

Церебральный атеросклероз: биомаркерный профиль

М.М. ТАНАШЯН, О.В. ЛАГОДА, А.Н. ЕВДОКИМЕНКО, А.А. ШАБАЛИНА, А.А. РАСКУРАЖЕВ*

ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия

Цель исследования. Оценка выраженности изменений ряда биомаркеров у пациентов с атеросклерозом брахиоцефальных артерий и формирование биомаркерного профиля церебрального атеросклероза как интегративного показателя. **Материал и методы.** В исследование включены 124 пациента (82 мужчины и 42 женщины) в возрасте от 37 до 73 лет с атеросклеротическим поражением внутренних сонных артерий. Все пациенты были разделены на две группы — «асимптомные» и «симптомные» в зависимости от наличия или отсутствия в анамнезе нарушений мозгового кровообращения. Наряду с общеклиническим и неврологическим обследованием проводились анализ ультразвуковой картины брахиоцефальных артерий, нейровизуализация, исследование биомаркеров, отражающих различные звенья атерогенеза, а также оценка патоморфологических параметров атеросклеротических бляшек, удаленных при каротидной эндартерэктомии. **Результаты.** Оценка биомаркеров выявила, что показатели концентрации нитрита (NO_2), нитрата (NO_3) и оксида азота (NO) плазмы крови достоверно различались между группами, составив 58,4, 43,3 и 15 мкмоль/л у пациентов с нарушениями мозгового кровообращения и 45, 19,2 и 25,8 мкмоль/л у «асимптомных» пациентов. Провоспалительный характер изменений при атеросклерозе подтвердило повышение концентрации липопротеидассоциированной фосфолипазы A2 в группе пациентов с нарушениями мозгового кровообращения ($354,72 \pm 44,16$ нг/мл по сравнению с $298,45 \pm 54,12$ нг/мл). Уровень атеропротективного маркера адипонектина значимо снижался у «симптомных» пациентов. Значимые изменения в сторону протромботического состояния крови отмечены и в содержании маркеров фибринолитической активности крови — тканевого активатора плазминогена и ингибитора активатора плазминогена-1. **Заключение.** В сочетании с другими диагностическими методами биомаркеры могут повысить точность прогноза и предупредить риск внезапной смерти. Разработана шкала, отражающая биомаркерную отягощенность пациентов с церебральным атеросклерозом, что может явиться первым шагом к персонализированной профилактике ишемических осложнений.

Ключевые слова: цереброваскулярная патология, инсульт, церебральный атеросклероз, биомаркеры.

Cerebral atherosclerosis: a biomarker profile

M.M. TANASHYAN, O.V. LAGODA, A.N. EVDOKIMENKO, A.A. SHABALINA, A.A. RASKURAZHEV

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Objective. To assess the changes in several biomarkers in patients with atherosclerosis of brachiocephalic arteries and shape a biomarker profile of cerebral atherosclerosis as an integrative index. **Material and methods.** The study included 124 patients with atherosclerotic lesions of internal carotid arteries (82 men and 42 women) aged from 37 to 73 years. The patients were stratified by history of prior stroke into «asymptomatic» and «symptomatic». Along with general clinical and neurological examinations, ultrasound analysis of brachiocephalic arteries, neuroimaging, identification of biomarkers reflecting different stages of atherogenesis and evaluation of pathomorphological parameters of atherosclerotic plaques removed during carotid endarterectomy surgery were performed. **Results.** Concentrations of NO_2 , NO_3 and NO in blood plasma significantly differed between groups: 58.4, 43.3 and 15 $\mu\text{mol/l}$, respectively, in the symptomatic group and 45, 19.2 and 25.8 $\mu\text{mol/l}$ in the asymptomatic group. The pro-inflammatory character of changes in atherosclerosis was confirmed by the increase in the concentration of lipoprotein-associated phospholipase A2 in patients with stroke (354.72 ± 44.16 ng/ml versus 298.45 ± 54.12 ng/ml). The level of the atheroprotective marker adiponectin decreased significantly in «symptomatic» patients. Significant changes towards the prothrombotic state of blood were identified via levels of blood markers of fibrinolytic activity: plasminogen tissue activator and plasminogen activator inhibitor-1. **Conclusion.** Together with other diagnostic methods, identification of biomarkers can increase the accuracy of prognosis and prevention of sudden cardiovascular death. The authors have developed a scale of biomarker «burdeness» of the patient with cerebral atherosclerosis that may be a first step to individualized prevention of associated ischemic complications.

Keywords: cerebrovascular pathology, stroke, cerebral atherosclerosis, biomarkers.

Ишемический инсульт является важнейшей медико-социальной проблемой современности. В преобладающем проценте случаев причиной окклюзирующих поражений сосудистой системы мозга является атеротромбоз. Согласно современной концепции генерализованного и прогрессирующего процесса атеросклероза и атеротромбоза манифестация большинства сердечно-сосудистых

катастроф непосредственно связана с нарушением целостности атеросклеротической бляшки [1]. Многогранность патогенетических механизмов развития и прогрессирования церебрального атеросклероза как основных и ведущих в возникновении ишемических поражений мозга диктует необходимость изучения различных аспектов этой проблемы — от структурно-морфологических изме-

нений сосудов и вещества мозга до различных характеристик крови (биохимические, реологические, иммунологические, про- и противовоспалительные и др.).

Следует, однако, обратить внимание, что данная проблема не носит исключительно фундаментальный характер — напротив, выявление значимых маркеров церебрального атеросклероза представляется одной из важнейших клинических задач, которая определит возможности персонализированной профилактики атеротромботических осложнений (в том числе ишемического инсульта). За прошедшие несколько десятилетий было предложено множество биомаркеров такого рода, однако использование каждого из них по отдельности не позволило с достаточной долей вероятности выделить группы лиц высокого риска по развитию атеросклерозассоциированных событий. Перспективным, по нашему мнению, является мультимодальный подход, сочетающий исследования нескольких категорий параметров, отражающих различные звенья и этапы атеросклеротического процесса: эндотелиальную дисфункцию, нарушения свертывающей и противосвертывающей систем крови, метаболические расстройства, патологию липидного обмена.

Цель настоящего исследования — оценка выраженности изменений ряда биомаркеров у пациентов с атеросклерозом брахиоцефальных артерий, а также формирование биомаркерного профиля церебрального атеросклероза как интегративного показателя.

Материал и методы

При проведении скринингового обследования 320 лиц с проявлениями атеросклероза в различных сосудистых бассейнах нами была выделена группа из 124 пациентов (82 мужчины и 42 женщины) в возрасте от 37 до 73 лет (средний — $63 \pm 8,6$ года), с атеросклеротическим поражением внутренних сонных артерий (ВСА).

Среди 124 обследованных с церебральным атеросклерозом у 60 (48%) пациентов не было анамнестических указаний на перенесенные нарушения мозгового кровообращения (НМК) и/или транзиторные ишемические атаки (ТИА); у 23 (19%) пациентов имели место ТИА в бассейне стенозированной ВСА; 41 (33%) пациент перенес НМК по ишемическому типу в бассейне пораженной ВСА без грубого неврологического дефицита. Основными группами сравнения в настоящем исследовании стали «асимптомные» (т.е. без указаний в анамнезе на перенесенное НМК) и «симптомные» пациенты — как крайние выражения стабильного и нестабильного течения атеросклероза брахиоцефальных артерий.

У преобладающего большинства (97%) была диагностирована артериальная гипертензия. Из сопутствующей кардиальной патологии у половины больных обнаружены хроническая сердечная недостаточность (у 64%) и ишемическая болезнь сердца: стенокардия напряжения (у 29%), инфаркт миокарда в анамнезе (у 13%), пароксизмальная форма мерцательной аритмии (у 5% больных); 36% обследованных страдали сахарным диабетом 2-го типа. Наряду с общеклиническими и неврологическими методами обследования всем пациентам проводились также: а) цветное дуплексное сканирование артерий головы на приборах Logiq 9 («GE») и iU 33 («Phillips»). Исследовали: толщину комплекса интима—медиа в общих сонных артериях и в области бифуркации; степень стеноза в области

бифуркации и/или в устье ВСА; структуру и протяженность атеросклеротических бляшек в области бифуркации и/или в устье ВСА; б) исследование линейки биомаркеров (метаболиты оксида азота (NO) — нитрит (NO_2^-), нитрат (NO_3^-); асимметричный диметиларгинин (ADMA), адипонектин, липопротеидассоциированная фосфолипаза A2 (Lp-PLA2), тканевый активатор плазминогена (t-PA), ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1)) осуществлялось с помощью микропланшетного ридера Victor2, «Perkin-Elmer» (США). При всех исследованиях использовались калибраторы фирм-производителей реагентов. Контроль исполнения анализов иммуноферментным методом проводился в дублях с использованием лиофилизированных контрольных сывороток/плазм с низким и высоким содержанием исследуемых параметров; в) нейровизуализационное исследование МРТ головного мозга по стандартной методике на томографе Magnetom Symphony («Siemens») с величиной магнитной индукции 1.5 Тл.

Части пациентов при наличии показаний к ангиоре-конструктивным операциям проводилось хирургическое лечение — каротидная эндартерэктомия. Удаленные в ходе операции атеросклеротические бляшки подвергались морфологическому исследованию по стандартному протоколу с обязательным анализом областей максимального атеростеноза и макроскопически выявленных изменений (изъязвления, тромбы, кровоизлияния). В 20 случаях также были проведены электронно-микроскопическое и иммуногистохимическое исследования бляшек каротидного синуса (использовались стандартные протоколы обработки материала). В иммуногистохимической реакции применялись кроличьи поликлональные антитела к фактору фон Вилленбранда («BioCare Medical», США) и эндотелиальной NO-синтазе («Lab Vision Corporation», США). Для визуализации иммунопероксидазной реакции использовали систему UltraVision Quanto («Lab Vision Corporation», США), выявление пероксидазной активности проводили с помощью 3,3'-диаминобензидина (DAB) на автокостейнере 360 производства «Thermo Fisher Scientific» (США). Электронно-микроскопический анализ проводили в электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL, Япония), заливку материала осуществляли в смесь эпоксидных смол (epon 812, епон DDSA и епон MNA).

Всем пациентам была назначена антиагрегантная, гипотензивная и (при наличии показаний) гипогликемическая, гиполипидемическая терапия.

Статистическую обработку результатов проводили с применением программ Microsoft Excel, а также пакета компьютерных прикладных программ Statistics, версия 6.0 («StatSoft», 2003). Использованы общепринятые критерии различий с определением статистической достоверности при $p < 0,05$.

Результаты

Всех пациентов разделили на 2 категории по степени стеноза ВСА, определенного с помощью метода дуплексного сканирования: с умеренными стенозами (50—69%) 43% и с выраженными стенозами (70—99%) 57% пациентов. У обследованных пациентов чаще встречались двусторонние стенозы ВСА (76% пациентов) по сравнению с односторонним поражением (24%), при этом степень стеноза ВСА с разных сторон, как правило, различалась в среднем на 20—30%. В ряде случаев каротидный стеноз

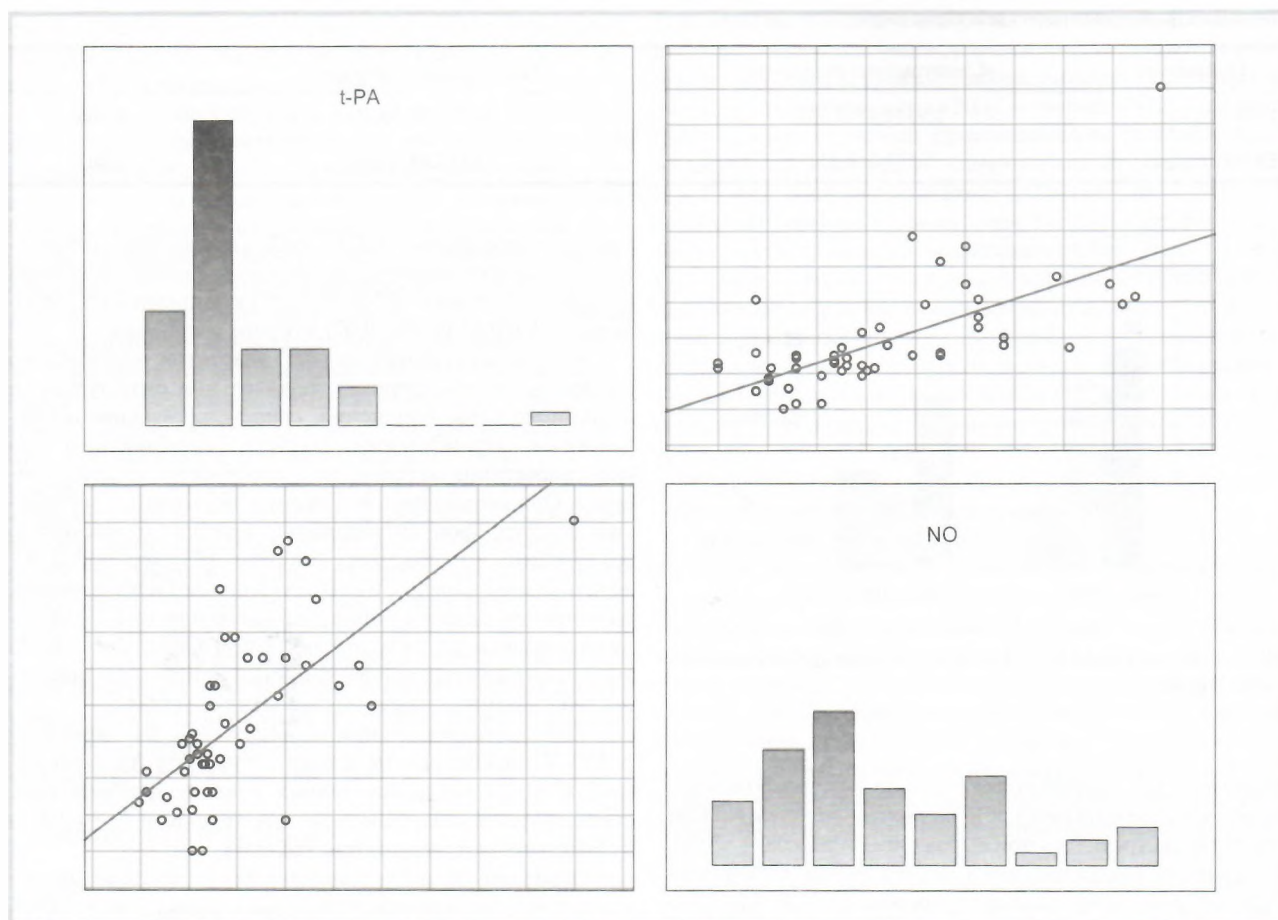


Рис. 2. Корреляция уровней t-PA и NO у «асимптомных» пациентов.

Объяснение в тексте.

ленными изменениями в настоящем исследовании были условно разделены на проатерогенные (ADMA, LpPLA2, PAI-1) и антиатерогенные (адипонектин, NO). Каждому биомаркеру было присвоено определенное значение, в соответствии с которыми сформирована модель биомаркерной отягощенности пациентов (рис. 3). Увеличение балла по шкале сопряжено с усилением «отягощенности» пациента по каждому из исследованных биомаркеров и соответственно отражает отнесение его в группу высокого риска по развитию ишемических НМК.

Обсуждение

Пациенты с атеросклеротическим поражением церебральных артерий представляют клинический интерес в связи как с распространенностью патологии, так и с высокой частотой развития у этих больных острых церебральных катастроф [2]. Современные методы профилактики прогрессирования атеросклероза включают как медикаментозное, так и оперативное воздействие. Несмотря на это, процент острых НМК, развивающихся на фоне стенозирующих процессов в магистральных артериях головы, остается высоким, что является предпосылкой к дальнейшему изучению факторов риска этой патологии, а также путей наиболее раннего выявления пациентов высокого риска.

Принципиально важным звеном патогенеза атеросклероза и его осложнений (атеротромбоз, атеро- и тромбоэмболия, атероокклюзия) является эндотелиальная дисфункция. Эндотелий, внутренняя выстилка сосудов, состоит приблизительно из $1,6 \cdot 10^{13}$ клеток, общей массой около 1 кг и общей площадью около 900 м². Находясь в постоянном непосредственном контакте с кровью, эндотелий получает сигналы несколькими путями: через воздействие циркулирующих в крови веществ, рецепторы к которым находятся на люминальной поверхности эндотелия, при непосредственном взаимодействии клеток крови с эндотелиоцитами, а также посредством изменения напряжения сдвига или линейной скорости кровотока. Эндотелий является не только органом-мишенью, но и эффектором при различной сердечно-сосудистой патологии: вырабатывая различные биологически активные вещества, он принимает самое активное участие в поддержании сосудистого тонуса, атромбогенности сосудистой стенки, регуляции адгезии и агрегации тромбоцитов, проявляет про- и антикоагулянтную, фибринолитическую активность, участвует в процессах воспаления [3].

Дисфункция эндотелия, согласно современной гипотезе, развивается вследствие хронического его повреждения, что приводит к адгезии тромбоцитов к субэндотелиальному слою и их агрегации, высвобождению факторов роста, способствующих миграции гладкомышечных кле-



Рис. 3. Распределение пациентов в группах в зависимости от биомаркерной шкалы.

ток из меди в интиму с образованием фиброзных бляшек. Этапы эволюции атеросклеротической бляшки ассоциированы с эндотелиальной дисфункцией, хотя это состояние правильнее определить как эндотелиопатия, поскольку речь идет не только и не столько о функциональных, но и о значительных структурных повреждениях клеток.

Развивающаяся при атеросклеротическом поражении брахиоцефальных артерий эндотелиальная дисфункция приводит к снижению способности к вазодилатации, провоспалительному состоянию, сопровождающемуся протромботической активностью [4]. Нарушение эндотелий-опосредуемой вазодилатации связано со снижением биодоступности основного регулятора сосудистого тонуса NO, который также снижает агрегацию тромбоцитов, замедляет адгезию моноцитов и лейкоцитов к эндотелию, ингибирует пролиферацию гладкомышечных клеток, а также препятствует окислению холестерина липопротеинов низкой плотности [5].

Известно также, что фермент эндотелиальной синтазы NO (eNOS) находится и в тромбоцитах, что определяет возможность продуцирования ими NO [6, 7]. На молекулярном уровне ингибирование eNOS приводило к усилению экспрессии молекул лейкоцитарной адгезии и цитокинов, в частности белка-хемоаттрактанта моноцитов-1 [8, 9], ответственного за миграцию моноцитов в интиму в местах атеросклеротического поражения сосудов [10—12]. Учитывая современные представления о возникновении и развитии атеросклероза, а также влияние NO на практически каждое из патогенетических звеньев этого процесса, некоторыми авторами NO рассматривается как эндогенная антиатеросклеротическая молекула, а снижение концентрации NO — как одна из основных причин эндотелиальной дисфункции [13]. Немаловажную роль в атерогенезе играют NO_3^- и NO_2^- — промежуточные компоненты метаболизма NO. В настоящей работе показано достоверное различие между группами в уровне NO. Однако статистически значимыми оказались и различия в уровнях NO_3^- и NO_2^- . Так, по результатам опубликован-

ного в 2015 г. исследования на популяции более чем из 1000 человек было продемонстрировано повышение уровней NO_3^- и NO_2^- у пациентов, перенесших ишемический инсульт [14]. Показано также, что они являются не только продуктами метаболического пути NO, но при определенных условиях сами могут становиться «продуцентами» этого соединения [15], причем этот нитритный путь образования NO активируется при гипоксических состояниях [16].

Низкие значения содержания NO могут быть вызваны повышением концентрации эндогенного ингибитора eNOS — АДМА. Продемонстрировано сочетание высоких концентраций АДМА с другими факторами риска прогрессирования атеросклероза: гиперхолестеринемией, артериальной гипертонией, гипертриглицеридемией, сахарным диабетом, инсулинорезистентностью, гипергомоцистемией [17—19]. Установлена значимая корреляция уровня АДМА и толщины комплекса интима—медиа, который является суррогатным маркером для определения риска развития сердечно-сосудистых событий [20, 21]. Сходные результаты получены при измерении толщины комплекса интима—медиа у 712 добровольцев наряду с определением концентрации АДМА [22]. Инфузия АДМА приводит к снижению перфузии головного мозга и увеличению степени ригидности мозговых артерий [23].

В собственных исследованиях было продемонстрировано значимое уменьшение активности NO у пациентов с выраженным атеросклерозом брахиоцефальных артерий, что может свидетельствовать об истощении антиатерогенного потенциала сосудистой стенки [24]. Указанное снижение демонстрирует истощение компенсаторных возможностей сосудистой стенки (в первую очередь отражая интенсивность синтеза NO) у пациентов с НМК, что может свидетельствовать о патогенетической роли данных механизмов в развитии атеросклерозассоциированных ишемических осложнений. В то же время нами не обнаружено стойкого снижения экспрессии эндотелиальной NO-синтазы по мере нарастания активности атеросклеротического процесса, поэтому сохранение сниженной

биодоступности NO можно отнести на счет подавления активности, а не экспрессии NO-синтазы или разделения субъединиц фермента с результирующей продукцией супероксида одной из субъединиц и усилением окислительного стресса [25].

Важнейшим фактором индуцирования и прогрессирования атеросклероза могут быть гемореологические изменения. Так, единые патогенетические механизмы этих процессов включают увеличение агрегации тромбоцитов, ухудшение реологических характеристик эритроцитов и, как следствие, изменение вязкостных параметров крови [26]. Эндотелиальный компонент гемореологического воздействия может быть представлен такими ключевыми ферментами, как t-PA и PAI-1.

Антитромботическое влияние NO также может быть связано с отрицательным воздействием на экспрессию ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1) — протромботического белка [27]. Концентрация PAI-1 рассматривается многими исследователями как предиктор именно атеросклерозассоциированных острых сосудистых событий: инфаркта миокарда, инсульта [28]. PAI-1 — это наиболее важный физиологический ингибитор t-PA, а также одна из важнейших регуляторных молекул фибринолитической системы крови [29]. Показаны корреляционные связи между сывороточными уровнями PAI-1 и риском сердечно-сосудистых заболеваний. Так, повышенные плазменные концентрации PAI-1 ассоциированы с риском инфаркта миокарда, стенокардии напряжения и атеросклероза [30].

Среди биомаркеров воспалительной реакции, тесно ассоциированной с развитием атеросклероза, наибольшей специфичностью в отношении церебрального атеросклероза обладает Lp-PLA2. Lp-PLA2 синтезируется макрофагами в атеросклеротической бляшке (особенно интенсивно в бляшках сонных артерий), а затем через повреждения в покрышке атеромы проникает в общий кровоток, где связывается с циркулирующими в плазме атерогенными частицами липопротеидов низкой плотности. Установлена связь повышения массы и активности Lp-PLA2 с прогрессированием церебрального атеросклероза [31].

Следует обратить внимание на гендерные различия в содержании большинства исследованных биомаркеров — у женщин чаще определялось более «благоприятное» со-

отношение, чем у мужчин, что может косвенно подтверждать выявленную ранее в многочисленных исследованиях протективную роль гормонального фона в отношении развития и прогрессирования атеросклеротического процесса [32].

Описанные биомаркеры характеризуют различные звенья атерогенеза, а использование их в комплексном персонализированном подходе позволит не только определить риск развития и прогрессирования церебрального атеросклероза, но также и сформировать (в некоторых случаях) адекватную терапевтическую концепцию.

Биомаркерный профиль (или «биомаркерная отягощенность») пациентов с церебральным атеросклерозом представляет потенциально специфичный инструмент для своевременной диагностики ассоциированных состояний. Изменение уровня биомаркеров на фоне атеросклероза и ассоциированных НМК может дать предикторную информацию о клиническом ухудшении. Анализ изменений вышеуказанных биомаркеров наряду с дуплексным сканированием брахиоцефальных артерий, позволяющим оценить структуру и поверхность атеросклеротической бляшки сонной артерии, в сопоставлении с клиническими параметрами могут дать характеристику активности атеросклеротического процесса. Прогрессирующее и «злокачественное» течение атеросклероза может быть выявлено на ранних этапах, что позволит начать интенсивную и таргетную коррекцию указанной патологии. Следует сказать, что, не обладая абсолютной специфичностью и чувствительностью по отдельности, определение про- и антиатерогенных биомаркеров в совокупности позволит выявить группу пациентов высокого риска по развитию сердечно-сосудистых осложнений и сформировать персонализированный, многокомпонентный подход к их лечению и профилактике осложнений. В сочетании с другими диагностическими методами биомаркеры могут повысить точность прогноза и предупредить риск внезапной сердечно-сосудистой смерти. Разработанная шкала, отражающая биомаркерную «отягощенность» пациента с церебральным атеросклерозом, может явиться первым шагом к персонализированной профилактике ассоциированных ишемических осложнений.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Badimon L, Vilahur G. Thrombosis formation on atherosclerotic lesions and plaque rupture. *Journal of Internal Medicine*. 2014;276(6):618-632. <https://doi.org/10.1111/joim.12296>
2. den Hartog AG, Achterberg S, Moll FL, Kappelle LJ, Visseren FLJ, van der Graaf Y, Algra A, SMART Study Group. Asymptomatic carotid artery stenosis and the risk of ischemic stroke according to subtype in patients with clinically manifest arterial disease. *Stroke*. 2013;44:1002-1007. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.111.669267>
3. Танашян М.М., Суслина З.А., Ионова В.Г., Домашенко М.А., Орлов С.В., Чечеткин А.О., Плешкова М.Ю. Состояние функции эндотелия у больных с ишемическим инсультом при различной степени атеросклеротического поражения сонных артерий. *Неврологический вестник*. 2007;39(1):12-16. [Tanashyan MM, Sushina ZA, Ionova VG, Domashenko MA, Orlov SV, Chechetkin AO, Pleshkova MYu. Endothelium function state in patients with ischemic insult at different forms of carotid arteries atherosclerotic lesion. *Neurologicheskii vestnik*. 2007;39(1):12-16. (In Russ.)]
4. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2003;23(2):168-175. <https://doi.org/10.1161/01.atv.0000051384.43104.fc>
5. Loscalzo J. Nitric oxide insufficiency, platelet activation, and arterial thrombosis. *Circulation Research*. 2001;88:756-762. <https://doi.org/10.1161/hh0801.089861>
6. Freedman JE, Sauter R, Battinelli EM, Ault C., Knowles C, Huang PL, Loscalzo J. Deficient platelet-derived nitric oxide and enhanced hemostasis in mice lacking the NOSIII gene. *Circulation Research*. 1999;84:1416-1421. <https://doi.org/10.1161/01.res.84.12.1416>

енно подтверж-
х исследованиях
а в отношении
этического про-

уют различные
в комплексном
не только опре-
и церебрального
ь (в некоторых
цепию.

ркерная отяго-
атеросклерозом
ий инструмент
ованных состо-
ионе атероскле-
предикторную
Анализ измене-
с дуплексным
, позволяющим
клеротической
с клинически-
ку активности
ссерирующее и
может быть вы-
иять интенсив-
ологии. Следу-
ифичностью и
еление про- и
ости позволит
а по развитию
ировать персо-
одход к их ле-
тания с други-
ы могут повы-
иск внезапной
я шкала, отра-
ициента с це-
я первым ша-
се ассоциро-

га интересов.

ferent forms of ca-
rik. 2007;39(1):12-

ection; a marker of
Vascular Biology.

tion, and arterial

les C, Huang PL.
anced hemostasis
99;84:1416-1421.

7. Tsao PS, Theilmer G, Singer AH, Leung LL, Cooke JP. L-arginine attenuates platelet reactivity in hypercholesterolemic rabbits. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1994;14:1529-1533. <https://doi.org/10.1161/01.atv.14.10.1529>
8. Zeiher AM, Fisslthaler B, Schray-Utz B, Busse R. Nitric oxide modulates the expression of monocyte chemoattractant protein-1 in cultured human endothelial cells. *Circulation Research*. 1995;76:980-986. <https://doi.org/10.1161/01.res.76.6.980>
9. Tomita H, Egashira K, Kubo-Inoue M, Usui M, Koyanagi M, Shimokawa H, Takeya M, Yoshimura T, Takeshiata A. Inhibition of NO synthesis induces inflammatory changes and monocyte chemoattractant protein-1 expression in rat hearts and vessels. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1998;18:1456-1464. <https://doi.org/10.1161/01.atv.18.9.1456>
10. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002;105:1135-1143. <https://doi.org/10.1161/hc0902.104353>
11. Gu L, Okada Y, Clinton SK, Gerard C, Sukhova GK, Libby P, Rollins BJ. Absence of monocyte chemoattractant protein-1 reduces atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Molecular Cell*. 1998;2:275-281. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(00\)80139-2](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(00)80139-2)
12. Boring L, Gosling J, Cleary M, Charo IF. Decreased lesion formation in CCR2^{-/-} mice reveals a role for chemokines in the initiation of atherosclerosis. *Nature*. 1998;394:894-897. <https://doi.org/10.1038/29788>
13. Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Endothelial Function: A Critical Determinant in Atherosclerosis? *Circulation*. 2004;109:11-27-11-33. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000129501.88485.1f>
14. Gumanova NG, Teplova NV, Ryabchenko AU, Denisov EN. Serum nitrate and nitrite levels in patients with hypertension and ischemic stroke depend on diet: a multicenter study. *Clinical Biochemistry*. 2015;48(1-2):29-32. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2014.10.010>
15. Alef MJ, Tzeng E, Zuckerbraun BS. Nitric oxide and nitrite-based therapeutic opportunities in intimal hyperplasia. *Nitric Oxide*. 2012;26(4):285-294. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2012.03.014>
16. Huang Z, Shiva S, Kim-Shapiro DB, Patel RP, Ringwood LA, Irby CE, Huang KT, Ho C, Hogg N, Schechter AN, Gladwin MT. Enzymatic function of hemoglobin as a nitrite reductase that produces NO under allosteric control. *The Journal of Clinical Investigation*. 2005;115(8):2099-2107. <https://doi.org/10.1172/jci24650>
17. Boger RH, Bode-Boger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, Blaschke TF, Cooke JP. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation*. 1998;98:1842-1847. <https://doi.org/10.1161/01.cir.98.18.1842>
18. Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, Usui M, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation*. 1999;99:1141-1146. <https://doi.org/10.1161/01.cir.99.9.1141>
19. Abbasi F, Asagiri T, Cooke JP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM, Stuehlinger M, Tsao PS. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *American Journal of Cardiology*. 2001;88(10):1201-1203. [https://doi.org/10.1016/s0002-9149\(01\)02063-x](https://doi.org/10.1016/s0002-9149(01)02063-x)
20. Furuki K, Adachi H, Enomoto M, Otsuka M, Fukami A, Kumagai S, Matsuoka H, Nanjo Y, Kakuma T, Imaizumi T. Plasma level of asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a predictor of carotid intima-media thickness progression: six-year prospective study using carotid ultrasonography. *Hypertension Research*. 2008;31:1185-1189. <https://doi.org/10.1291/hyres.31.1185>
21. Chirinos JA, David R, Bralley JA, Zea-Diaz H, Munoz-Atahualp E, Corrales-Medina F, Cuba-Bustanza C, Chirinos-Pacheco J, Medina-Lezama J. Endogenous nitric oxide synthase inhibitors, arterial hemodynamics, and subclinical vascular disease: the PREVENCIÓN Study. *Hypertension*. 2008;52:1051-1059. <https://doi.org/10.1161/hypertensionaha.108.120352>
22. Furuki K, Adachi H, Matsuoka H, Enomoto M, Satoh A, Hino A, Hirai Y, Imaizumi T. Plasma levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA) are related to intima-media thickness of the carotid artery: an epidemiological study. *Atherosclerosis*. 2007;191(1):206-210. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2006.03.022>
23. Kielstein JT, Donnerstag F, Gasper S, Menne J, Kielstein A, Martens-Lobenhoffer J, Scalera F, Cooke JP, Fliser D, Mode-Boger SM. ADMA increases arterial stiffness and decreases cerebral blood flow in humans. *Stroke*. 2006;37(8):2024-2029. <https://doi.org/10.1161/01.str.0000231640.32543.11>
24. Танашян М.М., Раскуражев А.А., Шабалина А.А., Лагода О.В., Гнедовская Е.В. Биомаркеры церебрального атеросклероза: возможности ранней диагностики и прогнозирования индивидуального риска. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2015;9(3):20-25. [Tanashyan MM, Raskurazhev AA, Shabalina AA, Lagoda OV, Gnedovskaya EV. Biomarkers of cerebral atherosclerosis: the capabilities of early diagnosis and prognosis of individual risk. *Annaly klinicheskoi i eksperimental'noi nevrologii*. 2015;9(3):20-25. (In Russ.)]
25. Li H, Förstermann U. Uncoupling of endothelial NO synthase in atherosclerosis and vascular disease. *Current Opinion in Pharmacology*. 2013;13(2):161-167. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2013.01.006>
26. Суслина З.А., Танашян М.М., Ионова В.Г. *Ишемический инсульт: кровь, сосудистая стенка, антитромботическая терапия*. М.: Медицинская книга; 2005. [Suslina ZA, Tanashyan MM, Ionova VG. *Ishemicheskii insul't: krov', sosudistaya stenka, antitromboticheskaya terapiya*. M.: Meditsinskaya kniga; 2005. (In Russ.)]
27. Bouch JL, Hansen H, Feener EP. Natriuretic factors and nitric oxide suppress plasminogen activator inhibitor-1 expression in vascular smooth muscle cells. Role of cGMP in the regulation of the plasminogen system. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1998;18(11):1771-1779. <https://doi.org/10.1161/01.atv.18.11.1771>
28. Massot A, Giralt D, Penalba A, Garcia-Berrococo T, Navarro-Sobrinho M, Arenillas JF, Ribo M, Molina CA, Alvarez-Sabin J, Montaner J, Delgado P. Predictive value of ankle-brachial index and PAI-1 in symptomatic intracranial atherosclerotic disease recurrence. *Atherosclerosis*. 2014;233(1):186-189. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2013.12.034>
29. Yasar Yildiz S, Kuru P, Toksoy Oner E, Agirbasli M. Functional Stability of Plasminogen Activator Inhibitor-1. *The Scientific World Journal*. 2014;2014:1-11. <https://doi.org/10.1155/2014/858293>
30. Thøgersen AM, Jansson JH, Boman K, Nilsson TK, Weinhall L, Huhtasaari F, Hallmans G. High plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator levels in plasma precede a first acute myocardial infarction in both men and women: evidence for the fibrinolytic system as an independent primary risk factor. *Circulation*. 1998;98(21):2241-2247. <https://doi.org/10.1161/01.cir.98.21.2241>
31. Танашян М.М., Лагода О.В., Гулевская Т.С., Максюткина Л.Н., Раскуражев А.А. Прогрессирующий церебральный атеросклероз: клинические, биохимические и морфологические аспекты. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2013;7(4):4-9. [Tanashyan MM, Lagoda OV, Gulevskaya TS, Maksyutkina LN, Raskurazhev AA. Progressing cerebral atherosclerosis: clinical, biochemical and morphological aspects. *Annaly klinicheskoi i eksperimental'noi nevrologii*. 2013;7(4):4-9. (In Russ.)]
32. Lloyd-Jones DM, Wilson PW, Larson MG, Beiser A, Leip EP, D'Agostino RB, Levy D. Framingham risk score and prediction of lifetime risk for coronary heart disease. *American Journal of Cardiology*. 2004;94(1):20-24. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2004.03.023>