

УДК 612+57.042+57.043+574.24

Н.Г. КРУЧИНСКИЙ, Н.В. АКУЛИЧ

ПАТОГЕНЕЗ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА: РОЛЬ ТРОМБОЦИТАРНОГО И ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРОВ РОСТА

Атеросклероз – многофакторное заболевание, ограниченное участками артерий с преобладанием ответвлений и бифуркаций. Характеризуется экспрессией проатерогенных генов, представляющих дополнительный фактор риска атерогенеза, наряду с гиперхолестеринемией, гомоцистенемией, оксидативным стрессом и гипергликемией. С их изучением связан прогресс в понимании роли биохимии и физиологии иммуно- и ангиоцитов. Наряду с этими факторами – новой областью в исследовании патогенеза атеросклероза являются факторы роста. В экспериментах in vitro выявлены обратимые время- и дозозависимые реакции хроматина лимфоцитов периферической крови на введение экзогенного $TGF_{\beta 1}$ и PDGF у больных атеросклерозом. Полученные данные имеют прикладное значение в понимании механизмов атерогенеза.

Введение

В настоящее время достигнуты определенные успехи в изучении механизмов патогенеза атеросклероза и его осложнений – ишемической болезни сердца (ИБС). Так, в многочисленных руководствах и учебниках причиной ИБС называется уменьшение или полное прекращение доставки крови к миокарду в связи с атеросклеротическим процессом в коронарных артериях, что нарушает равновесие между коронарным кровотоком и потребностями миокарда в кислороде [5; 13; 16; 17; 20].

Известно, что атеросклеротический процесс чаще всего поражает переднюю нисходящую (межжелудочковую) ветвь левой коронарной артерии, затем огибающую ветвь левой коронарной артерии и правую коронарную артерию. По мере прогрессирования атеросклероз поражает две и более ветви коронарных артерий, причем наиболее характерно повреждение преимущественно проксимальных отделов. По данным [13], атеросклеротические поражения чаще всего располагаются на расстоянии первых 6 см от устья коронарных артерий.

Коронарография у больных ишемической болезнью сердца выявляет множественные поражения коронарных артерий (три, четыре, пять крупных коронарных ветвей). При наличии у больного выраженной клинической картины ИБС имеется обычно стенозирующий коронарный атеросклероз с сужением просвета коронарной артерии на 75% и более. У больных с безболевогой формой ИБС при помощи коронарографии обычно определяются атеросклеротические изменения в одной коронарной артерии [13].

* Выпускник факультета физического воспитания 1993 г.

Показано [17], что снижение кровотока обусловлено сочетанным стенозом сосуда и дисрегуляцией сосудистого тонуса, обусловленного атеросклеротической дисфункцией эндотелиальных клеток.

Несмотря на то, что до настоящего времени отсутствуют исчерпывающие представления о развитии атеросклеротических поражений, некоторые ключевые этапы его идентифицированы [5; 9; 11; 13; 14; 18; 20; 22]. Атерогенез требует участия клеток сосудистой стенки (эндотелиальных и гладкомышечных), циркулирующих форменных элементов крови (моноциты, тромбоциты) и некоторых цитокинов и факторов роста [14; 18; 20; 22].

Принято считать, что, событием, инициирующим атерогенез, является “повреждение” эндотелия артерии. Существуют различные доказательства этого утверждения. Так, известно, что далеко зашедшие атеросклеротические поражения практически не встречаются на протяжении кровеносного сосуда, но часты в местах ветвления артерий – зоны турбулентности, где существует наибольшая вероятность травмы эндотелия [16; 18].

Нарушение функционирования эндотелиоцитов – ключевое звено действия практически всех факторов атерогенеза. Например, курение повышает уровень циркулирующего монооксида углерода и усугубляет тканевую гипоксию, что может повреждать эндотелий. Высокий уровень ЛНП или низкий ЛВП создают избыток холестерина, доступного для захвата интимой с возможным ее повреждением. Артериальная гипертензия непосредственно увеличивает гемодинамический стресс, испытываемый эндотелием [13; 24].

С другой стороны, недавние исследования продемонстрировали, что наличие структурного повреждения эндотелия не обязательно. Фактически ранние стадии развития атеросклеротического поражения, включая аккумуляцию липидов внутри артериальной стенки и миграцию моноцитов, проходит при интактной поверхности эндотелиальных клеток. Эти ранние сдвиги обусловлены специфическими биохимическими изменениями и клеточными сигнальными путями, а не структурными изменениями эндотелиального слоя [12].

Многие факторы риска, ассоциированные с атеросклерозом (высокий уровень холестерина, ЛНП, курение, гипертензия, диабет) predispose к дисфункции эндотелия. Даже до появления видимых атеросклеротических поражений эта дисфункция может проявляться следующим образом: нарушением барьерной функции эндотелия, изменением его нормальной антитромботической активности, нарушением высвобождения вазоактивных субстанций, что влияет на тонус подлежащих гладкомышечных клеток. Эти нежелательные последствия дисфункции эндотелия лежат в основе последующих событий атерогенеза [12; 24].

Таким образом, основываясь на мультидисциплинарных исследованиях, проведенных на различных объектах, нами выдвинута гипотеза:

результатом дизрегуляции клеточных сигнальных молекул, в частности, ростовых факторов, могут быть различные гиперплазии, например, атеросклероз [1]. Ключевым же фактором ингибиторных путей является – трансформирующий фактор роста в ($TGF\beta$), а тромбоцитарный фактор роста ($PDGF$) – является основным митогеном, высвобождающимся в процессе формирования тромба [2; 7; 23].

Факт влияния некоторых цитокинов, например, трансформирующего фактора роста, на рост гладкомышечных клеток предполагает наличие связи между двумя компонентами атерогенеза: воспалительной реакцией и пролиферацией гладкомышечных клеток в интиме [2].

Способность интерлейкина 1 ($ИЛ\ 1$) и $TGF\beta$ индуцировать аутокринные взаимодействия между тромбоцитарным фактором роста и гладкомышечными клетками с одной стороны, и существованием механизма секреции цитокинов активированными лейкоцитами с другой – может послужить началом длительной активации пролиферации гладкомышечных клеток и как следствие быть причиной атерогенеза [10].

Цель исследования – в условиях *in vitro* оценить влияние трансформирующего и тромбоцитарного факторов роста на структурно-функциональное состояние хроматина ядер лимфоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца.

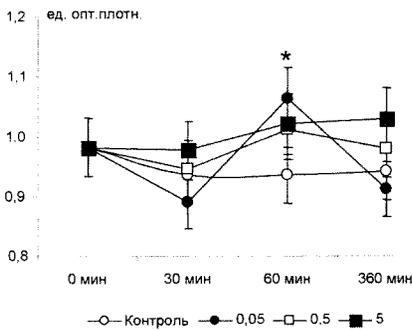
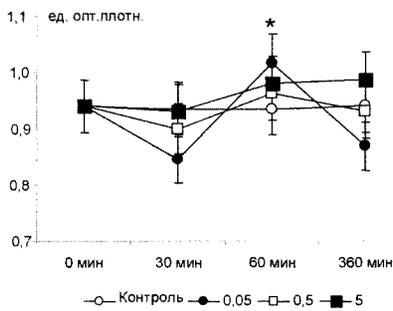
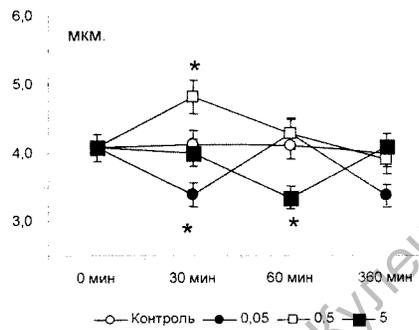
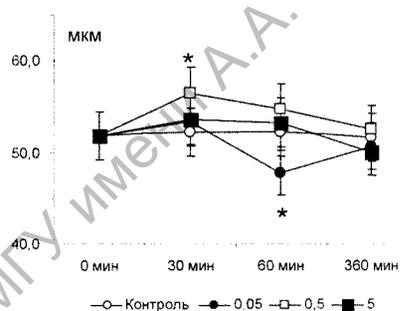
Материалы и методы исследований. Исследования проводились в лаборатории гематологии, гемостазиологии и межклеточных взаимодействий Института экологической и профессиональной патологии, а также в лаборатории экологической физиологии МГУ имени А.А. Кулешова.

В качестве объекта исследования выбраны лимфоциты периферической цельной крови с антикоагулянтом (цитрат натрия, 0,9% в соотношении 1/10) от 23 человек с поражением венечных артерий, стабильной стенокардией напряжения. Диагноз уточнялся с помощью общепринятых клинических, инструментальных и лабораторных тестов.

Контроль – лимфоциты 10 практически здоровых мужчин без признаков атеросклеротического поражения магистральных артерий. Время инкубации при $t=37^\circ\text{C}$ цельной крови с $TGF\beta_1$ и $PDGFAB$ (“Sigma”, США) составляло 360 мин. Результаты исследования получены с помощью морфоденситометрического метода (МДМ), основанного на анализе изображения [4].

Статистический анализ включал в себя методы описательной статистики, анализ распределения данных; сравнение серий экспериментальных исследований проводился с использованием непараметрических методов.

Результаты исследования. При 30-минутной инкубации цельной крови с $TGF\beta_1$ (концентрация 0,05 нг/мл) в контрольной группе снижается активность синтетических процессов в ядрах лимфоцитов, в это же время в основной группе отмечаются все признаки повышения активности хроматина (рисунок).

Г
е
т
е
р
о
х
р
о
м
а
т
и
нЯ
Д
Р
О

Морфоденситометрические параметры хроматина у пациентов с атеросклерозом при инкубации цельной крови с $TGF_{\beta 1}$ (* – $p < 0,05$)

При увеличении времени инкубации до 60 мин. с $TGF_{\beta 1}$ в этой же концентрации наибольшие перестройки у пациентов с атеросклерозом обнаружены в перигранулярной зоне гетерохроматина. В частности, в контрольной группе ее вклад в функциональное состояние хроматина снижается, а в основной – повышается, что, с одной стороны, дополняет результаты настоящего исследования об активации хроматина у больных атеросклерозом, а с другой – вступает в противоречие с литературными данными об иммуносупрессивном влиянии $TGF_{\beta 1}$ при этой патологии [4].

Экзогенный $TGF_{\beta 1}$ в концентрации 0,5 нг/мл вызвал перестройки хроматина лимфоцитов при 30- и 60-минутной инкубации, которые связаны с разрыхлением перигранулярной зоны гетерохроматина по сравнению, как с исходным состоянием, так и с контролем в сочетании с активацией ядра в целом. В контрольной группе не было выявлено значимых изменений МДМ параметров при воздействии $TGF_{\beta 1}$ в концентрации 0,5 нг/мл во всех временных интервалах наблюдения.

$TGF_{\beta 1}$ в концентрации 5,0 нг/мл индуцировал активационную перестройку хроматина лимфоцитов у пациентов с атеросклерозом, тогда как в контрольной группе в ядрах лимфоцитов происходило снижение активационных биосинтетических процессов как в гетеро-, так и в эухроматиновых областях. Обнаруженные реакции хроматина на введение экзогенного $TGF_{\beta 1}$ в различных концентрациях имели обратимый характер и, как правило, структурно-функциональное состояние ядер лимфоцитов

при 360 мин. инкубации в основной и контрольной группах возвращалось к исходным значениям.

При воздействии тромбоцитарного фактора роста в концентрациях 0.5, 5.0 и 10.0 нг/мл согласно схеме проведенного эксперимента интерфазный хроматин лимфоцитов изучался также в трех временных интервалах – 30, 60 и 360 мин.

В опыте с наименьшей (0.5 нг/мл) концентрацией цитокина в основной группе не было выявлено достоверных изменений ядер клеток во всех временных точках.

После получасовой инкубации с PDGF в 10-кратно большей (5.0 нг/мл) концентрации исследованные параметры ядер лимфоцитов изменились: увеличились размеры ($p=0.04$) и снизилась изрезанность ядер ($p=0.04$). Отмечено так же достоверное увеличение суммарной площади перигранулярной компоненты q2 хроматина ($p=0.02$).

Статистически значимых изменений параметров при более длительной инкубации (60 мин.) с данной концентрацией PDGF не обнаружено.

После 6-часовой инкубации по сравнению с исходным состоянием достоверно изменилась лишь контрастность (q4) хроматина, которая выросла в 1.2 раза ($p=0.03$). Также не было обнаружено каких-либо изменений при воздействии PDGF в концентрации 10.0 нг/мл (после 30 мин. инкубации). Более длительное воздействие (60 мин.) вызвало снижение оптической плотности хроматина в отдельных компонентах ядра и ядре в целом, достоверно изменились площадь q2 ($p=0.05$) и q4 ($p=0.03$).

Наиболее выраженный ответ лимфоцитов вызвала 6-часовая инкубация с PDGF в концентрации 10.0 нг/мл. В данной временной точке достоверно увеличились показатели контрастности всех компонент хроматина и ядра в целом.

После проведения анализа параметров хроматина в аналогичном опыте у контрольной группы было выявлено, что ответ лимфоцитов этой группы на воздействие PDGF значительно отличается от такового у пациентов с атеросклерозом. Так, после 30 мин. инкубации с PDGF (0.5 нг/мл) в контрольной группе оптические параметры остались неизменными; лишь доля перигранулярной компоненты в ядре увеличилась с 0.33 ± 0.01 до 0.29 ± 0.01 ($p=0.04$).

Наиболее выраженный ответ клеток на воздействие был зарегистрирован при воздействии PDGF в концентрации 5.0 нг/мл. Причем при инкубации в течение 60 мин. не отмечено достоверных изменений параметров. В то же время кратковременное (30 мин.) и длительное (360 мин.) воздействия данного цитокина на пробы цельной крови в группе контроля вызвали статистически достоверные перестройки интерфазного хроматина. Следует отметить, что в опытной группе подобных изменений не обнаружено.

Следовательно, после получасовой инкубации PDGF в отличие от пациентов с атеросклерозом в контрольной группе наблюдались перестройки как в ядре в целом, так и в гетеро- и эухроматиновых областях.

Прежде всего, в 1.6 раза снизилось отношение гетерохроматина к эухроматину ($p=0.019$). Изменились параметры ядра: увеличилась площадь ($p=0.02$) и периметр ($p=0.03$), снизилась их изрезанность ($p=0.02$), контрастность хроматина, как и оптическая плотность всего ядра достоверно снизились ($p=0.02$ и $p=0.01$, соответственно).

Таким образом, в результате поставленного эксперимента выявлена активация хроматина с перестройками в гетеро- и эухроматиновых областях ядра в контрольной группе после 30-минутного воздействия PDGF в концентрации 5.0 нг/мл.

При 6 часовой инкубации при той же концентрации зарегистрированы обратные изменения хроматина ядер лимфоцитов. Показатель соотношения гетеро- и эухроматина вырос в 1.6 раза с 0.92 ± 0.08 до 1.43 ± 0.08 . Ядра лимфоцитов уменьшились ($p=0.01$), их изрезанность выросла в 1.8 раза ($p=0.02$). Оптические показатели изменились обратно таковым при 30 мин. Оптические плотности компоненты и ядер в целом достоверно выросли.

Таким образом, после 6 часов инкубации в интерфазном хроматине ядер здоровых людей в отличие от опытной группы происходит снижение биосинтетической активности, клетки приближаются к состоянию покоя. В опыте с высокой концентрацией цитокина PDGF (10.0 нг/мл) в группе контроля не было обнаружено значительных изменений структурно-функционального состояния хроматина. Так же, как и в опытной группе, при 30- и 60-минутной инкубации в концентрации 10.0 нг/мл в контрольной группе не было зарегистрировано статистически значимых изменений параметров хроматина.

Лишь после 360 минут воздействия PDGF, как и в группе пациентов, увеличилась площадь ($p=0.02$) и периметр ($p=0.03$) гранулярной компоненты, площадь q_2 снизилась ($p=0.03$).

В опыте с воздействием PDGF в количестве 5.0 нг/мл различия в ответе у здоровых и больных атеросклерозом людей обнаружены после 6 часов воздействия цитокина на клетки крови. В самой компактной компоненте q_{1v} опытной группы повышается дисперсность, увеличиваются площадь, периметр и оптическая плотность. А в контрольной группе, напротив, дисперсность резко снижается, площадь q_1 растет, периметр, оптическая плотность и контрастность хроматина увеличиваются. В компоненте q_2 (опытная группа) снижается площадь, но увеличивается периметр, растет оптическая плотность. В контрольной группе площадь и периметр q_2 снижаются, а оптическая плотность возрастает. В q_4 контрольной группы снижается общий периметр компоненты, и увеличивается оптическая плотность q_4 . В опытной группе, напротив, увеличивается периметр, а оптическая плотность снижается.

Анализ изменений параметров хроматина показал, что воздействие PDGF в концентрации 10.0 нг/мл в течение 30 и 360 мин. вызвало в группах сравнения однонаправленный ответ клеток. Однако инкубация в течение часа привела к различным изменениям в хроматине лимфоцитов.

В контрольной группе в гетерохроматиновых областях ядер произошло снижение активности, наиболее отчетливо проявившееся в гранулярной компоненте. Увеличились доля, оптическая плотность, контрастность гранул q_4 . Также увеличилась оптическая плотность q_2 . В опытной группе подобных изменений не наблюдается, напротив, отмечена тенденция к повышению активационных процессов.

Изменения параметров, характеризующих состояние эухроматина и ядра в целом, свидетельствовали о достоверных разнонаправленных изменениях параметров гетерохроматиновых компонент q_1 и q_2 в контрольной и опытной группах при заданных параметрах инкубации и концентрации PDGF.

В эухроматиновых областях опытной группы наблюдалась тенденция к активации, в то время как в контрольной группе биосинтетическая активность снижается, и, видимо, клетки приближаются к состоянию покоя.

Обсуждение

Предпосылками к проведению настоящего исследования стали полученные нами в течение более 10 лет данные, когда у больных с верифицированным диагнозом ишемической болезни сердца был выявлен рост уровня провоспалительных цитокинов и молекул клеточной адгезии [1–8; 23].

Известно, что активация иммунокомпетентных клеток в большинстве случаев приводит к иммунному ответу или воспалительной реакции, которой дебютируют многие заболевания. Так, нарушение ламинарного кровотока в артериях вызывает нарушение образования в эндотелиоцитах азота оксида, что, в свою очередь, способствует повышению активности фактора NF- κ B и увеличению количества адгезивных молекул и хемоаттрактантного протеина-1 для моноцитов [10].

Предполагается что Т-лимфоциты, основные участники клеточного звена системы иммунитета, также играют важную роль на ранних стадиях развития атеросклероза, поскольку внутри атероматозной бляшки обнаружены Т-клетки [9]. Принято считать, что Т-хелперы 1-го типа выделяют провоспалительные (γ -интерферон, ИЛ-1, ФНО α) цитокины, которые способствуют развитию воспаления эндотелия путем активации эндотелиоцитов, макрофагов, стимуляции продукции свободных радикалов, протеолитических ферментов и значительного повышения прокоагулянтной активности.

Факт влияния некоторых цитокинов, например, трансформирующего фактора роста, на рост гладкомышечных клеток предполагает наличие связи между двумя компонентами атерогенеза: воспалительной реакцией и пролиферацией гладкомышечных клеток в интиме.

Считается так же [13], что практически любая причина, вызывающая активацию тромбоцитов и их адгезию к активированному эндотелию или обнажившемуся субэндотелиальному матриксу, в последующем (особенно при длительном воздействии различных биохимических и гемодинамических факторов) индуцирует пролиферацию субинтимальных гладкомышечных клеток.

Продолжение работ в этом направлении позволило выяснить, что этот процесс обусловлен митогенным действием PDGF на гладкомышечные клетки [20]. Обнаружение структурной идентичности В-цепи этого цитокина и протоонкогена *c-sis*, который влечет за собой активацию пролиферации, подтвердило гипотезу “псевдотуморозного роста” [20], согласно которой все пролиферирующие гладкомышечные элементы, образующие атерому, имеют моноклоновое происхождение.

Прояснению патофизиологической роли функциональной активации сосудисто-клеточного звена системы гемостаза и ухудшения реологических свойств крови у пациентов с атеросклерозом способствовали исследования влияния длительного низкоуровневого радиационного воздействия [6], когда было выявлено увеличение тромбогенного риска, связанное со смещением гемостазиологического равновесия. Это позволило выдвинуть предположение о ведущей роли нарушений гомеостазиса (на уровне межклеточных взаимодействий) в инициации атерогенеза и тромбоза. В частности, у пациентов с ИБС отмечено увеличение концентрации фибриногена в плазме крови и тенденцией к увеличению его паракоагуляционных дериватов, совпадающей с ускорением тромбинового времени, что может расцениваться как проявление процесса диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС) крови, а исследование антикоагулянтного потенциала крови по функциональной активности антитромбина-III позволило высказать предположение [6], что этот процесс связан со снижением антикоагулянтного потенциала и снижением активности V фактора свертывания крови.

Поскольку V-й фактор играет ключевую роль в развитии острого и хронического ДВС крови, то его активность может является точкой приложения для комплекса антикоагулянтов (протеины С и S) [7]. Далее активация 2-й фазы процесса свертывания крови свидетельствует о гемостазиологическом дисбалансе, проявляющемся именно в виде развития процесса ДВС крови. Высокая же активность других исследованных факторов свертывания крови подтверждает снижение антикоагулянтного потенциала и свидетельствует об активации компенсаторных антитромботических механизмов у пациентов с ИБС, пострадавших от аварии на ЧАЭС [6; 7; 23].

Известно, что в патогенезе воспалительной реакции адгезия форменных элементов к поверхности эндотелия занимает не последнее место. Захват ЛПНП стимулирует продуцирование цитокинов в моноцитах/макрофагах, эндотелиоцитах, гладкомышечных и Т-клетках [13]. И, как итог, образуется своеобразный порочный круг: липопротеины низкой плотности запускают синтез окружающими клетками медиаторов воспаления – цитокинов и молекул клеточной адгезии, последние же, экспрессируемые активируемыми клетками, усиливают образование ЛПНП и синтез острофазовых реактантов, в том числе и фибриногена гепатоцитами. Эти реакции происходят при участии IL-1, 6 и TNF α , продуцируемых макрофагами в зоне формирования атеросклеротических пораже-

ний и стимулирующих модификацию ЛПНП [9; 13; 15; 18]. Выявленное сходство в клеточной популяции атеросклеротических бляшек и очагов иммунного воспаления при различных заболеваниях [16] дает нам основание рассматривать атерогенез как хроническую воспалительную реакцию гиперчувствительности замедленного типа.

Еще одной возможной причиной патогенеза нарушений регионарного кровообращения является изменение функционального состояния полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЯЛ) [9], поскольку выброс из ПМЯЛ свободных радикалов и вазотропных факторов, их последующая агрегация и способность влиять на состояние гемостазиологического равновесия, делает внутрисосудистую активацию ПМЯЛ одним из факторов, обуславливающих развитие окклюзионно-тромботических осложнений [16; 19; 24].

Отмечено [23], что при нарушении коронарного и церебрального кровообращения наблюдаются изменения функционального состояния ПМЯЛ, проявляющиеся в виде их повышенной чувствительности к активирующим агентам, на воздействие которых ПМЯЛ отвечают мощным кислородным взрывом с образованием в результате реакции спонтанной дисмутации синглетного кислорода и реализацией их протеолитического потенциала через высвобождение вазотропных факторов потенциала, что предполагает связь между процессами атерогенеза и тромбообразования.

Проведенное исследование показало, что TGF_{β_1} оказывает выраженное влияние на структурно-функциональное состояние хроматина лимфоцитов как у здоровых лиц, так и у пациентов с различными клиническими вариантами течения (цереброваскулярная патология и ишемическая болезнь сердца) атеросклероза, причем это влияние неоднозначно и зависит и от концентрации экзогенно вводимого цитокина, и от времени его воздействия.

Полученные результаты дополняют представления, которые сложились в течение последнего десятилетия в результате многочисленных исследований о роли трансформирующего фактора роста в атерогенезе, и наблюдаемые реакции хроматина на введение TGF_{β_1} могут отражать изменение функционального состояния лимфоцитов, эндотелия и характера секреции растворимых медиаторов межклеточных взаимодействий у больных атеросклерозом.

Установленная активация лимфоцитов может быть связана с каскадным принципом усиления сигнала при атерогенезе, особой интеграцией путей его передач, например, обусловленном синтезом и секрецией растворимых форм молекул клеточной адгезии, обладающих цитокиноподобной активностью.

Обнаруженный нами патологический характер воздействия экзогенного TGF_{β_1} может иметь прикладное значение в прогрессировании атеросклеротического процесса, одним из механизмов которого является снижение активности иммунокомпетентных клеток крови и изменение течения адаптивных иммунных реакций.

Влияние PDGF на морфоденситометрические параметры лимфоцитов у пациентов с ИБС можно расценить как перmissive эффект,

обусловленный активацией иммунокомпетентных клеток у пациентов с ишемической болезнью сердца.

Следовательно, при атеросклерозе имеет место модификация структурно-функциональных характеристик лимфоцитов, что позволило можно говорить о различиях эпигенома лимфоцитов в исследуемых группах.

Еще раз остановимся на установленных феноменах. Введение цито-PDGF в конечной концентрации 0.5 нг/мл не вызвало реакции со стороны иммунокомпетентных клеток больных ИБС, тогда как у здоровых добровольцев наблюдалось определенное усиление биохимических процессов в ядре. Влияние PDGF в концентрации 5.0 нг/мл четко зависело от экспозиции: при кратковременной инкубации отмечается некоторое усиление активности ИХ, которое к 6 часам инкубации возвращалось к исходному.

У здоровых добровольцев, напротив, уже кратковременная инкубация с минимальной концентрацией PDGF вызвала мощную реакцию ИХ, которая проявлялась перестройкой компонент ИХ и ядра в целом.

Продолжение инкубации приводило к диаметрально противоположным изменениям: растет отношение гетеро- и эухроматина, отмечены внутриядерные перестройки ядра: глубокое функциональное угнетение (“стремление к покою”) либо проапоптотические изменения, имеющие сходство с хроматином лимфоцитов при моделировании процесса свертывания крови, т.е. тем процессом, в котором тромбоцитарный фактор роста играет ведущую роль.

Исследование выполнено при поддержке Белорусского фонда фундаментальных исследований (грант № Б 99М-042 и № Б04М-203).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Модификация иммунного ответа при атеросклерозе / Н.В. Акулич [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2004. – № 2. – С. 49–52.
2. **Акулич, Н.В.** Гомеостазис: анализ концепции с позиции межклеточных взаимодействий / Н.В. Акулич, Н.Г. Кручинский. – Могилев : МГУ им. А.А. Кулешова. 2004. – 176 с.
3. **Акулич, Н.В.** Структурно-функциональные особенности лимфоцитов пациентов с ишемической болезнью сердца / Н.В. Акулич // Фундаментальные и прикладные аспекты воспаления : материалы Междунар. конф. (27-28 окт. 2011 г., Минск, Беларусь) / науч. ред. И.В. Залуцкий, А.В. Кульчицкий, В.С. Улащик. – Минск : Экономпресс, 2011. – С. 9–12.
4. **Акулич, Н.В.** Физиометрия хроматина лимфоцитов в норме и при функциональных нагрузках: разработка и оптимизация методов / Н.В. Акулич // Вестник МГУ им. А.А. Кулешова. – 2009. – № 1. – С. 192–199.
5. **Кручинский, Н.Г.** Функциональное состояние тромбоцитов и молекулы клеточной адгезии: новые маркеры при коронарном и церебральном атеросклерозе / Н.Г. Кручинский, А.И. Тепляков // Пробл. и перспект. использов. методов тромбоцит. агрегатометрии в клинич. практик. : матер науч.-практич. конф. – Минск, 2000. – С. 11–13.
6. **Кручинский Н.Г.** Механизмы формирования гемостазиопатий в условиях низкоуровневого радиационного воздействия : автореф. дис. ... д. м. н. / Н.Г. Кручинский. – Могилев, 2004. – 42 с.

7. Роль молекул клеточных адгезивных и цитокинов в регуляции межклеточных взаимодействий при атеросклерозе / А.И. Тепляков [и др.]. // Ангиол. и сосуд. хир. – 1999. – Т. 5. – № 3. – С. 11–15.
8. **Akulich, N.V.** Image analysis of lymphocytes chromatin at the apoptosis / N.V. Akulich, A.N. Osipenko, S.M. Vishnevskaya, N.G. Kruchinsky // J. Thromb. Haemost. – 2007. – Vol. 5, Supplement 2. – P-S-495.
9. **Alkemade, F.E.** Prenatal Exposure to apoE deficiency and postnatal hypercholesterolemia are associated with altered cell-specific lysine methyltransferase and histone methylation patterns in the vasculature / F.E. Alkemade, P. Van Vliet, P. Henneman et al. // American Journal of Pathology. – 2010. – Vol. 176. – № 2. – P. 542–548,
10. **Barnesand, P. J.** Nuclear factor- κ B – a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases / P. J. Barnesand, M. Karin // N Engl J Med. – 1997. – Vol. 336. – № 15. – P. 1066–1071,
11. **Brattstrom, L.** Homocysteine and cardiovascular disease: cause or effect? / L. Brattstrom, D.E.L. Wilcken, // American Journal of Clinical Nutrition. – 2000. – Vol. 72. – № 2. – P. 315–323,
12. **Deng, D. X.-F.** Molecular signatures determining coronary artery and saphenous vein smooth muscle cell phenotypes: distinct responses to stimuli / D.X.-F. Deng, J.M. Spin, A. Tsalenko et al. // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 2006 – Vol. 26. – № 5. – P. 1058–1065.
13. **Fuster, V.** The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. / V. Fuster, L. Badimon, J.J. Badimon, et al. // N Engl J Med 1992. – Vol. 326. – P. 242–250. (Part I), Vol. 326. – P. 310–318 (Part II).
14. **Gaustadnes, M.** Intermediate and severe hyperhomocysteinemia with thrombosis: a study of genetic determinants / M. Gaustadnes, N. Riidiger, K. Rasmussen, and J. Ingerslev // Thrombosis and Haemostasis. – 2000. – Vol. 83. – № 4. – P. 554–558.
15. **Iiyama, K.** Patterns of vascular cell adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-1 expression in rabbit and mouse atherosclerotic lesions and at sites predisposed to lesion formation, / K. Iiyama, L. Hajra, M. Iiyama et al. // Circulation Research. – 1999. – Vol. 85. – № 2. – P. 199–207
16. **Libby, P.** Inflammation and atherosclerosis / P. Libby, P. M. Ridker, and A. Maseri // Circulation. – 2002. – Vol. 105. – № 9. – P. 1135–1143.
17. **Lusis, A.J.** Atherosclerosis / A.J. Lusis // Nature. – 2000. – Vol. 407. – № 6801. – P. 233–241.
18. **Napoli, C.F.** Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia. Intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions / C. Napoli, F.P. D'Armiento, F.P. Mancini et al. // Journal of Clinical Investigation. – 1997. – Vol. 100. – № 11. – P. 2680–2690.
19. **Regan, C.P.** Molecular mechanisms of decreased smooth muscle differentiation marker expression after vascular injury // C.P. Regan, P.J. Adam, C.S. Madsen, G.K. Owens // Journal of Clinical Investigation. – 2000. – Vol. 106. – № 9. – P. 1139–1147.
20. **Ross, R.** The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. In: Braunwald E, ed. Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine. Philadelphia: WB Saunders, – 1997. – P. 1105–1125.
21. **Shiftman, D.** Identification of four gene variants associated with myocardial infarction, / D. Shiftman, S.G. Ellis, C.M. Rowland et al. // American Journal of Human Genetics. – 2005. – Vol. 77. – № 4. – P. 596–605,
22. **Sirtori, C.R.** LDL-cholesterol lowering or HDL-cholesterol raising for cardiovascular prevention: a lesson from cholesterol turnover studies and other /