

В работе впервые были оценены программирующий и регуляторный эффекты влияния половых гормонов. На первичной культуре моноцитов и макрофагов человека показано, что индуцированное модифицированными липопротеидами низкой плотности накопление холестерина в культивируемых клетках модулируется половыми гормонами. Описано влияние половых гормонов на фагоцитарную активность клеток. Было установлено, что скорость увеличения толщины интимо-медиального слоя сонных артерий (ТИМ) связана с возрастом нелинейным образом, и при этом существуют возрастные периоды у мужчин и у женщин, в которых скорость развития атеросклероза не одинакова. Максимальная скорость прогрессирования атеросклероза у мужчин отмечается в возрасте от 50 до 62 лет, а у женщин – от 58 до 70 лет. При этом впервые было установлено, что в период максимально высокой скорости изменения ТИМ, последняя значительно выше у женщин, чем у мужчин. Впервые была выявлена корреляционная зависимость между прямыми показателями атеросклероза и изменениями в неврологическом статусе.

Половые различия атеросклероза

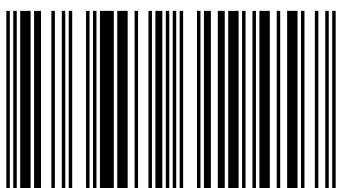


Вероника Александровна Мясоедова
Александр Николаевич Орехов
Игорь Александрович Собенин



Вероника Александровна Мясоедова

В 2004 окончила Московский институт медико-социальной реабилитологии, в 2006 году окончила клиническую ординатуру Научно-исследовательского института общей патологии и патофизиологии Российской Академии медицинских наук, кандидат медицинских наук, является научным сотрудником Кардиологического Центра Монзино, Милан, Италия.



978-3-659-31945-7

Мясоедова, Орехов, Собенин

Половые различия атеросклероза

Молекулярно-клеточные и клинико-неврологические особенности

**Вероника Александровна Мясоедова
Александр Николаевич Орехов
Игорь Александрович Собенин**

Половые различия атеросклероза

**Вероника Александровна Мясоедова
Александр Николаевич Орехов
Игорь Александрович Собенин**

**Половые различия
атеросклероза**

**Молекулярно-клеточные и клинико-
неврологические особенности**

Impressum / Выходные данные

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek: Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Alle in diesem Buch genannten Marken und Produktnamen unterliegen warenzeichen-, marken- oder patentrechtlichem Schutz bzw. sind Warenzeichen oder eingetragene Warenzeichen der jeweiligen Inhaber. Die Wiedergabe von Marken, Produktnamen, Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen u.s.w. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutzgesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Библиографическая информация, изданная Немецкой Национальной Библиотекой. Немецкая Национальная Библиотека включает данную публикацию в Немецкий Книжный Каталог; с подробными библиографическими данными можно ознакомиться в Интернете по адресу <http://dnb.d-nb.de>.

Любые названия марок и брендов, упомянутые в этой книге, принадлежат торговой марке, бренду или запатентованы и являются брендами соответствующих правообладателей. Использование названий брендов, названий товаров, торговых марок, описаний товаров, общих имён, и т.д. даже без точного упоминания в этой работе не является основанием того, что данные названия можно считать незарегистрированными под каким-либо брендом и не защищены законом о брэндах и их можно использовать всем без ограничений.

Coverbild / Изображение на обложке предоставлено: www.ingimage.com

Verlag / Издатель:

LAP LAMBERT Academic Publishing

ist ein Imprint der / является торговой маркой

AV Akademikerverlag GmbH & Co. KG

Heinrich-Böcking-Str. 6-8, 66121 Saarbrücken, Deutschland / Германия

Email / электронная почта: info@lap-publishing.com

Herstellung: siehe letzte Seite /

Напечатано: см. последнюю страницу

ISBN: 978-3-659-31945-7

Zugl. / Утврд.: Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии Российской Академии медицинских наук, 2011

Copyright / АВТОРСКОЕ ПРАВО © 2013 AV Akademikerverlag GmbH & Co. KG
Alle Rechte vorbehalten. / Все права защищены. Saarbrücken 2013

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	3
ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1 Различия в распространенности атеросклероза у мужчин и женщин	10
1.2 Половые различия в неврологической симптоматике нарушений мозгового кровообращения.....	15
1.3 Влияние половых гормонов на развитие атеросклероза	17
1.4 Молекулярно - клеточные механизмы развития атеросклероза.....	25
1.5 Механизмы накопления внутриклеточного холестерина	31
Глава 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	
2.1 Культура моноцитов-макрофагов крови человека	37
2.2 Определение содержания внутриклеточного холестерина ...	37
2.3 Определение клеточного белка	38
2.4 Протоколы лабораторных исследований	39
2.5 Ультразвуковая оценка состояния сосудистой стенки	42
2.6 Оценка неврологического статуса	43
2.7 Оценка сердечно сосудистых рисков	43
2.8 Определение содержания липидов в крови	44
2.9 Протоколы клинических исследований	44
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
3.1 Программирующий эффект мужских и женских половых гормонов.....	48
3.2 Регуляторный эффект половых гормонов	52
3.3 Влияние половых гормонов на механизм внутриклеточного	59

накопления холестерина	
3.4 Морфометрия артериальной стенки аорты, сонной артерии и коронарной артерии у мужчин и женщин	62
3.5 Половые различия показателя толщины интимо-медиального слоя сонных артерий (ТИМ), как показателя естественного течения атеросклероза	65
3.6 Клиническая значимость ультразвуковых показателей естественного течения субклинического атеросклероза в отношении проявления ранней неврологической симптоматики у мужчин и женщин	78
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	85
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	95
ВЫВОДЫ	96
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	98

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ACAT – ацил-коэнзим А:холестеринацилтрансфераза

апоВ-100 – аполипопротеид В-100

БСА – бычий сывороточный альбумин

ГЛБ – гидрофильно – липофильный баланс

ЗГТ – заместительная гормональная терапия

ИФБ – изотонический фосфатный буфер, рН 7,4

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

ЛПВП – липопротеиды высокой плотности

МДА – малоновый диальдегид

НИР – научно исследовательская работа

ОИМ – острый инфаркт миокарда

СД – сахарный диабет

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ТИМ – толщина интимы меди

цммЛНП – циркулирующие множественно модифицированные ЛНП

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

NO – оксид азота

LOX – 1 - лектин - подобный рецептор - 1

IL – 1, - 6, - 8, - 18 – интерлейкины – 1, - 6, - 8, - 18

CAMs – молекулы клеточной адгезии

LXR – ядерный рецептор, чувствительный к оксистеринам

nCEH – нейтральная гидролаза эфиров холестерина

ABCA1 и ABCG1 – кассетные АТФ-связывающие транспортеры холестерина

TLR - Toll – подобные рецепторы

cAMP – циклический аденоzinмонофосфат

PKA – протеинкиназа А

NF κB – транскрипционный

SREBPs – белки, связывающие элементы регуляции стерином

SR-BI – рецептор-мусорщик BI

SR-A – рецептор – мусорщик A.

СД – сахарный диабет

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования.

Атеросклероз на сегодняшний день является одной из наиболее серьезных проблем современной медицины, и его клинические проявления, такие как инфаркт, инсульт, ишемическая болезнь сердца, занимают ведущее место в структуре заболеваемости и смертности [20]. Атеросклероз - это заболевание, которое характеризуется развитием дегенеративных изменений в стенках крупных артерий с последующей окклюзией просвета сосудов и ограничением кровоснабжения жизненно важных органов, таких, как сердце, головной мозг, почки. Субклинический (бессимптомный) атеросклероз является наиболее широко распространенной патологией; атеросклеротические поражения артерий выявляются уже у молодых лиц и неуклонно прогрессируют в течение десятилетий, прежде чем приводят к развитию клинических проявлений. Уже в среднем возрасте у лиц без клинических проявлений атеросклероза частота выявления атеросклеротических поражений сосудов приближается к 100% [26, 86,122].

Атеросклероз человека определено ассоциирован с полом. Так, у мужчин атеросклероз возникает достаточно рано: уже в 30-летнем возрасте у каждого третьего имеются атеросклеротические поражения крупных артерий, а к 50 годам распространенность атеросклероза достигает 100%. Напротив, женщины молодого и зрелого возраста при сохраненной эндокринной функции не имеют признаков атеросклеротических поражений; при наступлении менопаузы риск развития атеросклероза резко возрастает. Считают, что ключевую роль в антиатеросклеротической защите играют женские половые гормоны, прежде всего, эстрогены. Существовало эпидемиологически обоснованное представление, что применение женских половых гормонов в период угасания эндокринной активности яичников способно предотвращать развитие атеросклероза у женщин. В проспективных клинических исследованиях было

установлено, что применение заместительной гормональной терапии способствует замедлению прогрессирования атеросклероза на его ранних доклинических стадиях. Однако результаты последних крупнейших зарубежных исследований (WHI - "Women Health Initiative" и HERS - "Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study") показали, что заместительная гормональная терапия не снижает риск сердечно-сосудистых заболеваний, а в некоторых группах женщин даже повышает его [62,129]. Подобный диссонанс обусловлен рядом причин. В аспекте фундаментальных исследований недостаточно изучен механизм атеропротективного действия эстрогенов, в частности, влияние гормонов на ключевые проявления атерогенеза на молекулярно-клеточном уровне – липоидоз, пролиферативную и синтетическую активность, а также на атерогенные свойства липопротеидов низкой плотности. Мало изучены морфологические различия интимы артерий мужчин и женщин. В аспекте изучения динамики развития субклинического атеросклероза, в настоящее время активно проводится большое количество клинических исследований с использованием такого суррогатного маркера, как толщина интимо-медиального слоя. Но при этом не изучена сравнительная динамика прогрессирования атеросклероза в зависимости от пола, а существующие данные о различной выраженности атеросклеротических поражений у мужчин и женщин основаны на одномоментных эпидемиологических и патологоанатомических исследованиях. Наконец, не изучена связь между выраженностью ранних поражений и клиническими проявлениями атеросклероза, в частности, с симптомами хронической недостаточности мозгового кровообращения. А также разница в выраженности ранних клинических проявлениях атеросклероза у мужчин и женщин.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы явилось изучение молекулярно-клеточных и клинико-неврологических различий в развитии атеросклероза у мужчин и женщин, связанных с гормональной регуляцией процессов атерогенеза.

Для достижения этой цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Изучить программирующий эффект половых гормонов, для чего провести сравнительное исследование способности мужских и женских моноцитов и макрофагов накапливать холестерин под воздействием атерогенных ЛПНП.
2. Изучить регуляторный эффект мужских и женских половых гормонов, для чего провести исследование способности эстрadiола, тестостерона и дигидротестостерона непосредственно влиять на накопление холинстерина в культивируемых клетках, индуцированное атерогенными ЛПНП.
3. Изучить влияние половых гормонов на механизм внутриклеточного накопления холестерина, для чего исследовать способность половых гормонов влиять на клеточный фагоцитоз.
4. Изучить состояние сосудистой стенки на морфологических препаратах от мужчин и женщин.
5. Изучить половые различия естественного течения бессимптомного атеросклероза в сонных артериях, для чего:
 - провести кросс-секционное исследование толщины интимо-медиального слоя сонных артерий у мужчин и женщин в различных возрастных группах;
 - провести проспективное изучение динамики изменений толщины интимо-медиального слоя сонных артерий у мужчин и женщин.
6. Изучить клиническую значимость ультразвуковых показателей естественного течения субклинического атеросклероза в отношении проявлений ранней неврологической симптоматики недостаточности мозгового кровообращения у мужчин и женщин.

Научная новизна работы.

Впервые был оценен программирующий эффект влияния половых гормонов на процессы накопления холестерина в культивируемых макрофагах и макрофагах. Был оценен регуляторный эффект половых гормонов на процессы накопления холестерина в культивируемых макрофагах на модели накопления холестерина, индуцированного ЛПНП. Было изучено влияние половых гормонов на фагоцитарную активность клеток. Было установлено, что скорость увеличения ТИМ в сосудистой стенке связана с возрастом нелинейным образом, и при этом существуют возрастные периоды у мужчин и у женщин, в которых скорость развития атеросклероза не одинакова. Максимальная скорость прогрессирования атеросклероза у мужчин отмечается в возрасте от 50 до 62 лет, а у женщин – от 58 до 70 лет. При этом впервые было установлено, что в период максимально высокой скорости изменения ТИМ, последняя значительно выше у женщин, чем у мужчин. Впервые была выявлена корреляционная зависимость между прямыми показателями атеросклероза и изменениями в неврологическом статусе.

Теоретическая значимость работы

Изучено влияние половых гормонов на процессы внутриклеточного накопления холестерина. Показано, что эстрадиол и дигидротестостерон подавляют накопление внутриклеточного холестерина в мужских и женских клетках. Изучена взаимосвязь морфометрических характеристик артериальной стенки на аутопсийном материале мужчин и женщин и прижизненных характеристик сосудистой стенки с использованием ультразвука высокого разрешения. Проведено углубленное изучение гендерных различий в выраженности атеросклероза и скорости его прогрессирования. Выявлена взаимосвязь с ранними атеросклеротическими поражениями сосудистой стенки и слабо выраженной неврологической симптоматикой.

Практическая значимость работы.

Благодаря использованию ультразвуковой диагностики каротидного атеросклероза, были определены возрастные интервалы у мужчин и женщин, в которых усиливается прогрессирование атеросклероза. Следовательно, меры по активной профилактике атеросклероза должны предприниматься именно в эти периоды. В работе получено обоснование использования ультразвуковой диагностики атеросклероза сонных артерий в доклиническую fazу для идентификации пациентов с высоким риском развития клинических проявлений атеросклероза, в частности хронического и острого нарушения мозгового кровообращения.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Различия в распространенности атеросклероза у мужчин и женщин.

Атеросклероз – локальное сужение просвета кровеносных артерий, приводящее к инфаркту миокарда, инсульту головного мозга, гангрене нижних конечностей и другим тяжелейшим патологическим состояниям [20]. У мужчин атеросклероз развивается в довольно молодом возрасте. Уже к 30-35 годам можно наблюдать изменение в сосудистой стенке. У женщин при наступлении менопаузы резко возрастают риск развития атеросклероза и атеросклеротических заболеваний, которые составляют более 50% в структуре смертности, как в России, так и в других промышленно развитых странах. В молодом и зрелом возрасте, при сохраненной эндокринной функции, атеросклероз у женщин не выявляется, что, возможно, связано с защитным действием эстрогенов. При наступлении менопаузы атеросклероз у женщин начинает быстро прогрессировать, и к 65 годам женщины становятся сравнимы с мужчинами по степени выраженности и распространенности атеросклероза [76].

Мировая наука в течение многих десятилетий уделяла пристальное внимание вопросам диагностики и профилактики атеросклероза у мужчин, в то время как механизмы атерогенеза у женщин оставались плохо изученными. В связи с этим мы намерены уделить основное внимание половым различиям в стратификации рисков, начале развития атеросклероза, его прогрессированию.

Для оценки риска развития сердечно-сосудистых заболеваний принято использовать Фрамингемскую шкалу оценки рисков [76]. Рассчитывается риск с учетом данных о возрасте, артериальном давлении, уровне холестерина, наличии диабета и статуса курильщика [74]. Такая шкала оценки рисков позволяет рассчитать риск возникновения ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда в ближайшие 10 лет. С течением времени статус риска может меняться, в связи с этим более точные и долгосрочные прогнозы рассчитать не представляется возможным [76]. В результате исследования

Framingham Heart Study было установлено, что у мужчин с высокими показателями факторов риска, развитие ИБС возможно уже после 45 лет, у женщин с подобными показателями рисков, только после 55 лет. На развитие атеросклероза влияет, в том числе, и наследственность. Так, у мужчин с отягощенной наследственностью по сердечнососудистым заболеваниям проявления атеросклероза возможны в возрасте 55 лет и старше, у женщин в возрасте 65 лет и старше. Курение существенно негативно влияет на прогноз, как у мужчин, так и у женщин. Однако необходимо отметить, что курящие молодые женщины подвержены большим рискам, чем мужчины. Такой параметр как уровень липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), не превышающий 40 мг/дл для мужчин и 50 мг/дл для женщин, является также фактором риска развития сердечнососудистых заболеваний. Повышение уровня общего холестерина у мужчин является фактором риска в любом возрасте, у женщин – только после наступления менопаузы. Само наступление менопаузы у женщин может рассматриваться как фактор риска сердечнососудистых заболеваний. Такие факторы риска как гипертония, гиподинамия, ожирение и сахарный диабет, резко увеличивают риск развития сердечнососудистых заболеваний, как у мужчин, так и у женщин, но наличие этих факторов у женщин в менопаузе, приводит к тому, что риск возникновения сердечнососудистых заболеваний у женщин становится выше, чем у мужчин. В результате Фрамингемского исследования стало понятно, что риск развития сердечнососудистых заболеваний у мужчин и женщин не одинаков, и основной причиной увеличения рисков развития сердечнососудистых заболеваний у женщин, является наступление менопаузы.

Учитывая полученные данные, в протоколы многочисленных исследований по изучению маркеров атеросклероза, были включены женщины [101,103,35,67].

Изучалось влияние показателей С-реактивного белка, мочевой кислоты, фибриногена и гомоцистеина на изменение риска развития

сердечнососудистых заболеваний у мужчин и женщин, но данные, полученные в этих исследованиях, не обладали достаточной статистической значимостью, чтобы ответить на вопрос, есть ли корреляция этих маркеров с прогрессированием атеросклероза в отдельно взятой половой группе.

Коронарный кальций является одним из прямых маркеров субклинического атеросклероза. В ряде исследований, направленных на изучение изменения этого показателя, были продемонстрированы специфические половые различия [70,100,88]. В одном из таких исследований, попытались изучить риск развития сердечнососудистых заболеваний у лиц, с бессимптомным атероскллерозом. В результате было продемонстрировано, что показатель прогностической смертности у женщин выше чем у мужчин, несмотря на то, что уровень общего кальция у женщин был значительно ниже, чем у мужчин [70, 100]. Более того, если уровень коронарного кальция был одинаковым у женщин и мужчин, то показатель прогностической смертности был в 3-5 раз выше в женской группе, чем в мужской. Соотношение оставалось прежним и после того, когда обе группы были скорректированы по основным, традиционным факторам риска. Совокупный мета-анализ данных, полученных из литературы, показал, что у женщин с повышенным коронарным кальцием и наличием 3 традиционных риск факторов показатель прогностической смертности был выше, чем у мужчин на 11 %. [88].

Другим прямым маркером субклинического атероскллероза является толщина комплекса интима-медиа сонной артерии [59]. Этот показатель позволяет точно измерить расстояние между границами кровотока, интимы, меди и адвенции в артерии. В 1986 году Pignoli с соавторами продемонстрировали, что ультразвук может быть использован для измерения толщины комплекса интима-медиа (ТИМ) [97]. При сравнении показателя ТИМ, измеренного на ультразвуковом оборудовании, и показателя ТИМ, измеренного с помощью микроскопа, было показано, что данные ультразвукового исследования коррелируют с гистологическими данными [97,

95]. В свою очередь Geroulakos с соавторами продемонстрировал, что данные ТИМ, полученные с помощью ультразвукового сканирования сонных артерий, хорошо соотносятся с данными, полученными при ангиографическом исследовании [47]. Так пациенты, которым было проведено ангиографическое исследование, у которых был обнаружен значительный стеноз, при ультразвуковом исследовании также имели изменение комплекса ТИМ, чего не наблюдалось у пациентов с нормальными результатами ангиографии [47].

Проспективное исследование ARIC (The Atherosclerosis Risk in Communities Study - Риск атеросклероза в сообществах) было направлено на изучение связи сердечнососудистых заболеваний и их осложнений с изменениями показателя ТИМ. В это исследование было включено 7289 женщин и 5552 мужчины в возрасте от 45 до 64 лет, длительность наблюдения составила от 4 до 7 лет. В результате этого исследования было установлено, что при ТИМ более 1 мм сердечнососудистый риск у мужчин выше в 1,85 раза, а у женщин – в 5,07 раза по сравнению с лицами, имеющими неэкстремальные (менее 1 мм) показатели ТИМ. Также было установлено, что у женщин в соответствующих возрастных группах показатели ТИМ меньше чем у мужчин, и что ТИМ увеличивается с возрастом, независимо от половой принадлежности [31].

В свою очередь, O'Leary с соавторами продемонстрировал взаимосвязь изменений показателя ТИМ с увеличением риска развития сердечнососудистых заболеваний. Была установлена связь между увеличением комплекса ТИМ и впервые выявленным инсультом или инфарктом у пациентов старше 65 лет, не имеющих в анамнезе сердечнососудистых заболеваний. Таким образом, O'Leary показал, что толщина интимы-медиц является надежным предиктором атеросклероза и его проявлений, таких как инфаркт и инсульт [91,92,93].

В норвежском исследовании Tromso Study, была продемонстрирована связь прогрессирования ТИМ с возрастом и полом. В исследовании, проводимом с 1994 по 1995 год, приняло участие 6408 пациентов в возрасте от

25 до 84 лет. Было установлено, что комплекс ТИМ прогрессирует с возрастом, у мужчин прогрессирование происходит быстрее, чем у женщин. В одной и той же возрастной группе комплекс ТИМ у мужчин был больше на 70 мкм, чем у женщин [42].

В ряде других клинических исследований направленных на изучение изменений показателя ТИМ и клинической значимости этого показателя, были также продемонстрированы половые различия показателя ТИМ. Так у мужчин в любом возрасте комплекс ТИМ был достоверно выше, чем у женщин [56,57,117].

Anna Kablak-Ziembika с соавторами подтвердила эти данные в своем исследовании по изучению половых различий у пациентов с сердечнососудистыми заболеваниями [65]. В исследовании приняли участие 558 пациентов (120 женщин и 438 мужчин) с бессимптомной ишемической болезнью сердца, диагноз которым был поставлен ангиографическим методом. В этой работе было также показано, что у пациентов старше 65 лет половые различия в увеличении ТИМ не были достоверными. Более того, было установлено, что половые различия в показателе ТИМ исчезают полностью у пациентов, перенесших инсульт или инфаркт. Объяснением этого факта может быть ускорение атеросклеротических процессов в постменопаузальный период у женщин [118,72]. В других исследованиях было установлено, что у женщин в период перименопаузы комплекс ТИМ достоверно меньше, чем у женщин в постменопаузальный период [114]. Anna Kablak-Ziembika считает, что необходимо проводить независимую оценку показателя ТИМ у мужчин и женщин, т. к. прогностическая значимость ТИМ различна у мужчин и женщин. Так, у женщин толщина интимы-медиц более 1,07 мм является высоким предиктором развития инфаркта или инсульта, у мужчин этот показатель составляет 1,15 мм [65].

Существуют не только половые, но и расовые различия в изменении показателя ТИМ, так у негроидов показатель ТИМ в среднем самый высокий, у

монголоидов в среднем самый низкий, а у европеоидов показатель ТИМ занимает среднее положение [60,123,37]. В связи с этим для расчета рисков сердечнососудистых заболеваний с использованием показателя ТИМ необходимо учитывать такие характеристики пациентов как пол, возраст, раса.

Американское эхографическое общество, на конгрессе в 2008 году рекомендовало считать ТИМ, значения которой на уровне или выше 75 процентиелей от общей популяции, индикатором высокого сердечно-сосудистого риска [112].

1.2 Половые различия в неврологической симптоматике нарушений мозгового кровообращения.

Нарушение мозгового кровообращения является клиническим проявлением последствий атеросклероза. Хроническая недостаточность мозгового кровообращения может привести к острому нарушению мозгового кровообращения (инфаркту). Половые различие инфаркта хорошо изучены. Частота инфаркта у мужчин до определенного возраста выше, чем у женщин, но после 85 лет, женщины занимают лидирующую позицию по частоте инфарктов. С каждым годом процент женщин, умирающих от инфаркта, увеличивается. В США в 2004 году 61% инфарктов случился у женщин [104]. Эти различия могут быть результатом того, что продолжительность жизни женщин выше, а число инфарктов увеличивается с возрастом. Также была выявлена более высокая смертность у женщин, перенесших инфаркт, по сравнению с мужчинами. После перенесенного первого инфаркта риск возникновения повторного в ближайшие 5 лет у женщин выше, чем у мужчин. В возрастной группе от 40 до 69 лет у 22% женщин возможно возникновение повторного инфаркта, у мужчин это возможно только в 13% случаев; в старшей группе (старше 70 лет) повторный инфаркт случается у 28% женщин и у 23% мужчин [104].

Восстановление после перенесенного острого ишемического инсульта у женщин проходит хуже, чем у мужчин. Только 22,7% женщин против 26,7% мужчин, полностью восстанавливаются после перенесенного инсульта в течение 6 месяцев [104]. Также необходимо отметить, что у женщин чаще случается геморрагический инсульт, а у мужчин ишемический [90].

Что касается неврологической симптоматики при остром инсульте, у женщин чаще наблюдаются нетрадиционные симптомы, такие как боль, изменение уровня сознания, а также неспецифические и неклассифицируемые неврологические симптомы (28% у женщин и 19% у мужчин). У мужчин на первый план выходит традиционная симптоматика инсульта, такая как гемипарез и нарушение равновесия. Вместе с тем, не выявлено половых различий в такой неврологической симптоматике, как дизартрия, дисфагия, порез носогубной складки, головокружения, сенсорные нарушения, характерные для нарушения мозгового кровообращения [90]. Необходимо отметить, что атипичная симптоматика у женщин встречается не только при острых инсультах, но и при остром инфаркте миокарда [69].

На сегодняшний день, одна из основных задач медицинской науки и здравоохранения - это предотвращение последствий цереброваскулярных нарушений. Из этого вытекает необходимость выявлять на ранних стадиях минимальные изменения, в том числе диагностировать минимальную неврологическую симптоматику нарушения мозгового кровообращения для предотвращения инсультов.

Анализ существующих НИР-аналогов на основании данных, почерпнутых из литературы, не позволил обнаружить работы, посвященные выявлению минимальной неврологической симптоматики у пациентов с хронической недостаточностью мозгового кровообращения. Это обстоятельство определило необходимость проведения подобного исследования в рамках НИР.

1.3 Влияние половых гормонов на развитие атеросклероза.

Учитывая тот факт, что риск развития сердечнососудистых заболеваний резко возрастает у женщин в постменопаузальный период и это непосредственно связано со снижением уровня женских половых гормонов, был проведен ряд клинических исследований по изучению влияния половых гормонов на развитие атеросклероза у мужчин и женщин. В некоторых из них было продемонстрировано, что заместительная гормональная терапия (ЗГТ) достоверно снижает риск сердечнососудистых заболеваний у женщин в состоянии постменопаузы [24]. В исследовании под названием Postmenopausal Estrogen/Progestin Intervention (PEPI) Study изучалось влияние гормональной терапии на риски сердечнососудистых заболеваний в трехлетний период; был показан благоприятный эффект на показатели липидного профиля у женщин [120]. Тем не менее, в клиническом исследовании Heart Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS) не были обнаружены существенные доказательства клинического преимущества гормональной терапии у женщин с установленным диагнозом ИБС [62].

По поводу влияния эстрогенов на частоту заболеваний сердца и сосудов в последние годы высказываются противоречивые мнения. Показано, что эстрогены неэффективны для вторичной профилактики при уже развившемся атеросклерозе, но, вероятно, уменьшают риск развития инсультов и инфарктов в том случае, если назначаются женщинам в период пре- и ранней постменопаузы. Об этом убедительно свидетельствуют данные эпидемиологических исследований, в том числе Nurses Health Study (Изучение здоровья медсестер), представленные на конгрессе Североамериканского общества по менопаузе в 2004 г. У женщин, начавших ЗГТ не позднее чем через 4 года после менопаузы, относительный риск сердечно-сосудистых заболеваний составил 0,54–0,92 в зависимости от типа применявшимся препаратов.

Следует отметить, что в исследовании WHI также отмечено снижение частоты сердечнососудистых заболеваний у женщин, начавших прием препаратов не позднее чем через 10 лет после менопаузы (относительный риск 0,56–0,89). И только у очень пожилых женщин, начавших терапию через 20 лет и более после последней менструации, риск сердечнососудистых заболеваний возрастал [129].

В пользу защитного действия эстрогенов говорят данные о склонности к атеросклерозу лиц с недостатком ароматазы (фермента превращающего андрогены в эстрогены) или рецептора эстрогенов альфа (ER α) [105].

Вместе с тем, остается до конца не ясным действие андрогенов у мужчин. Мужской пол и является фактором риска развития атеросклероза, заместительная терапия андрогенами при андропаузе подавляет развитие атеросклероза [55]. При этом у мужчин с гипогонадизмом отмечается предрасположенность к атеросклерозу [127]. Учитывая этот факт можно предположить, что антиатерогенное действие оказывают и эстрогены, и андрогены, причем их роль у мужчин и женщин может различаться.

Adams с соавторами продемонстрировал способность эстрогена положительно влиять на атеросклеротическую бляшку на животной модели обезьян [19]. Более того, эстроген способен благоприятно влиять на липидный профиль постменопаузальных женщин, и таким образом снижать риск развития сердечнососудистых заболеваний на 25-30%. Эстроген снижает общий холестерин и липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), стимулирует увеличение ЛПВП, тормозит окисление липидов и пролиферацию гладкомышечных клеток [115,119].

Все эффекты половых гормонов на сосуды опосредуются через рецепторы. Рецепторы эстрогена, прогестерона и тестостерона экспрессируются в разном количестве в гладкомышечных клетках и эндотелии различных сосудов. Обнаружена обратная зависимость между количеством рецептора к эстрогенам в эндотелии и риском развития сердечнососудистых

заболеваний [105]. Кроме того, рецепторы половых гормонов имеют разные подтипы, по-разному распределены в тканях и могут модулироваться разными агонистами и антагонистами. Было обнаружено два подтипа рецептора эстрогенов ER α и ER β в эндотелии и гладкомышечных клетках сосуда [87]. Рецепторы тестостерона или андрогенов (AR) также были обнаружены в эндотелиальных и гладкомышечных клетках сосуда. Экспрессия AR в гладкомышечных клетках зависит от пола и статуса гонад. У мужских особей экспрессия AR выше, чем у женских в аортальных гладкомышечных клетках крыс [58].

Рецепторы половых гормонов являются транскрипционными факторами надсемейства ядерных рецепторов. Эти рецепторные белки имеют сходный план строения: лигандсвязывающий домен, ДНК-связывающий и 2-3 транскрипционных домена. Индуцируемые лигандом конформационные изменения ядерных рецепторов сопровождаются сборкой белковых комплексов на гормончувствительных элементах генов. Эти комплексы обеспечивают: 1) формирование пермиссивной среды для транскрипции; 2) активация базального транскрипционного комплекса. Значительно меньше известно о механизмах ингибирующего действия гормонов на транскрипцию. В регуляторных областях ряда экспрессируемых генов были обнаружены так называемые негативные гормончувствительные элементы, взаимодействие рецепторов с которыми, как предполагалось, обеспечивает сборку репрессорных белковых комплексов. Оказалось, однако, что в большинстве случаев такие элементы не взаимодействуют прямо с ядерными рецепторами. Одна из форм репрессорного действия гормонов включает индукцию гормоном трансрепрессоров, взаимодействующих с негативными гормончувствительными элементами. Другой формой ингибирования служит трансрепрессорное действие самого рецептора, обеспечиваемое взаимодействием рецептора с другими транскрипционными факторами без его прямого связывания с ДНК. Частным случаем прямой регуляции экспрессии

генов стероидными гормонами является формирование больших петель ДНК, которое обеспечивает сближение ядерного рецептора, связанного с отдаленным от старта транскрипции гормончувствительным элементом, с базальным транскрипционным комплексом. Для рекрутования ядерного рецептора в комплекс с ДНК может требоваться исходное присутствие по соседству другого транскрипционного фактора [30].

Отдельная подгруппа эффектов стероидных гормонов может реализовываться благодаря взаимодействию гормонов с мембранными рецепторами. В случае эстрогенов функцию их мембранных рецепторов выполняют сплайсинговые укороченные варианты (46 и 36 кДа) ER_A, которые благодаря присоединению жирной кислоты способны заакорчиваться на плазматической мембране. Через каскады протеинкиназ и вторичных посредников эти варианты ядерного рецептора способны индуцировать как немедленные (минуты) посттрансляционные, так и отсроченные (часы, дни) транскрипционные эффекты. Другие мембранные рецепторы стероидов охарактеризованы менее полно [6].

Связывание половых гормонов с ядерными рецепторами вызывает геномные эффекты, сопровождающиеся ростом клеток. Таким образом половые гормоны вызывают рост эндотелиальных клеток через активацию митогенактивируемых промонкиназ (MAPK), повышения транскрипции генов, отвечающих за пролиферацию эндотелия и повышение синтеза эндотелиальной NO синтетазы (eNOS). Несмотря на то, что в эндотелии эстрадиол запускает сигналы, стимулирующие рост и пролиферацию клеток, в гладкомышечных клетках эстрадиол ингибирует эти процессы [40]. Ингибирующий рост гладкомышечных клеток эффект эстрогена может быть усилен связыванием рецептора стероидов с коактиватором SRC. Подавление роста гладкомышечных клеток происходит за счет индуцированного эстрогеном повышением продукции NO. Также эстрадиол может стимулировать продукцию циклического АМФ (cAMP), который действует через собственные

эффекторы, благодаря чему регулирует рост гладкомышечных клеток. Андрогены могут действовать двояко на рост и пролиферацию клеток. Низкие концентрации дигидротестостерона стимулируют рост гладкомышечных клеток, когда как высокие – ингибируют.

При негеномных эффектах эстроген связывается с рецептором на поверхности мембраны клетки эпителия и повышает образование инозитол-1,4,5-трифосфата (IP_3). В результате происходит высвобождение Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума и образование комплекса с кальмодулином (CAM). Этот комплекс связывается с eNOS, в результате чего происходит диссоциация eNOS и кальвеолина-1 и переход eNOS от мембраны внутрь клетки. Эстроген может также активировать фосфатидил-инозитол-3-киназу (PI_3K), которая вызывает трансформацию фосфатидил-инозитол-4,5-бисфосфата (PIP_2) в фосфатидил-инозитол-3,4,5-трифосфат (PIP_3), способный активировать белок Akt. Белок Akt способствует фосфорилированию eNOS и повторному прикреплению к плазматической мембране, где eNOS синтезирует из L-аргинина и L-цитруллина NO. NO диффундирует из образованных мембраной эндотелиальной клетки кавеол, попадает на ГМК, где связывается с гуанилатциклазой. Повышение циклического ГМФ вызывает уменьшение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} и в конечном итоге приводит к расслаблению гладкомышечных клеток. Имеются данные, что и тестостерон вызывает зависимое от эпителия расслабление сосуда [64]. Эстроген также проявляет эффекты противоположные ангиотензину II (AngII) на гладкомышечные клетки через активацию протеиновых фосфатаз.

Накопившиеся данные говорят о том, что половые гормоны воздействуют и на макрофаги. Устоявшаяся точка зрения говорит о повышенной предрасположенности мужчин к атерогенезу. Между тем, данных о действии андрогенов на атерогенез немного и они весьма противоречивы. Имеются публикации, в которых мужские гормоны оказывают антиатерогенное действие [81]. Согласно же большинству публикаций,

андрогены оказывают проатерогенное действие у мужчин [130]. Однако поиски ядерных рецепторов в макрофагах дают отрицательный результат. Большинство исследований, показывают, что макрофаги практически не экспрессируют ядерные AR. Пока остается непонятным, по какому пути происходит действие андрогенов на макрофаги. Можно предположить, что тестостерон регулирует функции макрофагов через мембранный receptor. Возможно, этот receptor связан с G белком, который запускает фосфатидилинозитол-1,4,5-трифосфатный путь сигналинга, в результате которого происходит повышение (Ca^{2+})_i [50,96]. Возможно, что андрогены действуют на процессы поглощения и оттока холестерина внутри макрофагов [83]. Обнаружено, что тестостерон может воздействовать на экспрессию SR-BI в культуре гепатоцитов и макрофагов человека. Тестостерон способен повышать экспрессию SR-BI, чем способствует оттоку холестерина из макрофагов. В отличие от регуляции SR-BI, тестостерон никак не воздействует на экспрессию важных белков обратного транспорта холестерина ABCA1 и apoA-I [71]. Что касается влияния андрогенов на другие факторы обратного транспорта холестерина, результаты исследований крайне разрознены и противоречивы.

Действие эстрогенов на макрофаги изучено более детально. Недавние исследования показали, что в макрофагах имеются ER α и ER β [107]. Имеются работы на мышиных макрофагах, нокаутированных по гену ER α . Результаты говорят о том, что дефицит ER α у мышей мужских особей приводит к раннему атеросклерозу [125]. Показано, что эстрадиол способен ингибировать окисление ЛПНП в макрофагах. Окисленные ЛПНП после internalизации транспортируются сначала в эндосомы, а затем и в лизосомы для дальнейшей деградации. Транспорт холестерина из лизосом к местам этерификации ингибируют C17 или C20 стероиды. Тестостерон не обладает такими эффектами. Цитозольные эфиры холестерина могут гидролизоваться нейтральными гидролазами (nCEH), которые активируются cAMP. В жировой

ткани женских особей nCEH более активна, чем в мужских. Эстрадиол повышает активность nCEH в мышиных макрофагах и культуре макрофагов *in vitro* [110]. По-видимому, эффект достигается путем активации зависимой от cAMP протеинкиназы А (РКА) [116]. В ряде работ показано, что эффекты эстрогена осуществлялись не через классические рецепторы эстрогена. Эстрадиол действует на рецепторы-мусорщики макрофагов и тем самым влияет на регуляцию внутриклеточного холестерина [84]. Эстрадиол способен уменьшать захват ЛПНП макрофагами предположительно действуя на SR-A. В адипоцитах также показано действие эстрадиола на SR-BI, что способствует оттоку холестерина из клетки и связыванию его с ЛПВП. Большой интерес вызывает вопрос о возможном действии эстрадиола на LXR. По некоторым данным, эстрадиол понижает экспрессию LXRA в макрофагах. При заместительной терапии изъятие из среды эстрадиола приводит к повышению уровня mRNA LXRA. Детальное рассмотрение строения промотора LXRA, показывает отсутствие эстроген-чувствительных элементов и наличие AP-1 сайта. Известно, что эстрогены могут регулировать экспрессию cFos в разных типах клеток: нейронах, остеобластов, адипоцитах [98]. Так как cFos связывается с AP-1 сайтом, то эстрогены способны модулировать активность LXRA путем регуляции продукции cFos [68].

Большой интерес вызывает вопрос о том, как воздействуют эстрогены на экспрессию SR-BI в макрофагах. Сначала на линейных клетках было обнаружено, что эстрадиол позитивно активировал промотор SR-BI. ER α и ER β связываются с эстрогенчувствительными элементами и активируют транскрипцию. Интересно, что оба подтипа ER могут образовывать гетеродимер и связываться с коактиватором SREBP-1a [78]. Следующие работы были направлены на изучение эффектов эстрогена в мозге и печени. Было обнаружено, что эстроген повышает экспрессию SR-BI в мозге мышей, тогда как в печени, наоборот, ингибирует [109]. В крысиных Купферовских клетках эстроген также вызывает повышение экспрессии SR-BI и увеличение

связанного с ЛПВП обратного транспорта холестерина [43]. Работ, направленных на изучение модулирующего действия эстрогенов на экспрессию SR-BI в человеческих макрофагах, до сих пор не проводилось.

Вторым способом обратного транспорта холестерина из клетки является активация LXR промотора и синтез кассетных АТФ-связывающих транспортеров холестерина. Данный путь оттока холестерина опосредуется непосредственно через сам транспортер и белок ароA-1. Действие эстрогенов на ароA-1 пока не изучено. Атеропротекторные эффекты эстрогена через регуляцию уровня ABCA1 наблюдались в клетках мышиной печени. Эстроген двукратно повышал уровень мРНК ABCA1. Оказалось, что уровень мРНК повышается и у мышей с дефицитом ER α , следовательно, для регуляции ABCA1 не является обязательным наличие ER α , его функции могут замещаться через ER β . Таким образом, можно утверждать, что атеропротекторные эффекты эстрогенов могут быть направлены через путь, связанный с ABCA1. Однако данных касательно тех же эффектов эстрогенов на макрофаги нет.

Ранее уже отмечалась важная роль TLR на процессы атеросклероза. Ряд исследований направлен на изучение действия эстрадиола на клетки, способные экспонировать на своей поверхности TLR. Имеются данные о том, что эстрогены способны действовать на TLR-сигналинг клетки. В опытах использовались клетки Купфера, которые являются специализированными макрофагами печени. Было показано, что 17- β эстрадиол уменьшает экспрессию TLR на поверхности клеток Купфера и активацию ядерного фактора транскрипции NF κ B. В результате снижается общая концентрация провоспалительных цитокинов - IL-6 и TNF- α [61]. Подобные работы проводились и на селезеночных макрофагах мыши. В них специально индуцировали TLR-сигналинг с помощью добавления к культуре клеток LPS. В результате 17- β эстрадиол уменьшал вызванную LPS продукцию цитокинов: IL-1, IL-6 и TNF- α [39]. Вполне можно предположить, что подобные эффекты

эстрадиол может проявлять на макрофагах, находящихся в зоне атеросклеротического повреждения.

В сосудистой стенке тестостерон может претерпевать ряд химических преобразований. Под действием фермента ароматазы тестостерон превращается в эстрадиол. Другим продуктом превращения тестостерона является 5 α -дигидротестостерон, который образуется в периферических тканях благодаря 5 α -редуктазе. Дигидротестостерон является самым активным натуральным андрогеном. Показано, что сниженный уровень дигидротестостерона может способствовать атерогенезу. В данных опытах использовалась модель индуцированного атеросклероза у кроликов. Было обнаружено, что физиологические концентрации дигидротестостерона оказывают антиатерогенный эффект. Дигидротестостерон снижает экспрессию рецептора LOX-1, чем предотвращает формирование пенистых клеток [99].

1.4 Молекулярно - клеточные механизмы развития атеросклероза.

При рассмотрении молекулярно-клеточных механизмов атерогенеза наибольший интерес представляет интимальная оболочка артерий эластического и мышечно-эластического типа, поскольку атеросклеротические поражения сосудов возникают и развиваются исключительно в этой пространственно ограниченной области артериальной стенки [4,46]. При возникновении и прогрессировании атеросклеротических поражений толщина интимального слоя существенно возрастает и в атеросклеротических бляшках достигает наибольшей величины [89]. Наиболее существенные изменения происходят в протеогликановом слое интимы; в области жировой полосы он увеличивается почти в 2 раза, а в области атеросклеротической бляшки в среднем в 4 раза по сравнению с непораженной интимой. Собственно, он и составляет ту часть возвышающегося атеросклеротического поражения, которое выпячивается в просвет сосуда, уменьшая его проходимость. В отдельных случаях толщина протеогликанового слоя в атеросклеротической

бляшке может в 10-20 раз превосходить его толщину в норме [13]. В этом же слое происходит преимущественное накопление коллагена и липидов, что определяет степень выраженности фиброза и липоидоза.

При возникновении и прогрессировании атеросклеротических поражений значительно изменяется количество клеток в интимальной оболочке артерий. В протеогликановом слое число клеток в жировой полосе возрастает в 1,5 раза, а в бляшке – в 2 раза по сравнению с нормой [9,10,14].

Было определено общее число клеток в участках непораженной интимы и в областях атеросклеротических поражений на вертикальных срезах аорты [1]. В ряду непораженная интима → начальное поражение → жировая полоса → фиброатерома → фиброзная бляшка имеет место колоколообразное увеличение клеточности интимы с максимумом, приходящимся на выраженные жировые поражения. С помощью иммуноцитохимических методов было установлено, что клеточный состав интимы артерий человека изменяется в зависимости от степени выраженности атеросклеротического поражения [5]. Доля воспалительных гематогенных клеток (прежде всего моноцитов-макрофагов) в норме составляет не более 5%, а по мере возникновения и прогрессирования атеросклеротических поражений в ряду «норма → начальные поражения → жировая полоса → липофиброзная бляшка» прогрессивно увеличивается почти до 20%. Соответственно, доля оседлых клеток (гладкомышечные клетки, перицитоподобные клетки) снижается с 95-97% до 80-85% [5].

Накопление внутриклеточных липидов в артериальной стенке принято обозначать термином «липоидоз». Во внешне неизмененных участках интимы липиды накапливаются в основном внеклеточно. Характерной чертой даже самых начальных стадий атеросклеротического поражения является появление в них клеток с липидными включениями [4,7,108]. Была определена доля клеток с липидными включениями в непораженной интиме и в атеросклеротических поражениях [8]. Больше всего клеток с липидными включениями наблюдалось в жировых полосах (до 25%); они располагались в

поверхностной части протеогликанового слоя. В атеросклеротических бляшках наибольшая часть клеток с липидными включениями обнаруживалась в глубине протеогликанового слоя, ближе к внутренней пограничной пластинке. В мышечно-эластическом слое доля липидсодержащих клеток была наивысшей в атеросклеротических бляшках, но даже там она не превышала 5%.

Пролиферация (увеличение клеточности) является еще одной значимой характеристикой атеросклероза на клеточном уровне. При подсчете числа интимальных клеток на срезах и определении количества клеток в суспензии после спиртово-щелочной диссоциации было выявлено в среднем двукратное локальное увеличение клеток в атеросклеротических поражениях, причем наибольшее число клеток выявлялось в липофиброзных поражениях [10, 11]. Основную часть клеток интимы (84-93%) составляют оседлые клетки, и именно изменение численности оседлых клеток определяет увеличение клеточности в атеросклеротических поражениях по сравнению с непораженной интимой. Наибольшее количество пролиферирующих клеток приходится на поражения с преобладанием липоидоза - жировые полосы и липофиброзные бляшки. Там пролиферирующих клеток примерно в 10-20 раз больше, чем в непораженной интиме. Пролиферативный индекс (отношение числа пролиферирующих клеток к общему числу клеток) у оседлых клеток во всех атеросклеротических поражениях значимо выше, чем в непораженной интиме. Наивысший пролиферативный индекс оседлых клеток выявлен в фиброзной бляшке, где он приблизительно в 8 раз выше, чем в непораженной интиме. Пролиферативный индекс гематогенных клеток превосходит пролиферативный индекс оседлых клеток, однако его значение в норме не отличается от значений в атеросклеротических поражениях и сходно с пролиферативным индексом лейкоцитов периферической крови [2,3,5]. Таким образом, клеточность атеросклеротических поражений изменяется за счет пролиферации оседлых клеток и миграции гематогенных клеток из кровотока. В жировых поражениях (жировые полосы и липофиброзные бляшки) происходит "всплеск"

пролиферативной активности оседлых клеток. В отличие от оседлых клеток, пролиферативная активность гематогенных клеточных элементов не стимулируется при атеросклерозе [12].

Еще одним непременным проявлением атеросклероза на клеточном уровне является фиброз – синтез и накопление внеклеточного матрикса. Этот процесс, сопровождающийся образованием соединительно-тканной покрышки - самое важное из атеросклеротических проявлений с клинической точки зрения. Общее содержание коллагена возрастает только в протеогликановом, но не мышечно-эластическом слое интимы [13]. В непораженной интиме нет клеток, синтезирующих проколлаген I типа - основной интерстициальный коллаген, накапливаемый в атеросклеротических бляшках. В атеросклеротических поражениях в протеогликановом слое интимы аорты такие клетки составляют от 6% (начальные поражения) до 18% (жировые полосы) всей клеточной популяции. Эти результаты хорошо согласуются с данными иммуноцитохимического изучения локализации различных типов коллагена в атеросклеротических поражениях [13,16,1]. Формирование даже самых ранних атеросклеротических поражений сопровождается появлением клеток, способных синтезировать коллаген I типа. Формирование жировых полос сопровождается значительным увеличением доли коллаген-синтезирующих клеток. В ряду начальное поражение → жировая полоса → липофиброзная бляшка → фиброзная бляшка имеется "всплеск" синтетической активности клеток, приходящийся на жировые поражения - жировые полосы и липофиброзные бляшки [85]. Гиперсекреция внеклеточного матрикса может являться как одной из причин, так и следствием нарушения целостности клеточной системы интимы в атеросклеротических поражениях.

Изучение системы транспорта липидов в кровотоке привело к открытию липопротеидов, что подтвердило положение липидной теории о том, что эфиры холестерина, откладываясь в сосудистой стенке при атеросклерозе, поступают из крови. Поэтому целесообразно рассмотреть возможную роль

различных классов липопротеидов в атерогенезе.

Липопротеиды – это специализированная система липидно-гликопротеидных комплексов, осуществляющих транспорт липидов в плазме крови и интерстициальной жидкости. Липопротеиды отличаются друг от друга по физико-химическим свойствам и по апобелкам (аполипопротеидам), входящим в состав липопротеидных частиц. Именно апобелки определяют судьбу липопротеидной частицы – появление и циркуляцию в кровотоке, деградацию и элиминирование [80].

Существующее разнообразие апобелков и липопротеидов обусловлено сложностью липидного обмена в организме человека, который должен обеспечить органы и ткани достаточным количеством различных жиров – фосфолипидов, триглицеридов и холестерина. Существует два источника поступления липидов в кровь, поэтому все жиры, которые циркулируют в составе липопротеидов, можно разделить на экзогенные липиды, поступающие с пищей, а также эндогенные, синтезирующиеся главным образом в печени.

Клеточный липоидоз является начальной стадией атерогенеза. Липоидоз заключается в накоплении внутриклеточных липидов, главным образом эфиров холестерина, в клетках интимального слоя крупных артерий. С точки зрения нормального метаболизма липопротеидов клеточный липоидоз в отсутствие генетически обусловленной патологии липидного обмена невозможен, поскольку все процессы метаболизма липидов и липопротеидов в организме уравновешены и подвержены строгой регуляции с использованием механизма обратной связи. При этом реальные причины развития клеточного липоидоза и сопряженных с ним атеросклеротических процессов необходимо искать в широко распространенных дефектах липидного обмена. Клеточно-морфологическая характеристика атеросклеротических поражений и описание путей метаболизма липопротеидов указывают на то, что механизмы развития клеточного липоидоза следует рассматривать именно на этапе липидного метаболизма в субэндотелиальных клетках артерий эластического и мышечно-

эластического типа. В норме эфиры холестерина поступают в клетки с липопротеидными частицами, способными проникать в интиму артерий через эндотелий сосудов и базальную мембрану и взаимодействовать со специфическими рецепторами на поверхности клеток. Избыток холестерина подвергается реэтерификации и удаляется из клетки с помощью ЛПВП, осуществляющих обратный транспорт холестерина в печень. Активность внутриклеточных ферментов, осуществляющих гидролиз и ресинтез эфиров холестерина, строго сбалансирована по механизму обратной связи и регулируется соотношением холестерина и фосфолипидов в цитоплазматической мемbrane.

Теоретически имеется четыре основных варианта дисбаланса липидного обмена на уровне клетки, которые, в отсутствие явных генетических аномалий, могут привести к накоплению избыточных количеств холестерина. Первый – это нарушение обратного транспорта холестерина. Данный механизм еще не вполне изучен, поскольку тонкие процессы акцепции холестерина до сих пор остаются неясными. Тем не менее, низкое содержание ЛПВП в плазме кровиочно ассоциируется с повышенным риском развития атеросклероза, в особенности, его клинических проявлений [23,45]. Соответственно, любое терапевтическое воздействие, результатом которого является нормализация уровня ЛПВП в крови и/или повышение их акцептирующей способности, следует рассматривать как антиатеросклеротическое [15,25,73], несмотря на недостаток знаний о механизмах обратного транспорта холестерина.

Второй вариант – нарушение внутриклеточного метаболизма холестерина, что может быть связано с патологией внутриклеточных ферментов. Так, при нарушении баланса процессов гидролиза и реэтерификации холестерина нарушается его выведение и в клетке могут накапливаться эфиры холестерина [33].

Третий механизм, проявляющийся в нарушении захвата ЛПНП клеткой, обусловлен врожденной или приобретенной патологией на уровне клеточных

апо-В-рецепторов. При недостаточной эффективности рецептор-опосредованного пути поступления холестерина в клетку активизируются обходные пути захвата ЛПНП. Так, включается нерегулируемый путь захвата липопротеидов через скэвенджер-рецепторов, имеющих высокую степень сродства к отрицательно заряженным белкам [38, 124]. Вне зависимости от функционального состояния апо-В-рецепторов скэвенджер-рецепторы способны взаимодействовать с модифицированными ЛПНП. Интернализованные через скэвенджер-рецептор липопротеиды подвергаются частичному протеолизу в лизосомах первого порядка, и полной деградации частицы не происходит. Это ведет к массивному накоплению эфиров холестерина, что в условиях клеточной культуры выражается в формировании пенистых клеток, характерных для атеросклеротических поражений [126, 17].

Четвертый и наиболее вероятный механизм развития клеточного липоидоза, способный объяснить глобальную распространность атеросклероза, связан с существованием модифицированных ЛПНП. Эта патология определяется существенным изменением физико-химических свойств самих липопротеидов низкой плотности. В крови людей существует подфракция ЛПНП, способная вызывать накопление липидов и, в первую очередь, эфиров холестерина в субэндотелиальных клетках непораженной интимы аорты человека.

1.5 Механизмы накопления внутриклеточного холестерина.

Внутриклеточное накопление липидов в стенке сосуда, ведущее к формированию пенистых клеток, является ключевым моментом в патогенезе атеросклероза. Результаты большинства исследований сводятся к тому, что инкубация нативных ЛПНП с различными типами клеток не приводит к внутриклеточному накоплению липидов [29,51,52].

Нативные ЛПНП попадают в клетку через специфические ЛПНП-рецепторы, которые обладают механизмом отрицательной обратной связи [48].

Это дает возможность клетке регулировать внутриклеточное содержание холестерина. В то же время, агрегаты модифицированных ЛПНП вызывают накопление липидов в различных типах клеток.

Влияние различных модификаций, стимулирующих агрегацию ЛПНП, на накопление липидов в культуре клеток достаточно хорошо изучено. Например, было выдвинуто предположение, что ЛПНП могут быть гликозилированы *in vivo* (это особенно вероятно при заболевании диабетом). Были получены гликозилированные ЛПНП [77], которые вызывали накопление липидов в клетках в 3 раза большее, чем нативные ЛПНП. Показано, что обработка липопротеидов различными ферментами, такими как липоксигеназа, миелопероксидаза, фосфолипаза A₂ и С, сфингомиелиназа [131,34,82,53] также вызывает увеличение их атерогенности.

Причины внутриклеточного накопления липидов, по-видимому, заключаются в особенностях взаимодействия модифицированных липопротеидов с клетками. Так, Brown и Goldstein показали, используя культуру клеток мышиных перитонеальных макрофагов, что ацетилированные ЛПНП попадают в клетку не через apoB, Е-, а через скэвенджер-рецепторы, неконтролируемые по принципу обратной связи, что приводит к чрезмерному неконтролируемому накоплению липидов в клетках [49]. Однако *in vivo* не существует предпосылок для ацетилирования ЛПНП. Тем не менее, Brown и Goldstein считали, что существуют другие еще не выявленные модификации ЛПНП, после которых они захватываются скэвенджер-рецептором к ацетилированным ЛПНП [49]. Позже было обнаружено, что после инкубации с эндотелиальными клетками ЛПНП приобретают способность вызывать накопление липидов в макрофагах, при этом захват клетками осуществлялся именно через скэвенджер-рецепторы к ацетилированным ЛПНП. Окисленные, склонные к агрегации ЛПНП также захватываются человеческими моноцитами-макрофагами при помощи скэвенджер-рецепторов [21]. Дальнейшие исследования показали гетерогенность семейства скэвенджер-

рецепторов: окисленные, агрегированные ЛПНП преимущественно взаимодействуют с скэвенджер рецептором А [SRA I, SRA II], модифицированные липопротеиды, сохранившие устойчивость к агрегации захватываются при помощи CD36 и скэвенджер рецепторов В [22,41].

Существуют и другие пути поступления в клетку различным образом модифицированных ЛПНП. Так, было показано, что липопротеиды, обработанные малоновым диальдегидом (МДА), также являются атерогенными, т.е. способными вызывать накопление внутриклеточных липидов [44]. Причем скорость захвата и деградации клетками МДА-модифицированных ЛПНП не изменялась при добавлении ацетилированных или нативных липопротеидов. Это значит, что они проникают в клетку не через апоВ, Е- или скэвенджер рецепторы.

При изучении захвата ЛПНП, модифицированных гипохлоритом, обнаружено, что окисленные липопротеиды вызывают внутриклеточное накопление липидов, частично проникая в клетку путем фагоцитоза, частично через CD36 и SR-BI рецепторы.

Вортексирование (интенсивное встряхивание) может служить моделью поведения липопротеидов в местах ветвления сосудов, где возникает высокое турбодинамическое напряжение. ЛПНП после воздействия вортексом также вызывают накопление липидов в клетках [66]. В процессе вортексирования образуются частицы более крупные, чем нативные липопротеиды, которые захватываются клетками путем фагоцитоза.

Предположение о значимости фагоцитоза в процессе захвата ассоциатов ЛНП было подтверждено впоследствии [18]. Было показано, что микросфера латекса и цитохалазин В значительно ингибировали захват меченых ^{125}I ассоциатов модифицированных ЛПНП в культуре клеток интимы аорты человека. Кроме того, была показана тесная корреляция между степенью ассоциации и размером ассоциатов модифицированных ЛПНП и накоплением липидов в клетках [18].

Еще одним возможным путем поступления в клетку агрегатов ЛПНП, является так называемый ЛПНП-рецептор родственный белок (LRP рецептор). Было показано, что этот рецептор участвует в захвате гладкомышечными клетками коронарных артерий человека агрегатов ЛПНП и липопротеидов, модифицированных версиканом [75].

Таким образом, вне зависимости от типа модификации и механизма взаимодействия с клетками все известные модификации ЛПНП, стимулирующие агрегацию липопротеидов, индуцировали внутриклеточное накопление липидов.

В данном обзоре литературе представлены данные крупнейших мировых и российских исследований, направленных на изучение проблем атеросклероза, в частности, на половые различия в развитии этого заболевания. Уделено большое внимание механизмам развития атеросклероза, а также факторам, влияющим на эти механизмы. Вместе с тем, в отечественных и зарубежных исследованиях, направленных на изучение процессов внутриклеточного накопления холестерина, ранее не изучалась способность клеток накапливать холестерин в зависимости от половой принадлежности донора. Программирующий эффект половых гормонов в данном аспекте никогда не изучался. Нельзя исключить возможных различий между женскими и мужскими моноцитами и макрофагами в способности накапливать холестерин, и, в связи с этим, одной из задач данного исследования была оценка различий в способности мужских и женских клеток накапливать холестерин. Стоит отметить, что регуляторному эффекту половых гормонов в настоящее время уделяется большое внимание. Так, в работах Stivenson с соавторами и Taskinen с соавторами было продемонстрировано влияние эстрогена на показатели липидного профиля, а также его способность тормозить окисление липидов и пролиферацию гладкомышечных клеток [115,119]. Так же уделяется огромное

внимание рецепторам половых гормонов, так как все эффекты половых гормонов на сосуды опосредуются через их рецепторы[99,87,58,30,6]. Тем не менее, остается плохо изученным влияние половых гормонов на накопление холестерина в сосудистой стенке, и совсем не изучена способность половых гормонов влиять на накопление холестерина непосредственно в клетках. Поскольку внутриклеточное накопление холестерина является ключевым механизмом развития атеросклеротических поражений, то необходимо выяснить, существует ли влияние половых гормонов на этот механизм. Одним из ключевых механизмов накопления холестерина в клетках является фагоцитоз. Хорошо изучена значимость этого процесса в атерогенезе [18,75], но влияние половых гормонов на фагоцитарную активность клеток никто ранее не изучал.

Клиническая и медицинская наука принимает активное участие в изучении половых различий в атеросклеротических процессах, влияющих на риск развития сердечнососудистых и цереброваскулярных заболеваний. Но при этом очень малое количество работ посвящено непосредственному сравнению течения заболевания у мужчин и женщин. Так, данные о прогрессировании атероскллеротического процесса в сосудистой стенке у мужчин и женщин можно оценить, только используя данные о группах плацебо в клинических исследованиях, направленных на изучение регрессии атеросклероза под действием липидснижающих препаратов.

ТИМ - важнейший показатель оценки атеросклеротического поражения сосудистой стенки. В ряде работ были продемонстрированы различия в этом показателе у мужчин и женщин. Но мало изученными остаются возрастные нормы показателя ТИМ у мужчин и женщин, и скорость прогрессирования этого показателя в зависимости от возраста и пола. В ряде европейских стран проводятся работы по формированию национальной шкалы риска развития сердечнососудистых заболеваний, в состав которой входит и показатель ТИМ.

Учитывая что каждая популяция отличается друг от друга по риску развития сердечнососудистых заболеваний, а Россия стоит на одном из первых мест в мире по сердечнососудистой заболеваемости и смертности, необходимо провести исследование по оценке показателя ТИМ, определить возрастные нормы у мужчин и женщин для лучшей оценки прогностических рисков развития сердечнососудистых и цереброваскулярных заболеваний, а также для своевременной профилактики этих заболеваний.

На сегодняшний день одна из основных задач медицинской науки и здравоохранения - это предотвращение последствий цереброваскулярных нарушений. Из этого вытекает необходимость выявлять на ранних стадиях минимальные изменения, в том числе диагностировать минимальную неврологическую симптоматику нарушения мозгового кровообращения для предотвращения инсультов.

Анализ существующих аналогов на основании данных, почерпнутых из литературы, не позволил обнаружить работы, посвященные выявлению минимальной неврологической симптоматики у пациентов с хронической недостаточностью мозгового кровообращения. Это обстоятельство определило необходимость проведения подобного исследования в рамках данной работы.

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

2.1 Культура моноцитов-макрофагов крови человека.

Клетки выделяли из крови здоровых мужчин и женщин в возрасте от 25 до 45 лет методом градиентного центрифугирования. Из локтевой вены здорового донора утром натощак брали 50 мл крови в стерильную пластиковую пробирку объемом 50 мл, содержащую 5 мл стерильного 3,8% цитрата натрия в 0,15 M изотоническом фосфатном буфере (ФИБ) (рН=7,35). Кровь центрифугировали в течение 20 мин при 1800 g на центрифуге Beckman TJ-6. Плазму крови удаляли, а клеточный осадок, содержащий форменные элементы крови, доводили до первоначального объема стерильным ФИБ. Для формирования градиента плотности использовали среду LSM (GBO, США). Полученные клетки ресуспенсировали в культуральной среде DMEM (GIBCO Europe, Великобритания), содержащей 2 mM L-глютамина, 100 Ед/мл пенициллина и 20% эмбриональной телячьей сыворотки (Serva, США). Клетки рассаживали в стерильные 48-луночные планшеты для клеточных культур (Nunc, Дания) с плотностью 10^5 клеток на 1 см² культуральной поверхности. Клетки инкубировали в СО₂-инкубаторе (5% CO₂ и 95% атмосферного воздуха) при 100% влажности и 37°C. Эксперимент на моноцитах ставили через 24 часа инкубации, на макрофагах через 7 дней инкубации.

2.2 Определение содержания внутриклеточного холестерина.

По окончании инкубации липиды из клеток экстрагировали трижды смесью *n*-гексана и изопропанола в объемном отношении 3:2 по методу Hara и Radin [54], каждая экстракция продолжалась 30 мин. Экстракт переносили в чистый 96-гнездный микротест и выпаривали при комнатной температуре под током воздуха. Полученный сухой осадок растворяли в 25 мкл раствора, содержащего 15 mM холат натрия и 0,05% Тритон X-100 (Sigma Chemical Company, США), добавляли по 25 мкл изопропанола и по 100 мкл раствора

"Monotest" (Boehringer Mannheim, Германия) для определения общего холестерина. Ферментативный набор для определения общего холестерина содержал 0,2 ед/мл холестеринэстеразы, 0,1 ед/мл холестериноксидазы, 0,1 ед/мл пероксидазы хрена, 1 мМ 4-аминофеназона, 3 мМ фенола и 2 мМ 3,4-дихлорфенола в 50 мМ Трис-буфере, pH=7,7. В качестве стандарта использовали стандартный раствор холестерина в изопропаноле, 1 мг/мл (Boehringer Mannheim, Германия). Смесь инкубировали при 37°C в течение 30 минут, после чего измеряли оптическую плотность проб при длине волны 492 нм на автоматическом 8-канальном спектрофотометре "Multiscan Bichromatic" (LabSystems, Финляндия) и рассчитывали содержание общего холестерина в каждой пробе. При необходимости, содержание свободного внутриклеточного холестерина определяли в аликоватах липидного экстракта аналогичным образом, используя раствор "Monotest" (Boehringer Mannheim, Германия) для определения свободного холестерина, не содержащий холестеринэстеразы. Содержание эстерифицированного внутриклеточного холестерина определяли по разнице уровней общего и свободного холестерина.

2.3 Определение клеточного белка.

Фиксированные на пластике клетки после экстракции липидов растворяли в 50 мкл 0,2 н. NaOH при комнатной температуре в течение 12-16 часов, после чего определяли содержание клеточного белка в каждой пробе по методу Lowry et al. [79]. К пробе добавляли 200 мкл свежеприготовленного 0,2 н. раствора NaOH, содержащего 0,01% тартрата калия-натрия, 0,005% сульфата меди и 0,02% карбоната натрия, затем 20 мкл 1 н. реактива Фолина-Кукалту (Sigma Chemical Company, США) и выдерживали при комнатной температуре в течение 1 часа, после чего измеряли оптическую плотность проб на спектрофотометре "Multiscan Bichromatic" при длине волны 690 нм и рассчитывали содержание клеточного белка в каждой пробе. В качестве стандарта использовали раствор БСА в 0,2 н. NaOH (1 мг/мл).

2.4 Протоколы лабораторных исследований.

2.4.1 Протокол анализа накопления холестерина в моноцитах и макрофагах.

Эксперимент на моноцитах ставили через 24 часа инкубации, на макрофагах через 7 дней инкубации. В день эксперимента культуральную среду заменяли на среду DMEM с 10% липодефицитной сыворотки. К клеткам добавляли ЛПНП в концентрации 100 мкг/мл по белку. В качестве контроля использовали клетки, которые продолжали культивировать в среде без добавления ЛПНП. Длительность инкубации составляла 3 часа для моноцитов и 12 часов для макрофагов. Липиды экстрагировали с использованием смеси гексан-изопропанол 3:2. В полученном экстракте определяли содержание холестерина ферментативным методом и нормировали на количество клеточного белка, определяемого по методу Лоури [79].

В ходе эксперимента было измерено исходное содержание холестерина в клетках, содержание холестерина после инкубации с атерогенными ЛПНП, а так же был посчитан абсолютный прирост содержания холестерина в клетках. Накопление холестерина, индуцированное ЛПНП, выражали в процентах от содержания холестерина в контроле (исходные клетки которые не инкубировались с добавлением ЛПНП).

2.4.2 Протокол анализа влияния половых гормонов на накопление холестерина в моноцитах и макрофагах.

Инкубация моноцитов длилась 24 часа. Культивирование макрофагов длилось 7 дней. После чего, в обоих случаях, 48-луночную плашку вынимали из СО₂ – инкубатора и в стерильных условиях вносили в лунки вещества по следующей схеме:

Контроль FCS 5% + культуральная среда по 300мкл в каждую лунку

ЛПНП 10мкг/мл доводим до 300 мкл культуральной средой

ЛПНП 10мкг/мл Гормон 10% от объема в концентрации 1*10-7

культуральная среда до 300мкл

ЛПНП 10мкг/мл Гормон 10% от объема в концентрации 1*10-8

культуральная среда до 300мкл

ЛПНП 10мкг/мл Гормон 10% от объема в концентрации 1*10-9

культуральная среда до 300мкл

ЛПНП 10мкг/мл Гормон 10% от объема в концентрации 1*10-10

культуральная среда до 300мкл

В эксперименте оценивалось влияние на накопление ЛПНП культурой макрофагов и моноцитов следующих гормонов: эстрадиол, тестостерон, дигидротестостерон. Остановку эксперимента проводили через 18 часов после начала инкубации клеток с гормонами. Липиды экстрагировали с использованием смеси гексан-изопропанол 3:2. В полученном экстракте определяли содержание холестерина ферментативным методом, и нормировали на количество клеточного белка, определяемого по методу Лоури [79]. Накопление холестерина, индуцированное ЛПНП с добавлением гормонов или без него, выражали в процентах от содержания холестерина в контроле (исходные клетки, которые не инкубировались с добавлением ЛПНП или гормонов). Для сравнения эффектов ЛПНП и ЛПНП с добавлением гормонов на содержание холестерина в клетке вычисляли по абсолютному приросту холестерина по сравнению с контролем. Абсолютный прирост холестерина в клетках, инкубируемых с ЛПНП, принимали за 100%, прирост же содержания холестерина в клетках с добавлением ЛПНП и гормонов представляли в виде относительного значения в процентах от этой величины.

2.4.3 Протокол анализа влияния половых гормонов на клеточный фагоцитоз.

Клетки выделяли из крови здоровых мужчин и женщин в возрасте от 25 до 45 лет методом градиентного центрифугирования. Моноциты перевели на бесфенольную среду с дезактивированной сывороткой, и была проведена прединкубация первичной культуры моноцитов крови человека с добавлением половых гормонов, таких как эстрадиол, тестостерон, дигидротестостерон в их физиологической концентрации $10^{-9}M$. По завершении 24 часовой прединкубации, к моноцитам с гормонами были добавлены латексные шары, в качестве имитаторов агрегатов ЛПНП. После проведенной инкубации, были сделаны фотографии образцов, оценку которых проводили с помощью окуляр-микрометра в световом микроскопе Opton-3 (Karl Zeiss, Германия). Было посчитано общее количество клеток, количество клеток с включениями, количество клеток без включений, а также общее количество шаров в полях зрения. В среднем в одном образце оценивали от 7 до 20 полей зрения. Макрофаги были также переведены на бесфенольную среду с дезактивированной сывороткой. Сразу же добавлены половые гормоны в физиологической концентрации $10^{-9}M$ и латексные шары. Длительность инкубации составила 3 часа. После проведенной инкубации, были сделаны фотографии образцов, оценку которых проводили по описанной выше схеме.

2.4.4 Морфометрическая оценка состояния сосудистой стенки.

Данная часть исследования проводилась под руководством и при ведущем участии к.м.н. И.В. Андриановой (РК НПК МЗиСР РФ, Москва). Эксперименты проводили с использованием аутопсийного материала грудной части аорты, правой коронарной артерии и правой сонной артерии, взятого в течение 1,5-3 часов от внезапно скончавшихся 13 мужчин и 7 женщин в возрасте от 23 до 70 лет. Сосуды были горизонтально разрезаны и промыты изотоническим фосфатным буфером (рН 7.6). С помощью микроскопа была

проведена оценка состояния сосудистой стенки, с последующей классификацией по типу поражения (норма, жировая инфильтрация, жировая полоса, липофиброзная бляшка и фиброзная бляшка). В исследовании использовали не пораженные участки артерии (норма). Были подготовлены вертикальные срезы образцов. Толщину протеогликанового, мышечноэластического слоев, а также толщину интимы и медии и суммарный показатель ТИМ (толщина интимы-меди) измеряли на полутонких срезах с помощью окуляр-микрометра в световом микроскопе Opton-3 (Karl Zeiss, Германия).

2.5 Ультразвуковая оценка состояния сосудистой стенки.

Для оценки состояния стенки сонных артерий использовали ультразвук высокого разрешения в В-режиме с использованием линейного сосудистого датчика с частотой 7,5 МГц. Протокол обследования включал сканирование левой и правой сонных артерий и области каротидного синуса с фокусировкой на задней стенке артерии в трех фиксированных проекциях – переднебоковой, боковой и заднебоковой [106]. Все измерения проводили последовательно в течение одной сессии. Процедуру сканирования записывали в виде замороженных кадров в формате JPG на внешний носитель. Анализ записей проводил сертифицированный оператор, не участвовавший в процессе рандомизации. Толщину интимо-медиального слоя (ТИМ) измеряли с помощью компьютерной программы PROSOUND (R. Seltzer, USA). Измерения проводили на дистальном участке общей сонной артерии длиной 10 мм, противолежащем началу каротидного синуса. ТИМ задней стенки общей сонной артерии определяли как расстояние от ведущего края первой эхогенной зоны до ведущего края второй эхогенной зоны. Среднее значение трех измерений (в переднебоковой, боковой и заднебоковой проекциях) рассматривали как интегральный показатель (ТИМ). Кроме того при

ультразвуковом сканировании сонных артерий оценивали наличие атеросклеротических бляшек по 4-балльной системе (0 — отсутствие возвышенных атеросклеротических поражений, 1-2 — стабильные атеросклеротические бляшки со стенозом просвета сосуда до 20% и от 20 до 70%, соответственно, 3 — гемодинамически значимые атеросклеротические бляшки со стенозированием более 70% просвета сонных артерий). Исследование проводили на аппарате SSI-1000 (Sonoscape, Китай).

2.6 Оценка неврологического статуса.

Неврологический статус оценивали по 4-балльной системе (0 баллов — отсутствие неврологического симптома, 3 балла — максимальная выраженность неврологического симптома). Для последующего анализа использовали интегральный показатель неврологического статуса, представляющий собой общую сумму баллов. При оценке неврологической симптоматики учитывали субъективные жалобы участников исследования на головные боли, головокружение, инсомнии и мнестические нарушения, повышенную утомляемость. Кроме того, определяли функцию черепно-мозговых нервов, показатели координации и статики, изменения в чувствительной и двигательной сферах, пирамидной системе.

2.7 Оценка сердечно сосудистых рисков.

Риск возникновения ишемической болезни сердца в течение последующих 10 лет на основании данных соматического статуса, показателей липидного профиля, анамнеза сердечно-сосудистых заболеваний и наследственного анамнеза оценивали с использованием модели Вейбулла, разработанной на основании данных Фрамингемского исследования [94]. Прогностический риск инфаркта миокарда (фатального и нефатального) и внезапной смерти в течение 10 лет рассчитывали с использованием модели пропорциональных рисков Кокса, разработанной на основании данных

Мюнстерского исследования [23]. Расчетный риск корректировали в соответствии с поправкой для Московского региона [121].

2.8 Определение содержания липидов в крови.

Содержание общего холестерина, триглицеридов и холестерина липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) в сыворотке крови определяли с помощью ферментативных наборов (Boehringer Mannheim GmbH, Германия). Измерение оптической плотности проб проводили на 8-канальном спектрофотометре “Multiscan Bichromatic”. В качестве стандартов использовали пулированную сыворотку крови, калиброванную по протоколу Федеральной системы внешней оценки качества лабораторных исследований МЗ РФ. Содержание холестерина ЛПНП рассчитывали по формуле Фридевальда как разницу между содержанием общего холестерина и суммой холестерина, липопротеидов высокой плотности и 1/5 триглицеридов (при представлении показателей в мг/дл).

2.9 Протоколы клинических исследований.

2.9.1 Кросс-секционное исследование различий в показателе толщины интимо-медиального слоя сонных артерий у мужчин и женщин.

Для оценки различий в показателе (ТИМ) у мужчин и женщин был проведен скрининг 1268 человек, 846 женщин и 422 мужчин, средний возраст которых составил 62 года. Для проведения оценки прямых показателей ультразвуковых характеристик была применена ультрасонография высокого разрешения в В-режиме с использованием линейного сосудистого датчика с частотой 7,5 МГц, как описано выше. Для определения оценки сердечно сосудистых рисков была использована модель Вейбулла и модели пропорциональных рисков Кокса, описанные выше. Для проведения биохимических анализов использовали сыворотку крови, полученную из венозной крови, взятой утром натощак. Содержание холестерина и

триглицеридов определяли ферментативным методом с использованием наборов Boehringer Mannheim (Boehringer Mannheim GmbH, Germany), как описано выше.

2.9.2 Проспективное исследование динамики изменений толщины интимо-медиального слоя сонных артерий во времени, у мужчин и женщин.

Для оценки динамики изменений ТИМ во времени у мужчин и женщин в исследование было включено 309 человек, 220 женщин и 99 мужчин, средний возраст которых составил 63 года. Включенные в исследование лица не имели хронических заболеваний, требующих постоянного приема кардиотропных, вазоактивных, липидснижающих, гипотензивных или сахароснижающих лекарственных средств. Наблюдение длилось в среднем 16 месяцев, каждый участник исследования был обследован как минимум дважды в течение этого промежутка времени. Для оценки состояния стенки сонных артерий использовали ультрасонографию высокого разрешения в В-режиме с использованием линейного сосудистого датчика с частотой 7,5 МГц, как описано выше. Скорость прогрессирования показателя ТИМ оценивали во временном промежутке 12 месяцев (1 год). Для определения оценки сердечно сосудистых рисков была использована модель Вейбулла и модели пропорциональных рисков Кокса, описанные выше. Для проведения биохимических анализов использовали сыворотку крови, полученную из венозной крови, взятой утром натощак. Содержание холестерина и триглицеридов определяли ферментативным методом с использованием наборов Boehringer Mannheim (Boehringer Mannheim GmbH, Germany), как описано выше.

2.9.3 Клиническое исследование значимости ультразвуковых показателей естественного течения субклинического атеросклероза в отношении проявления ранней неврологической симптоматики.

Для оценки клинической значимости ТИМ в отношении проявления ранней неврологической симптоматики был проведен скрининг относительно здоровых лиц, у которых по данным ультразвукового исследования определялись субклинические проявления атеросклероза сонных артерий. По итогам скрининга в исследование было включено 225 человек, 142 женщины и 83 мужчины, средний возраст которых составил 64 года. Для оценки состояния стенки сонных артерий использовали ультрасонографию высокого разрешения в В-режиме с использованием линейного сосудистого датчика с частотой 7,5 МГц, как описано выше. Неврологический статус оценивали по 4-балльной системе, описанной выше. Для определения оценки сердечно сосудистых рисков была использована модель Вейбулла и модели пропорциональных рисков Кокса, описанные выше. Для проведения биохимических анализов использовали сыворотку крови, полученную из венозной крови, взятой утром натощак. Содержание холестерина и триглицеридов определяли ферментативным методом с использованием наборов Boehringer Mannheim (Boehringer Mannheim GmbH, Germany), как описано выше.

2.10 Статистическая обработка данных.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы SPSS 14.0 (SPSS, США). Графическую обработку данных проводили с использованием пакета SigmaPlot версии 7.0 (SPSS Inc., США). Достоверными считали различия при 95% вероятности безошибочного прогноза. Характер распределения признака определяли с помощью F-теста и теста Колмогорова-Смирнова. После оценки вариабельности признака в отношении нормальности распределения для межгрупповых сравнений использовали тест Манна-Уитни или групповой *t*-тест, для оценки изменений показателей в динамике

использовали тест Уилкоксона или парный t -тест. Для сравнения распределений номинальных показателей и категорийных величин использовали показатель хи-квадрат по Пирсону с поправкой по Йетсу. Для оценки связи клинико-биохимических показателей и их изменений использовали корреляционный анализ по Пирсону с поправкой Бонферрони и регрессионный анализ. В окончательном виде данные для непрерывных величин представляли в виде среднего арифметического значения с указанием стандартной ошибки.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Программирующий эффект мужских и женских половых гормонов.

Программирующий эффект – детерминирующий эффект половых гормонов. Программирующее действие половых гормонов необратимо, практически всегда закладывается в память клеток-мишений, устойчиво проявляется в жизнедеятельности этих клеток, даже после прекращения действия половых гормонов. Задачей данного этапа работы было получить ответ на вопрос: существуют ли различия между мужскими и женскими моноцитами и макрофагами в способности накапливать холестерин, т.е. существует ли программирующий эффект половых гормонов на клеточном уровне. Для этого было проведено сравнительное исследование способности женских и мужских моноцитов и макрофагов накапливать холестерин под воздействием атерогенных ЛПНП.

Было проведено 68 независимых экспериментов на макрофагах, из них 28 экспериментов было поставлено на мужских клетках, и 40 - на женских. Также было проведено 67 независимых экспериментов на моноцитах, 38 на мужских клетках и 29- на женских. Обобщенные результаты экспериментов представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

Из полученных данных следует, что моноциты не отличаются от макрофагов по исходному содержанию холестерина ($p=0,187$), но накапливают холестерин значительно лучше, чем макрофаги. Для содержания холестерина после инкубации с ЛПНП, абсолютного прироста холестерина и относительного содержания холестерина, показатели достоверности различий между моноцитами и макрофагами составляют $p=0,001$, $p<0,001$ и $p<0,001$, соответственно.

Таблица 1.

Содержание холестерина в мужских и женских макрофагах и моноцитах, инкубированных с липопротеидами низкой плотности, выделенными из крови больных атеросклерозом.

Тип клеток	Макрофаги			Моноциты		
	(n=68)	мужские (n=28)	женские (n=40)	(n=67)	мужские (n=38)	женские (n=29)
Исходное содержание холестерина, мкг/мг клеточного белка	46,0±2,8 (22,8)	46,9±5,8 (30,6)	45,3±2,5 (15,6)	42,2±2,6 (20,9)	44,8±4,2 (25,7)	38,7±2,1 (11,4)
Содержание холестерина после инкубации с ЛПНП, мкг/мг клеточного белка	86,4±7,7 (63,8)	102,1±17,4 (92,0)	5,3±4,5 (28,7)	117,3±9,2 (75,3)	124,2±14,4 (88,7)	108,2±9,8 (53,0)
Абсолютный прирост содержания холестерина, мкг/мг клеточного белка	40,4±5,7 (46,7)	55,2±12,7 (67,4)	30,0±2,3 (18,2)	75,1±7,8 (63,8)	79,4±11,7 (72,4)	69,5±9,5 (51,3)
Относительное содержание холестерина в клетках, в % от контроля	184±7 (61)	209±15 (79)	167±6 (36)	288±16 (134)	282±20 (123)	294±28 (150)

Аналогичная ситуация сохраняется при сравнении моноцитов и макрофагов отдельно у мужчин и женщин. У мужчин показатели достоверности различий между моноцитами и макрофагами (в том же порядке, что и выше) составляют 0,712, 0,067, 0,009 и 0,002. У женщин показатели достоверности различий составляют 0,083, 0,005, <0,001 и <0,001.

Моноциты мужчин и женщин не различаются ни по исходному содержанию холестерина ($p=0,830$), ни по содержанию холестерина после инкубации с ЛПНП ($p=0,919$), ни по абсолютному приросту холестерина ($p=0,556$), ни по относительному содержанию холестерина в клетках ($p=0,714$).

Макрофаги мужчин и женщин не различаются ни по исходному содержанию холестерина ($p=0,830$), ни по содержанию холестерина после инкубации с ЛНП ($p=0,636$), ни по абсолютному приросту холестерина ($p=0,191$), хотя последний показатель и представляется более высоким у мужчин. Однако при оценке относительного изменения содержания холестерина в клетке было установлено, что мужские макрофаги лучше накапливают холестерин, чем женские ($p=0,022$).

Способность клеток накапливать холестерин прямо связана с исходным содержанием в них холестерина. Для макрофагов коэффициент корреляции между исходным уровнем холестерина и абсолютным приростом холестерина составляет 0,641 ($p<0,001$), при этом у мужчин $r=0,722$ ($p<0,001$), а у женщин $r=0,436$ ($p=0,005$). Для моноцитов коэффициент корреляции между исходным уровнем холестерина и абсолютным приростом холестерина составляет 0,431 ($p<0,001$), при этом у мужчин $r=0,526$ ($p=0,001$). Но у женских моноцитов такая взаимосвязь отсутствует: $r=0,043$ ($p=0,825$).

Наилучшей оценкой способности клеток накапливать холестерин является относительное изменение содержания холестерина в клетках, т.к. не зависит от исходного содержания холестерина в клетках. Так, коэффициенты корреляции между исходным уровнем внутриклеточного холестерина и его относительным содержанием после инкубации с ЛПНП, составили: для

макрофагов $r=0,115$ ($p=0,349$), в том числе для мужских макрофагов $r=0,168$ ($r=0,392$), для женских макрофагов $r=-0,065$ ($p=0,691$). Для моноцитов $r=-0,142$ ($p=0,250$), в том числе для мужских моноцитов $r=-0,076$ ($p=0,652$), для женских моноцитов $r=-0,340$ ($p=0,071$).

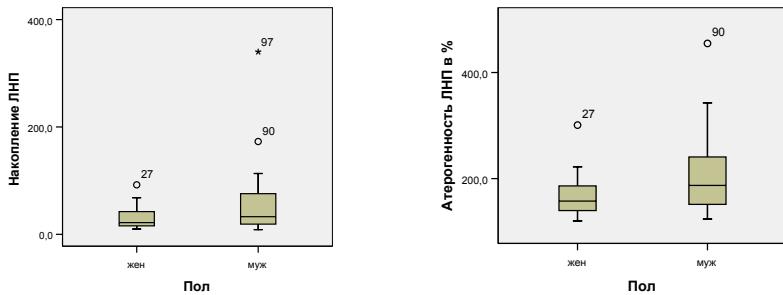


Рис.1. Содержание холестерина в мужских и женских макрофагах и моноцитах, инкубированных с липопротеидами низкой плотности, выделенными из крови больных атеросклерозом.

Таким образом, результаты показали, что нет различий между женскими и мужскими клетками, как моноцитами, так и макрофагами, по исходному содержанию в них холестерина. Также не выявлены различия по абсолютному приросту холестерина и по относительному изменению содержания холестерина в мужских и женских моноцитах и макрофагах.

При этом моноциты, как женские, так и мужские, обладают более высокой способностью накапливать холестерин, чем макрофаги. Способность клеток накапливать холестерин прямо связана с его исходным содержанием, поскольку клетки, с исходно повышенным содержанием холестерина, обладают более высокой способностью к накоплению избыточного холестерина. Наилучшей оценкой способности накапливать холестерин является относительное изменение содержания его в клетках, поскольку не зависит от исходного содержания холестерина.

3.2 Регуляторный эффект половых гормонов.

Регуляторный эффект – модулирующий эффект половых гормонов. Регуляторное действие половых гормонов обратимо и реализуется лишь в их присутствии. На предыдущем этапе работы было продемонстрировано отсутствие различий в способности мужских и женских моноцитов и макрофагах накапливать холестерин. В связи с этим необходимо оценить возможное влияние половых гормонов на накопление холестерина в клетках, т.е. понять существует ли регуляторный эффект мужских и женских половых гормонов. Для ответа на этот вопрос, было проведено исследование способности эстрadiола, тестостерона и дигидротестостерона влиять на накопление холестерина в культивируемых клетках, индуцированное атерогенными ЛПНП.

На данном этапе работы были использованы физиологические концентрации половых гормонов, которые колеблются на уровне от 10^{-10} до 10^{-7} М. Индуктором накопления холестерина, служили ЛПНП, модулятором – мужские и женские половые гормоны.

Для сравнения эффектов ЛПНП и ЛПНП с добавлением гормонов на содержание холестерина в клетке вычисляли абсолютный прирост холестерина по сравнению с контролем. Абсолютный прирост холестерина в клетках, инкубируемых с ЛПНП, принимали за 100%, прирост же содержания холестерина в клетках с добавлением ЛПНП и гормонов представляли в виде относительного значения в процентах от этой величины.

Результаты эксперимента по изучению влияния эстрadiола на накопление холестерина в клетках (мужских и женских моноцитах и макрофагах), индуцированное атерогенными ЛПНП, представлено в таблице 2.

Таблица 2.

Влияние эстрадиола на внутриклеточное накопление холестерина индуцированное атерогенными ЛПНП.

Накопление внутриклеточного холестерина, % от накопления, индуцированное ЛПНП				
	Концентрация эстрадиола			
Клетки	+Es 10^{-10} М	+Es 10^{-9} М	+Es 10^{-8} М	+Es 10^{-7} М
Макрофаги мужчины (n=9)	93±11 (32), n=8 P=0.575 (t) P=0.674 (w)	90±14 (43), n=9 P=0.513 (t) P=0.314 (w)	96±14 (43), n=9 P=0.810 (t) P=0.767 (w)	97±14 (42), n=9 P=0.837 (t) P=0.678 (w)
Макрофаги женщины (n=18)	82±13 (54), n=17 P=0.187 (t) P=0.210 (w)	74±10 (43), n=18 P=0.022 (t) P=0.035 (w)	92±13 (55), n=18 P=0.522 (t) P=0.446 (w)	75±9 (37), n=17 P=0.014 (t) P=0.031 (w)
Моноциты мужчины (n=15)	71±13 (42), n=11 P=0.045 (t) P=0.050 (w)	65±9 (33), n=15 P=0.001 (t) P=0.004 (w)	62±9 (35), n=15 P=0.001 (t) P=0.003 (w)	101±9 (34), n=15 P=0.895 (t) P=0.865 (w)
Моноциты женщины (n=13)	67±15 (44), n=9 P=0.050 (t) P=0.056 (w)	73±12 (43), n=13 P=0.045 (t) P=0.067 (w)	94±14 (49), n=13 P=0.678 (t) P=0.463 (w)	94±23 (84), n=13 P=0.812 (t) P=0.221 (w)

Примечание: данные представлены в виде среднего значения с указанием стандартной ошибки (в скобках - стандартного отклонения) и n (количества экспериментов). Достоверность различий средних величин от относительного накопления холестерина в клетках без добавления гормонов оценена парным

тестом по *t*-тесту (*t*) и по Wilcoxon (*w*). +Es – эстрадиол. Накопление холестерина сверх контрольного значения принято за 100%.

Как следует из представленных данных эстрадиол, в концентрации близкой к физиологической, обладает способностью подавлять накопление внутриклеточного холестерина в мужских и женских моноцитах. Такой же эффект эстрадиола проявляется в культивируемых макрофагах, выделенных из крови женщин. На макрофагах мужчин не получили достоверных данных о защитном действии эстрадиола. В графическом виде результаты влияния эстрадиола на накопление внутриклеточного холестерина представлены на рисунке 2

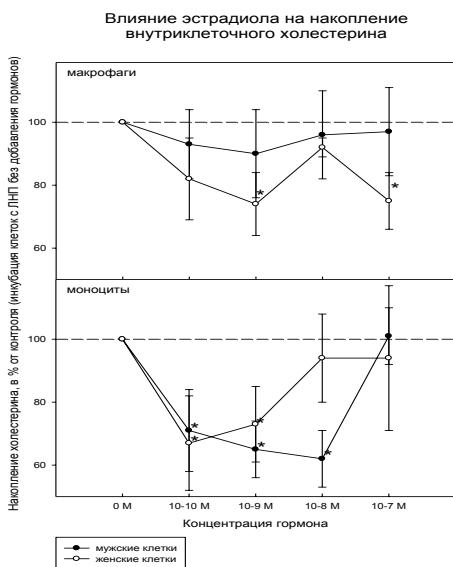


Рис. 2. Влияние эстрадиола на накопление внутриклеточного холестерина.

Результаты эксперимента по изучению влияния тестостерона на накопление холестерина в мужских и женских моноцитах и макрофагах, индуцированное атерогенными ЛПНП, представлены в таблице 3.

Таблица 3.

Влияние тестостерона на внутриклеточное накопление холестерина, индуцированное атерогенными ЛПНП.

Накопление внутриклеточного холестерина, % от накопления, индуцированное ЛПНП				
Клетки	+Tst 10^{-10} M	+Tst 10^{-9} M	+Tst 10^{-8} M	+Tst 10^{-7} M
Макрофаги мужчины (n=10)	123±37 (117), n=10 P=0.544 (t) P=0.878 (w)	144±50 (157), n=10 P=0.403 (t) P=0.721 (w)	117±25 (79), n=10 P=0.508 (t) P=0.799 (w)	95±16 (50), n=10 P=0.760 (t) P=0.575 (w)
Макрофаги женщины (n=14)	95±11 (41), n=14 P=0.680 (t) P=0.730 (w)	127±17 (63), n=14 P=0.140 (t) P=0.096 (w)	111±12 (44), n=14 P=0.353 (t) P=0.300 (w)	104±17 (60), n=14 P=0.834 (t) P=0.917 (w)
Моноциты мужчины (n=12)	87±14 (48), n=12 P=0.374 (t) P=0.239 (w)	91±10 (36), n=12 P=0.403 (t) P=0.480(w)	85±9 (30), n=12 P=0.116 (t) P=0.099 (w)	102±15 (52), n=12 P=0.905 (t) P=0.347 (w)
Моноциты женщины (n=8)	75±16 (43), n=7 P=0.170 (t) P=0.237 (w)	84±16 (46), n=8 P=0.355 (t) P=0.401 (w)	78±19 (52), n=8 P=0.274 (t) P=0.208 (w)	92±16 (46), n=8 P=0.633 (t) P=0.575 (w)

Примечание: данные представлены в виде среднего значения с указанием стандартной ошибки (в скобках - стандартного отклонения) и n (количество экспериментов). Достоверность различий средних величин от относительного

накопления холестерина в клетках без добавления гормонов оценена парным тестом по *t*-тесту (*t*) и по Wilcoxon (*w*). +*Tst* – тестостерон. Накопление холестерина сверх контрольного значения принято за 100%.

Из представленных данных следует, что тестостерон в физиологической концентрации не оказывает влияние на внутриклеточное накопление холестерина ни на одной из клеточных моделей. Не отмечается никакого эффекта ни на макрофагах, ни на макрофагах, выделенных из крови мужчин и женщин. В графическом виде результаты влияния тестостерона на накопление внутриклеточного холестерина представлены на рисунке 3.

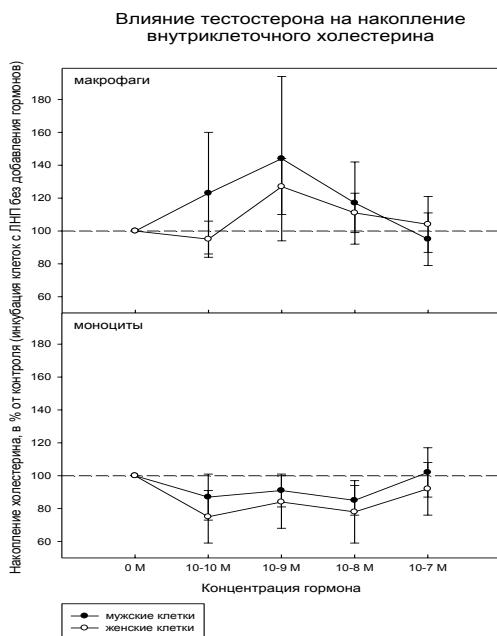


Рис. 3. Влияние тестостерона на накопление внутриклеточного холестерина.

Результаты эксперимента по изучению влияния дигидротестостерона на накопление холестерина в клетках (мужских и женских моноцитов и макрофагов), индуцированное атерогенными ЛПНП, представлено в таблице 4.

Таблица 4.

Влияние дигидротестостерона на внутриклеточное накопление холестерина, индуцированное атерогенными ЛПНП.

Накопление внутриклеточного холестерина, % от накопления, индуцированное ЛПНП				
Клетки	+DhT 10^{-10} M	+DhT 10^{-9} M	+DhT 10^{-8} M	+DhT 10^{-7} M
Макрофаг и мужчины (n=9)	68±9 (27), n=9 P=0.008 (t) P=0.011 (w)	72±10 (29), n=9 P=0.019 (t) P=0.021 (w)	102±8 (24), n=9 P=0.827 (t) P=0.678 (w)	86±7 (21), n=9 P=0.076 (t) P=0.139 (w)
Макрофаг и женщины (n=16)	59±10 (39), n=16 P=0.001 (t) P=0.002 (w)	69±11 (43), n=16 P=0.011 (t) P=0.013 (w)	84±15 (58), n=16 P=0.289 (t) P=0.408 (w)	86±19 (74), n=15 P=0.466 (t) P=0.173 (w)
Моноциты мужчины (n=11)	114±28 (92), n=11 P=0.620 (t) P=0.790 (w)	126±27 (89), n=11 P=0.360 (t) P=0.534 (w)	151±31 (102), n=11 P=0.129 (t) P=0.155(w)	134±21 (68), n=11 P=0.126 (t) P=0.062 (w)
Моноциты женщины (n=9)	118±29 (86), n=9 P=0.557 (t) P=0.859 (w)	110±24 (73), n=9 P=0.689 (t) P=0.767 (w)	123±20 (59), n=9 P=0.270 (t) P=0.260 (w)	133±22 (66), n=9 P=0.177 (t) P=0.173(w)

Примечание: данные представлены в виде среднего значения с указанием стандартной ошибки (в скобках - стандартного отклонения) и n (количество экспериментов). Достоверность различий средних величин от относительного

накопления холестерина в клетках без добавления гормонов оценена парным тестом по t-тесту (t) и по Wilcoxon (w). +DhT –дигидротестостерон. Накопление холестерина сверх контрольного значения принято за 100%.

Дигидротестостерон в концентрациях близких к физиологическим оказывает следующий эффект: способен подавлять накопление внутриклеточного холестерина в макрофагах, выделенных из крови мужчин и женщин. На моноциты, выделенные из крови мужчин и женщин, влияние дигидротестостерона не выявлено. В графическом виде результаты влияния дигидротестостерона на накопление внутриклеточного холестерина представлены на рисунке 4.

Таким образом, полученные результаты позволяют заключить, что регуляторный эффект у половых гормонов, эстрадиола, тестостерона и дигидротестостерона, имеется. Эстрadiол обладает способностью подавлять накопление внутриклеточного холестерина в мужских и женских моноцитах, в женских макрофагах, при этом не оказывает никакого влияния на накопление холестерина в мужских макрофагах. Тестостерон не оказывает влияния на накопление внутриклеточного холестерина в клетках. Дигидротестостерон обладает способностью подавлять накопление холестерина только в макрофагах женщин и мужчин, на моноциты, не оказывая никакого влияния. Следовательно, способность половых гормонов влиять на накопления холестерина зависит от типа использованных клеток и, в какой-то степени, от пола донора.

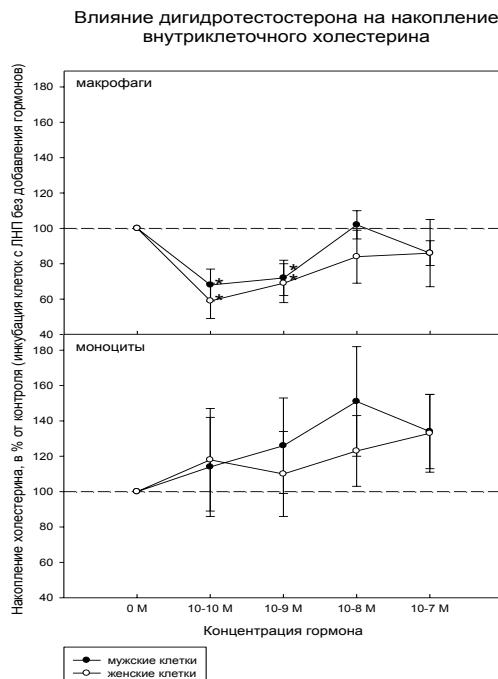


Рис. 4. Влияние дигидротестостерона на накопление внутриклеточного холестерина.

3.3 Влияние половых гормонов на механизм внутриклеточного накопления холестерина.

Задачей данного этапа исследования было установить, влияют ли половые гормоны на механизмы накопления внутриклеточного холестерина. Одним из ключевых механизмов накопления холестерина в клетках является фагоцитоз. При изучении влияния половых гормонов на фагоцитарную активность клеток использовали 2 подхода.

В первом подходе для того, чтобы проявился регуляторный эффект половых гормонов на уровне их взаимодействия с ядерными рецепторами, с последующей индукцией синтеза белков, была проведена прединкубация первичной культуры моноцитов крови человека с добавлением половых гормонов, таких как эстрадиол, тестостерон, дигидротестостерон, в их физиологической концентрации. По завершению 24 часовой прединкубации, к моноцитам с гормонами были добавлены латексные шары, в качестве имитаторов агрегатов ЛПНП. После проведенной инкубации, были сделаны фотографии, и было посчитано количество шаров в клетках. Обобщенные данные по результатам 6 проведенных экспериментов, представлены в таблице 5.

Таблица 5.

Влияние половых гормонов на клеточный фагоцитоз с прединкубацией.

Гормон	Количество шаров на клетку
Контроль	10.9±0.4 (13.2)
	12.8±0.4 (13.4)
Эстрадиол	15.4±0.6 (17.6), p<0.001
	17.6±0.6 (17.8), p<0.001
Тестостерон	13.1±0.4 (13.7), p<0.001
	15.1±0.5 (13.7), p<0.001
Дигидротестостерон	13.3±0.5 (13.4), p<0.001
	15.0±0.5 (13.3), p<0.001

Примечание: данные представлены в виде среднее, ошибка, стандартное отклонение, достоверность. Вторая строка - без учета пустых клеток.

Из полученных данных следует, что эстрадиол оказывает самое выраженное влияние на клеточный фагоцитоз. Он достоверно усиливает захват моноцитами латексных шаров, по сравнению с контролем ($p<0.001$), т.е.

усиливает клеточный фагоцитоз. Тестостерон и дигидротестостерон также достоверно усиливают фагоцитарную активность клеток, но в меньшей степени, чем эстрадиол.

Во втором подходе в качестве клеточной модели использовали культуру макрофагов, выделенных из крови человека. Без прединкубации, т.е. без предварительного стимулирования регуляторного эффекта половых гормонов, к макрофагам с гормонами были добавлены латексные шары, имитирующие агрегаты ЛПНП, после проведенной инкубации, были сделаны фотографии, и было посчитано количество шаров в клетках. Обобщенные данные по результатам проведенных 6 экспериментов, представлены в таблице 6.

Таблица 6.

Влияние половых гормонов на клеточный фагоцитоз без прединкубации.

Гормон	Количество шаров на клетку
Контроль	10.9±0.4 (13.2)
	12.8±0.4 (13.4)
Эстрадиол	13.6±0.5 (16.8), p<0.001
	15.6±0.5 (17.1), p<0.001
Тестостерон	12.8±0.5 (15.9), p=0.029
	14.8±0.5 (16.2), p=0.078
Дигидротестостерон	13.7±0.5 (14.3), p<0.001
	15.4±0.4 (14.3), p<0.001

Примечание: данные представлены в виде среднее, ошибка, стандартное отклонение, достоверность. Вторая строка - без учета пустых клеток.

Из полученных данных следует, что нет различий между половыми гормонами в способности влиять на клеточный фагоцитоз, вместе с тем, все

изученные половые гормоны достоверно усиливали клеточный фагоцитоз в макрофагах. Так эстродиол и дигидротестостерон достоверно ($p<0.001$) усиливают фагоцитоз чуть в большей степени (13.6 и 13.7 соответственно) по сравнению с контролем (10.9). Тестостерон чуть в меньшей степени способен достоверно ($p=0.029$) усиливать фагоцитоз в макрофагах (12.8).

Таким образом, в результате проведенных экспериментов было продемонстрировано, что половые гормоны оказывают влияние на клеточную активность, непосредственно усиливая фагоцитарную активность клеток. Тем не менее, фагоцитарная активность клетки не является механизмом, за счет которого половые гормоны, в частности эстрadiол, влияют на подавление способности клетки накапливать холестерин.

3.4 Морфометрия сосудистой стенки аорты, сонной артерии и коронарной артерии у мужчин и женщин.

Для изучения различий в морфометрии сосудистой стенки у мужчин и женщин, на данном этапе работы было проведено сравнение морфологических характеристик магистральных артерий мужчин и женщин. В работе использовались аутопсийные образцы аорты, сонной артерии и коронарной артерии. Оценивали толщину протеогликанового, мышечноэластического слоев, а также, толщину интимы и меди и суммарный показатель ТИМ (толщина интимы-меди) во всех трех типах сосудов. Всего было изучено 13 мужских и 7 женских групп сосудов. Результаты полученных данных по морфометрическим характеристикам аорты, представлены в таблице 7.

Таблица 7.

Морфометрическая характеристика аорты.

Слои	Мужчины №10, мкр	Женщины №7, мкр	Различия между группами, р
Протеогликановый слой	94±17	56±6	>0,05
Мышечно-эластический слой	48±6	36±7	>0,05
Интима	142±23	92±10	=0.070
Медия	952±94	857±68	>0,05
ТИМ	1093±88	950±63	>0,05
Интима/Медия	0.17±0.04	0.12±0.02	>0,05

Как видно из представленных данных, наблюдается тенденция существенных различий морфометрических характеристик аорты, у мужчин толщина слоев значительно больше чем у женщин. Но полученные различия в толщине слоев, не достигли порога статистической значимости.

Результаты полученных данных по морфометрическим характеристикам сонной артерии, представлены в таблице 8.

Таблица 8.

Морфометрическая характеристика сонной артерии.

Слои	Мужчины №13, мкр	Женщины №7, мкр	Различия между группами, р
Протеогликановый слой	30±3	17±3	=0.011
Мышечноэластический слой	8±2	4±2	>0,05
Интима	38±4	21±5	=0.018
Медия	645±51	540±70	>0,05
ТИМ	684±49	561±69	>0,05
Интима/Медия	0.07±0.01	0.05±0.01	>0,05

При изучении морфометрической характеристики сонной артерии, были продемонстрированы достоверные различия в толщине протеогликанового слоя и слоя интимы у мужчин и женщин. Толщина протеогликанового и интимального слоев была достоверна выше у мужчин, чем у женщин.

Результаты полученных данных по морфометрическим характеристикам коронарной артерии, представлены в таблице 9.

Из представленных данных следует, что в коронарной артерии, существуют различия в морфометрических характеристиках у мужчин и женщин. Толщина протеогликанового, интимального слоев, а также суммарного показателя ТИМ достоверно выше у мужчин, чем у женщин.

Таблица 9.

Морфометрическая характеристика коронарной артерии.

Слои	Мужчины №7, мкр	Женщины №4, мкр	Различия между группами, р
Протеогликановый слой	82±9	34±7	=0.002
Мышечноэластический слой	41±7	24±6	>0,05
Интима	123±12	58±10	=0.002
Медия	209±38	142±20	>0,05
ТИМ	327±37	200±14	=0.018
Интима/Медия	0.75±0.23	0.46±0.13	>0,05

Полученные результаты позволяют заключить, что морфометрия сосудистой стенки у мужчин и женщин не одинакова. При изучении морфологических характеристик магистральных артерий, было продемонстрировано, что у мужчин показатели морфометрических характеристик выше, чем у женщин, но эта тенденция к существенным различиям не по всем показателям достигла порога статистической

значимости. В сонной артерии и коронарной артерии, мы получили достоверные различия по протеогликановому и интимальному слоям. По толщине мышечноэластического и медиального слоев нет достоверных различий между мужскими и женскими сосудами. По ТИМ различия получены в коронарной артерии, в аорте и сонной артерии достоверных различий не выявлено. Стоит отметить, что основным слагаемым в комплексе ТИМ является медиальный слой, а процессы атерогенеза в основном протекают в интимальном слое, вероятно с этим связано отсутствие достоверных различий в морфометрических характеристиках мужских и женских сосудов по ТИМ.

3.5 Половые различия показателя толщины интимо-медиального слоя сонных артерий (ТИМ), как показателя естественного течения атеросклероза.

3.5.1 Кросс-секционное исследование толщины интимо-медиального слоя сонных артерий у мужчин и женщин в различных возрастных группах

На данном этапе работы изучались различия естественного течения атеросклероза у мужчин и женщин, для чего на базе 202 поликлиники МГУ было организовано и проведено кросс-секционное исследование, направленное на изучение различий в показателе толщины интимо-медиального слоя сонных артерий у мужчин и женщин.

В исследовании приняло участие 1268 человек, 846 женщин и 422 мужчин, средний возраст которых составил 62 года. Основные характеристики пациентов представлены в таблице 10.

В обследованной группе индекс массы тела был достоверно ниже у мужчин, чем у женщин ($p=0,009$), показатели систолического и диастолического давления достоверно выше у мужчин, чем у женщин ($p<0,001$), наличие гипертонической болезни также было достоверно выше в группе мужчин ($p=0,002$). Показатели липидного профиля представлены в таблице 11.

В обследованной группе, мужчины отличались от женщин по всем показателям липидного профиля. Показатель общего холестерина выше у

женщин, чем у мужчин, показатель ЛПВП также выше у женщин, показатель ЛПНП выше у женщин, только триглицериды были выше у мужчин. Различия по всем показателям были достоверными.

Прямые показатели ультразвуковых характеристик представлены в таблице 12. В обследованной группе показатель средней ТИМ был достоверно выше у мужчин ($p<0,001$), выраженность атеросклеротической бляшки была достоверно выше у женщин ($p=0,001$).

Таблица 10.

Характеристики пациентов.

Признак	Женщины	Мужчин ы	Различия между группами, р
Количество пациентов	846	422	
Средний возраст, годы	62 ± 9	61 ± 11	=0,040
Индекс массы тела, баллы	27 ± 5	26 ± 4	=0,009
Систолическое АД, мм рт.ст.	135 ± 18	142 ± 17	<0,001
Диастолическое АД, мм рт.ст.	82 ± 10	86 ± 10	<0,001
Сахарный диабет, кол-во человек (%)	36 (4,3)	23 (5,5)	>0,05
Гипертония, кол-во человек (%)	429 (51)	253 (60)	=0,002
Гипертрофия левого желудочка, кол-во человек (%)	197 (23,4)	91 (21,7)	>0,05

Таблица 11.

Липидный профиль пациентов.

Признак	Женщины	Мужчины	Различия между группами, р
Общий холестерин, мг/дл	$6,43 \pm 1,25$	$5,86 \pm 1,16$	<0,001
ЛПВП, мг/дл	$1,82 \pm 0,41$	$1,52 \pm 0,39$	<0,001
ЛПНП, мг/дл	$4,00 \pm 1,14$	$3,65 \pm 1,05$	<0,001
Триглицериды, мг/дл	$1,31 \pm 0,61$	$1,51 \pm 0,99$	=0,001

Таблица 12.

Прямые показатели ультразвуковых характеристик у мужчин и женщин.

Признак	Женщины	Мужчины	Различия между группами, р
Средняя ТИМ, мкм	812 ± 148	864 ± 155	<0,001
Наличие АСБ, баллы	$0,77 \pm 0,85$	$0,60 \pm 0,78$	=0,001

Был проведен корреляционный анализ для того, чтобы определить, с какими факторами риска связан показатель ТИМ. Результаты этого анализа представлены в таблицах 13 и 14.

Таблица 13.

Коэффициенты корреляции между ТИМ и факторами риска сердечнососудистых заболеваний у женщин.

Фактор риска	Коэффициент корреляции	Различия между группами, р
Возраст	0,551	<0,001
Индекс массы тела	0,102	<0,001
Систолическое АД	0,312	<0,001
Триглицериды	0,121	<0,001
ЛПНП	0,131	<0,001
Индекс атерогенности	0,092	<0,001
Менопауза	0,365	<0,001
Артериальная гипертензия	0,316	<0,001
Гипертрофия левого желудочка	0,122	<0,001

Таблица 14.

Коэффициенты корреляции между ТИМ и факторами риска сердечнососудистых заболеваний у мужчин.

Фактор риска	Коэффициент корреляции	Различия между группами, р
Возраст	0,466	<0,001
Артериальная гипертензия	0,243	<0,001
Гипертрофия левого желудочка	0,113	<0,001

Из представленных данных следует, что наивысшие коэффициенты корреляции ТИМ, как у мужчин, так и у женщин выявляются с возрастом. Следовательно, возраст является ключевым фактором, определяющим степень развития атеросклероза в сонных артериях. В связи с этим был проведен анализ распределения ТИМ в различных возрастных группах у мужчин и женщин. Результаты анализа представлены на рисунках 5 и 6.

Представленные графики на рисунках 5 и 6 подтвердили зависимость ТИМ от возраста, как у мужчин, так и у женщин. С возрастом происходит увеличение показателя ТИМ в обеих группах.

Для того, что бы оценить различия в ТИМ во всех возрастных группах, был проведен сравнительный анализ средних величин ТИМ по возрастным группам у мужчин и женщин. Результаты анализа представлены в таблице 15.

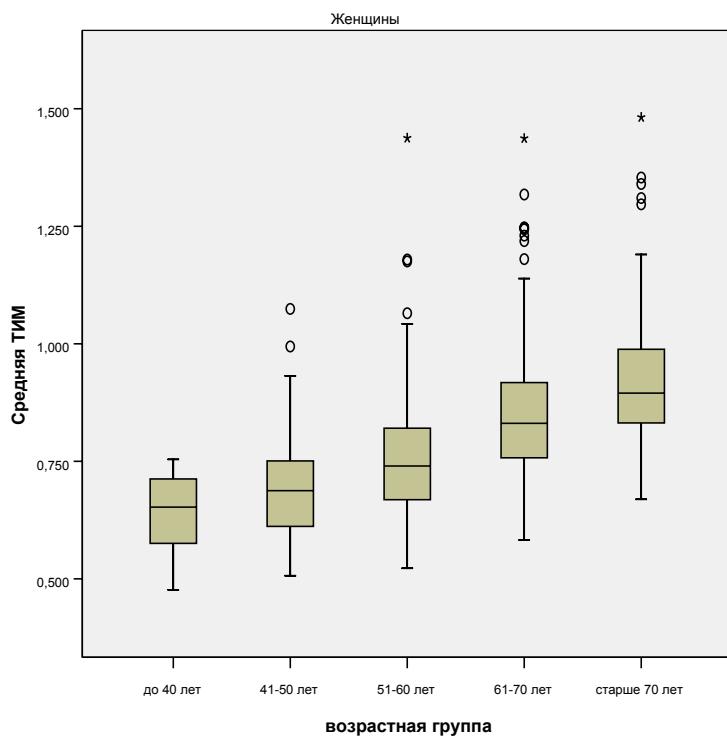


Рис. 5. Распределение ТИМ в различных возрастных группах у женщин.

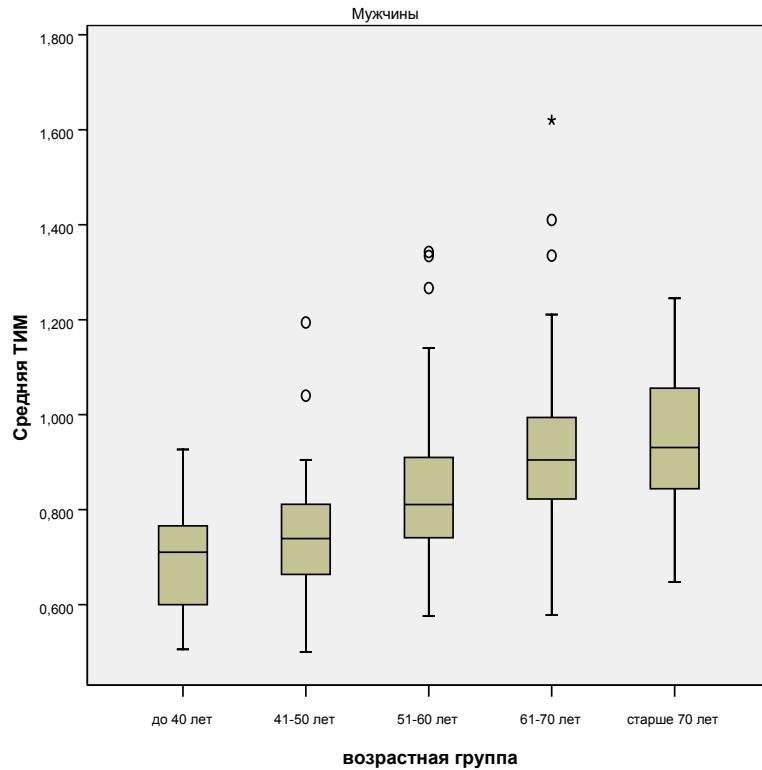


Рис. 6. Распределение ТИМ в различных возрастных группах у мужчин.

Таблица 15.

Сравнительный анализ ТИМ по возрастным группам у мужчин и женщин.

Возрастная группа	ТИМ, мкм мужчины	ТИМ, мкм женщины	Различия между группами, р
Моложе 40 лет	703±101	638±91	=0,086
41-50 лет	743±118	688±104	=0,006
51-60 лет	832±139	751±118	<0,001
61-70 лет	913±142	849±132	<0,001
Старше 70 лет	945±145	921±141	=0.254

Из полученных данных следует, что в возрастной группе моложе 40 лет, ТИМ больше у мужчин, чем у женщин, но это различие не является достоверным. В возрастных группах старше 40 лет и моложе 70 лет, ТИМ достоверно выше у мужчин, чем у женщин. В возрастной группе старше 70 лет, не отмечается достоверных различий между мужчинами и женщинами по ТИМ. Таким образом, атеросклероз у мужчин развивается опережающими темпами в возрасте от 40 до 70 лет.

На рисунке 7 представлено графическое изменение показателя ТИМ у мужчин и женщин в зависимости от возраста. Была измерена средняя теоретическая скорость увеличения ТИМ, у мужчин она составила 7 ± 1 мкм в год, у женщин 9 ± 1 мкм в год. Обращает на себя внимание нелинейная зависимость прогрессирования ТИМ от возраста у мужчин и женщин. Так в мужской группе отмечается умеренное прогрессирование ТИМ в возрастной группе до 50 лет, затем на графике наблюдается резкий изгиб, что свидетельствует о большей скорости прогрессирования ТИМ, и к 62 годам скорость увеличения ТИМ снижается.

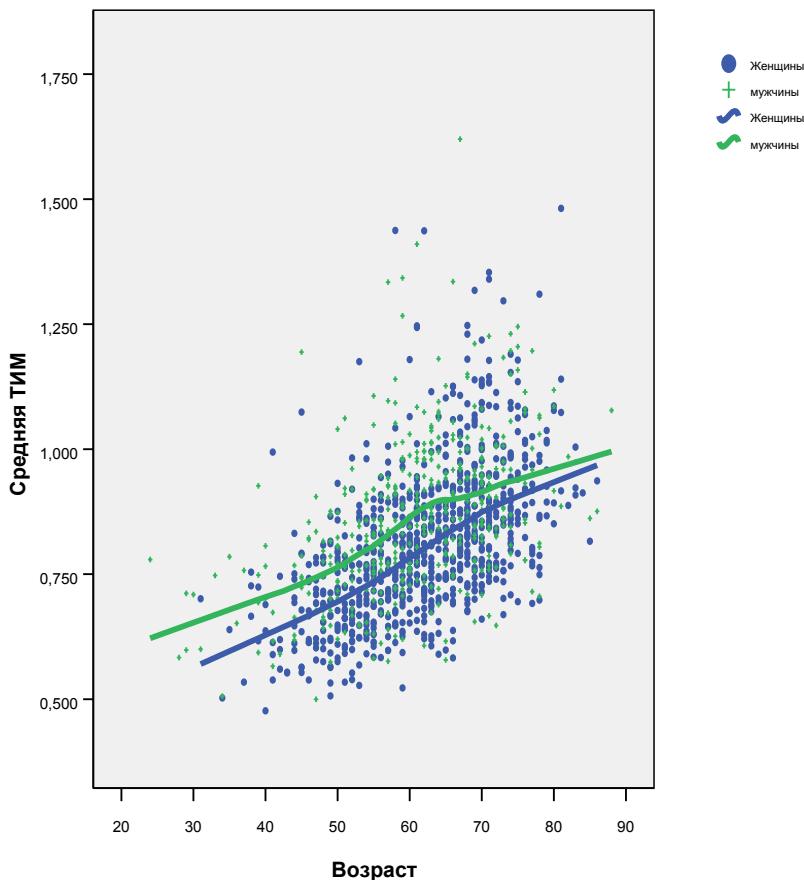


Рис. 7. Зависимость ТИМ от возраста мужчин и женщин.

В женской группе наблюдаются похожие изменения скорости прогрессирования ТИМ с возрастом, различаются только точки перелома кривой. Так до 58 лет сохраняется умеренное прогрессирования ТИМ, затем так же, как и у мужчин, усиление скорости прогрессирования, и после 70 лет скорость прогрессирования снижается. Таким образом, были определены критические возрастные точки для мужчин и женщин, до и после которых скорость прогрессирования ТИМ различается. Что бы проверить предположение о скорости прогрессирования ТИМ, был проведен

регрессионный анализ теоретической скорости изменения ТИМ в год, у мужчин и женщин. Результаты анализа представлены в таблице 16.

Таблица 16.

Теоретическая скорость увеличения ТИМ в год у мужчин и женщин.

Возрастная группа	Скорость прогрессирования ТИМ, мкм	Различия между группами, р
Мужчины до 50 лет	5±2	<0,05
Мужчины от 51 года до 62 лет	11±3	=0,001
Мужчины старше 62 лет	3±2	>0,05
Женщины до 58 лет	6±1	<0,001
Женщины от 59 до 70 лет	9±1	<0,05
Женщины старше 70 лет	4±3	<0,05

В результате проведенного анализа было продемонстрировано, что у мужчин до 50 лет и у женщин до 62 лет, теоретическая скорость увеличения ТИМ, умеренная, что свидетельствует об умеренном прогрессировании ТИМ. У мужчин в возрасте от 51 года до 62 лет, а также у женщин в возрасте от 58 лет до 70 лет теоретическая скорость увеличения ТИМ, резко возрастает, что свидетельствует о высокой степени прогрессирования ТИМ в обеих половых группах. И наконец, у мужчин старше 62 лет и женщин старше 70 лет, теоретическая скорость увеличения ТИМ заметно снижается. Такое снижение скорости увеличения ТИМ в старшей группе, как у мужчин, так и у женщин, свидетельствует о существенном замедлении прогрессирования ТИМ.

В результате проведенного кросс-секционного исследования по изучению различий показателя толщины интимо-медиального слоя сонных артерий у мужчин и женщин, было выявлено, что показатель средней ТИМ был достоверно выше у мужчин ($p<0,001$), а выраженность атеросклеротической

бляшки была достоверно выше у женщин ($p=0,001$). Наивысший коэффициент корреляции ТИМ, как у мужчин, так и у женщин выявляется с возрастом, следовательно, возраст является ключевым фактором, определяющим степень развития атеросклероза в сонных артериях. В возрастной группе моложе 40 лет, ТИМ больше у мужчин, чем у женщин, но это различие не является достоверным. В возрастных группах старше 40 лет и моложе 70 лет, ТИМ достоверно выше у мужчин, чем у женщин. В возрастной группе старше 70 лет, не отмечается достоверных различий между мужчинами и женщинами по ТИМ. Таким образом, атеросклероз у мужчин протекает с опережающими темпами, развиваясь в возрасте от 40 до 70 лет. Были определены критические возрастные точки для мужчин и женщин, до и после которых скорость прогressирования ТИМ различается, а также установлены возрастные периоды, с различной скоростью прогressирования ТИМ. Была рассчитана теоретическая скорость увеличения ТИМ в этих возрастных периодах у мужчин и женщин.

3.5.2 Проспективное исследование динамики изменений толщины интимо-медиального слоя сонных артерий у мужчин и женщин.

Для того, чтобы оценить реальную скорость прогressирования ТИМ, было проведено проспективное исследование, направленное на изучение динамики изменений толщины интимо-медиального слоя сонных артерий во времени, у мужчин и женщин.

В исследовании приняло участие 309 человек, 220 женщин и 99 мужчин, средний возраст которых составил 63 года. Для оценки изменений толщины ТИМ в динамике, мужчины и женщины были обследованы дважды. Были измерены показатели средней ТИМ и максимальной ТИМ, а так же наличие атеросклеротической бляшки, где процент стеноза оценивался в баллах. В среднем наблюдение длилось 16 месяцев. Скорость прогressирования показателя ТИМ оценивали во временном промежутке 12 месяцев. Основные характеристики пациентов представлены в таблице 17.

Таблица 17.
Характеристики пациентов

Признак	Женщины	Мужчины	Различия между группами, р
Количество пациентов	220	207	
Средний возраст, годы	64 ± 9	62 ± 9	=0,083
Индекс массы тела, баллы	27 ± 5	26 ± 4	=0,065
Систолическое АД, мм рт.ст.	138 ± 15	144±14	=0,181
Диастолическое АД, мм рт.ст.	82 ± 10	83 ± 9	=0,064
Общий холестерин, мг/дл	247 ± 45	227 ± 44	<0,001
ЛПВП, мг/дл	71 ± 14	51 ± 15	<0,001
ЛПНП, мг/дл	151 ± 41	143 ± 40	=0,045
Триглицериды, мг/дл	122 ± 48	165 ± 97	<0,001
Индекс атерогенности	2,2±0,7	3,1±1,0	<0,001
Средняя ТИМ, мкм	846±158	915±158	<0,001

В обследованной группе были продемонстрированы достоверные различия у мужчин и женщин в показателях липидного профиля. Так у женщин выше показатели общего холестерина, ЛПНП, ЛПВН. У мужчин выше показатели триглицеридов. Показатель ТИМ также достоверно выше у мужчин. Стоит отметить, что полученные данные в настоящей выборке соответствуют данным предыдущей более объемной выборки. Соответственно, настоящую выборку можно считать адекватной.

На данной выборке был также проведен анализ теоретической скорости увеличения ТИМ. В результате установлено, что теоретическая скорость увеличения ТИМ у мужчин составила 3±1 мкм в год, что соответствует ранее полученным данным по теоретической скорости увеличения ТИМ у мужчин в

возрасте старше 62 лет (см. таблицу 16). У женщин теоретическая скорость увеличения ТИМ составила 9 ± 1 мкм в год, что опять же соответствует полученным ранее данным на большей популяции по этому показателю у женщин в возрастной группе от 59 до 70 лет (см. таблицу 16). Графическая зависимость ТИМ от возраста представлена на рисунке 8.

Была измерена реальная скорость изменения ТИМ в год у мужчин и женщин. Результаты по реальной скорости изменения ТИМ представлены в таблице 18. Несмотря на то, что у женщин реальная скорость изменения ТИМ была выше, чем у мужчин, эти различия не достигли порога статистической значимости ($p=0,103$).

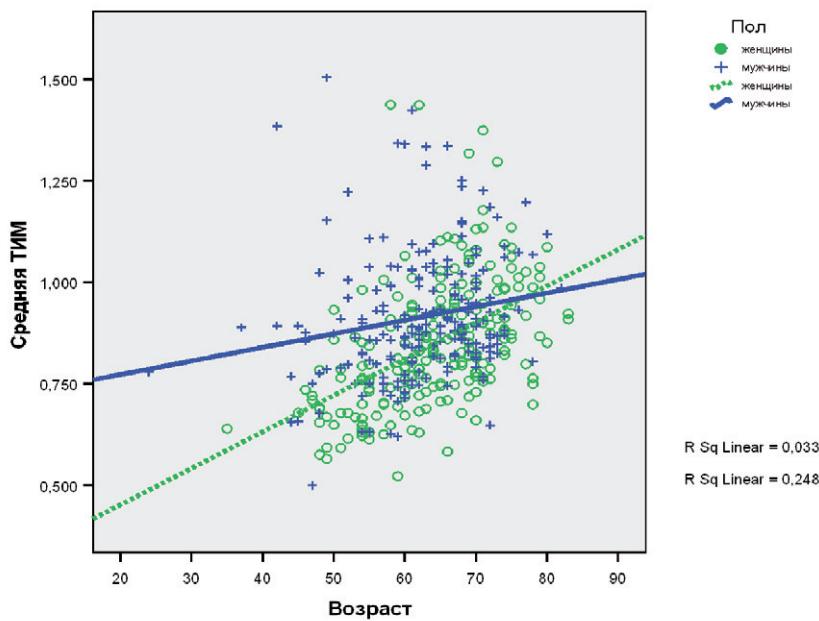


Рис. 8. Зависимость ТИМ от возраста мужчин и женщин.

Таблица 18.

Реальная скорость изменения ТИМ.

	Медиана, мкм	Межквартильный размах, мкм	95% доверительный интервал, мкм
женщины	20	(-15;67)	14-38
мужчины	13	(-30;57)	-3-21

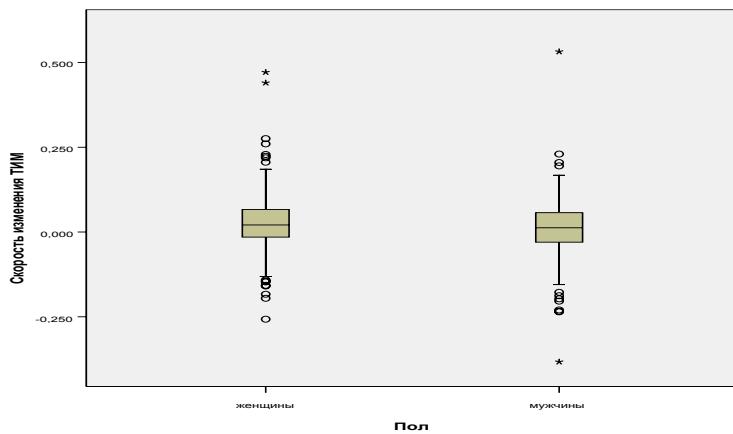


Рис. 9. Распределение показателя скорость изменения ТИМ (медиана, межквартильные границы, выпавшие значения).

На рисунке 6 представлены средние значение и доверительный интервал показателя скорости изменения ТИМ у мужчин и женщин.

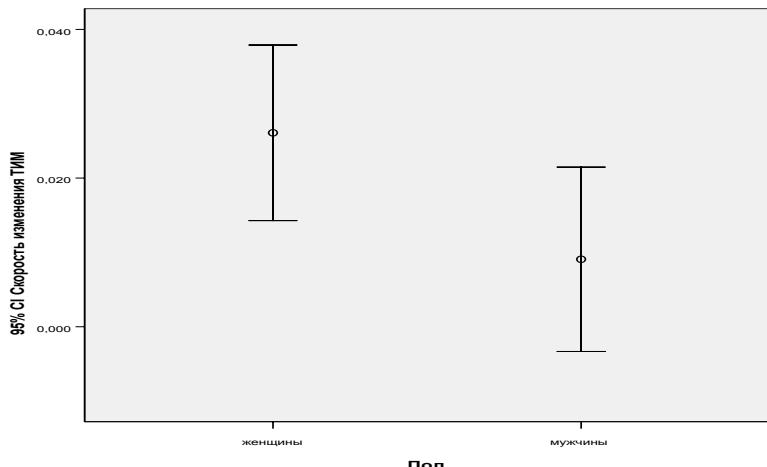


Рис. 10. Средние значение и доверительный интервал показателя скорости изменения ТИМ.

В результате проведенного проспективного исследования, направленного на изучение динамики изменений толщины интимо-медиального слоя сонных артерий во времени, у мужчин и женщин, было выявлено, что реальная скорость изменения ТИМ у женщин была выше, чем у мужчин, но различия не достигли порога статистической значимости. Реальная скорость изменения ТИМ не соответствует рассчитанной теоретической скорости изменения ТИМ, так как и у мужчин и у женщин реальная скорость изменения ТИМ выше теоретически рассчитанной.

3.6 Клиническая значимость ультразвуковых показателей естественного течения субклинического атеросклероза в отношении проявления ранней неврологической симптоматики у мужчин и женщин.

Ранее было известно, что толщина интимо-медиального слоя сонных артерий и уровень прогностических рисков инфаркта миокарда и ишемической болезни сердца у мужчин выше, чем у женщин. [28,32,128]

Вместе с тем, не была изучена клиническая значимость показателя толщины интимо-медиального слоя сонных артерий, как показателя естественного течения атеросклероза, в том числе в отношении проявлений ранней неврологической симптоматики хронической недостаточности мозгового кровообращения у мужчин и женщин.

Для ответа на этот вопрос, нами было проведено клиническое исследование на базе 202 поликлиники МГУ. В исследовании приняли участие 225 человек (83 мужчины и 142 женщины) в возрасте от 44 до 75 лет (средний возраст $63,8 \pm 7,1$), у которых по данным ультразвукового исследования определялись субклинические проявления атеросклероза сонных артерий. Проводились оценка соматического и неврологического статуса, определение липидных показателей крови (общий холестерин, липопротеиды высокой и низкой плотности, триглицериды). При ультразвуковом сканировании сонных артерий оценивали наличие атеросклеротических бляшек, а также измеряли толщину комплекса интима-медиа общей сонной артерии. Был рассчитан риск возникновения ишемической болезни сердца в течение последующих 10 лет и прогностический риск инфаркта миокарда (фатального и нефатального) и внезапной смерти в течение 10 лет.

Неврологический статус оценивали по 4-балльной системе. Для последующего анализа использовали интегральный показатель неврологического статуса, представляющий собой общую сумму баллов. При оценке неврологической симптоматики учитывали субъективные жалобы участников исследования на головные боли, головокружение, инсомнию и мнестические нарушения, повышенную утомляемость. Кроме того, определяли функцию черепно-мозговых нервов, показатели координации и статики, изменения в чувствительной и двигательной сферах, пирамидной системе.

Основные характеристики лиц, принявших участие в исследовании, представлены в Таблице 19 и 20.

У мужчин отмечались достоверно более высокие показатели систолического и диастолического артериального давления ($p<0,001$), более низкие уровни общего холестерина ($p=0,002$), холестерина липопротеидов высокой ($p<0,001$) и низкой ($p=0,028$) плотности. Как средняя, так и максимальная ТИМ сонных артерий у мужчин была достоверно выше, чем у женщин ($p<0,001$). Показатели прогностических рисков ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда также были существенно выше у мужчин по сравнению с женщинами ($p<0,001$). При этом группы не отличались по возрасту, индексу массы тела, частоте курения, гипертонии, сахарного диабета, уровню триглицеридов, по выраженности АСБ и интегральному показателю неврологического статуса ($p>0,05$).

Таблица 19.

Основные характеристики исследуемых групп.

Признак	Мужчины	Женщины	Различия между группами, р
Количество пациентов	83	142	
Средний возраст, годы	$63,0\pm6,9$	$64,7\pm6,4$	$>0,05$
Систолическое АД, мм рт.ст.	146 ± 18	132 ± 16	$<0,001$
Диастолическое АД, мм рт.ст.	87 ± 11	81 ± 8	$<0,001$
Индекс массы тела, баллы	$26,5\pm3,6$	$27,3\pm4,0$	$>0,05$
Курение, кол-во человек (%)	12 (14,5%)	12 (8,5%)	$>0,05$
Сахарный диабет, кол-во человек (%)	1 (1,2%)	7 (4,9%)	$>0,05$
Гипертония, кол-во человек (%)	53 (63,8%)	80 (56,3%)	$>0,05$

Средняя толщина КИМ, мкм	928±127	849±145	<0,001
Максимальная толщина КИМ, мкм	1077±155	975±173	<0,001
Наличие АСБ, баллы	0,96±0,93	0,80±0,73	>0,05
Интегральный показатель неврологического статуса, баллы	10,0±8,9	11,1±7,9	>0,05
Риск ИБС, %	35,5±16,4	14,3±10,4	0
Риск ОИМ, %	13,6±11,2	1,4±2,4	<0,001

Таблица 20

Показатели липидного профиля

Признак	Мужчины	Женщины	Различия между группами, р
Общий холестерин, мг/дл	243±49	261±47	0,002
ЛПВП, мг/дл	62,9±15,5	73,7±15,9	<0,001
ЛПНП, мг/дл	152,0±40,6	161,1±42,5	0,028
Триглицериды, мг/дл	146±84	130±63	>0,05

Не было выявлено достоверного различия в суммарном интегральном показателе неврологического статуса у мужчин ($10,0\pm8,9$) и женщин ($11,1\pm7,9$) ($p>0,05$). Был проведен анализ различий отдельных неврологических симптомов у мужчин и женщин. Было установлено, что нет различий в субъективных жалобах; также не выявлено различий в нарушениях чувствительности и сухожильных рефлексах между мужчинами и женщинами. При этом были продемонстрированы различия в рефлексах орального автоматизма и

патологических кистевых и стопных знаках. Данные о полученных различиях представлены в таблице 21.

Обращают на себя внимание неоднозначные различия в частоте нарушений орального автоматизма у мужчин и женщин. Так у мужчин чаще выявляется хоботковый рефлекс, а у женщин мандибулярный рефлекс и рефлекс Маринеску-Радовичи. При этом частота выявления патологических кистевых и стопных знаков однозначно выше у мужчин.

Таблица 21.

Различия в неврологической симптоматике у мужчин и женщин.

Неврологический симптом	Мужчины, n=83 (%)	Женщины, n=143 (%)	Различия между группами, р
Хоботковый рефлекс	44,6	30,1	0,008
Мандибулярный рефлекс	19,3	33,1	0,006
Маринеску-Радовичи	13,3	27,3	0,015
Россолимо пр.н.	14,5	4,2	0,006
Россолимо л.н.	13,3	3,5	0,006
Якобсона-Ласка пр.	24,1	5,6	<0,001
Якобсона-Ласка л.	24,1	4,9	<0,001
Пуссепа пр.	22,9	1,4	<0,001
Пуссепа л.	21,7	1,4	<0,001
Поза Ромберга	42,2	60,8	0,015

У мужчин анализ взаимосвязи интегрального показателя неврологического статуса с традиционными факторами риска сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний выявил отсутствие корреляции с уровнями систолического и диастолического артериального давления, общего холестерина, триглицеридов, холестерина ЛПНП и ЛПВП, курением, сахарным диабетом, а также индексом массы тела ($p>0,05$). Выраженность неврологических симптомов коррелировала с возрастом ($r=0,523$, $p<0,001$).

Была также выявлена корреляционная зависимость неврологического статуса с прогностическим риском инфаркта миокарда ($r=0,356$, $p=0,001$), но не с прогностическим риском ИБС ($p=0,10$).

У женщин интегральный показатель неврологического статуса коррелировал с возрастом ($r=0,235$, $p=0,005$), систолическим АД ($r=0,294$, $p<0,001$), индексом массы тела ($r=0,185$, $p=0,027$), но не был достоверно связан с диастолическим АД, липидными показателями, а также с показателями прогностических рисков ИБС и инфаркта миокарда ($p>0,05$).

У мужчин анализ взаимосвязи интегрального показателя неврологического статуса с прямыми количественными характеристиками каротидного атеросклероза выявил корреляцию со средней и максимальной толщиной интимо-медиального слоя сонных артерий ($r=0,291$, $p =0,008$ и $r=0,254$, $p=0,021$, соответственно), но не с наличием атеросклеротических бляшек в бассейне сонных артерий ($p=0,47$).

У женщин интегральный показатель неврологического статуса коррелировал со всеми использованными количественными характеристиками атеросклероза ($r=0,251$, $p=0,003$; $r=0,261$, $p=0,002$ и $r=0,316$, $p<0,001$, соответственно).

Средняя и максимальная ТИМ сонных артерий коррелировали между собой как у мужчин, так и у женщин ($r=0,963$ и $r=0,975$, соответственно, $p<0,001$). Максимальная ТИМ коррелировала с выраженностью атеросклеротических бляшек как у мужчин, так и у женщин ($r=0,230$, $p=0,036$ и $r=0,295$, $p<0,001$, соответственно). Средняя ТИМ коррелировала с выраженной АСБ у женщин ($r=0,283$, $p=0,001$), а у мужчин такая взаимосвязь не достигла уровня статистической значимости ($p=0,06$).

Мы также изучили связь прямых показателей атеросклероза с традиционными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний. У мужчин средняя и максимальная ТИМ коррелировали только с возрастом ($r=0,257$, $p=0,019$ и $r=0,225$, $p=0,041$, соответственно), но не с другими

факторами риска. Степень выраженности АСБ не коррелировала ни с одним из факторов риска.

У женщин средняя и максимальная ТИМ, а также степень выраженности АСБ коррелировали с возрастом ($r=0,399$, $p<0,001$; $r=0,381$, $p<0,001$ и $r=0,271$, $p=0,001$, соответственно) и с системическим АД ($r=0,241$, $p=0,004$; $r=0,228$, $p=0,006$, и $r=0,259$, $p=0,002$, соответственно), но не с другими факторами риска.

Таким образом, в настоящем исследовании впервые выявлена корреляционная зависимость между прямыми показателями атеросклероза и изменениями в неврологическом статусе.

Наибольшей информативностью среди количественных показателей атеросклероза, как у мужчин, так и у женщин в отношении наличия ранних неврологических нарушений обладают средняя и максимальная ТИМ сонных артерий. По данным настоящего исследования наличие АСБ в бассейне сонных артерий и степень их выраженности обладает информативностью у женщин, но не у мужчин. Возможно, последнее связано с относительно небольшим размером мужской выборки в данном исследовании.

4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.

Атеросклероз - это системное заболевание, которое развивается в сосудистой стенке и приводит к таким тяжелым последствиям, как ИБС, инфаркт миокарда и инсульт. Результаты многочисленных эпидемиологических исследований продемонстрировали, что частота сердечнососудистых заболеваний, т.е. клинических проявлений атеросклероза, у женщин репродуктивного возраста намного ниже, чем у мужчин. Более того, после наступления менопаузы у женщин риск развития сердечнососудистых заболеваний резко возрастает, а уже через 10 лет после наступления менопаузы женщины становятся сравнимыми с мужчинами по степени выраженности атеросклероза, и соответственно по его клиническим проявлениям. Учитывая тот факт, что атеросклероз у мужчин и женщин развивается по-разному, мы провели исследование, направленное на изучение различий в течении атеросклероза на различных его уровнях у мужчин и женщин.

На первом этапе этой работы мы оценили программирующий эффект половых гормонов, т.е. оценили способность мужских и женских клеток накапливать холестерин. Мы установили, что нет различий между женскими и мужскими клетками, как моноцитами, так и макрофагами, по исходному содержанию в них холестерина. Так же не выявлены различия по абсолютному приросту холестерина и по относительному изменению содержания холестерина в мужских и женских моноцитах и макрофагах. При этом моноциты, как женские, так и мужские, обладают более высокой способностью накапливать холестерин, чем макрофаги. Способность клеток накапливать холестерин напрямую связана с его исходным содержанием, поскольку клетки с исходно повышенным содержанием холестерина обладают более высокой способностью к накоплению избыточного холестерина. Наилучшей оценкой способности накапливать холестерин является относительное изменение

содержания его в клетках, поскольку не зависит от исходного содержания холестерина.

В отечественных и зарубежных исследованиях, направленных на изучение процессов внутриклеточного накопления холестерина, ранее не изучалась способность клеток накапливать холестерин в зависимости от половой принадлежности донора.

Предположение о возможном существовании различий между женскими и мужскими моноцитами и макрофагами в способности накапливать холестерин в нашем исследовании не подтвердилось. Программирующая роль половых гормонов не была установлена. Тем не менее, это не является окончательным заключением, поскольку данная работа имеет определенные ограничения, связанные с использованием конкретной клеточной модели и методологии оценки программирующей роли гормонов.

Нашим следующим этапом работы стало изучение регуляторного эффекта половых гормонов, т.е. мы оценили способность половых гормонов влиять на внутриклеточное накопление холестерина. Было установлено, что половые гормоны, в частности, эстрадиол, способны влиять на накопление холестерина, т.е. обладают регуляторным эффектом. Эстрадиол способен подавлять накопление внутриклеточного холестерина в мужских и женских моноцитах, в женских макрофагах, при этом не оказывает никакого влияния на накопление холестерина в мужских макрофагах. Тестостерон не оказывает влияния на накопление внутриклеточного холестерина в клетках. Дигидротестостерон обладает способностью подавлять накопление холестерина только в макрофагах женщин и мужчин, не оказывая никакого влияния на моноциты. Следовательно, способность половых гормонов влиять на накопление холестерина зависит от типа использованных клеток и, в какой-то степени, от пола донора.

Не смотря на то, что в литературе уделяют большее внимание регуляторному эффекту половых гормонов, в отечественных и зарубежных

исследованиях способность половых гормонов влиять на накопление холестерина ранее не изучалась. Ранее способность эстрадиола снижать уровень общего холестерина и ЛПНП, а так же способность повышать уровень ЛПВП, продемонстрировал Stivenson в своих работах [115]. В свою очередь Taskinen в своих работах показала, что эстрадиол способен тормозить окисление липидов и пролиферацию гладкомышечных клеток [119]. Андрогены могут действовать двояко на рост и пролиферацию клеток. Низкие концентрации дигидротестостерона стимулируют рост гладкомышечных клеток, тогда как высокие – ингибируют. Эти данные, как и полученные данные в результате нашего исследования подтверждают предположение о защитном действии эстрогенов. При этом действие андрогенов остается неоднозначным. Имеет смысл более тщательно изучить влияние мужских половых гормонов на механизмы атерогенеза.

Оценив способность половых гормонов влиять на накопление холестерина в клетках, мы попытались установить, каким образом половые гормоны влияют на механизмы накопления внутриклеточного холестерина. Одним из ключевых механизмов накопления холестерина в клетках является фагоцитоз. Мы установили, что половые гормоны оказывают влияние на клеточную активность, непосредственно усиливая фагоцитарную активность клеток. Тем не менее, фагоцитарная активность клетки не является механизмом, за счет которого половые гормоны, в частности эстрадиол, влияют на подавление способности клетки накапливать холестерин.

В некоторых из проводимых исследований, направленных на изучение влияния половых гормонов на молекулярно-клеточные механизмы развития атеросклероза, было продемонстрировано, что эстрадиол индуцирует фосфорилирование и активацию митоген-активируемых киназ (МАРК) и пролиферацию эндотелия. Эстрадиол также проявляет эффекты, противоположные ангиотензину II (AngII) на гладкомышечные клетки через активацию протеиновых фосфатаз. Эстрадиол стимулирует продукцию

циклического аденоzinмонофосфата (cAMP), который может регулировать рост гладкомышечных клеток и, таким образом, осуществлять антипролиферативные эффекты [40]. Влияние андрогенов (тестостерона и дигидротестостерона) на механизмы атерогенеза изучены недостаточно, но в ряде публикаций говорится о проатерогенном эффекте андрогенов [130].

Следующим этапом этой работы стало изучение различий в морфометрических показателях артериальной стенки мужчин и женщин. При изучении морфологических характеристик магистральных артерий, было продемонстрировано, что у мужчин показатели морфометрических характеристик выше, чем у женщин, но эта тенденция к существенным различиям не по всем показателям достигла порога статистической значимости. В сонной артерии и коронарной артерии мы получили достоверные различия по толщине протеогликанового и интимального слоев. По толщине мышечноэластического и медиального слоев нет достоверных различий между мужскими и женскими сосудами. По ТИМ различия получены в коронарной артерии, в аорте и сонной артерии достоверных различий не выявлено. Стоит отметить, что основным слагаемым в комплексе ТИМ является медиальный слой, а процессы атерогенеза в основном протекают в интимальном слое, вероятно с этим связано отсутствие достоверных различий в морфометрических характеристиках мужских и женских сосудов по ТИМ. В мировой литературе хорошо описан клеточный состав сосудистой стенки, много морфологических работ посвящено типам поражения сосудистой стенки [111], но не морфометрии сосудистой стенки, тем более в аспекте сравнения мужских и женских сосудов. Наличие лишь небольшого количества работ в этом направлении объясняется отсутствием возможности большинства лабораторий мира работать с аутопсийным материалом.

В 1986 году Pignoli с соавторами проводили работы по оценке сосудистой стенки с использованием микроскопии, пытаясь сопоставить эти данные с ультразвуковыми данными, и пришли к выводу, что ультразвук

способен отображать реальное состояние сосудов [97]. Эта работа послужила отправной точкой в развитии важнейшего клинического направления в атеросклеротической науке по изучению динамики атеросклероза. В настоящее время существует единственный неинвазивный метод изучения динамики атеросклероза - это ультразвуковое исследование сонных артерий с измерением показателя ТИМ. В своей работе мы использовали этот показатель для оценки половых различий в течении субклинического атеросклероза. В результате проведенного кросс-секционного исследования по изучению различий в показателе толщины интимо-медиального слоя сонных артерий у мужчин и женщин, было выявлено, что показатель средней ТИМ был достоверно выше у мужчин ($p<0,001$), а выраженность атеросклеротической бляшки была достоверно выше у женщин ($p=0,001$). Подобные данные демонстрируют и ряд других клинических исследований направленных на изучение изменений показателя ТИМ и клинической значимости этого показателя [56,57,117]. В результате этих исследований у мужчин в любом возрасте комплекс ТИМ был достоверно выше, чем у женщин. По нашим данным наивысший коэффициент корреляции ТИМ, как у мужчин, так и у женщин выявляются с возрастом, следовательно, возраст является ключевым фактором, определяющим степень развития атеросклероза в сонных артериях. Тем самым мы подтвердили полученные ранее данные в исследовании ARIC (The Atherosclerosis Risk in Communities Study - Риск атеросклероза в сообществах), где было установлено, что у женщин в соответствующих возрастных группах показатели ТИМ меньше, чем у мужчин, и что ТИМ увеличивается с возрастом, независимо от половой принадлежности [31]. Существуют исследования, направленные на изучение изменений показателя ТИМ у детей. В своей работе Böhma с соавторами, продемонстрировал половые различия в показателе ТИМ у детей и подростков, и у мальчиков этот показатель был достоверно выше, чем у девочек. Более того, на этой группе пациентов было показано прогрессирование показателя ТИМ с возрастом [27]. В нашем исследовании в

в возрастной группе моложе 40 лет, ТИМ больше у мужчин, чем у женщин, но это различие не является достоверным. В возрастных группах старше 40 лет и моложе 70 лет, ТИМ достоверно выше у мужчин, чем у женщин. В возрастной группе старше 70 лет, не отмечается достоверных различий между мужчинами и женщинами по ТИМ. Эти данные можно сопоставить с данными Anna Kablak-Ziembika с соавторами, которые в результате своего исследования установили, что у пациентов старше 65 лет половые различия в увеличении ТИМ не были достоверными. Более того, было показано, что половые различия в показателе ТИМ исчезают полностью у пациентов, перенесших инсульт или инфаркт. Объяснением этого факта может быть ускорение атеросклеротических процессов в постменопаузальный период у женщин [118,72], и к определенному возрасту женщины перестают отличаться от мужчин, несмотря на то, что все атеросклеротические процессы начинаются позже. Таким образом, атеросклероз у мужчин протекает с опережающими темпами, развиваясь в возрасте от 40 до 70 лет.

В нашей работе мы пошли дальше и попытались определить критические возрастные точки для мужчин и женщин, до и после которых скорость прогрессирования ТИМ различается. Нами были установлены возрастные периоды с различной скоростью прогрессирования ТИМ и была рассчитана теоретическая скорость увеличения ТИМ в этих возрастных периодах у мужчин и женщин. Так, у мужчин критический возраст с максимальной скоростью прогрессирования ТИМ начинается в 50 лет и продолжается до 62 лет, у женщин с 58 лет и до 70 лет. Стоит отметить, что как у мужчин, так и у женщин критический период продолжается 12 лет, только у женщин он начинается на 8 лет позже. Объяснение этому факту же может быть наступление менопаузы у женщин. Известно, что средний возраст наступления менопаузы у женщин в России составляет 51 года, а прогрессирование атеросклероза мы можем наблюдать через 5-7 лет после наступления менопаузы, когда все активные гормональные процессы в женском организме

затихают, в период так называемой поздней менопаузы, которая у женщин начинается в среднем в 56-58 лет.

Проведя оценку теоретической скорости прогрессирования ТИМ, мы попытались оценить реальную скорость прогрессирования ТИМ, для чего было проведено проспективное исследование, направленное на изучение динамики изменений толщины интимо-медиального слоя сонных артерий во времени, у мужчин и женщин. В результате этого исследования было выявлено, что реальная скорость изменения ТИМ у женщин (20 мкм в год) была выше, чем у мужчин (13 мкм в год), но различия не достигли порога статистической значимости. Тот факт, что скорость прогрессирования ТИМ в определенном возрасте выше у женщин, чем у мужчин, подтверждает увеличение рисков развитие ССЗ у женщин с наступлением менопаузы. В настоящее время существует немало работ, в которых оценивали скорость прогрессирования ТИМ и установили, что скорость прогрессирования ТИМ в более молодом возрасте больше у мужчин, чем у женщин. В одной из таких работ попытались оценить скорость прогрессирования ТИМ у детей. Ishizu с соавторами продемонстрировал линейное прогрессирование ТИМ у 60 здоровых детей, в возрасте от 5 до 14 лет. Было установлено, что в возрасте от 8 до 10 лет у мальчиков ТИМ увеличилась на 40 мкм, а у девочек только на 20 мкм за 2 года [63]. В исследованиях, направленных на изучение регресса атеросклероза у пациентов, принимающих липидснижающие препараты, проводилась оценка прогрессирования показателя ТИМ. Так в исследовании METEOR в группе плацебо скорость прогрессирования составила 13 мкм в год, что полностью соответствует нашим данным о реальной скорости прогрессирования у мужчин [36]. В другом исследовании под названием JUPITER также была продемонстрирована скорость прогрессирования ТИМ в группе плацебо. За 4 года скорость прогрессирования ТИМ составила 80 мкм, что опять же соответствует полученным нами данным о скорости прогрессирования ТИМ у женщин [102].

Рассчитанная нами реальная скорость изменения ТИМ не соответствует рассчитанной теоретической скорости изменения ТИМ: и у мужчин и у женщин реальная скорость изменения ТИМ выше теоретически рассчитанной. Этому факту может быть следующее объяснение: с возрастом риск развития ССЗ возрастает и увеличивается смертность; те же, кто пережил критический возраст, скорее всего, имели относительно здоровые сосуды и, соответственно, меньшую скорость прогрессирования ТИМ. Те, кто не пережил критический возраст, имели значительно более высокую скорость прогрессирования ТИМ. Таким образом, полученные нами данные о теоретической скорости, особенно в возрастной группе, старше 70 лет, свидетельствуют о скорости прогрессирование атеросклероза у пациентов с низкими рисками, поэтому рассчитанная нами теоретическая скорость прогрессирования ТИМ ниже реальной. В такого рода исследованиях наблюдения должны проводится не 2-3 года, а десятилетия, при этом необходимо учитывать смертельные исходы.

На следующем этапе нашей работы мы попытались оценить клиническую значимость ультразвуковых показателей естественного течения субклинического атеросклероза в отношении проявления ранней неврологической симптоматики нарушения мозгового кровообращения у мужчин и женщин.

В настоящем исследовании была впервые выявлена корреляционная зависимость между прямыми показателями атеросклероза и изменениями в неврологическом статусе. Наибольшей информативностью среди количественных показателей атеросклероза, как у мужчин, так и у женщин в отношении наличия ранних неврологических нарушений обладают средняя и максимальная ТИМ сонных артерий. По данным настоящего исследования наличие АСБ в бассейне сонных артерий и степень их выраженности обладает информативностью у женщин, но не у мужчин. Возможно, последнее связано с относительно небольшим размером мужской выборки в данном исследовании.

В результате этой работы мы пришли к выводу, что ультразвуковой показатель ТИМ, как показатель естественного течения субклинического атеросклероза, обладает высокой клинической значимостью в отношении проявления ранней неврологической симптоматики у мужчин и в большей степени у женщин. Такое заключение можно считать особенно важным, учитывая тот факт, что с каждым годом процент женщин, умирающих от инсульта, увеличивается. Так в США в 2004 году 61% инсультов случился именно у женщин [104].

Тройной анализ взаимосвязи интегральной оценки неврологического статуса, прямых показателей атеросклероза и традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний показал, что толщина интимо-медиального слоя сонных артерий является наиболее эффективным предиктором ранних неврологических нарушений. Согласно данным Роттердамского исследования, даже незначительное диффузное утолщение интимо-медиального слоя сонных артерий в пределах нормальных значений (до 900 мкм) существенно увеличивает прогноз первичного инсульта и является самостоятельным фактором риска независимо от наличия атеросклеротических бляшек в сонных артериях [28].

В отечественной и зарубежной литературе уделяется большое внимание различиям в ярко выраженной неврологической симптоматике после перенесенного инсульта у мужчин и женщин [90,69], когда как минимальной неврологической симптоматике не уделяется достаточного внимания. Как уже было сказано выше, мы впервые выявили взаимосвязь изменений в сосудистой стенке и наличием минимальной неврологической симптоматики, что, безусловно, способствует своевременному выявлению пациентов с высокими рисками, более точным прогнозам в случае с конкретным пациентом, и помогает более корректно проводить мероприятия по профилактике острых мозговых нарушений. Учитывая тот факт, что цереброваскулярные и

сердечнососудистые заболевания по-прежнему лидируют в причинах высокой смертности в российской популяции, ранняя диагностика и своевременное выявление высоких рисков этих заболеваний, безусловно, помогут улучшить сложившуюся ситуацию в стране.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Наиболее оптимальный период для активной профилактики атеросклероза у мужчин является возраст от 50 до 62 лет, у женщин от 58 до 70 лет, поскольку в эти периоды наблюдается наибольшая скорость развития атеросклеротического поражения.
2. Необходимо широкое использование неинвазивного метода ультразвуковой диагностики сонных артерий для идентификации лиц с высокой предрасположенностью к атеросклерозу для своевременной профилактики острых и хронических нарушений мозгового кровообращения.
3. Даже при выявлении минимальной неврологической симптоматики, необходима активная профилактика атеросклероза, поскольку по данным УЗИ сонных артерий при минимальной неврологической симптоматике уже имеются патологические изменения в сосудистой стенке.
4. При проведении УЗИ диагностики сонных артерий у пациентов с минимальной неврологической симптоматикой нарушений мозгового кровообращения следует учитывать, что наибольшей информативностью обладает показатель средней и максимальной ТИМ сонных артерий у мужчин и у женщин, а у женщин также наличие и степень выраженности АСБ в бассейне сонных артерий.

ВЫВОДЫ

1. Половые гормоны не обладают явным программирующим эффектом на моноциты и макрофаги, поскольку женские и мужские клетки не различаются по исходному содержанию внутриклеточного холестерина, а также по способности накапливать холестерин. При этом имеется выраженный регуляторный эффект на моноциты и макрофаги, поскольку эстрадиол и дигидротестостерон подавляют накопление внутриклеточного холестерина в мужских и женских клетках.
2. Половые гормоны оказывают влияние на клеточную активность, непосредственно усиливая фагоцитарную активность клеток. При этом фагоцитарная активность клетки не является механизмом, опосредующим способность половых гормонов влиять на процесс внутриклеточного накопления холестерина.
3. Морфометрически определяемые гендерные различия артериальной стенки обусловлены преимущественно изменениями протеогликанового слоя, который является основой для развития начальный атеросклеротических поражений.
4. В возрасте от 40 до 70 лет ТИМ (толщина интимы меди) у мужчин больше чем у женщин, а после 70 лет, эти различия нивелируются из-за ускорения прогрессирования атеросклероза у женщин, начиная с 58 летнего возраста.
5. Атеросклероз прогрессирует с неравномерной скоростью, как у мужчин, так и у женщин; имеются возрастные периоды с разной скоростью прогрессирования. У женщин период наиболее активного прогрессирования атеросклероза начинается на 8 лет позже, чем у мужчин, и связан с наступлением периода поздней менопаузы.
6. Ультразвуковые характеристики каротидного атеросклероза обладают высокой клинической значимостью в отношении проявлений ранней

неврологической симптоматики у мужчин и женщин. Существует корреляционная зависимость между прямыми показателями атеросклероза и показателей неврологического статуса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Андреева Е.Р., Михайлова И.А., Пугач И.М., Орехов А.Н. Клеточный состав атеросклеротических поражений аорты человека. // Ангиол. и сосуд. хир.-1999.-Т.5 (прил.). - С.6-26.
- 2 Андреева Е.Р., Тертов В.В., Мухин Д.Н., Орехов А.Н. Клеточный состав и биохимические особенности аорты человека. // Бюлл. ВКНЦ АМН СССР.-1985.-Т.8.-С.63-71.
- 3 Андреева Е.Р., Тертов В.В., Орехов А.Н. Усиление пролиферативной активности клеток интимы аорты человека при накоплении внутриклеточного холестерина. // Цитология.-1989.-Т.31.-С.1092-1094.
- 4 Аничков Н.Н. Частная патологическая анатомия. М.-Л., Медгиз, 1947. Geer J.C., Haust M.D. Smooth muscle cells in atherosclerosis. Basel, Karger, 1972
- 5 Орехов А.Н., Андреева Е.Р. Клеточные механизмы атеросклероза: роль субэндотелиальных клеток интимы. // Ангиол. и сосуд. хир.-1999.-Т.5 (прил.).-С.96-136.
- 6 Смирнов А.Н. Гормональные механизмы половой дифференцировки печени: современные представления и проблемы. // Онтогенез.- 2009.-Т.40.-№ 5.-С. 334-354.
- 7 Хавкин Т.Н. О развитии атеросклеротических изменений аорты человека. // Арх. патол.-1950.-Т.12.-С.23-33.
- 8 Andreeva E. R., Orekhov A.N., Smirnov V.N. (Андреева Е.Р., Орехов А.Н., Смирнов В.Н.). Quantitative estimation of lipid-laden cells in atherosclerotic lesions of the human aorta. // Acta Anat. (Basel).-1991.-V.141.-№4.-P.316-323.
- 9 Krushinsky A.V., Orekhov A.N., Smirnov V.N. (Крушинский А.В., Орехов А.Н., Смирнов В.Н.). Stellate cells in the intima of human aorta. Application of alkaline dissociation method in the analysis of the vessel wall cellular content. // Acta Anat. (Basel).-1983.-V.117.-№3.-P.266-269.

- 10 Orekhov A.N., Andreeva E.R., Krushinsky A.V., Novikov I.D., Tertov V.V., Nestaiko G.V., Khashimov Kh.A., Repin V.S., Smirnov V.N. (Орехов А.Н., Андреева Е.Р., Крушинский А.В., Новиков И.Д., Тертов В.В., Нестайко Г.В., Хашимов Х.А., Репин В.С., Смирнов В.Н.). Intimal cells and atherosclerosis. Relationship between the number of intimal cells and major manifestations of atherosclerosis in the human aorta. // Am. J. Pathol.-1986.-V.125.-№2.-P.402-415.
- 11 Orekhov A.N., Andreeva E.R., Krushinsky A.V., Smirnov V.N. (Орехов А.Н., Андреева Е.Р., Крушинский А.В., Смирнов В.Н.). Primary cultures of enzyme-isolated cells from normal and atherosclerotic human aorta. // Med. Biol.-1984.-V.62.-№4.-P.255-259.
- 12 Orekhov A.N., Andreeva E.R., Mikhailova I.A., Gordon D. (Орехов А.Н., Андреева Е.Р., Михайлова И.А., Гордон Д.). Cell proliferation in normal and atherosclerotic human aorta: proliferative splash in lipid-rich lesions. // Atherosclerosis.-1998.-V.139.-№1.-P.41-48.
- 13 Orekhov A.N., Andreeva E.R., Tertov V.V. (Орехов А.Н., Андреева Е.Р., Тертов В.В.). The distribution of cells and chemical components in the intima of human aorta. // Soc. Med. Rev. A Cardiol.-1987.-V.1.-P.75-100.
- 14 Orekhov A.N., Karpova I.I., Tertov V.V., Rudchenko S.A., Andreeva E.R., Krushinsky A.V., Smirnov V.N. (Орехов А.Н., Карпова И.И., Тертов В.В., Рудченко С.А., Андреева Е.Р., Крушинский А.В., Смирнов В.Н.). Cellular composition of atherosclerotic and uninvolved human aortic subendothelial intima. Light-microscopic study of dissociated aortic cells. // Am. J. Pathol.-1984.-V.115.-№1.-P.17-24.
- 15 Orekhov A.N., Misharin A.Y., Tertov V.V., Khashimov Kh.A., Pokrovsky S.N., Repin V.S., Smirnov V.N. (Орехов А.Н., Мишарин А.Ю., Тертов В.В., Хашимов Х.А., Покровский С.Н., Репин В.С., Смирнов В.Н.). Artificial HDL as an anti-atherosclerotic drug. // Lancet.-1984.-V.2.-№8412.-P.1149-1150.
- 16 Shekhonin BV., Domogatskii SP., Muzykantov VR., Idelson GL., Rukosuev VS. (Шехонин Б.В., Домогатский С.П., Музыкантов В.Р., Идельсон Г.Л.,

- Рукосев Б.С.). Distribution of type I, III, IV and V collagen in normal and atherosclerotic human arterial wall: immunomorphological characteristics. // Coll. Relat. Res.-1985.-V.5.-P.355-368.
- 17 Tertov V.V., Orekhov A.N. (Тертов В.В., Орехов А.Н.). Metabolism of native and naturally occurring multiple modified low density lipoprotein in smooth muscle cells of human aortic intima. // Exp. Mol. Pathol.-1997.-V.64.-№3.-P.127-145.
- 18 Tertov VV, Sobenin IA, Gabbasov ZA, Popov EG, Jakkola O, Solakivi T, Nikkari T, Smirnov VN, Orekhov AN. Multiple-modified desialylated low-density lipoproteins that cause intracellular lipid accumulation. Isolation, fractionation and characterization. Laboratory Investigations. –1992. –V. 67. –P. 665-675.
- 19 Adams MR, Register TC, Golden DL, Wagner JD, Williams JK. Medroxyprogesterone acetate antagonizes inhibitory effects of conjugated equine estrogens on coronary artery atherosclerosis. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.-1997.-V.17.-P.217–221.
- 20 American Heart Association. Heart disease and stroke statistics - 2003 Update. Dallas, American Heart Association, 2002.
- 21 Asmis R and Jelk J, Large variations in human foam cell formation in individuals: a fully autologous in vitro assay based on the quantitative analysis of cellular neutral lipids. // Atherosclerosis. -2000. –V. 148. - P. 243-253.
- 22 Asmis R, Begley JG, Jelk J, and Everson WV, Lipoprotein aggregation protects human monocyte-derived macrophages from OxLDL-induced cytotoxicity. // J.Lipid Res. -2005. –V. 46. - P. 1124-1132.
- 23 Assmann G., Schulte H., Cullen P. New and classical risk factors - the Muenster heart study (PROCAM). // Eur. J. Med. Res.-1997.-V.2.-№6.-P.237-242.
- 24 Barrett-Connor E, Grady D. Hormone replacement therapy, heart disease, and other considerations. // Annu. Rev. Public Health.-1998.-V. 19.-P.55–72.
- 25 Barter P.J., Brewer H.B., Jr., Chapman M.J., Hennekens C.H., Rader D.J., Tall A.R. Cholesteryl ester transfer protein: a novel target for raising HDL and

- inhibiting atherosclerosis. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.-2003.-V.23.-№2.-P.160-167.
- 26 Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. // N. Engl. J. Med.-1998.-V.338.-P.1650-1656.
- 27 Böhma B, Hartmannb K, Buckb M, Oberhofferac R. Sex differences of carotid intima-media thickness in healthy children and adolescents. // Atherosclerosis – 2009.-V. 206(2).-P.458-463.
- 28 Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam study. // Circulation- 1997.-V. 96(5).-P.1432-1437.
- 29 Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. // Annu. Rev. Biochem. -1983. –V. 52. - P. 223-261.
- 30 Carroll JS, Brown M. Estrogen receptor target gene: an evolving concept. // Mol. Endocrinol.-2006.-V.20.-P.1707-1714.
- 31 Chambless L.E., Heiss G., Folsom A.R., Rosamond W., Szklo M., Sharrett A.R., Clegg L.X. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study, 1987–1993.// Am. J. Epidemiol.-1997.-V.146.-P.483–494.
- 32 Chambless LE, Folsom AR, Cleqq LX, Sharrett AR, Shahar E, Nieto FJ, Rosamon WD, Evans G. Carotid wall thickness is predictive of incident clinical stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. // Am. J. Epidemiol. – 2000.-V. 151(5).-P.478-487.
- 33 Chang T.Y., Chang C.C.Y., Cadigan K.M. The structure of acyl coenzyme A-cholesterol acyltransferase and its potential relevance to atherosclerosis. // Trends Cardiovasc. Med.-1994.-V.4.-№5.-P.223-230.

- 34 Chao FF, Blanchette-Mackie EJ, Chen YJ, Dickens BF, Berlin E, Amende LM, Skarlatos SI, Gamble W, Resau JH, Mergner WT, et al. Characterization of two unique cholesterol-rich lipid particles isolated from human atherosclerotic lesions. // Am. J. Pathol. -1990. -V. 136. - P. 169-179.
- 35 Chung P.W., Park K.Y., Moon H.S., Kim Y.B., Youn Y.C., Byun J.S., Kwon O.S. Intracranial Internal Carotid Artery Calcification: A Representative for Cerebral Artery Calcification and Association with White Matter Hyperintensities. // Cerebrovascular Diseases-2010.-V.30.-P.65-71.
- 36 Crouse JR, III, Raichlen JS, Riley WA, et al. METEOR Study Group. Effect of Rosuvastatin on progression of carotid intima-media thickness in low-risk individuals with subclinical atherosclerosis: the METEOR trial. // JAMA- 2007.- V.297.-P.1344–1353.
- 37 D'Agostino R.B., Burke G., O'Leary D., Rewers M., Selby J., Savage P.J., Saad M.F., Bergman R.N., Howard G., Wagenknecht L., Haffner S.M. Ethnic differences in carotid wall thickness: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. // Stroke -1996.-V.27.-P.1744 –1749.
- 38 De Rijke Y.B., Biessen E.A.L., Vogelezang C.J.M., van Berkel T.J.C. Binding characteristics of scavenger receptors on liver endothelial and Kupffer cells for modified low-density lipoproteins. // Biochem. J.-1994.-V.304.-P.69-73.
- 39 Deshpande R, Khalili H, Pergolizzi RG, Michael SD, Chang MD. Estradiol down-regulates LPS-induced cytokine production and NFkB activation in murine macrophages. // Am. J. Reprod. Immunol.-1997.-V. 38(1).-P.46-54.
- 40 Dubey RK, Gillespie DG, Imthurn B, Rosselli M, Jackson EK, and Keller PJ. Phytoestrogens inhibit growth and MAP kinase activity in human aortic smooth muscle cells. // Hypertension.-1999.-V.33.-P.177–182.
- 41 Endemann G, Stanton LW, Madden KS, Bryant CM, White RT, and Protter AA, CD36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein // . J.Biol.Chem. - 1993. – V. 268. – P. 11811-11816.

- 42 Eva Stensland-Bugge *, Kaare H. Bønaa. Oddmund Joakimsen Age and sex differences in the relationship between inherited and lifestyle risk factors and subclinical carotid atherosclerosis: the Tromsø study. // Atherosclerosis.- 2001.- V.-154.-P.437–448.
- 43 Fluiter K., Van Der Westhuijzen D.R., Van Berkel T.J. In vivo regulation of scavenger receptor BI and the selective uptake of high density lipoprotein cholesteryl esters in rat liver parenchymal and Kupffer cells. // J. Biol. Chem.- 1998.-V.273.-P.8434–8438.
- 44 Fogelman AM, Shechter I, Seager J, Hokom M, Child JS and Edwards PA. Malondialdehyde Alteration of Low Density Lipoproteins Leads to Cholesteryl Ester Accumulation in Human Monocyte-Macrophages. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. -1980. – V. 77. – P. 2214 - 2218.
- 45 Fujioka Y., Taniguchi T., Ishikawa Y., Yokoyama M. Significance of acidic sugar chains of apolipoprotein B-100 in cellular metabolism of low-density lipoproteins. // J. Lab. Clin. Med.-2000.-V.136.-№5.-P.355-362.
function in macrophage activation and cholesterol homeostasis. // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. - 2002. - V.81. - P. 203–216.
- 46 Geer JC, Haust MD. Smooth muscle cells in atherosclerosis. Basel, Karger, 1972
- 47 Geroulakos GO, Gorman DJ, Kalodiki E, Sheridan DJ, NicolaidesAN. The carotid intima-media thickness as a marker of the presence ofsevere symptomatic coronary artery disease. // Eur. Heart J.- 1994.-V.15.-P.781–785.
- 48 Goldstein JL and Brown MS. The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. // Annu Rev Biochem. -1977. – V. 46. – P. 897–930.
- 49 Goldstein JL, Ho YK, Basu SK, and Brown MS. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. // Proc Natl Acad Sci USA -1979. – V. 76. – P. 333–337.

- 50 Guo Z, Benten WP, Krücken J, Wunderlich F. Nongenomic testosterone calcium signaling. Genotropic actions in androgen receptor-free macrophages. // J. Biol. Chem.-2002.-V.277(33).-P. 2960-7.
- 51 Haberland ME, Fogelman AM. The role of altered lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis. // Amer. Heart J. -1987. – V. 259. – P. 11305-11311.
- 52 Haberland ME, Fong D, Chen L. Maalondialdehyde-altered protein in atheroma of Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. // Science. -1988. – V. 241. – P. 215-218.
- 53 Hakala, J. K., K. Oorni, K., M. Ala-Korpela, and P. T. Kovanen..Lipolytic modification of LDL by phospholipase A2 induces particlegregation in the absence and function in the presence of heparin.// Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. -1999. – V. 19. – P. 1276 –1283
- 54 Hara A, Radin NS. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. // Anal. Biochem.-1978.-V.90.-№1.-P.420-426.
- 55 Harman SM. Testosterone in older men after the Institute of Medicine Report: where do we go from here? // Climacteric.-2005.-V.8(2).-P.124-35.
- 56 Heiss G, Sharett AR, Barnes R, Chambles LE, Szklo M, Alzola C, and the ARIC Investigators. Carotid atherosclerosis measured by B-mode ultrasound in populations: association with cardiovascular risk factors in the ARIC study. // Am. J. Epidemiol.-1991.-V.134.-P.250–256.
- 57 Held C, Hjedahl P, Eriksson SV, Bjorkander I, Forslund L, Rehnquist N. Prognostic implications of intima-media thickness and plaques in the carotid and femoral arteries in patients with stable angina pectoris. // Eur. Heart J.- 2001.- V.22.-P.11–14.
- 58 Higashiura K, Mathur RS, and Halushka PV. Gender-related differences in androgen regulation of thromboxane A2 receptors in rat aortic smooth-muscle cells. // J. Cardiovasc. Pharmacol.-1997.-V.29.-P.311–315.

- 59 Hofman A, Grobbee DE, de Jong PTVM, van den Ouweland FA. Determinants of disease and disability in the elderly: the Rotterdam Elderly Study. // Eur. J. Epidemiol.-1991.-V.7.-P.403-22.
- 60 Howard G., Sharrett A., Heiss G., Evans G.W., Chambliss L.E., Riley W.A., Burke G.L. Carotid artery intimal-medial thickness distribution in general populations as evaluated by B-mode ultrasound. // Stroke – 1993.-V. 24.-P.1297–1304.
- 61 Hsieh, Y.C, Frink, M., Thobe, B.M. 17Beta-estradiol downregulates Kupffer cell TLR4-dependent p38 MAPK pathway and normalizes inflammatory cytokine production following trauma-hemorrhage. // Mol. Immunol.-2007. - V. 44 - P. 2165–2172.
- 62 Hulley S, Grady D, Bush T, et al. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. // JAMA.-1998.-V. 280.-P.605– 613.
- 63 Ishizu T, Ishimitsu T, Yanagi H. Effect of age on carotid arterial intima-media thickness in childhood. // Heart Vessels.-2004.-V.19(4).-P.189-95.
- 64 Julia M. Orshal and Raouf A. Khalill. Gender, sex hormones, and vascular tone. // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.-2004.-V.286.-P.R233–R249.
- 65 Kablak-Ziembicka A, Przewlocki T, Tracz W, Pieniazek P, Musialek P and Sokolowski A. Gender Differences in Carotid Intima-Media Thickness in Patients With Suspected Coronary Artery Disease. // Am. J. Cardiol.-2005.-V.96.-P.1217–1222.
- 66 Khoo JC, Miller E, McLoughlin P and Steinberg B. Prevention of low-density lipoprotein aggregation by high density lipoprotein or apolipoprotein A-I. // J. Lipid Res. -1990. – V. 31. – P. 645-652.
- 67 Kiyoshi M. Gender-Related Association of Serum Uric Acid and Left Ventricular Hypertrophy in Hypertension. // Circulation Journal -2006.-V.70.-P. 885-888.

- 68 Kramer PR, Wray S. 17-Beta-estradiol regulates expression of genes that function in macrophage activation and cholesterol homeostasis. // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. - 2002. - V.81. - P. 203–216.
- 69 Labiche LA, Chan W, Saldin KR, Morgenstern LB. Sex and acute stroke presentation. // Ann. Emerg. Med.-2002.-V.40.-P.453–460.
- 70 Lakoski S.G., Greenland P., Wong N.D., Schreiner P.J., Herrington D.M., Kronmal R.A., Liu K., Blumenthal R.S. Coronary Artery Calcium Scores and Risk for Cardiovascular Events in Women Classified as “Low Risk” Based on Framingham Risk Score. // Arch. Intern. Med.-2007.-V.167.-P.2437-2442.
- 71 Langer C, Gansz B, Goepfert C, Engel T, Uehara Y, von Dehn G, Jansen H, Assmann G, von Eckardstein A. Testosterone up-regulates scavenger receptor BI and stimulates cholesterol efflux from macrophages. // Biochemical and Biophysical Research Communications.-2002.-V.296.-P.1051–1057.
- 72 Lassila HC, Sutton-Tyrrell K, Matthews KA, Wolfson SK, Kuller HL. Prevalence and determinants of carotid atherosclerosis in healthy postmenopausal women. // Stroke.-1997.-V.28.-P.513–517.
- 73 Le Goff W., Guerin M., Chapman M.J. Pharmacological modulation of cholesteryl ester transfer protein, a new therapeutic target in atherogenic dyslipidemia. // Pharmacol. Ther.-2004.-V.101.-№1.-P.17-38.
- 74 Leslee J. S., Bairey Merz, C. N., Pepine C. J. at. Insights from the NHLBI Sponsored Women’s Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) Study. // J. Am. Coll. Cardiol.- 2006.-V.47;S4-S20.
- 75 Llorente-Cortes V, Martinez-Gonzalez J, and Badimon L, LDL receptor-related protein mediates uptake of aggregated LDL in human vascular smooth muscle cells. // Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol. -2000. –V. 20. –P. 1572-1579.
- 76 Lloyd-Jones D.M., Wilson P.W., Larson M.G., Beiser A., Leip E.P., D'Agostino R.B., Levy D. Framingham risk score and prediction of lifetime risk for coronary heart disease. // Am. J. Cardiol.-2004.-V.94.-№1.-P.20-24.

- 77 Lopes-Virella MF, Klein RL, Lyons TJ, Stevenson HC and Witztum JL. Glycosylation of low-density lipoprotein enhances cholestryl ester synthesis in human monocyte-derived macrophages. // Diabetes. -1988. -V.37. -P.550-555
- 78 Lopez D, Sanchez MD, Shea-Eaton W, McLean MP. Estrogen activates the high-density lipoprotein receptor gene via binding to estrogen response elements and interaction with sterol regulatory element binding protein-1A. // Endocrinology.-2002.-V.143(6).-P.2155-68.
- 79 Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall BJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. // J. Biol. Chem.-1951.-V.193.-P.265-275.
- 80 Mahley R.W., Innerarity T.L., Rall S.C., Weisgraber K.H. Plasma lipoproteins: apolipoprotein strucrure and function. // J Lipid Res.-1984.-V.25.-P.1277-1294.
- 81 Malkin, CJ, Pugh PJ, Jones RD, Jones TH, Channer KS. Testosterone as a protective factor against atherosclerosis--immunomodulation and influence upon plaque development and stability. // J. Endocrinol.-2003.-V.178(3).-P.373-80.
- 82 Maor, I., and M. Aviram. Macrophage released proteoglycans areinvolved in cell-mediated aggregation of LDL. // Atherosclerosis. -1999. -V.42. -P.57-66
- 83 McCrohon JA, Death AK, Nakhla S, Jessup W, Handelsman DJ, Stanley KK, Celermajer DS. Androgen receptor expression is greater in macrophages from male than from female donors. A sex difference with implications for atherogenesis. // Circulation.-2000.-V.101(3).-P.224-6.
- 84 McCrohon JA, Nakhla S, Jessup W, Stanley KK, Celermajer DS. Estrogen and progesterone reduce lipid accumulation in human monocyte-derived macrophages: a sex-specific effect. // Circulation.-1999.-V.100(23).-P.2319-25.
- 85 McCullagh K.G., Duance V.C., Bishop K.A. The distribution of collagen types I, III and V(AB) in normal and atherosclerotic human aorta. // J. Pathol.-1980.-V.130.-P.45-55.
- 86 McGill HC, Herderick EE, McMahan CA, Zieske AW, Malcolm GT, Tracy RE. Strong J.P. Atherosclerosis in youth. // Minerva Pediatr.-2002.-V.54.-№5.-P.437-447.

- 87 Mendelsohn ME. Genomic and nongenomic effects of estrogen in the vasculature. // Am. J. Cardiol.-2002.-V.90.-P.3F-6F.
- 88 Min J.K., Lin F.Y., Gidseg D.S., Weinsaft J.W, Berman D.S., Shaw L.J., Rozanski A., Callister T.Q. Determinants of Coronary Calcium Conversion among Patients with a Normal Coronary Calcium Scan: What is the "Warranty Period" for Remaining Normal?// J. Am. Coll. Cardiol.- 2010.-V.-55.-P.1110-1117.
- 89 Movat H.Z., More R.H., Haust M.D. The diffuse intimal thickening of the human aorta with aging. // Am. J. Pathol.-1958.-V.34.-P.1023-1031.
- 90 Niewada M, Kobayashi A, Sandercock PA, Kaminski B, Czlonkowska A. Influence of gender on baseline features and clinical outcomes among 17,370 patients with confirmed ischaemic stroke in the international stroke trial. // Neuroepidemiology.-2005.-V.24.-P.123-128.
- 91 O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, et al. Distribution and correlates of sonographically detected carotid artery disease in the Cardiovascular Health Study. // Stroke.-1992.-V.23.-P.1752-60.
- 92 O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, et al. Thickening of the carotid wall: a marker for atherosclerosis in the elderly? // Stroke.-1996.-V.27.-P.224-31.
- 93 O'Leary DH, Polak JF, Wolfson SK Jr, et al. Use of sonography to evaluate carotid atherosclerosis in the elderly: the Cardiovascular Health Study. // Stroke.-1991.-V.22.-P.1155-63.
- 94 Odell PM, Anderson KM, Kannel WB. New models for predicting cardiovascular events. // J. Clin. Epidemiol.- 1994.-V. 47(6).-P.583-592.
- 95 Persson J., Formgren J., Israelsson B., Berglund G. Ultrasound-Determined Intima-Media Thickness and Atherosclerosis Direct and Indirect Validation. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.- 1994.-V.14.-P.261-264.
- 96 Picello, E., P. Pizzo, and F. Di Virgilio. Chelation of cytoplasmic Ca²⁺ increases plasma membrane permeability in murine macrophages. // J. Biol. Chem.-1990.-V.265(10).-P.5635-9.

- 97 Pignoli P., Tremoli E., Poli A., Oreste P., Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. // Circulation – 1986.-V.74.-P.1399-1406.
- 98 Priest CA, Roberts JL. Estrogen and tamoxifen differentially regulate beta-endorphin and cFos expression and neuronal colocalization in the arcuate nucleus of the rat. // Neuroendocrinology.-2000.-V.72.-P.293–305.
- 99 Qiu Y, Yanase T, Hu H, Tanaka T, Nishi Y, Liu M, Sueishi K, Sawamura T, Nawata H. Dihydrotestosterone Suppresses Foam Cell Formation and Attenuates Atherosclerosis Development. // Endocrinology.- 2010.-V.151(7).-P.3307-3316.
- 100 Raggi P., Shaw L.J., Berman D.S., Callister T.Q. Gender-based differences in the prognostic value of coronary calcification. // J. Womens Health- 2004.-V.13.-P.273-83.
- 101 Ridker P.M., Buring J. E., Shih J., Matias M., Hennekens C. H. Prospective Study of C-Reactive Protein and the Risk of Future Cardiovascular Events Among Apparently Healthy Women. // Circulation.-1998.-V.98.-P.731-733
- 102 Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM Jr, Kastelein JJ, Koenig W, Libby P, Lorenzatti AJ, MacFadyen JG, Nordestgaard BG, Shepherd J, Willerson JT, Glynn RJ; JUPITER Study Group. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. // N. Engl. J. Med.- 2008.-V.359(21).-P.2195-207.
- 103 Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai M. Novel risk factors for systematic atherosclerosis: A comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. JAMA -2001.-V. 285.-P.2481-2485.
- 104 Rosamond W, Flegal K, Friday G, Furie K, Go A, Greenlund K, Haase N, Ho M, Howard V, Kissela B, Kittner S, Lloyd-Jones D, McDermott M, Meigs J, Moy C, Nichol G, O'Donnell CJ, Roger V, Rumsfeld J, Sorlie P, Steinberger J, Thom T, Wasserthiel-Smoller S, Hong Y. Heart disease and stroke statistics – 2007

- update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. // Circulation 2007.-V.115.-P.e169–e171.
- 105 Rubanyi GM, Freay AD, Kauser K, Sukovich D, Burton G, Lubahn DB, Couse JF, Curtis SW, and Korach KS. Vascular estrogen receptors and endothelium-derived nitric oxide production in the mouse aorta. Gender difference and effect of estrogen receptor gene disruption. // J. Clin. Invest.-1997.-V.99.-P.2429–2437.
- 106 Salonen R, Nyysönen K, Porkkala E, Rummukainen J, Belder R, Park JS, Salonen JT. Kuopio Atherosclerosis Prevention Study (KAPS). A population-based primary preventive trial of the effect of LDL lowering on atherosclerotic progression in carotid and femoral arteries. // Circulation.-1995.-V.92.-№7.-P.1758–1764.
- 107 Scariano JK, Emery-Cohen AJ, Pickett GG, Morgan M, Simons PC, Alba F. Estrogen Receptors Alpha (ESR1) and Beta (ESR2) Are Expressed in Circulating Human Lymphocytes. // Journal of Receptors and Signal Transduction.-2008.-V.28.-P.285–293.
- 108 Schonfelder M. Ortologie und patologie der Langhans-zellen der aortenintima des menschen. // Patol. Microbiol.-1969.-V.33.-P.129–145.
- 109 Srivastava RAK. Scavenger receptor class B type I expression in murine brain and regulation by estrogen and dietary cholesterol. // Journal of the Neurological Sciences.-2003.-V.210.-P.11–18.
- 110 St Clair RW. Effects of estrogens on macrophage foam cells: a potential target for the protective effects of estrogens on atherosclerosis. // Curr. Opin. Lipidol.-1997.-V.8(5).-P.281–6.
- 111 Stary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schaffer SA, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. // Circulation- 1994.-V.89(5).-P.2462–78.

- 112 Stein J.H., Korcarz C.E., Hurst R.T., Lonn E., Kendall C.B., Mohler E.R., Najjar S.S., Rembold C.M., Post W.S.; American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness TaskForce. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. // *J. Am. Soc. Echocardiogr.* - 2008.-V.21.-P.93–111.
- 113 Stein M, Keshav S, Harris N, Gordon S. Interleukin 4 potently enhances murine macrophage mannose receptor activity: a marker of alternative immunologic macrophage activation. // *J. Exp. Med.*-1992.-V.176.-P.287–92.
- 114 Stensland-Bugge E, Bonaa KH, Joakimsen O, Njolstad I. Sex differences in the relationship of risk factors to subclinical atherosclerosis measured 15 years later. The Tromso Study. // *Stroke.*-2000.-V.31.-P.574 –581.
- 115 Stevenson J. The metabolic and cardiovascular consequences of hormone replacement therapy. // *Br. J. Clin. Pract.*-1995.-V.49.-P.87–90.
- 116 Sulistiyan, St Clair RW. Effect of 17 beta-estradiol on metabolism of acetylated low-density lipoprotein by THP-1 macrophages in culture. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*-1997.-V.17(9).-P.1691-700.
- 117 Sun Y, Lin CH, Lu CJ, Yip PK, Chen RC. Carotid atherosclerosis, intima media thickness and risk factors—an analysis of 1781 asymptomatic subjects in Taiwan. // *Atherosclerosis.*-2002.-V.164.-P.89 –94.
- 118 Sutton-Tyrrell K, Lassila HC, Meilahn E, Bunker C, Matthews KA, Kuller LH. Carotid atherosclerosis in premenopausal and postmenopausal women and its association with risk factors measured after menopause. // *Stroke.*-1998.-V.29.-P.1116 –1121.
- 119 Taskinen MR, Puolakka J, Pyorala T, Luotola H, Bjaorn M, Kaarianen J et al. Hormone replacement therapy lowers plasma Lp(a) concentrations. Comparison of cyclic transdermal and continuous estrogen/progestin regimens. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*-1996.-V.16.-P.1215–21.

- 120 The Writing Group for the PEPI Trial. Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factors in postmenopausal women. The Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Trial. // JAMA.-1995.-V. 273.-P.199 –208.
- 121 Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Mahonen M, Tolonen H, Ruokokoski E, Amouyel P. Contribution of trends in survival and coronary event rates to changes in coronary heart disease mortality: 10-year results from 37 WHO MONICA project populations. Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease. // Lancet- 1999/-V.353(9164).-P.1547-1557.
- 122 Tuzcu EM, Kapadia SR, Tutar E. High prevalence of coronary atherosclerosis in asymptomatic teenagers and young adults: evidence from intravascular ultrasound. // Circulation.-2001.-V.103.-P.2705-2710.
- 123 Urbina E.M., Srinivasan S.R., Tang R., Bond M.G., Kieltyka L., Berenson G.S. Impact of multiple coronary risk factors on the intima-media thickness of different segments of carotid artery in healthy young adults (the Bogalusa Heart Study). // Am. J. Cardiol.- 2002.-V. 90.-P.953–958.
- 124 Van Berkel T.J.C., Fluiter K., van Velzen A.G., Vogelegen C.J., Ziere G.J. LDL receptor-independent and -dependent uptake of lipoproteins. // Atherosclerosis.-1995.-V.118 Suppl.-P.S43-S50.
- 125 Villablanca A, Lubahn D, Shelby L, Lloyd K, Barthold S. Susceptibility to early atherosclerosis in male mice is mediated by estrogen receptor alpha. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2004. – V. 24. - P. 1055-1061.
- 126 Weisgraber K.H., Innerarity T.L., Rall S.C., Jr., Mahley R.W. Receptor interactions controlling lipoprotein metabolism. // Can. J. Biochem. Cell Biol.- 1985.-V.63.-№8.-P.898-905.
- 127 Whitsel EA, Boyko EJ, Matsumoto AM, Anawalt BD, Siscovick DS. Intramuscular testosterone esters and plasma lipids in hypogonadal men: a meta-analysis. // Am. J. Med.-2001.-V.111(4).-P.261-9.

- 128 Wingard DL, Suarez L, Barrett-Connor E. The sex-differential in mortality from all causes and ischemic heart disease. // Am. J. Epidemiol. – 1983.-V.117.-P.165-172.
- 129 Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and Benefits of Estrogen Plus Progestin in Healthy Postmenopausal Women. // JAMA.- 2002.-V. 288(3).-P.321-333.
- 130 Wu FC, von Eckardstein A. Androgens and coronary artery disease. // Endocr. Rev.-2003.-V.24(2).-P.183-217.
- 131 Xu, X. X., and I. Tablas. Sphingomyelinase enhances low densitylipoprotein uptake and ability to induce cholesterol ester accumulation in macrophages. // J. Biol. Chem. –1991. –V. 266. –P.24849 –24858



MoreBooks!
publishing



yes i want morebooks!

Покупайте Ваши книги быстро и без посредников он-лайн – в одном из самых быстрорастущих книжных он-лайн магазинов! окружающей среде благодаря технологии Печати-на-Заказ.

Покупайте Ваши книги на
www.more-books.ru

Buy your books fast and straightforward online - at one of world's fastest growing online book stores! Environmentally sound due to Print-on-Demand technologies.

Buy your books online at
www.get-morebooks.com



VDM Verlagsservicegesellschaft mbH

Heinrich-Böcking-Str. 6-8
D - 66121 Saarbrücken

Telefon: +49 681 3720 174
Telefax: +49 681 3720 1749

info@vdm-vsg.de
www.vdm-vsg.de

