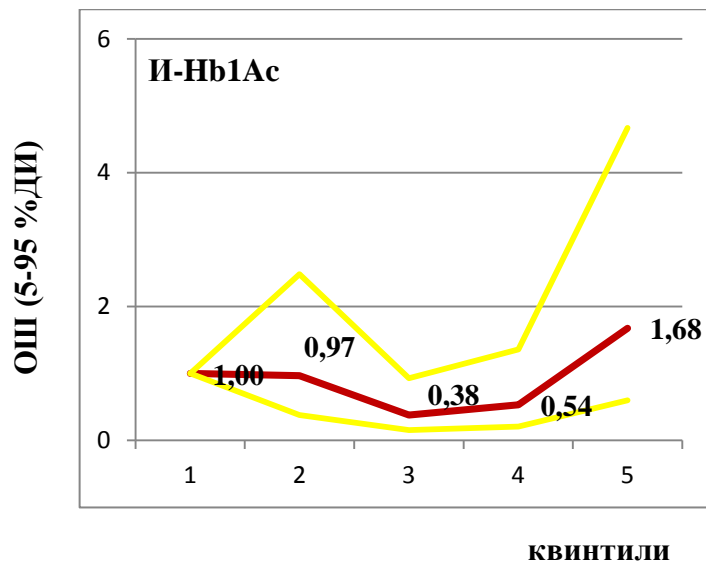
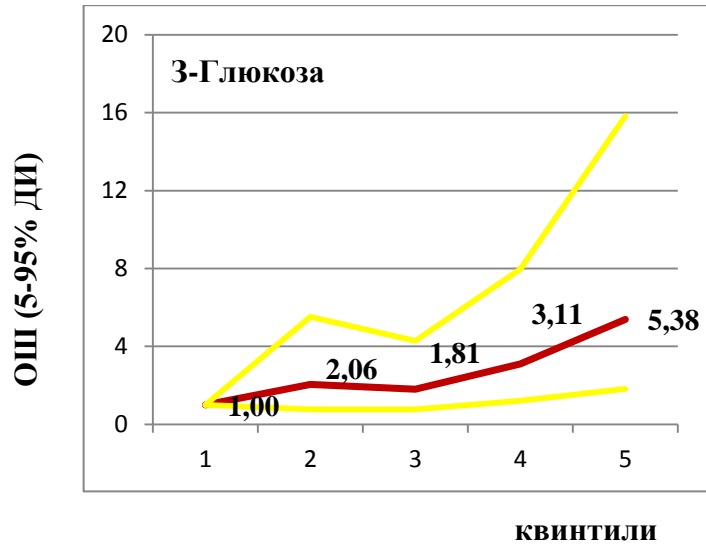
Что касается показателей воспаления (ИЛ-6, СРБ), то независимого вклада этих метаболитов в уровень риска повышенной жесткости артерий обнаружено не было. На Рисунке 12 приведены наиболее характерные зависимости.

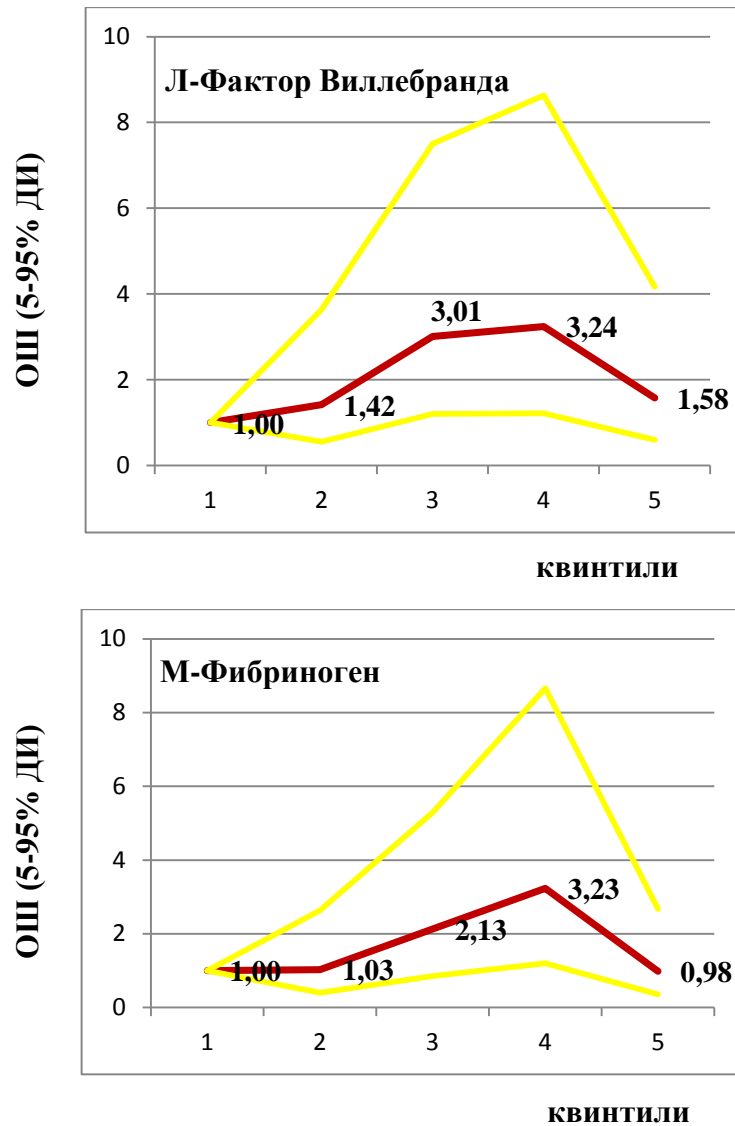










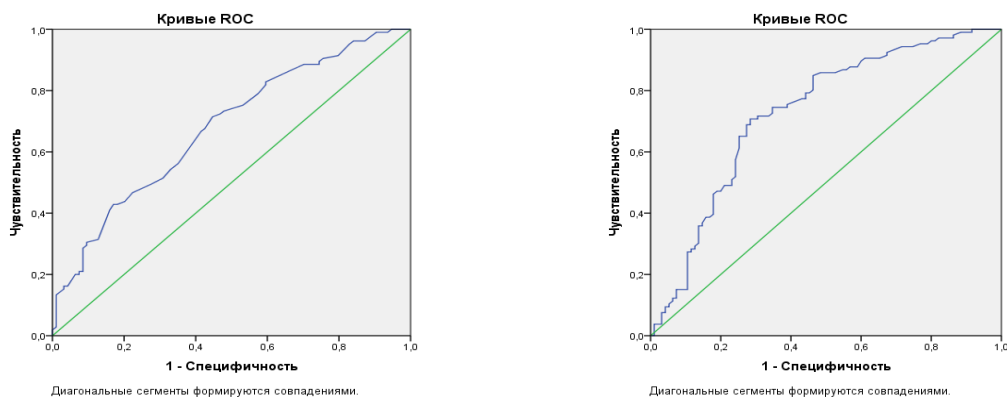


**Рисунок 12 - Отношение шансов наличия повышенной СРПВ в квинтилях распределения когорты по соответствующим показателям: А-М**

### **3.8 Оценка диагностической значимости биомаркеров**

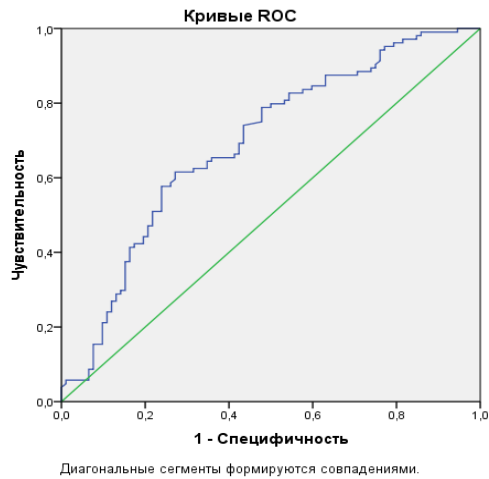
С целью определения пороговых значений для показателей, демонстрирующих наиболее значимые ассоциации с СРПВ по всей когорте, был проведен ROC-анализ. На Рисунках 13-16 представлены результаты определения разрешающей способности отдельных параметров для оценки вероятности наличия жестких артерий (СРПВ более 10 м/с).

Данные Рисунка 13 свидетельствуют о наличии связи между показателями АД и СРПВ: о наличии жестких артерий (СРПВ > 10 м/с) свидетельствуют повышенный уровень САД – с вероятностью 67,8% (AUC=0,678 (0,605-0,752; рисунок 13А и повышенный уровень ДАД – с вероятностью 63,8% (AUC=0,638 (0,562-0,714; рисунок 13Б). Для САД при равных чувствительности и специфичности (62%) пороговое значение составило 120 мм рт. ст., Для ДАД при чувствительности и специфичности, равных 59%, пороговое значение составило 75 мм рт. ст.



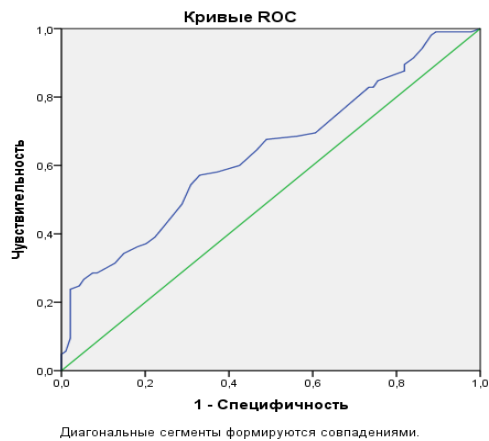
**Рисунок 13 - Определение вероятности наличия СРПВ > 10 м/с  
(А-САД, Б-ДАД)**

Рисунок 14 демонстрирует, что избыточная масса тела (повышенный уровень индекса Кетле, ИМТ), с вероятностью 69,1% ассоциируется жесткими сосудами высокой СРПВ (AUC=0,691 (0,616-0,766). При равенстве чувствительности и специфичности (64%) пороговое значение для ИМТ составило 26,3 кг/м<sup>2</sup>.



**Рисунок 14 - Определение вероятности наличия СРПВ > 10 м/с (ИМТ)**

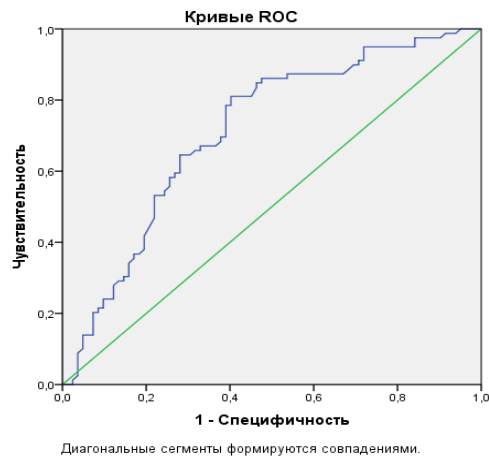
Повышенный уровень ТГ в сыворотке крови (Рисунок 15) с вероятностью 72,8% сопряжен с высокой СРПВ (AUC=0,728 (0,657-0,799)). При равенстве чувствительности и специфичности (71,5%) пороговое значение для уровня ТГ составило 1,0 ммоль/л.



**Рисунок 15 - Определение вероятности наличия СРПВ > 10 м/с (ТГ)**

Рисунок 16 демонстрирует, что повышенный уровень С-пептида в сыворотке крови с вероятностью 71,3% свидетельствует о наличии жестких артерий (СРПВ>10 м/с), о чем свидетельствует значение площади под кривой,

равной 0,713 (5-95% ДИ: 0,632-0,793). При равенстве чувствительности и специфичности (67%) пороговое значение для С-пептида составило 1,67 нг/мл.



**Рисунок 16 - Определение вероятности наличия СРПВ > 10 м/с  
(С-пептид)**

Итак, в результате проведенного ROC-анализа были определены те пороговые значения показателей, которые детерминируют риск наличия повышенной артериальной жесткости (СРПВ > 10 м/с). Это позволило оценить вклад каждого показателя (независимой переменной) в детерминацию риска наличия жестких артерий (однофакторная модель) и определить, какие показатели вносят совокупный вклад в величину такого риска (многофакторная модель).

Согласно данным однофакторного анализа, вероятность наличия жестких артерий (СРПВ > 10 м/с) статистически значимо ассоциируется с повышенным САД (>120 мм рт.ст.) и ДАД (>75 мм рт.ст.), наличием избыточной массы тела (ИМТ > 26,3 кг/м<sup>2</sup>), уровнем ТГ > 1,0 ммоль/л и концентрацией С-пептида > 1,67 нг/мл. При многофакторном анализе значимость сохранилась только для уровня ТГ, превышающего 1,0 ммоль/л; при этом вероятность наличия жестких сосудов (СРПВ > 10 м/с) более чем в 10 раз выше, чем при уровне ТГ ≤ 1,0 ммоль/л (Таблица 18).

**Таблица 18 - Отношение шансов наличия жестких артерий (СРПВ>10 м/с) в однофакторной и многофакторной моделях логистической регрессии**

Фактор	Однофакторный анализ		Многофакторный анализ	
	ОШ (5-95% ДИ)	p	ОШ (5-95% ДИ)	p
САД > 120 мм рт.ст.	<b>3,50</b> <b>(1,24-9,89)</b>	<b>0,0161</b>	1,53 (0,28-8,42)	0,617
ДАД > 75 мм рт.ст.	<b>3,17</b> <b>(1,13-8,90)</b>	<b>0,0255</b>	1,98 (0,33-11,96)	0,447
ИМТ > 26,3 кг/м <sup>2</sup>	<b>3,27</b> <b>(1,16-9,27)</b>	<b>0,0231</b>	0,442 (0,08-2,46)	0,343
ТГ > 1,0 ммоль/л	<b>10,79</b> <b>(3,39-34,39)</b>	<b>0,000</b>	<b>10,12</b> <b>(2,04-50,25)</b>	<b>0,004</b>
С-пептид > 1,67 нг/мл	<b>4,53</b> <b>(1,57-13,11)</b>	<b>0,005</b>	1,77 (0,40-7,88)	0,448

Анализ множественных непарных ранговых сравнений с включением отобранных параметров (Таблица 19) показал следующие различия между группами в зависимости от хронологического (годы) и биологического (СРПВ) возраста сосудов. Младшие с эластичными сосудами по уровню САД более 120 мм рт.ст. отличаются и от младших, и от старших лиц с жесткими сосудами, т.е. САД независимо от хронологического возраста человека ассоциируется с повышенной жесткостью артериальной стенки. По уровню ДАД выявлены различия между младшими с эластичными и старшими с жесткими сосудами, т.е. ДАД более 75 мм рт. ст. связано и хронологическим, и с биологическим возрастом. По ИМТ обнаружены различия между младшими с эластичными и лицами с жесткими сосудами независимо от хронологического возраста.

Обращает на себя внимание тот факт, что по уровню ТГ от младших с эластичными сосудами отличаются все группы пациентов, т.е. повышенный

уровень ТГ детерминирует и хронологический, и биологический возраст сосудов. И, наконец, по уровню С-пептида различия выявлены между младшими с эластичными и лицами с жесткими сосудами независимо от хронологического возраста.

**Таблица 19 - Результаты множественных сравнений: представлены соответствующие р-значения различий в 4-х группах**

Группа	Младшие- эластичные	Младшие- жесткие	Старшие- эластичные	Старшие- жесткие
САД				
Младшие- эластичные	-	0,2648	0,3309	<b>0,000004</b>
Старшие- эластичные	0,3309	0,9938	-	<b>0,0396</b>
ДАД				
Младшие- эластичные	-	0,0526	0,8980	<b>0,0083</b>
ИМТ				
Младшие- эластичные	-	<b>0,0121</b>	0,1336	<b>0,00005</b>
С-пептид				
Младшие- эластичные	-	<b>0,03371</b>	0,9726	<b>0,0099</b>
ТГ				
Младшие- эластичные	-	<b>0,00081</b>	<b>0,03071</b>	<b>0,00001</b>

Примечание: анализ различий по САД, ДАД, ИМТ и С-пептиду проведен по критерию Шеффе, для ТГ- по критерию Крускала-Уоллиса).



На следующем этапе был проведен анализ сочетаний показателей, которые в той или иной степени отличают группы с повышенным хронологическим и биологическим возрастом сосудов от молодых с эластичными сосудами. Сформирована бальная шкала, в которой каждому фактору присвоен 1 балл. Это уровень АД (САД/ДАД > 120/75 мм рт.ст.; ИМТ (> 26,3 кг/м<sup>2</sup>; концентрация в плазме крови ТГ > 1,0 ммоль/л; и С-пептида > 1,67 нг/мл).

Из данных Таблицы 20 видно, что любое сочетание двух и более факторов свидетельствует о повышенном риске наличия жестких артерий. Определены аналитические характеристики теста, включающего как минимум 2 показателя и названного комплексным маркером (КМ): его чувствительность составила 82,7%, специфичность - 61,3%, правильность прогноза - 71,6%.

**Таблица 20 - Распределение пациентов, различающихся по СРПВ в зависимости от количества баллов**

СРПВ	Суммарный балл				
	0	1	2	3	4
≤10 м/с	(n=30) <b>37,5%</b>	(n=19) <b>23,8%</b>	(n=11) <b>13,8%</b>	(n=12) 15,0%	(n=8) 10,0%
> 10 м/с	(n=6) 8,0%	(n=7) 9,3%	(n=15) <b>20,0%</b>	(n=25) <b>33,3%</b>	(n=22) <b>29,3%</b>

### **3.9 Значение вариаций субфракционного спектра апо В-содержащих липопroteидов в детерминации риска наличия жестких артерий**

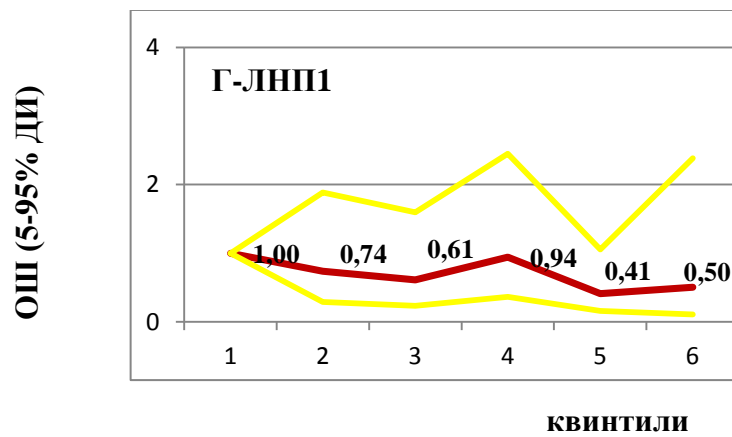
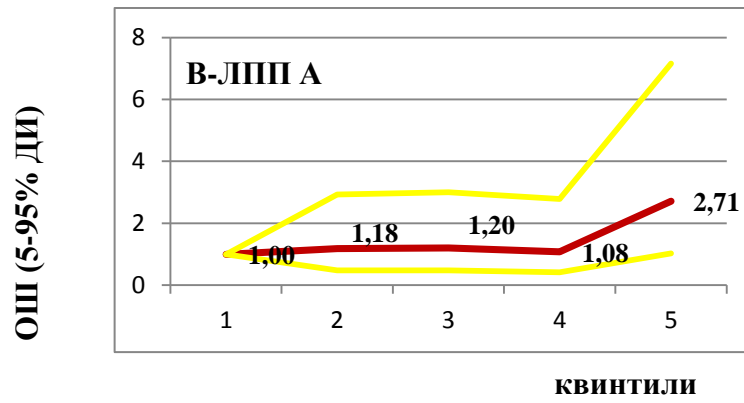
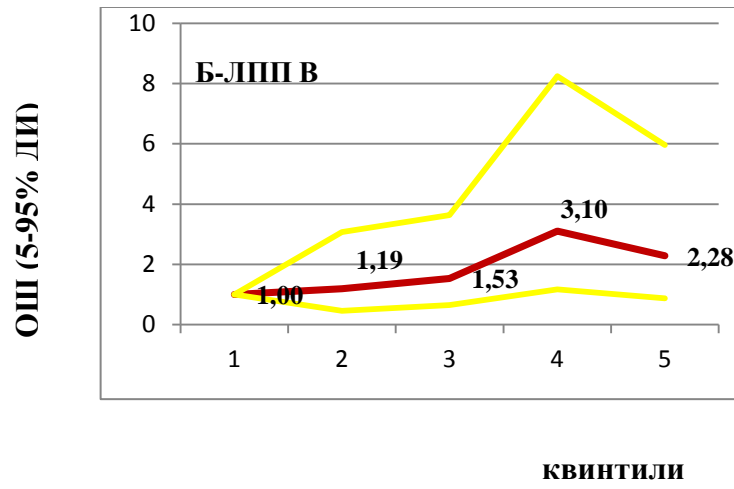
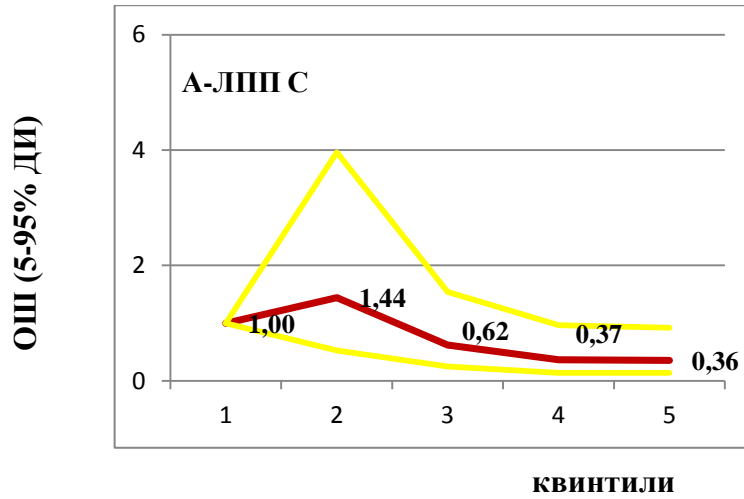
В Таблице 21 и на Рисунке 17(А-Е) представлены результаты анализа вклада показателей субфракционного спектра апо В-содержащих липопroteидов в качестве независимых переменных в детерминацию риска наличия жестких артерий (сравнение 1-го и 4-5-го квинтилей). Обнаружены статистически значимые положительные связи между СРПВ и концентрацией ХС в каждой

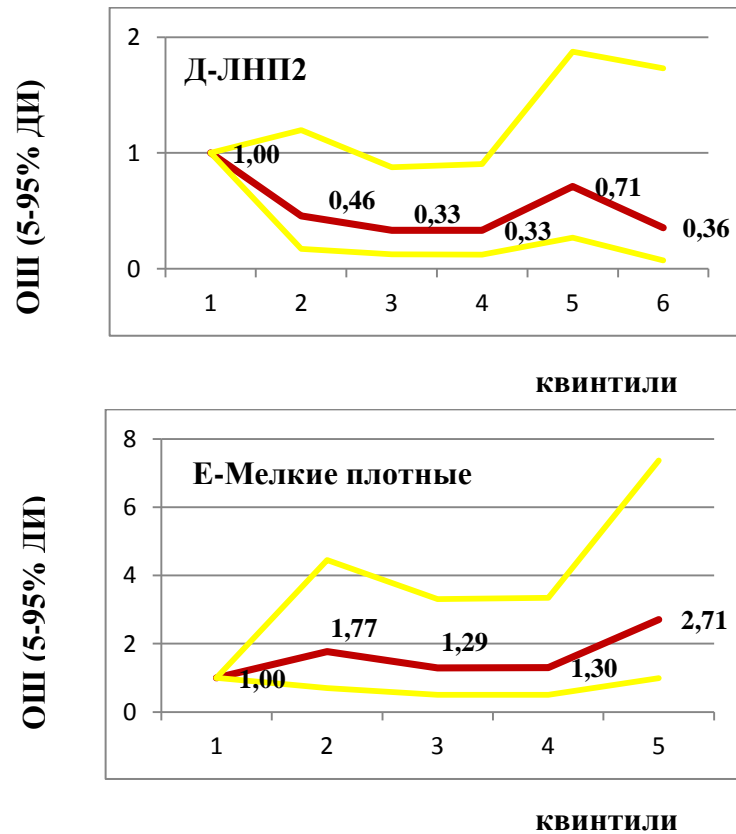
субфракции, а именно ЛОНП: ОШ=6,34 (2,25-17,89),  $p=0,001$ ; СРПВ и ЛПП В: 3,10 (1,17-8,25),  $p=0,0098$  и ЛПП А: 2,71 (1,03-7,16),  $p=0,0205$ ; а также между СРПВ и мелкими плотными атерогенными ЛНП (определенными с помощью наборов Рэндокс): 2,71 (1,00-7,37),  $p=0,0002$ . В то же время статистически значимые отрицательные связи были получены между СРПВ и наиболее крупными из липопротеидов промежуточной плотности ЛПП С (ОШ=0,36 (0,14-0,92),  $p=0,0051$ ); а также ЛНП1: 0,50 (0,11-2,39),  $p=0,0072$  и ЛНП2: 0,36 (0,07-1,73) – 5-й квинтиль и 0,71 (0,27-1,87) – 4-й квинтиль,  $p=0,0119$ . Эти данные свидетельствуют о том, что вероятность повышенной жесткости сосудов выше у лиц 1-го квинтиля, т.е. там, где доля этих субфракций снижена.

**Таблица 21 - Параметры субфракционного спектра апо В-содержащих липопротеидов, ассоциированные с повышенной СРПВ**

Показатель	ОШ (5-95% ДИ)	p
ХС ЛОНП	6,34 (2,25-17,89)	0,001
ХС ЛПП С	0,36 (0,14-0,92)	0,0051
ХС ЛПП В	3,10 (1,17-8,25)	0,0098
ХС ЛПП А	2,71 (1,03-7,16)	0,0205
ХС ЛНП 1	0,50 (0,11-2,39)	0,0072
ХС ЛНП 2	0,36 (0,07-1,73) <sup>1</sup> 0,71 (0,27-1,87) <sup>2</sup>	0,0119
ХС ЛНП 3-7	2,71 (1,00-7,37)	0,0002

Примечание: <sup>1</sup> – по сравнению с 5-м квинтилем; <sup>2</sup> – по сравнению с 4-м квинтилем





**Рисунок 17 - Отношение шансов наличия повышенной СРПВ в квинтилях распределения когорты по соответствующим показателям: А-Е**

Для того чтобы понять, какие параметры субфракционного спектра липопротеидов сопряжены с преждевременным формированием жестких артерий у молодых, с одной стороны, и с чем ассоциируется возможность сохранения эластичных сосудов в старшем возрасте, с другой, мы провели анализ однофакторных и многофакторных моделей логистической регрессии, в которых сравнение выполнено в каждой возрастной группе в зависимости от уровня СРПВ.

В Таблице 22 представлены данные анализа в группах лиц младшего возраста с эластичными и жесткими сосудами. Независимый вклад в детерминацию риска наличия повышенной СРПВ вносят концентрация основного белка липопротеидов низких плотностей – апо В, уровень ХС, входящего в состав

ЛОНП, крупных фракций ЛПП (с тенденцией к более высокому содержанию ХС ЛПП С ( $p=0,0899$ ) и статистически значимому более высокому уровню ЛПП В ( $p=0,0016$ ); положительный вклад вносит и содержание ХС в ЛНП2 ( $p=0,0305$ ). Согласно данным многофакторного анализа, позволяющего оценить совокупный вклад всех показателей субфракционного спектра апо В-содержащих липопротеидов, значимыми оказались только ХС ЛОНП ( $p=0,0176$ ) и ХС ЛПП В (на уровне тенденции: 0,0823).

**Таблица 22 - Отношение шансов наличия СРПВ>10 м/с в однофакторных и многофакторных моделях логистической регрессии в младшей группе**

Фактор	Однофакторный анализ		Многофакторный анализ	
	ОШ (5-95% ДИ)	p	ОШ (5-95% ДИ)	p
ТГ	1,40 (0,81-2,39)	0,2113		
апо АІ	0,99 (0,98-1,01)	0,7078		
апо В	<b>1,03 (1,02-1,06)</b>	<b>0,0006</b>		
ХС ЛОНП	<b>1,09 (1,04-1,15)</b>	<b>0,0006</b>	<b>1,07 (1,01-1,13)</b>	<b>0,0176</b>
ХС ЛПП С	1,05 (0,99-1,12)	0,0899		
ХС ЛПП В	<b>1,21 (1,07-1,37)</b>	<b>0,0016</b>	1,12 (0,98-1,28)	0,0823
ХС ЛПП А	1,03 (0,97-1,09)	0,2854		
ХС ЛНП1	1,02 (0,98-1,06)	0,3480		
ХС ЛНП2	<b>1,05 (1,00-1,09)</b>	<b>0,0305</b>		
ХС ЛНП3-7	1,02 (0,97-1,08)	0,4180		

Примечание: по многофакторному анализу представлены только статистически значимые различия

Среди лиц старшего возраста, различающихся по СРПВ, вероятность иметь жесткие сосуды определяется, по данным однофакторного анализа, повышенным уровнем ТГ и ХС ЛПП С (на уровне статистической значимости), а также более высоким уровнем ХС в составе ЛПП А и ЛНП1 (на уровне тенденции). При

многофакторном анализе совокупный вклад определяется повышенным уровнем ХС, входящего в состав ЛОНП и ЛПП А и сниженным его уровнем в ЛПП С и ЛНП2 (Таблица 23).

**Таблица 23 - Отношение шансов наличия СРПВ>10 м/с в однофакторных и многофакторных моделях логистической регрессии в старшей группе**

Фактор	Однофакторный анализ		Многофакторный анализ	
	ОШ (5-95% ДИ)	p	ОШ (5-95% ДИ)	p
ТГ	<b>2,03 (1,08-3,81)</b>	<b>0,0270</b>		
апо АІ	0,99 (0,98-1,00)	0,3076		
апо В	1,004 (0,99-1,01)	0,5015		
ХС ЛОНП	1,03 (0,99-1,06)	0,1269	<b>2,73 (1,24-5,98)</b>	<b>0,0113</b>
ХС ЛПП С	<b>0,93 (0,88-0,98)</b>	<b>0,0066</b>	<b>0,89 (0,83-0,96)</b>	<b>0,0020</b>
ХС ЛПП В	1,004 (0,94-1,07)	0,8849		
ХС ЛПП А	1,05 (0,99-1,11)	0,0867	<b>1,23 (1,02-1,47)</b>	<b>0,0268</b>
ХС ЛНП1	0,97 (0,95-1,00)	0,0615		
ХС ЛНП2	0,98 (0,95-1,01)	0,1619	<b>0,96 (0,92-0,99)</b>	<b>0,0188</b>
ХС ЛНП3-7	0,96 (0,90-1,02)	0,2360		

Примечание: по многофакторному анализу представлены только статистически значимые различия

Результаты, полученные в ходе построения регрессионных моделей, хорошо согласуются с данными оценки независимого вклада в детерминацию риска наличия жестких артерий показателей субфракционного спектра апо В-содержащих липопротеидов, проведенного при сравнении 5-го и 1-го квинтилей распределения выборки по соответствующим показателям.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) продолжают лидировать в качестве причины смерти и потери трудоспособности во всем мире. Именно поэтому возрастает необходимость разработки, внедрения и использования адекватных неинвазивных диагностических тестов для выявления ССЗ, стратификации риска, своевременной профилактики и лечения [76].

В соответствии с данными многочисленных эпидемиологических исследований, хронологический (паспортный) возраст человека относится к основным факторам риска ССЗ. Данные литературы свидетельствуют о том, что значимую роль в детерминации биологического возраста играет физиологическое состояние сосудов, которое, в свою очередь, способствует старению организма и развитию ССЗ, обусловленных патологическими изменениями стенок артерий, снабжающих кровью жизненно важные органы [126, 195].

Еще несколько лет назад возраст-ассоциированные структурные и функциональные нарушения артерий считали нормальным, естественным, проявлением хронологического старения, однако, с появлением данных о том, что эти нарушения усиливаются при сочетании с уже имеющимся у пациента ССЗ или его факторами риска, эта концепция претерпела изменения [59, 96, 157].

Результаты, получаемые с применением новейших биомедицинских технологий, позволяют пролить определенный свет на механизмы структурных изменений артериальной стенки, которые можно рассматривать как биологическое старение сосудов. Понятие «биологическое старение» включает в себя нарушение функциональной активности сосудистого эндотелия, утолщение стенки артерий и повышение их жесткости, т.е. изменения, которые могут не зависеть от хронологического возраста человека. Очевидно, назрела необходимость разработки инструментов или маркеров, которые бы позволили идентифицировать пациентов высокого риска увеличения жесткости артериальной стенки до появления клинически значимых осложнений.

Артериальная жесткость - это результат дегенеративных процессов, протекающих, в основном, в меди крупннх артерий эластического типа и характеризующихся повышенным отложением коллагена, усиленной фрагментацией эластина, пролиферацией ГМК и кальцификацией сосудов [59]. Эти процессы обуславливают развитие артериосклероза, который с точки зрения патофизиологии отличается от атеросклероза, когда основные события происходят в интимае, включая накопление липидов, миграцию провоспалительных клеток и ГМК, образование пенных клеток и атеросклеротической бляшки [157]. В то же время, артериосклероз и атеросклероз имеют общие факторы риска, включая возраст, АГ, СД, курение, воспаление, причем очень часто имеет место сочетание этих двух состояний и их взаимодействие между собой. Общепринято считать, что повышенная жесткость артериальной стенки не только свидетельствует о нарушении сосудистой функции и ассоциируется с повышенной атеросклеротической нагрузкой [59, 96, 157], но и обладает определенной прогностической ценностью в прогнозировании развития ИБС [105]. Именно поэтому поиск простых инструментов, позволяющих в клинико-лабораторной практике на ранней стадии оценить вероятность формирования жестких сосудов, представляется весьма актуальным и своевременным.

Механизмы, связанные с утратой артериями эластических свойств, остаются невыясненными, однако имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о существенном вкладе нарушений метаболических и иммунных систем, связанных с развитием ожирения, активацией ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, сниженной биодоступности оксида азота, усиленного ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса в патогенез сосудистой жесткости.

Наряду с формированием жестких артерий повышенный риск ССЗ обусловлен и отклонениями от нормы биохимических показателей крови, детерминирующих развитие атеротромбоза [5-7]. Это нарушения транспорта липидов в составе липопротеидов, активация процессов перекисного окисления



липидов с образованием модифицированных (окисленных и гликированных) ЛНП; к проатерогенным изменениям относят также хроническое воспаление, нарушения инсулин-зависимого поглощения глюкозы клетками, активацию факторов тромбообразования и другие нарушения [75, 97, 172].

Общепризнанным показателем состояния и, соответственно, степени старения стенки кровеносных сосудов считается скорость распространения пульсовой волны (СРПВ), которая характеризует эластичность/жесткость сосудов, а ее измерение позволяет количественно оценить процесс биологического старения [187]. Иными словами, увеличение жесткости артериальной стенки может быть одним из маркеров высокого риска сердечно-сосудистых осложнений [46, 124].

В настоящей работе с целью поиска и анализа возможных взаимосвязей между СРПВ, как показателем жесткости артерий, с одной стороны, и уровнем определяемых в сыворотке крови биохимических показателей ряда метаболических систем, с другой, проведено сравнительное исследование на когорте прошедших обследование лиц, которые различались по хронологическому (годы) и биологическому (жесткость сосудов) возрасту. В исследование включены мужчины и женщины без клинических проявлений ССЗ, но имеющие факторы риска этих заболеваний.

Мы использовали два аналитических подхода: 1) сравнение лиц, различающихся по СРПВ, в рамках каждой возрастной группы и 2) сравнение лиц разного возраста с одинаковой СРПВ. Были сформированы 4 группы: младшие (моложе 45 лет) с эластичными и жесткими сосудами ( $СРПВ \leq 10$  м/с и  $>10$  м/с, соответственно). Это позволило, с одной стороны, оценить показатели, детерминирующие биологический возраст сосудов (жесткость) независимо от хронологического возраста человека, а с другой – выявить, с какими нарушениями связано ускоренное старение сосудов (повышенная СРПВ у молодых) и каковы особенности метаболических процессов, сопряженные с сохранением эластичности сосудов ( $СРПВ \leq 10$  м/с) у лиц старшего возраста.

Сравнение липидного профиля позволило обнаружить различия в показателях спектра липопротеидов в зависимости от возраста и жесткости сосудов: у лиц младшей возрастной группы с повышенной СРПВ спектр липидов носил более атерогенный характер по сравнению с лицами того же возраста, но с СРПВ  $\leq 10$  м/с: повышенный уровень ХС, ХС ЛНП и ТГ, апо В и апоВ/АІ. При практически одинаковом содержании во всех группах апо АІ уровень апо В в группе младших с жесткими сосудами оказался наиболее высоким  $116 \pm 18$  мг/дл, что привело к наибольшему значению апопротеинового индекса атерогенности – апо В/АІ ( $0,71 \pm 0,19$ ). Согласно данным литературы, в частности, результатам недавно опубликованного систематического обзора [167], добавление к традиционным факторам риска ССЗ таких биомаркеров, как повышенный уровень апо В и отношения апо В/АІ, существенно улучшает прогнозирование сердечно-сосудистых событий особенно среди лиц повышенного риска (мужчины старше 35 лет, женщины старше 45 лет и лица старше 20 лет, имеющих несколько кардиоваскулярных факторов риска).

Эластичность артерий у лиц старшего возраста ассоциировалась с более низким, чем у лиц с жесткими сосудами того же возраста уровнем ТГ. Примечательно, что эластичность сосудистой стенки у лиц старшего возраста сохранилась, несмотря на то, что концентрация Лп(а) у них оказалась существенно выше, чем у лиц с СРПВ  $>10$  м/с. Это отличает наш результат от данных литературы, свидетельствующих о положительной связи между уровнем Лп(а) и жесткостью сосудистой стенки [175], а также между уровнем ХС в подфракциях мелких плотных ЛНП и ТГ у лиц с концентрацией Лп(а), не превышающей 30 мг/дл [2]. В работе показано, что уровни мелких плотных ЛНП и крупных ЛПП С напрямую связаны с наличием ИБС, в то же время крупные ЛНП коррелируют с концентрацией ХС ЛВП и, возможно, играют кардиопротективную роль. Наличие мелких плотных ЛНП (более 2 мг/дл) или гипертриглицеридемии (ТГ  $> 1,7$  ммоль/л) статистически значимо увеличивает вероятность обнаружения подтвержденной ИБС у пациентов с повышенной концентрацией Лп(а).

Поскольку индивидуальный субфракционный профиль липопротеидов низких плотностей во многом определяется возрастом и полом пациента, а также его липидным спектром [135], был проведен углубленный анализ этих липопротеидов методом электрофореза в ПААГ (система Липопринт) [92, 165, 188]. Метод позволяет определить средний размер частиц ЛНП, а также оценить долю каждой субфракции в суммарном спектре апо В-содержащих частиц (ЛОНП, 3 субфракции ЛПП, до 7 субфракций ЛНП) и концентрацию ХС, входящего в состав каждой субфракции [38, 92].

В настоящей работе удалось выявить определенную специфику субфракционного распределения липопротеидов низких плотностей в зависимости от хронологического и биологического возраста сосудов. Преждевременное формирование жестких сосудов у лиц младшего возраста связано с повышенной долей ЛОНП и ЛПП В и концентрацией в них ХС, а также накоплением в спектре мелких плотных атерогенных ЛНП. Эластичность сосудистой стенки у лиц старшего возраста в определенной мере сопряжена с низким уровнем ТГ и ЛОНП (и доля, и уровень ХС в их составе). Жесткость сосудов у лиц старшей группы ассоциируется с увеличенной долей более мелких подфракций ЛПП (ЛПП В и ЛПП А), близких к ЛНП.

Эти результаты хорошо согласуются с данными, полученными нами при оценке влияния на величину СРПВ каждого из показателей субфракционного спектра и их совокупного эффекта в каждой возрастной группе («младшие-эластичные» и «младшие-жесткие», «старшие-эластичные» и «старшие-жесткие»). Для младших с повышенной СРПВ связан уровень апо В и содержание ХС в ЛОНП, ЛППВ и ХС ЛНП2. Однако при многофакторном анализе связь сохраняется только для ЛОНП. В старшей группе ускоренное старение сосудов (по данным однофакторной модели) сопряжено с более высоким содержанием ТГ, что реализуется в виде накопления ЛОНП, снижении следующей по размеру субфракции – ЛПП С (многофакторная модель) и увеличении содержания наиболее мелкой из ЛПП – ЛПП А.

В последние годы широко обсуждается проблема так называемого остаточного риска, сопряженного с нормальным уровнем ХС ЛНП, но повышенным содержанием ТГ. И если пути формирования атерогенной гиперхолестеринемии в значительной мере расшифрованы, то механизмы проатерогенного действия триглицерид-богатых липопротеидов остаются невыясненными. В то же время накоплено немало сведений о причинной связи между гипертриглицеридемией (в основном, обусловленной накоплением ЛПП натошак и ремнантов хиломикронов после еды) и повышенным риском развития заболеваний, ассоциированных с атеросклерозом [68, 162]. Было показано, что поскольку обогащенные ТГ ремнанты (ЛПП) больше по размеру, чем ЛНП, они транспортируют и больше ХС (примерно в 40 раз) в расчете на одну частицу [166]. Кроме того, для захвата макрофагами частицам ЛПП нет необходимости становиться модифицированными (окисленными), поэтому атерогенный эффект ЛПП даже более выражен, чем у ЛНП [153]. Продемонстрирована ассоциация гипертриглицеридемии с нарушенной эндотелиальной функцией [162]. Наконец, имеются данные о том, что ТГ богатые ремнанты способны усиливать продукцию активных форм кислорода, оказывают негативное влияние на эндотелиальную NO-синтазу и подавляют противовоспалительное действие ЛВП [162].

Таким образом, полученные в последние годы данные эпидемиологических и генетических исследований свидетельствуют о том, что повышенный уровень ТГ-богатых липопротеидов и содержания в них ХС можно рассматривать как одну из дополнительных причин смерти от ССЗ и от всех причин [166].

Рассматривая наши результаты в совокупности с данными литературы, можно предположить нарушение процессов липолиза ТГ-богатых липопротеидов у молодых с повышенной СРПВ в виде более высокого уровня ТГ, с небольшим, но статистически значимым накоплением ЛОНП и ЛПП, как продуктов их гидролиза. Можно полагать, что эти результаты позволят, по крайней мере, отчасти, понять механизмы реализации вклада даже незначительного увеличения уровня ТГ в плазме крови в формирование повышенной жесткости артериальной стенки, когда СРПВ превышает 10 м/с.

Наряду с совершенствованием методов анализа спектра липопротеидов плазмы крови разделение на антиатерогенную нормолипидемию и атерогенную гиперлипопротеинемию претерпевает изменения. Детальный анализ субфракционного профиля липопротеидов низких плотностей позволяет выделять неатерогенную гипербеталипопротеинемию и атерогенную нормолипидемию [155]. При обнаружении таких форм вполне обоснованно поставить вопрос о пересмотре уровня сердечно-сосудистого риска и реклассификации пациентов в соответствии с их фенотипом липидного профиля. Метод определения субфракционного спектра липопротеидов с помощью электрофореза в ПААГ, который позволяет провести количественный анализ атерогенных и неатерогенных фракций липопротеидов плазмы крови и который недавно был одобрен FDA для использования в клинической лабораторной диагностике [71], позволяет выбрать меры вмешательства для лиц с атерогенным профилем и соответственно более высоким кардиоваскулярным риском.

В литературе имеются данные о взаимодействии между количеством и качеством подклассов ЛНП и различными гликемическими индексами, что отражает взаимодополняющий эффект этих двух факторов риска формирования артериальной жесткости. При сочетании гиперлипидемии и гипергликемии возрастает скорость процессов образования реактивных кислородных радикалов, прогрессирует эндотелиальная дисфункция и ускоряется атерогенез. Формированию артериальной жесткости способствует и сочетание нарушений в виде постпрандиальной гипергликемии и наличия в спектре апо В-содержащих липопротеидов мелких плотных частиц ЛНП [62]. Эти данные хорошо согласуются с результатами настоящего исследования, согласно которым в число показателей, ассоциированных с повышенной СРПВ, входят и нарушения липидного профиля, и сдвиги в субфракционном распределении апо В-содержащих липопротеидов, и нарушения углеводного обмена в виде гипергликемии (повышенный уровень глюкозы или HbA1c) или в виде инсулинорезистентности (повышен уровень либо инсулина, либо С-пептида).

Поскольку факторами риска развития ССЗ могут также быть подчас скрытые нарушения углеводного обмена, в настоящей работе был проведен анализ ряда показателей инсулинозависимого метаболизма и транспорта глюкозы, в том числе уровня в сыворотке крови натощак глюкозы, HbA1c, инсулина, С-пептида, и индекса инсулинорезистентности HOMA-IR.

У лиц младшего возраста с жесткими сосудами по сравнению с эластичными выявлены более высокие уровни глюкозы, инсулина, С-пептида и HOMA-IR. Наряду с этим обнаружена тенденция к более высоким значениям вчСРБ и фибриногена. У лиц старшего возраста, напротив, различий в уровне вчСРБ и фибриногена не выявлено, но обнаружены более высокие значения глюкозы, С-пептида и HOMA-IR при одном и том же уровне инсулина.

Эластичность сосудов (биологические молодые сосуды) у старших лиц сохраняется, несмотря на незначительно (тенденция) повышенные уровни глюкозы и HbA1c, а также более высокую концентрацию показателей хронического воспаления и тромбообразования. В качестве маркеров биологического старения сосудов, сопряженного с хронологическим возрастом, можно рассматривать нарушения в системе гемостаза в виде усиленного тромбообразования, гипергликемию и повышенный уровень HbA1c, а также.

Обсуждая полученные данные, следует отметить очень незначительное число публикаций, посвященных определению уровня С-пептида натощак или оценке секреции инсулина и чувствительности тканей к его действию, особенно у пациентов с СД Т2, находящихся на медикаментозном лечении. Этот пробел открывает широкие возможности для дальнейших исследований в этом направлении, особенно учитывая тот факт, что С-пептид – легко измеряемый маркер, характеризующий лежащие в основе заболевания патофизиологические механизмы [32]. Измерение концентрации С-пептида в плазме крови обладает рядом преимуществ по сравнению с определением инсулина. Действительно, период полураспада С-пептида длиннее, чем инсулина, поэтому его уровень можно считать более стабильным показателем, чем уровень инсулина. При анализе С-пептид не дает перекреста с инсулином, поэтому измерение его уровня

позволяет оценивать секрецию инсулина на фоне приема экзогенного гормона, а также в присутствии аутоантител к инсулину, что важно при обследовании больных с инсулинзависимым СД [200]. Стоит отметить и возможность расчета индекса инсулинорезистентности, используя уровень С-пептида; при этом, как было показано, показатели НОМА-IR и НОМА-CP хорошо коррелируют между собой [94].

Нам не удалось выявить независимую связь между инсулинорезистентностью, рассчитываемой в виде индекса НОМА-IR [135], и жесткостью сосудистой стенки. Эти данные согласуются с результатами работы, в которой было показано, что инсулинорезистентность не является независимой детерминантной артериальной жесткости, а, скорее, определяется уровнем АД, наличием ожирения и других факторов сердечно-сосудистого риска [184]. В противоположность этому в другой работе была продемонстрирована связь между инсулинорезистентностью, особенно в сочетании с ожирением, и высокой распространенностью повышенной жесткости артериальной стенки, причем оба эти нарушения были сопряжены с повышенным риском ССЗ. Действительно, лица с избыточной массой тела и ожирением имеют более жесткие артерии, чем лица того же возраста, но без ожирения. К факторам, ассоциированным с повышенной жесткостью, относят дисфункцию сосудистого эндотелия, гиперхолестеринемию, а также инсулинорезистентность и повышенный уровень С-пептида [169, 185]. В совокупности эти факты свидетельствуют, по-видимому, о сложных механизмах, обеспечивающих реализацию комплекса факторов риска, которые окончательно не раскрыты.

Полученная в настоящей работе слабая и недостоверная связь между СРПВ и уровнем HbA1c может быть обусловлена тем, что у младших пациентов с эластичными сосудами СРПВ коррелировала с уровнем HbA1c положительно ( $R=0,1204$ ;  $p<0,40$ ) тогда как у молодых с жесткими сосудами взаимосвязь между СРПВ и HbA1c была отрицательной ( $R=-0,2546$ ;  $p < 0,19$ ).

В ряде работ показано, что не только высокий, но и сниженный уровень HbA1c ассоциируется с повышенным риском ССЗ [84, 191]. В перекрестном,

проспективном когортном исследовании, проведенном на японской популяции, было показано, что низкий уровень HbA1c был связан с повышенным риском геморрагического инсульта, в то время как СД и высокий уровень HbA1c - с более высоким риском как ишемического инсульта, так и ишемической болезни сердца. Возможно, отрицательная независимая корреляция СРПВ с уровнем HbA1c, выявленная в младшей группе, указывает на повышенный риск геморрагического инсульта в молодом возрасте у лиц без СД со сниженной эластичностью сосудов.

Неожиданные, на первый взгляд, результаты были получены при оценке уровня ИЛ-6 в обследованной когорте. Действительно, уровень этого цитокина оказался самым низким в группе лиц старшего возраста с жесткими сосудами ( $1,53 \pm 2,6$  пг/мл), тогда как в остальных трех группах он оказался одинаково более высоким:  $6,42 \pm 12,7$  пг/мл у младших с эластичными сосудами,  $4,41 \pm 7,6$  пг/мл у младших с жесткими сосудами и  $4,19 \pm 6,5$  пг/мл в группе старших с эластичными сосудами. В организме человека ИЛ-6 выступает как в роли провоспалительного цитокина, являясь предшественником и стимулятором продукции в печени острофазного СРБ, так и в роли модулятора иммунного ответа. Возможным объяснением полученных нами данных может являться сочетание снижения с возрастом иммунитета и степени окислительного стресса, что и нашло отражение в низком значении этого показателя у лиц старшей группы с жесткими артериями. В пользу такого предположения свидетельствуют данные о том, что у людей, перешагнувших 90-летний рубеж, обнаружен низкий уровень окислительного стресса [43]. Кроме того, имеются данные о том, что не столько сами цитокины, в частности, ИЛ-6 и ФНО $\alpha$ , сколько их растворимые рецепторы служат показателями ранних сосудистых изменений, ассоциированных с ССЗ [63].

Интересные результаты были получены при анализе корреляционных связей между СРПВ и рядом основных факторов риска ССЗ, обусловленных атеросклерозом. Так, в младшей группе обнаружены высокодостоверные корреляции между СРПВ и ИМТ, уровнем в сыворотке крови общего ХС и ХС ЛНП, ТГ, апо В, апо В/АI, глюкозы, инсулина, и НОМА-IR. В старшей группе с СРПВ значимо коррелировали только уровни ТГ и апоВ/АI, корреляция с уровнем



апо В, инсулина и значением НОМА-IR была на уровне тенденции. Обнаружение корреляций, наиболее выраженных в младшей группе, свидетельствует о высокой значимости сочетания повышенной жесткости артериальной стенки с наличием факторов, вовлеченных в атерогенез [7]. Это свидетельствует о необходимости повышения эффективности мер профилактики ССЗ посредством раннего выявления и своевременной коррекции факторов, коррелирующих с СРПВ, что особенно важно в молодом возрасте.

Аналитический этап работы включал и построение ряда математических моделей, позволяющих оценить вероятность наличия у пациента жестких артерий (СРПВ > 10 м/с), в которые вошли ключевые переменные, объединенные в комплексы, или панели факторов, определяющих риск. Анализ различных моделей риска наличия повышенной СРПВ позволяет понять, каким образом сочетание нарушений, отражаемое в анализируемых показателях, определяет вероятность наличия жестких артерий, и сформировать соответствующие маркеры, позволяющие осуществлять неинвазивную и широко доступную оценку состояния артериальной стенки [14].

Сравнительный анализ ряда математических моделей позволил отобрать показатели, демонстрирующие наиболее значимые ассоциации с СРПВ по всей когорте. Определение пороговых значений и оценку дискриминационной способности проводили с помощью ROC-анализа. С использованием полученных оптимальных пороговых значений (определенных при равенстве чувствительности и специфичности теста) показано, что вероятность наличия жестких артерий при повышенном САД (>120 мм рт. ст.) составляет 67,8%, при повышенном ДАД (>75 мм рт. ст.) она равна 63,8%, избыточной массе тела (ИМТ>26,3 кг/м<sup>2</sup>) – 69,1%, повышенном уровне С-пептида (>1,67 нг/мл) – 71,3% и даже незначительно повышенном уровне ТГ (>1,0 ммоль/л) – 72,8%.

Рассмотрение моделей логистической регрессии проводили с учетом полученных оптимальных пороговых значений для каждого параметра. Согласно данным однофакторной модели, демонстрирующей независимый вклад каждого показателя в детерминацию формирования жестких сосудов, вероятность наличия

СРПВ  $>10$  м/с в несколько раз выше, чем у лиц с СРПВ  $\leq 10$  м/с. Совокупный вклад комплекса параметров в повышенную жесткость артериальной стенки определяется только повышенным уровнем ТГ: ОШ=10,12 (5-95% ДИ 2,04-50,25),  $p=0,004$ , поскольку в многофакторном анализе все другие факторы утратили свою значимость.

Методом множественных непарных ранговых сравнений с включением отобранных параметров оценивали параметры, по которым младшие с эластичными сосудами (референтная группа) отличались от всех остальных групп. Оказалось, что повышенный уровень САД независимо от СРПВ связан с хронологическим возрастом, тогда как повышенное ДАД - и хронологическим, и с биологическим возрастом. ИМТ и уровень С-пептида детерминируют жесткость сосудов независимо от возраста человека. Повышенный уровень ТГ ассоциируется и с хронологическим, и с биологическим возрастом сосудов.

Поиск, апробация и внедрение методов диагностики и прогнозирования риска развития нарушений, способствующих ускоренному атерогенезу и артериогенезу, крайне актуальны для клинической практики. Разработке различных биомаркеров, в том числе и комплексных, сочетающих клинико-инструментальные (визуальные) показатели и параметры важнейших метаболических процессов, посвящено множество работ [14, 110, 189, 203]. Тем не менее, сохраняется необходимость поиска и апробации простых надежных инструментов, позволяющих проводить на доклинической стадии детекцию метаболических нарушений, которые, возможно, предшествуют развитию жесткости артериальной стенки.

В настоящей работе в ходе поиска такого инструмента проанализирован ряд комбинаций биомаркеров. На основании полученных результатов был сформирован Комплексный биоМаркер (КМ), включающий повышенное АД (САД и ДАД объединили в один показатель артериального давления, АД), избыточную массу тела, повышенные уровни С-пептида и ТГ. Каждому из параметров был присвоен 1 балл и в каждой возрастной группе проанализировано распределение обследованных лиц в зависимости от суммарного балла.

Оказалось, что наличие любых двух и более показателей служит маркером повышенной СРПВ. Предложенный маркер доступен для практического применения в здравоохранении и позволяет выявлять пациентов с повышенной жесткостью артериальной стенки, которым в зависимости от хронологического возраста будут предложены мероприятия по целенаправленной персонализированной коррекции метаболических нарушений.

Таким образом, полученные в настоящем исследовании результаты позволяют обнаруживать такое сочетание факторов, которое может соответствовать определенной стадии биологического старения артериальной стенки независимо от хронологического возраста человека. Такие знания могут стать основой для разработки мишеней как общего антиатерогенного воздействия, так и специфической антивозрастной терапии, зависимые или независимые от хронологического возраста человека.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование было предпринято с целью поиска ответа на два принципиальных вопроса: 1) нарушения каких метаболических путей связаны с повышенной СРПВ, т.е. преждевременным старением сосудов у людей моложе 45 лет; 2) какие особенности функционирования метаболических систем способствуют сохранению эластичности сосудов ( $СРПВ \leq 10$  м/с) у людей старшей возрастной группы (46 лет и старше). Иными словами, планировали изучить, связаны ли биохимические маркеры атерогенных нарушений (дислипидемия, инсулинорезистентность, хроническое воспаление и повышенная склонность к тромбообразованию) с биологическим (структурно-функциональным) возрастом сосудов и хронологическим возрастом человека в когорте лиц без клинических проявлений атеросклероза; выяснить возможность использования их сочетаний (комплексов) в качестве биомаркеров сосудистого старения.

Согласно полученным в настоящей работе данным, жесткость сосудов у молодых (ускоренное биологическое старение) ассоциируется с более атерогенным липидным профилем, начальными проявлениями хронического воспаления артериальной стенки и склонностью к тромбообразованию, а также с нарушениями углеводного обмена, которые проявляются в виде сниженной чувствительности тканей к действию инсулина.

Эластичность артерий в старшей группе сохраняется, несмотря на незначительно повышенные уровни глюкозы и HbA1c, а также более высокие показатели хронического воспаления и тромбообразования.

Повышенная жесткость сосудов в старшей группе ассоциируется повышением АД и уровня ТГ, что сопряжено с более атерогенным субфракционным спектром апо В-содержащих липопротеидов низких плотностей, а также гипергликемией и инсулинорезистентностью.

Результаты по определению субфракционного спектра апо В-содержащих липопротеидов позволяют заключить, что сдвиги в субфракционном спектре ЛПП и ЛНП в сторону более мелких частиц сопряжены с биологическим старением

сосудов и развитием атеросклероза. Кроме того, обнаружение сдвигов в сторону накопления мелких плотных частиц у лиц с нормолипидемией может быть и маркером раннего атеротромбоза.

Важным результатом проведенной работы явилось обнаружение ассоциаций между СРПВ, как показателем биологического возраста сосудов, и факторами риска ССЗ, в зависимости от хронологического (паспортного) возраста человека. Действительно, в относительно молодом возрасте (до 45 лет), повышенная СРПВ чаще сочетается с основными факторами риска ССЗ, что свидетельствует о высоком суммарном риске этих заболеваний у молодых людей. Эти данные целесообразно учитывать при разработке целенаправленных персонализированных профилактических мероприятий посредством выявления наличия и коррекции факторов риска, коррелирующих с СРПВ, особенно в молодом возрасте.

## ВЫВОДЫ

1. Установлено, что жесткость артериальной стенки у лиц 45 лет и моложе сопряжена с более атерогенным спектром липопротеидов, чем у лиц того же возраста с эластичными сосудами: повышенным уровнем холестерина ( $5,8 \pm 0,78$  ммоль/л;  $p < 0,05$ ), холестерина липопротеидов низкой плотности ( $4,1 \pm 0,77$  ммоль/л;  $p < 0,05$ ) и триглицеридов ( $1,3(0,4-2,7)$  ммоль/л;  $p < 0,05$ ), более высокими значениями аполипопротеина В ( $111 \pm 23,8$  мг/дл;  $p < 0,05$ ) и апоВ/АІ ( $0,7 \pm 0,21$ ;  $p < 0,05$ ). У лиц старшего возраста эластичность артериальной стенки ассоциируется с более низким, чем у лиц с жесткими сосудами, уровнем триглицеридов ( $0,9(0,5-3,7)$  ммоль/л;  $p < 0,05$ ), но с повышенным уровнем липопротеида(а) ( $19(1,1-250,0)$  мг/дл;  $p < 0,05$ ).

2. Выявлены нарушения углеводного обмена, ассоциирующиеся с жесткостью артериальной стенки в молодом возрасте: повышенные уровни глюкозы ( $5,2(4,3-12,5)$  ммоль/л;  $p < 0,05$ ), С-пептида ( $2,0(0,7-4,0)$  нг/л;  $p < 0,05$ ) и показателя инсулинорезистентности ( $1,93(0,44-5,90)$ ;  $p < 0,05$ ). У лиц старшего возраста, эластичность сосудистой стенки сохраняется, несмотря на незначительно повышенные по сравнению с младшими уровни глюкозы ( $5,3(3,8-7,8)$  ммоль/л;  $p < 0,05$ ) и гликированного гемоглобина ( $5,2(4,0-6,1)$  %;  $p < 0,1$ ).

3. Показано, что повышенная скорость распространения пульсовой волны, как у младших, так и у старших ассоциируется с начальными проявлениями хронического воспаления артериальной стенки и склонностью к тромбообразованию, что проявляется в виде более высоких концентраций высокочувствительного С-реактивного белка ( $2,4(0,6-12,5)$  мг/л для младших и  $2,5(0,3-36,0)$  мг/л для старших), фибриногена ( $3,29(2,36-4,34)$  г/л и  $3,46(2,44-5,19)$  г/л) и активности фактора Виллебранда для старших  $111(6,6-238,0)$  %.

4. Выявлены особенности субфракционного распределения апо В-содержащих липопротеидов в зависимости от величины жесткости сосудов. Жесткость артериальной стенки у молодых ассоциируется с накоплением триглицерид-богатых липопротеидов очень низкой плотности и повышенным содержанием холестерина в мелких плотных липопротеидах низкой плотности. Эластичность артериальной стенки у лиц старшего возраста связана с менее атерогенным профилем по сравнению с лицами с повышенной жесткостью: более низким уровнем триглицеридов и липопротеидов очень низкой плотности (и доля, и уровень холестерина в их составе), увеличенной долей и содержанием холестерина в составе ЛПП С. Жесткость сосудов у старших ассоциируется с увеличенной долей более мелких подфракций липопротеидов промежуточной плотности (ЛПП В и ЛПП А), близких к липопротеидам низкой плотности.

5. Показана сопоставимость двух лабораторных методов количественной оценки в субфракционном спектре апо В-содержащих липопротеидов мелких плотных липопротеидов низкой плотности (коэффициент корреляции  $r = 0,545$ ;  $p=0,00005$ ), которые могут быть использованы в зависимости от поставленной аналитической задачи.

6. Обнаружена возрастная специфика коррелятов скорости распространения пульсовой волны с метаболическими показателями: в младшей группе это индекс массы тела, параметры липидного и апобелкового профиля, концентрация глюкозы, инсулина, значение индекса инсулинорезистентности, в старшей - только уровни триглицеридов и апо В/АІ, что свидетельствует о необходимости ранней детекции этих факторов и их своевременной целенаправленной коррекции, особенно в молодом возрасте.

7. Предложен Комплексный биоМаркер оценки риска повышенной скорости распространения пульсовой волны; с помощью ROC-анализа определены пороговые значения факторов, входящих в Комплексный биоМаркер: для артериального давления это значение составило 120/75 мм рт. ст., для индекса массы тела —  $26,3 \text{ кг/м}^2$ , для триглицеридов —  $1,0 \text{ ммоль/л}$ , для С-пептида —  $1,67 \text{ нг/мл}$ .

8. Установлено, что сочетание двух и более показателей, составляющих Комплексный биоМаркер, уровень которых выше соответствующих пороговых значений, свидетельствует о повышенной жесткости артериальной стенки с чувствительностью  $82,7\%$  и специфичностью  $61,3\%$ ; правильность прогноза достигает  $71,6\%$ .



## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Предложенный Комплексный биоМаркер, включая контроль уровней САД, ДАД, индекса массы тела, уровней ТГ и С-пептида, целесообразно использовать при прогнозировании вариантов старения сосудов у конкретного пациента для учета обнаруженных нарушений при определении индивидуальных профилактических мероприятий.

2. Анализ субфракционного распределения липопротеидов низких плотностей с помощью системы Липопринт целесообразно использовать для научных исследований; доступный автоматизированный энзиматический метод (любой автоанализатор и реактивы фирмы Randox) – для широкого использования в лабораторной диагностике нарушений липидного профиля даже при нормолипидемии.

3. Данные по возрастной специфике коррелятов СРПВ с метаболическими показателями целесообразно учитывать при планировании мер профилактики хронических неинфекционных заболеваний.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ	артериальная гипертония
АД	артериальное давление
Апо	аполипопротеин
вчСРБ	высококчувствительный С-реактивный белок
ГМК	гладкомышечные клетки
ДАД	диастолическое артериальное давление
ДИ	доверительный интервал
ИБС	ишемическая болезнь сердца
ИЛ-6	интерлейкин-6
ИМТ	индекс массы тела
КПГ	конечные продукты гликирования
ЛВП	липопротеиды высокой плотности
Лп(а)	липопротеид (а)
ЛНП	липопротеиды низкой плотности
ММП	металлопротеиназа
ОТ	окружность талии
ОШ	отношение шансов
САД	систолическое артериальное давление
СД Т2	сахарный диабет типа 2
СРПВ	скорость распространения пульсовой волны
ССЗ	сердечно-сосудистые заболевания
ТГ	триглицериды
ХМ	хиломикроны
ХНИЗ	хронические неинфекционные заболевания
ХС	холестерин
ЧСС	частота сердечных сокращений
ЭЦМ	экстрацеллюлярный (внеклеточный) матрикс
ROC	Received Operator Curve
vWF	фактор Виллебранда
НbA1c	гликированный гемоглобин
НОМА-IR	индекс инсулинорезистентности

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Афанасьева О.И. Полиморфизм липопротеида(а) как фактор риска коронарного и каротидного атеросклероза и его осложнений у женщин / О.И. Афанасьева, М.В. Ежов, М.С. Сафарова, М.И. Афанасьева, И.Ю. Адамова, С.Н. Покровский // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. –2010. – № 9(6). – С.10-16.
2. Афанасьева О.И. Повышенная концентрация липопротеида(а) и наличие подфракций мелких плотных липопротеидов низкой плотности как независимые факторы риска ишемической болезни сердца/ О.И. Афанасьева, Е.А.Уткина, Н.В. Артемьева, М.В.Ежов, И.Ю.Адамова, С.Н. Покровский // Кардиология. – 2016. – № 56(6). – С. 5-11.
3. Бойцов С.А. Взаимосвязи атеросклероза, атеросклероза и артериальной гипертонии – старый вопрос в свете новых данных/ С.А. Бойцов// Терапевтический архив. – 2009. – №81(11). – С.5-11.
4. Болезни сердца по Браунвальду: Руководство по сердечно-сосудистой медицине/под ред. Либби П., Манна Д.Л., Зайпса Д.П. – М.: Логосфера, 2013. – 3 т. – 728 с.
5. Гомыранова Н.В. Биохимические маркеры атерогенных нарушений в системе липопротеинов: связь с биологическим и хронологическим старением сосудов/ Н.В. Гомыранова, В.А. Метельская, О.Н. Ткачева, И.Н. Озерова, Н.В. Перова, И.Д. Стражеско// Атеросклероз и дислипидемии. – 2014. – №4. – С. 14-19.
6. Гомыранова Н.В. Исследование взаимосвязей показателей жесткости артерий с биохимическими факторами атеротромбоза у лиц разного возраста/ Н.В. Гомыранова, В.А. Метельская, О.Н. Ткачева, И.Н. Озерова, Н.В. Перова, О.В. Александрович// Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2015. – Т.14. – №3. – С. 65-69.
7. Гомыранова Н.В. Корреляты скорости распространения пульсовой волны с факторами риска атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний и сахарного диабета/ Н.В. Гомыранова, Н.В. Перова, О.В. Александрович, О.Л.

- Евстафьева, В.А. Метельская// Профилактическая медицина. – 2017. – Т.20. – №3. – С. 28-33.
8. Гуляева Е.Н.. Опыт коррекции уровня липидов и сосудистой жесткости в поликлинических условиях/Е.Н. Гуляева, С.А. Чорбинская// *Cardiosоматика*. – 2012. – № 3(1). – С. 57-60.
  9. Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза. Российские рекомендации, V пересмотр. // РКЖ, 2012. – 4 т. (прил.1).
  10. Дислипидемия и атеросклероз/ под ред. проф. акад. РАМН Р.Г.Оганова – М. – 2009.
  11. Долгов В.В. Биомаркеры в лабораторной диагностике. /В.В. Долгов О.П. Шевченко, А.О. Шевченко – М.:Триада, 2014. – С. 288.
  12. Дудинская Е.Н. Роль инсулинорезистентности в процессах сосудистого старения (обзор литературы)/ Е.Н. Дудинская, Н.В. Браилова, И.Д. Стражеско, Д.У. Акашева, О.Н. Ткачева, М.В. Шестакова// *Профилактическая медицина*. – 2014. – № 17(2). – С. 35-4.
  13. Ежов М.В. Липопротеид(а) как биохимический маркер коронарного атеросклероза/ М.В. Ежов, О.И. Афанасьева, Г.Ф. Беневоленская, и др.// *Терапевтический архив*. – 1997. – №9. – С. 31-5.
  14. Метельская В.А. Комбинация визуальных и метаболических маркеров в оценке вероятности наличия и выраженности атеросклероза коронарных артерий/ В.А. Метельская, Н.Е. Гаврилова, Н.Г. Гуманова, О.А. Литинская, Е.Б. Яровая, С.А. Бойцов // *Кардиология*. – 2016. – Т. 56. – №7. – С. 47-53.
  15. Милягин В.А. Современные методы определения жесткости сосудов/ В.А. Милягин, В.Б. Комиссаров// *Артериальная гипертензия*. – 2010. – Т.16. – №2.
  16. Недогода С.В. Аторвастатин и улучшение эластичности сосудов при гиперлипидемии/ С.В. Недогода, В.В. Цома, Т.А. Чаляби, У.А. Брель // *Болезни сердца и сосудов*. – 2007. – №2 (1). – С.33-5.

17. Носков С.М. Значение воспаления в развитии жесткости сосудистой стенки/ С.М. Носков, А.А. Заводчиков, К.Ю. Широкова, И.Г. Красивина, А.А. Лаврухина// Науч.-практич. ревматология. – 2013. – № 51(2). – С.159-62.
18. Оганов Р.Г. Сердечно-сосудистые заболевания в Российской Федерации во второй половине столетия: тенденции, перспективы/ Р.Г. Оганов, Г.Я. Масленникова // Кардиология. – 2000. – Т.4. – С.4-8.
19. Оганов Р.Г. Демографические тенденции в Российской Федерации: вклад болезней системы кровообращения/ Р.Г. Оганов, Г.Я. Масленникова // Кардиоваскулярная. терапия и профилактика. – 2012. – Т.11(1). – С.5-10.
20. Озерова И.Н. Использование Липопринт системы для исследования субфракционного спектра липопротеинов сыворотки крови/ И.Н. Озерова, В.А. Метельская, Н.Е. Гаврилова, Н.В. Перова, С.А. Бойцов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. – 61(5). – С. 271-75.
21. Оттева Э.Н. Артериальная ригидность – маркер развития сердечно-сосудистых заболеваний/ Э.Н. Оттева, Е.В. Клинкова, О.Г. Гарбузова, В.Н. Исакова, В.Н. Бандурко // Клиническая медицина. – 2012. – №1. – С.1-9.
22. Панченко Е.П. Концепция атеротромбоза – основа патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний. Основные направления антитромботической терапии./ Е.П. Панченко // РМЖ. – 2005. – №7. – С.433-40.
23. Полонская Я.В. Корреляции биомаркеров воспаления и деструкции в крови и в сосудистой стенке у мужчин с коронарным атеросклерозом./ Я.В. Полонская, А.М.Чернявский, А.М. Волков, Е.В. Каштанова, С.Ю. Цымбал, Ю.И. Рагино // Бюллетень СО РАМН. – 2011. – № 5. – С.25-31.
24. Рагино Ю.И. Мелкие плотные субфракции липопротеинов низкой плотности и атерогенез. Ю.И. Рагино // Российский кардиологический журнал. – 2004. – Т.4(48). – С.84-90.
25. Стражеско И.Д. Старение сосудов: основные признаки и механизмы/И.Д. Стражеско, Д.У. Акашева, Е.Н. Дудинская, О.Н. Ткачева// Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2012. – № 11(4). – С. 93-100.

26. Стражеско И.Д. Взаимосвязь между различными структурно-функциональными характеристиками состояния артериальной стенки и традиционными факторами кардиоваскулярного риска у здоровых людей разного возраста/ И.Д. Стражеско, О.Н. Ткачева, Д.У. Акашева, Е.Н. Дудинская, М.В. Агальцов, А.С. Кругликова, Н.В. Браилова, В.С. Пыхтина, Е.В. Плохова, Н.В. Шарашкина, О.Ю. Исайкина, В.А. Выгодин, С.А.Бойцов// Часть I. Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2016. – №12(2). – С. 118-28.
27. Стражеско И.Д. Взаимосвязь между различными структурно-функциональными характеристиками состояния артериальной стенки и традиционными факторами кардиоваскулярного риска у здоровых людей разного возраста/ И.Д. Стражеско, О.Н. Ткачева, Д.У. Акашева, Е.Н. Дудинская, М.В. Агальцов, А.С. Кругликова, Н.В. Браилова, В.С. Пыхтина, Е.В. Плохова, Н.В. Шарашкина, О.Ю. Исайкина, В.А. Выгодин, С.А.Бойцов// Часть II. Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2016. –№12(3). – С. 244-52.
28. Уткина Е. А. Подфракции атерогенных apoB-содержащих липопротеидов у пациентов с тяжелой гиперхолестеринемией/ Е.А.Уткина, О.И. Афанасьева, М.И. Афанасьева, А.Б. Попова, М.В. Ежов, С.Н. Покровский// Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2017.–№16(4). – С.45-49.
29. Шальнова С.А. Ассоциации между С-реактивным белком и артериальным давлением в когорте пожилых москвичей (эпидемиологическое исследование)/ С.А. Шальнова, В.А. Жукова, В.А. Метельская, А.Д. Деев, М.Б. Худяков, А.Л. Александрин, Ю.А. Баланова, А.В. Капустина, В.В. Константинов, С.К. Кукушкин, Е.В. Платонова, М.А. Школьникова, Н.В. Киселева // Кардиология. – 2011. – №8. – С.49-54.
30. Шестакова М.В. Инсулинорезистентность: патофизиология, клинические проявления, подходы к лечению/ М.В. Шестакова, О.Ю. Брескина// Сахарный диабет. –2002.- № 4(10). – С.523-27.

31. Abhayaratna WP, Barnes ME, O'Rourke MF, et al. Relation of arterial stiffness to left ventricular diastolic function and cardiovascular risk prediction in patients >65 years of age. *Am J Cardiol.* 2006; 98:1387-92.
32. Ahuja A, Tantia O, Chaudhuri T, Khanna S, Seetharamaiah S, Majumdar K, Goyal G. Predicting remission of diabetes post metabolic surgery: a comparison of ABCD, diarem, and DRS scores. *Obes Surg.* 2018 Feb 12. doi: 10.1007/s11695-018-3136-9.
33. Andrassy M, Volz HC, Igwe JC, et al. High-mobility group box-1 in ischemia-reperfusion injury of the heart. *Circulation.* 2008; 117: 3216-26.
34. Arnett DK, Boland LL, Evans GW, Riley W, Barnes R, Tyroler HA, et al. Hypertension and arterial stiffness: the Atherosclerosis. Risk in Communities Study. ARIC Investigators. *Am J Hypertens* 2000; 13: 317-23.
35. Arnout J, Hoylaerts MF, Lijnen HR: Haemostasis. *Hand Exp Pharmacol:* 1, 2006:1-41.
36. Aronson D. Cross-linking of glycated collagen in the pathogenesis of arterial and myocardial stiffening of aging and diabetes. *J Hypertens.* 2003; 21(1): 3-12.
37. Austin MA, et al. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of MI. *JAMA* 1988; 260:217.
38. Austin MA, Hokanson JE, Brunzel JD. Characterization of low-density lipoprotein subclasses: methodologic approaches and clinical relevance. *Current Opinion in Lipidology.* 1994; 5(6): 395-403.
39. Austin MA. Epidemiology of hypertriglyceridemia and cardiovascular disease. *Am J Cardiol.* 1999; 83: 13F-6.
40. Avolio AP, Chen S, Wang R, Zhang C, Li M, O'Rourke MF. Effects of aging on changing arterial compliance and left ventricular load in a northern Chinese urban community. *Circulation.* 1983; 68: 50-58.
41. Bailey AJ. Molecular mechanism of ageing in connective tissues. *Mech Ageing Dev* 2001; 122(7): 735-55.
42. Banuls C, Bellod L, Jover A, et al. Comparability two different polyacrylamide gel electrophoresis methods for free classification of LDL pattern type. *Clin Chim Acta.* 2012; 413 (1-2): 251-57.

43. Barbieri M, Rizzo MR, Manzella D. Glucose regulation and oxidative stress in healthy centenarians. *Exp Gerontol* 2003; 38: 137-43.
44. Barzilai N, Atzmon G, Schechter C, Schaefer EJ, Cupples AL, Lipton R, Cheng S, Shuldiner AR. Unique lipoprotein phenotype and genotype associated with exceptional longevity. *JAMA*. 2003; 290(15): 2030-40.
45. Bassuk SS, Rifai N, Ridker PM. High sensitivity C-reactive protein: clinical importance. *Curr Probl Cardiol*. 2004; 29: 439-93.
46. Ben-Shlomo Y, Spears M, Boustred C, et al. Aortic pulse wave velocity improves cardiovascular event prediction: an individual participant meta-analysis of prospective observational data from 17635 subjects. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 63: 636-46.
47. Berg K. A new serum type system in man – the Lp system. *Acta Pathol Microbiol Scand*. 1963; 59: 369-82.
48. Berglund L, Ramakrishnan R. Lipoprotein(a): an elusive cardiovascular risk factor. *Atheroscler Thromb Vasc Biol*. 2004; 24: 2219-26.
49. Berneis KK, Krauss RM. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res*. 2002; 43: 1363-79
50. Bhatt DL, Steg PG, Ohman EM, et al: Rother J, Wilson PW. International prevalence, recognition, and treatment of cardiovascular risk factors in outpatients with atherothrombosis. *JAMA*. 2006. 295:180.
51. Blacher J, Guerin A, Pannier B, Marchais S, Safar M, London G. Impact of aortic stiffness on survival in end stage renal disease. *Circulation*. 1999; 99: 2434-39.
52. Blicher M, Kruger R, Olesen T. Impact of metabolic, hemodynamic and inflammatory factors on target organ damage in healthy subjects. *J Hypertens*. 2015; 33 Suppl 1: e118
53. Blumenthal HT. The Aging–Disease Dichotomy: True or False? *Journal of Gerontology: Medical Sciences*. 2003; 58 (2): 138-45.
54. Brinkley TE, Nicklas BJ, Kanaya AM, Satterfield S, Lakatta EG, Simonsick EM, Sutton-Tyrrell K, Kritchevsky SB. Plasma oxidized low density lipoprotein levels



- and arterial stiffness in older adults: the health, aging, and body composition study. *Hypertension*. 2009; 53: 846-52.
55. Bruel A, Oxlund H. Changes in biomechanical properties, composition of collagen and elastin, and advanced glycation end products of the rat aorta in relation to age. *Atherosclerosis*. 1996; 127: 155-165.
56. Cameron JD, Cruickshank JK. Glucose, insulin, diabetes and mechanisms of arterial dysfunction. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2007; 34: 677-82.
57. Carmena R, Duriez P, Fruchart JC. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. *Circulation*. 2004; 109: 2-7.
58. Cattell MA, Anderson JC, Hasleton PS. Age-related changes in amounts and concentrations of collagen and elastin in normotensive human thoracic aorta. *Clinica Chimica Acta*. 1996; 245: 73-84.
59. Cavalcante JL, Lima JA, Redheuil A, et al. Aortic stiffness: current understanding and future directions. *J Am Coll Cardiol*. 2011; 57: 1511-22.
60. Chatterjee M, Rath D, Schlotterbeck J, Rheinlaender J, Walker-Allgaier B, Alnaggar N, Zdanyte M, Muller I, Borst O, Geisler T, Schaffer TE, Laammerhofer M, Gawaz M. Regulation of oxidized platelet lipidome: implications for coronary artery disease. *Eur Heart J*. 2017; 00, 1-14 doi:10.1093/eurheartj/ ehx146
61. Chow PC, Ho MH, Lee TL, et al. Relation of arterial stiffness and left ventricular structure and function in adolescent and young adults with pediatric-onset systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2007; 34:1345-52.
62. Chung M, Lichtenstein AH, Ip S, et al. Comparability of methods for LDL subfraction determination: A systematic review. *Atherosclerosis*. 2009; 205: 342-48.
63. Cortez-Cooper M, Meaders E, Stallings J, Haddow S, Kraj B, Sloan G, McCully KK, Cannon JG. Soluble TNF and IL-6 receptors: indicators of vascular health in women without cardiovascular disease. *Metabolism*. 2013; 62(7):1008-13.

64. Cusi K, Maezono K, Osman A, et al. Insulin resistance differentially affects the PI 3kinase- and MAP kinase-mediated signaling in human muscle. *J Clin Invest.* 2000; 105: 311-20.
65. Danesh J, Collins R, Peto R. Lipoprotein(a) and coronary heart disease: meta-analysis of prospective studies. *Circulation.* 2000; 102: 1082-85.
66. Dao HH, Essalihi R, Bouvet C, Moreau P. Evolution and modulation of age-related medial elastocalcinosis: impact on large artery stiffness and isolated systolic hypertension. *Cardiovasc Res.* 2005; 66(2): 307-17.
67. Ding C, Hsu SH, Wu YJ, et al. Additive effects of postchallenge hyperglycemia and low-density lipoprotein particles on the risk of arterial stiffness in healthy adults. *Lipids Health Dis.* 2014; 13:179.
68. Do R, Willer CJ, Schmidt EM, Sengupta S, Gao C, Peloso GM, Gustafsson S, Kanoni S, Ganna A, Chen J. Common variants associated with plasma triglycerides and risk for coronary artery disease. *Nat Genet.* 2013; 45: 1345-52.
69. Draznin B. Molecular mechanisms of insulin resistance: serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1 and increased expression of p85 alpha: the two sides of a coin. *Diabetes.* 2006; 55: 2392-97.
70. Du B, Ouyang A, Eng JS, Fleenor BS. Aortic perivascular adipose-derived interleukin-6 contributes to arterial stiffness in low-density lipoprotein receptor deficient mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2015; 308(11):H1382-90.
71. Dukat A, Oravec S, Wawruch M, Gavornik P, Sabaka P. The incidence of dyslipidemia in a sample of asymptomatic probands established by the means of Lipoprint system. *Vnitr Lek.* 2011; 57(3): 258-60.
72. El Harchaoui K, van der Steeg WA, Stroes ES, Kuivenhoven JA, Wareham NJ, Hutten BA, Kastelein JJ, Khaw KT, Boekholdt SM. Value of low-density lipoprotein particle number and size as predictors of coronary artery disease in apparently healthy men and women: the EPIC-Norfolk Prospective Population Study. *J Am Coll Cardiol.* 2007; 49(5): 547-53.

73. Eren M, Gorgulu S, Uslu N, et al. Relation between aortic stiffness and left ventricular diastolic function in patients with hypertension, diabetes, or both. *Heart*. 2004; 90: 37-43.
74. Fruchart JC, Sacks F, Hermans MP, et al. The Residual Risk Reduction Initiative: a call to action to reduce residual risk in patients with dyslipidemia. *Am J Cardiol*. 2008; 102(Suppl):1K-34K.
75. Fu S, Lin Y, Luo L, Ye P. Relationship between central arterial stiffness and insulin resistance in Chinese Community-Dwelling Population without diabetes mellitus. *Int J Endocrinol*. 2017; DOI 10.1155/2017/1073919.
76. Fuster V. Global burden of cardiovascular disease: time to implement feasible strategies and to monitor results. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 64:520-22.
77. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res*. 2002; 90:251-62.
78. Goh SY, Cooper ME. The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008; 93: 1143-52.
79. Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation*. 2006; 114: 597-605.
80. Gomez-Marcos MA, Recio-Rodríguez JI, Patino-Alonso MC, Agudo-Conde C, Gomez-Sanchez L, Rodriguez-Sanchez E, Gomez-Sanchez M, Martinez-Vizcaino V, Garcia-Ortiz L. Relationships between high-sensitive C-reactive protein and markers of arterial stiffness in hypertensive patients. Differences by sex. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2012; 12:37-46.
81. Gordin D, Wadén J, Forsblom C, et al. Arterial stiffness and vascular complications in patients with T1D: the Finnish Diabetic Nephropathy (FinnDiane) Study. *Ann Med*. 2012; 44:196-204.
82. Gordin D, Groop PH. Aspects of Hyperglycemia Contribution to Arterial Stiffness and Cardiovascular Complications in Patients With Type 1 Diabetes. *J Diabet Sci&Technol*. 2016; 10(5): 1059-64.

83. Gordon SM, Remaley AT. High density lipoproteins are modulators of protease activity: implications in inflammation, complement activation, and atherothrombosis. *Atherosclerosis*. 2017; 259: 104-13.
84. Goto A, Noda M, Matsushita Y, et al. Hemoglobin A1c levels and the risk of cardiovascular disease in people without known diabetes. *Medicine*. 2015; 94(17): e785.
85. Greenwald SE. Ageing of the conduit arteries. *J Pathol*. 2007; 211(2):157-172.
86. Griffin BA, Caslake MJ, Yip B, Tait GW, Packard CJ, Shepherd J. Rapid isolation of low density lipoprotein (LDL) subfraction from plasma by density gradient ultracentrifugation. *Atherosclerosis*. 1990; 83(1):59-67.
87. Gujral DM, Shah BN, Chahal NS, Bhattacharyya S, Senior R, Harrington KJ, Nutting CM. Arterial Stiffness as a Biomarker of Radiation-Induced Carotid Atherosclerosis. *Angiology*. 2016; 67(3):266-71.
88. Hancock MA, Boffa MB, Marcovina SM, Nesheim ME, Koschinsky ML. Inhibition of plasminogen activation by lipoprotein(a): critical domains in apolipoprotein(a) and mechanism of inhibition on fibrin and degraded fibrin surfaces. *J Biol Chem*. 2003; 278(26):23260-9.
89. Hashimoto H, Kitagawa K, Hougaku H, Etani H, Hori M. Relationship between C-reactive protein and progression of early carotid atherosclerosis in hypertensive subjects. *Stroke*. 2004; 35:1625-30.
90. Henry RM, Kostense PJ, Spijkerman AM. Arterial stiffness increases with deteriorating glucose tolerance status: the Hoorn Study. *Circulation*. 2003; 107(16): 2089-95.
91. Hirano T1, Ito Y, Yoshino G. Measurement of small dense low-density lipoprotein particles. *J Atheroscler Thromb*. 2005; 12:67-72.
92. Hoefner DM, Hodel SD, O'Brein JF, et al. Development of a rapid, quantitative method for LDL subfractionation with use of the Quantimetrix Lipoprint LDL System. *Clin Chem*. 2001; 47(2): 266-74.
93. Hristov M., Zerneck A., Schober A., Weber C., Adult progenitor cells in vascular remodeling during atherosclerosis. *Biol Chem*. 2008; 389: 837-44.

94. Hsu PF, Chuang SY, Cheng HM, Sung SH, Ting CT, Lakatta EG, Frank CP, Yin, Chou P, Chenc CH. Associations of Serum Uric Acid Levels with Arterial Wave Reflections and Central Systolic Blood Pressure *Int J Cardiol.* 2013 Oct 3; 168(3): 2057-63.
95. Huang CL, Chen MF, Jeng JS. Postchallenge hyperglycaemic spike associate with arterial stiffness. *Int J Clin Pract.* 2007; 61:397-402.
96. Hwang IC, Jin KN, Kim HL, Kim YN, Im MS, Lim WH, Seo JB, Kim SH, Zo JH, Kim MA. Additional prognostic value of brachial-ankle pulse wave velocity to cotonary computed tomography angiography in patients with suspected coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2018; 268:127-37.
97. Jia G, Aroor AR, DeMarco VG, Martinez-Lemus LA, Meininger GA, Sowers JR. Vascular stiffness in insulin resistance and obesity. *Front Physiol.* 2015; 6: doi: 10.3389/fphys.2015.00231.
98. Johansson J, Ekberg K, Shafqat J, Henriksson M, Chibalin A, Wahren J, Jörnvall H. Molecular effects of proinsulin C-peptide. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002; 295(5):1035-40.
99. Joshua IG, Zhang Q, Falcone JC, Bratcher AP, Rodriguez WE, Tyagi SC. Mechanisms of endothelial dysfunction with development of type 1 diabetes mellitus: role of insulin and C-peptide. *J Cell Biochem.* 2005; 96(6):1149-56.
100. Ikonomidis I, Tzortzis S, Papaioannou T, et al. Incremental value of arterial wave reflections in the determination of left ventricular diastolic dysfunction in untreated patients with essential hypertension. *J Hum Hypertens.* 2008; 22:687-98.
101. Izzo JL Jr, Shykoff BE. Arterial stiffness: Clinical relevance, measurement, and treatment. *Rev Cardiovasc Med.* 2001; 2: 29-34.
102. Kampus P, Kals J, Ristimae T, Fischer K, Zilmer M, Teesalu R: High-sensitivity C-reactive protein affects central haemodynamics and augmentation index in apparently healthy persons. *J. Hypertens.* 2004, 22(6):1133-39.
103. Kannel WB, Vassan RS. Triglycerides as vascular risk factors: new epidemiologic insights. *Curr Opin Cardiol.* 2009; 24 (4): 345-50.

104. Kasayama S, Saito H, Mukai M, et al. Insulin sensitivity independently influences brachial-ankle pulse-wave velocity in non-diabetic subjects. *Diabet Med.* 2005; 22: 1701-6.
105. Kim HL, Jin K-N, Seo JB, Choi YH, Chung W-Y, Kim S-H. The association of brachial-ankle pulse wave velocity with coronary artery disease evaluated by coronary computed tomography angiography. *PLoS One.* 2015 13; 10(4): e 0123164.
106. Kinlay S, Creager MA, Fukumoto M, Hikita H, Fang JC, Selwyn AP. Endothelium-derived nitric oxide regulates arterial elasticity in human arteries in vivo. *Hypertension.* 2001; 38: 1049-53.
107. Kitagawa M1, Sugiyama H, Morinaga H, Inoue T, Takiue K, Ogawa A, Yamanari T, Kikumoto Y, Uchida HA, Kitamura S, Maeshima Y, Nakamura K, Ito H, Makino H. A decreased level of serum soluble Klotho is an independent biomarker associated with arterial stiffness in patients with chronic kidney disease. *PLoS One.* 2013; 8(2):e56695.
108. Kitamura T, Kimura K, Makondo K, et al. Proinsulin C-peptide increases nitric oxide production by enhancing mitogen-activated protein-kinase-dependent transcription of endothelial nitric oxide synthase in aortic endothelial cells of Wistar rats. *Diabetologia.* 2003; 46(12):1698-1705.
109. Koba S, Yokota Y, Hirano T, et al. Small LDL-cholesterol is superior to LDL-cholesterol for determining severe coronary atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.* 2008; 15(5): 250-60.
110. Koenig W. Integrating biomarkers: the new frontier? *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 2010; 242:117-23.
111. Konova E, Baydanoff S, Atanasova M, Velkova A. Age-related changes in the glycation of human aortic elastin. *Experimental gerontology.* 2004; 39(2):249–254.
112. Koschinsky ML. Novel insight into Lp(a) physiology and pathogenicity: more questions than answers? *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2006; 6(4): 267-78.
113. Kraft HG1, Lingenhel A, Raal FJ, Hohenegger M, Utermann G. Lipoprotein(a) in homozygous familial hypercholesterolemia. *Arterioscler*

- Thromb Vasc Biol. 2000; 20(2):522-8.
114. Kwiterovich PO. Jr. Clinical relevance of the biochemical, metabolic, and genetic factors that influence low-density lipoprotein heterogeneity. *Am J Cardiol.* 2002; 90 (8A): 30-47.
  115. Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: part I: aging arteries: a “set up” for vascular disease. *Circulation.* 2003; 107:139-46.
  116. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension.* 2001; 37:1236-41.
  117. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur.Heart J.* 2006; 27(21): 2588-605.
  118. Laurent S, Boutouyrie P. Arterial stiffness: a new surrogate end point for cardiovascular disease? *J Nephrol.* 2007; 20 Suppl 12:S45-50.
  119. Lawler PR, Akinkuolie AO, Chu AY, Shah SH, Kraus WE, Craig D, Padmanabhan L, Glynn RJ, Ridker PM, Chasman DI, Mora S. Atherogenic lipoprotein determinants of cardiovascular disease and residual risk among individuals with low-density lipoprotein cholesterol. *JAHA* 2017; 6: e005549 doi:10.1661/JAHA.117.008849.
  120. Lee HY, Oh BH. Aging and Arterial Stiffness. *Circ J.* 2010; 74: 2257- 2262
  121. Lehmann ED, Gosling RG, Sonsken PH. Arterial all compliance in diabetes. *Diabetic Med* 1992; 9:114-9.
  122. Lehmann ED. Clinical value of aortic pulse-wave velocity measurement. *Lancet.* 1999; 354: 528-29.
  123. Li Y, Zheng LS, Li Y, Zhao DD, Meng L. Independent association between serum C-peptide levels and fat mass-to-lean mass ratio in the aging process. *Geriatr Gerontol Int.* 2015; 15(7):918-26.
  124. Liao J, Farmer J. Arterial stiffness as a risk factor for coronary artery disease. *Curr Atheroscler Rep.* 2014; 16:387.

125. Libby P. History of Discovery: Inflammation in Atherosclerosis. *Arterioscl Thromb Vasc Biol.* 2012; 32: 2045-51.
126. Lim MA. Arterial compliance in the elderly: its effect on blood pressure measurement and cardiovascular outcomes. *Clin Geriatr Med.* 2009; 25:191-205.
127. Liu J, Rosner MH. Lipid abnormalities associated with end-stage renal disease. *Semin Dial.* 2006; 19(1): 32-40.
128. Liu ZR, Ting CT, Zhu SX, Yin FC. Aortic compliance in human hypertension. *Hypertension.* 1989; 14: 129-36.
129. London GM, Marchais SJ, Safar ME, Genest AF, Guerin AP, Metivier F et al. Aortic and large artery compliance in end-stage renal failure. *Kidney Int.* 1990; 37: 137-42.
130. Mahmud A, Feely J. Divergent effects of acute and chronic alcohol on arterial stiffness. *Am J Hypertens.* 2002; 15: 240-43.
131. Mahmud A, Feely J. Arterial stiffness is related to systemic inflammation in essential hypertension. *Hypertension.* 2005; 46:1118-22.
132. Marcovina SM, Koschinsky ML, Albers JJ, Skarlatos S. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop on Lipoprotein(a) and Cardiovascular Disease: recent advances and future directions. *Clin Chem.* 2003; 49(11):1785-96.
133. Marx N, Walcher D, Raichle C, et al. C-peptide colocalizes with macrophages in early arteriosclerotic lesions of diabetic subjects and induces monocyte chemotaxis in vitro. *Arterioscl Thromb Vasc Biol.* 2004; 24(3):540-45.
134. Mattace-Raso FU, van der Cammen TJM, van der Meer IM, Schalekamp MA, Asmar R, Hofman A, Witteman JC. C-reactive protein and arterial stiffness in older adults: the Rotterdam Study. *Atherosclerosis.* 2004; 176: 111-6.
135. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia.* 1985; 28: 412-19.
136. McEniery CM, Wilkinson IB, Avolio AP. Age, hypertension and arterial function. *Clinical and experimental pharmacology & physiology.* 2007; 34(7):665-71.



137. McEniery CM, Spratt M, Munnery M, et al. An analysis of prospective risk factors for aortic stiffness in men: 20-year follow up from the Caerphilly prospective study. *Hypertension*. 2010; 56:36-43.
138. McNamara JR, Campos H, Ordovas JM, Peterson J, Wilson PW, Schaefer EJ. Effect of gender, age, and lipid status on low density lipoprotein subfraction distribution. Results from the Framingham Offspring Study. *Atherosclerosis*. 1987; 7: 483-90.
139. McNulty M, Mahmud A, Spiers P, Feely J. Collagen type-I degradation is related to arterial stiffness in hypertensive and normotensive subjects. *J Human Hypertens*. 2006; 20: 867-73.
140. McQueen MJ, Hawken S, Wang X, et al, Lipids, lipoproteins, and as risk markers of myocardid infarction in 52 countries(the INTERHEART study): a case-control study, *Lancet*. 2008; 372:224-33.
141. Meyer ML, Tanaka H, Palta P, Cheng S, Gouskova N, Aguilar D. Correlates of segmental pulse wave velocity in older adults: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *Am J Hypertens*. 2016; 29 (1): 114-22.
142. Miao D.M., MD; Ye P., Xiao W.K., et al. Influence of low high-density lipoprotein cholesterol on arterial stiffening and left ventricular diastolic dysfunction in essential hypertension. *J Clin Hypertens*. 2001; 13(10): 710-15.
143. Michel JB, Heudes D, Michel O, Poitevin P, Philippe M, Scalbert E et al. Effect of chronic ANG I-converting enzyme inhibition on aging processes. II. Large arteries. *Am J Physiol* 1994; 267: R124–R135.
144. Mitchell GF, Parise H, Benjamin EJ, Larson MG, Warner E, Keaney JF Jr, et al. Changes in arterial stiffness and wave reflection with advancing age in healthy men and women: The Framingham Heart Study. *Hypertension*. 2004; 43: 1239-45.
145. Muniz N. Measurement of plasma lipoproteins by electrophoresis on polyacrylamide gel. *Clin Chem*. 1977; 23(10): 1826-33.
146. Munte CE, Vilela L, Kalbitzer HR, Garratt RC. Solution structure of human proinsulin C-peptide. *The FEBS Journal*. 2005; 272(16):4284-93.

147. Nagano M, Nakamura M, Sato K, et al. Association between serum C-reactive protein levels and pulse wave velocity: a population-based cross-sectional study in a general population. *Atherosclerosis*. 2005; 180:189-95.
148. National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on Detection, Evaluation, and treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Third Panel III) *Circulation*. 2002; 106: 3143-421.
149. Nilsson PM, Boutouyrie P, Cunha P, et al. Early vascular ageing in translation: from laboratory investigations to clinical applications in cardiovascular prevention. *J Hypertens*. 2013; 8:1517-26.
150. Nilsson PM. Hemodynamic aging as the consequence of structural changes associated with Early Vascular Aging (EVA). *Aging Dis*. 2014; 5: 109-13.
151. Noji I, Kajinami K, Kawashiri MA, Todo Y, Horita T, Nohara A, et al. Circulating matrix metalloproteinases and their inhibitors in premature coronary atherosclerosis. *Clin Chem Lab Med*. 2001; 39: 380-4.
152. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ray K, Borén J, Andreotti F, Watts GF, et al. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. *Eur Heart J*. 2010; 31(23):2844-53.
153. Nordestgaard BG, Varbo A. Triglycerides and cardiovascular disease. *Lancet*. 2014; 384:626-35.
154. Oravec S, Dukat A, Gavornik P, Lovasova Z, Gruber K. Atherogenic normolipidemia – a new phenomenon in the lipoprotein profile in clinically healthy subjects. *Neuroendocrinol Lett*. 2011; 32(3): 317-21.
155. Oravec S, Mikl J, Gruber K, Dostal E. A non-atherogenic and atherogenic lipoprotein profile in individuals with dyslipoproteinemia. In: *Lipoproteins – role in health and diseases*. S. Frank&G. Kostner (eds). 2012; 73-94.
156. Oravec S, Dukat A, Gavornik P, Kucera M, Gruber K, Gaspar L, Rizzo M, Toth PP, Mikhailidis DP, Banach M. Atherogenic versus non-atherogenic lipoprotein profiles in healthy individuals. Is there a need to change our approach to diagnosing dyslipidemia? *Curr Med Chem*. 2014; 21(25): 2892-901.

157. Palombo C, Kozakova M. Arterial stiffness, atherosclerosis and cardiovascular risk: pathophysiologic mechanisms and emerging clinical indications. *Vasc Pharmacol.* 2016; 77:1-7.
158. Palumbo R, Galvez BG, Pusterla T, et al. Cells migrating to sites of tissue damage in response to the danger signal HMGB1 require NF-kappa B activation. *J Cell Biol.* 2007; 179: 33.
159. Pannier B, Avolio AP, Hoeks A, et al. Methods and devices for measuring arterial compliance in humans. *Am. J.Hypertens.* 2002; 15 (8): 743-53.
160. Paolisso G, Barbieri M, Rizzo MR. Low insulin resistance and preserved beta-cell function contribute to human longevity but are not associated with TH-INS genes. *Exp Gerontol.* 2001; 37: 207-14.
161. Pearson ER. Personalized medicine in diabetes: the role of ‘omics’ and biomarkers. *Diabet Med.* 2016; 33(6): 712–17.
162. Peng J, Luo F, Ruan G, Peng R, Li X. Hypertriglyceridemia and atherosclerosis. *Lipids in Health and Disease.* 2017; 16:233 doi 10.1186/s2944-017-0625-0.
163. Pischon T, Girman CJ, Sacks FM, Ritai N, et al. Non-high-density , lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B in the prediction of coronary heart disease in men. *Circulation.* 2005,112:3375-83.
164. Rahman S, Ismail AA, Ismail SB. Early manifestation of macrovasculopathy in newly diagnosed never treated type II diabetic patients with no traditional CVD risk factors. *Diabetes Res Clin Pract.* 2008; 80(2): 253-58.
165. Rajman I, Kendall MJ, Cramb R, Holder RL, Salih M, Gammage MD. Investigation of low density lipoprotein subfractions as a coronary risk factor in normotriglyceridaemic men. *Atherosclerosis.* 1996; 125(2):231-42.
166. Rosenson RS, Davidson MH, Hirsh BJ, Kathieresan S, Gaudet D. Genetics and causality of triglyceride-rich lipoproteins in atherosclerotic cardiovascular disease. *J Am Coll Cardio.* 2014; 64: 23525-540.
167. Sandhu PK, Musaad SMA, Remaley AT, Buehler SS, Strider S, Derzon JH, Vesper HW, Ranne A, Shaw C, Christenson RH. Lipoprotein biomarkers and risk of

- cardiovascular disease: a Laboratory Medicine Best Practices (LMBP) systematic review. *J Appl Lab Med*. 2016; 2: 219-29.
168. Scuteri A, Najjar SS, Muller DC, et al. Metabolic syndrome amplifies the age-associated increases in vascular thickness and stiffness. *J Am Coll Cardiol*. 2004; 43:1388–95.
169. Seifalian AM, Filippatos TD, Joshi J, Mikhailidis DP. Obesity and arterial compliance alterations. *Curr Vasc Pharmacol*. 2010; 8(2):155-68.
170. Semba RD, Cappola AR, Sun K, Bandinelli S, Dalal M, Crasto C, Guralnik JM, Ferrucci L.J Plasma klotho and cardiovascular disease in adults. *Am Geriatr Soc*. 2011; 59(9):1596-601.
171. Sengstock DM, Vaitkevicius PV, Supiano MA. Arterial stiffness is related to insulin resistance in nondiabetic hypertensive older adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005; 90: 2823-7.
172. Seo HS, Kang TS, Park S, Park HY, Ko YG, Choi D, Jang Y, Chung N. Insulin resistance is associated with arterial stiffness in nondiabetic hypertensives independent of metabolic status. *Hypertension Research*. 2005; 28: 945-51.
173. Sharrett AR, Ding J, Criqui MH, et al. Smoking, diabetes, and blood cholesterol differ in their associations with subclinical atherosclerosis: the Multiethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis*. 2006; 186: 441–47.
174. Shoji T, Emoto M, Shinohara K, Kakiya R, Tsujimoto Y, Kishimoto H, et al. Diabetes mellitus, aortic stiffness and cardiovascular mortality in end stage renal disease. *J Am Soc Nep.hrol* 2001; 12(10): 2117–24.
175. Sorokin A, Kotani K. Lipoprotein(a) and Arterial Stiffness Parameters. *Pulse*. 2015; 3:148-52.
176. Spiel AO, Gilbert JC, Jilma B. von Willebrand factor in cardiovascular disease: focus on acute coronary syndromes. *Circulation* 2008;117(11):1449-59
177. Steiner DF, Cunningham D, Spigelman L, Aten B. Insulin biosynthesis: evidence for a precursor. *Science*. 1967; 157(3789):697–700.
178. Superko HR. Advanced lipoprotein testing and subfractionation are clinically useful. *Circulation*. 2009; 119(17):2383–95.

179. Tam WH, Ma RC, Yip GW, Yang X, Li AM, Ko GT, Lao TT, Chan JC. The association between in utero hyperinsulinemia and adolescent arterial stiffness. *Diabetes Res Clin Pract.* 2012; 95(1):169-75.
180. Tomiyama H, Yamashina A. Non-invasive vascular function tests: their pathophysiological background and clinical application. *Circ* .010; 74: 24-33.
181. Tuttolomondo A, Di Raimondo D, Pecoraro R, Serio A, D'Aguanno G, Pinto A. Immune-inflammatory markers and arterial stiffness indexes in subjects with acute ischemic stroke, *Atherosclerosis.* 2010; 213 (1): 311-318.
182. Tuttolomondo A, Casuccio A, Della Corte V, Maida C, Pecoraro R, Di Raimondo D, Vassallo V, Simonetta I, Arnao V, Pinto A. Endothelial function and arterial stiffness indexes in subjects with acute ischemic stroke: Relationship with TOAST subtype. *Atherosclerosis.* 2017; 256: 94-9.
183. Undas A, Stepien E, Tracz W, Szczeklik A. Lipoprotein(a) as a modifier of fibrin clot permeability and susceptibility to lysis. *J Thromb Haemost.* 2006; 4:973-5.
184. Urbina EM, Gao Z, Khoury PR, Martin LJ, Dolan LM. Insulin resistance and arterial stiffness in healthy adolescents and young adults. *Diabetologia.* 2012; 55(3): 625-31.
185. Usarek M, Bryła J. Pleiotropic action of proinsulin C-peptide. *Postepy Hig Med Dosw.* 2012; 66:135-45.
186. Utermann G: Genetic architecture and evolution of the lipoprotein(a) trait. *Curr Opin Lipidol.* 1999; 10:133-41.
187. Van Bortel LM, Laurent S, Boutouyrie P Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. *J Hypertens.* 2012; 30 (3): 445-8.
188. Varady KA, Lamarche B. Lipoprint adequately estimates LDL size distribution, but not absolute size, versus polyacrylamide gradient gel electrophoresis. *Lipids.* 2011; 46(12): 1163-7.
189. Vasan R, Vasic D, Walcher D. Proinflammatory Effects of C-Peptide in Different Tissues. *Int J Inflamm.* 2012; 2012: 932725.

190. Vasic D, Walcher D. Proinflammatory Effects of C-Peptide in Different Tissues. *Int J Inflam*. 2012; 2012: 932725.
191. Verdoia M, Schaffer A, Casseti E. Glycosylated hemoglobin and coronary artery disease in patients without diabetes mellitus. *Am J Prev Med*. 2014; 47(1):9-16.
192. Vischer UM. von Willebrand factor, endothelial dysfunction, and cardiovascular disease. *JThrombHaemost*. 2006; 4: 1186–1193.
193. Virani SS, Brautbar A, Davis BC, Nambi V, Hoogeveen RC, Sharrett AR, et al. Associations between lipoprotein(a) levels and cardiovascular outcomes in black and white subjects: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation*. 2012; 125(2):241-9.
194. Virmani R, Avolio AP, Mergner WJ, et al. Effect of aging on aortic morphology in populations with high and low prevalence of hypertension and atherosclerosis: comparison between occidental and Chinese communities. *Am J Pathol*. 1991; 139:1119-1129.
195. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2010 Mar 30; 55(13):1318-27.
196. Wagenseil JE, Mecham RP. Elastin in large artery stiffness and hypertension. *Cardiovasc Transl Res*. 2012; 5(3): 264–273.
197. Wahren J, Ekberg K, Johansson J, Johansson BL, Rigler R, Jörnvall H. Role of C-peptide in human physiology. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2000; 278(5): E759–68.
198. Wahren J, Jörnvall H. C-peptide makes a comeback. *Diabetes Metab Res Rev*. 2003;19(5):345-7
199. Wahren J, Shafqat J, Johansson J, Chibalin A, Ekberg K, Jörnvall H. Molecular and cellular effects of C-peptide — new perspectives on an old peptide. *Exp Diab Res*. 2004; 5(1):15–23.
200. Walcher D, Aleksic M, Jerg V, et al. C-peptide induces chemotaxis of human CD4-positive cells: involvement of pertussis toxin-sensitive G-proteins and phosphoinositide 3-kinase, *Diabetes*. 2004; 53(7): 1664–70.

201. Wang JC, Bennett M. Aging and atherosclerosis: mechanisms, functional consequences, and potential therapeutics for cellular senescence . *Circ Res.* 2012; 111: 245-59.
202. Wang M, Zhang J, Jiang LQ, et al. Proinflammatory profile within the grossly normal aged human aortic wall. *Hypertension.* 2007; 50: 219-27.
203. Wang TJ. Assessing the role of circulation, genetic, and imaging biomarkers in cardiovascular risk prediction. *Circulation.* 2011; 23: 551-65.
204. Webb DR, Khunti K, Silverman R, et al. Impact of metabolic indices on central artery stiffness: independent association of insulin resistance and glucose with aortic pulse wave velocity. *Diabetologia.* 2010; 53(6): 1190-8.
205. Weiss TW, Arnesen H, Seljeflot I. Components of the interleukin-6 transsignalling system are associated with the metabolic syndrome, endothelial dysfunction and arterial stiffness. *Atherosclerosis.* 2011; 219(2): 734-6.
206. Whincup PH, Danesh J, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, Rumley A, Lowe GD. von Willebrand factor and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *Eur Heart J.* 2002; 23: 1764-70.
207. Wiklund O , Angelin B, Olofsson SO, Eriksson M, Fager G, Berglund L , Bondjers G. Apolipoprotein(a) and ischaemic heart disease in familial hypercholesterolaemia. *Lancet.* 1990; 335(8702): 1360-63.
208. Wilkinson IB, Qasem A, McEniery CM, et al. Nitric oxide regulates local arterial distensibility in vivo. *Circulation.* 2002; 105: 213-17.
209. Wilkinson IB, Qasem A, McEniery CM, Webb DJ, Avolio AP, Cockcroft JR. Inhibition of basal nitric oxide synthesis increases aortic augmentation index and velocity in vivo. *Br J Clin Pharmacol.* 2002; 53: 189-92.
210. Wolinsky H. Response of the rat aortic media to hypertension. Morphological and chemical studies. *Circ Res.* 1970; 26(4):507–22.
211. Wong ND, Chuang K, Wong K, et al. Residual dyslipidemia among United States adults treated with lipid modifying therapy (data from National Health and Nutrition Examination Survey). *Am J Cardiol.* 2013; 112(3): 373-9.

212. Wu D, Yue F, Zou C, Chan P, Alex Zhang Y. Analysis of glucose metabolism in cynomolgus monkeys during aging. *Biogerontology*. 2012; 13(2): 147-55.
213. Yanagisawa H, Schluterman MK, Brekken RA. Fibulin-5, an integrin-binding extracellular matrix protein: its function in development and disease. *J. Cell Commun. Signal*. 2009; 3:337–47.
214. Yasmin, McEniery CM, Wallace S, Mackenzie IS, Cockcroft JR, Wilkinson IB. C-reactive protein is associated with arterial stiffness in apparently healthy individuals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004; 24: 969-74.
215. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al: Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): Case-control study. *Lancet* 364:937, 2004.
216. Zhong Z, Kotova O, Davidescu A, et al. C-peptide stimulates Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase via activation of ERK1/2 MAP kinases in human renal tubular cells. *Cell Molec Life Sci*. 2004; 61(21): 2782–90.
217. Zieman SJ, Melenovsky V, Kass DA. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arteria. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005; 25(5): 932-43.