

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Казанский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

*На правах рукописи*

**САЛАХОВА КАРИНА РАВИЛЕВНА**

**КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СЕРОТОНИНА, ЕГО  
МЕТАБОЛИТА И МЕМБРАННОГО ПЕРЕНОСЧИКА В КРОВИ ПРИ  
ГЕТЕРОЗИГОТНОЙ СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ**

3.1.21 Педиатрия

1.5.5 Физиология человека и животных

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:  
доктор медицинских наук,  
профессор Д.И. Садыкова,  
доктор биологических наук,  
профессор Р.Р. Нигматуллина

Казань – 2026

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ. . . . .	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. . . . .	15
1.1 Семейная гиперхолестеринемия – современное состояние проблемы. . . . .	15
1.2 Ремоделирование сосудов и изменение левого желудочка при семейной гиперхолестеринемии . . . . .	19
1.3 Роль серотонина в регуляции сердечно-сосудистой системы . . . . .	25
1.3.1 Серотонин и его метаболит. . . . .	25
1.3.2 Мембранный переносчик серотонина . . . . .	31
1.4 Животные модели атеросклероза . . . . .	34
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ . . . . .	36
2.1 Дизайн исследования . . . . .	36
2.2 Методы исследования клинической части. . . . .	39
2.3 Методы исследования в эксперименте . . . . .	43
2.4 Методы статистической обработки данных . . . . .	51
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ . . . . .	54
3.1 Клинико-лабораторные характеристики детей обследуемых групп . . . . .	54
3.2 Структурно-функциональные изменения сердца и сосудов у детей обследуемых групп . . . . .	58
3.3 Концентрация серотонина, его метаболита и мембранного переносчика при гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии у детей . . . . .	67
ГЛАВА 4 РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧАСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ НА НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ МЫШАХ ЛИНИИ C57BL/6 И МЫШАХ С ДЕФИЦИТОМ РЕЦЕПТОРА ЛИПОПРОТЕИНА НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ. . . . .	79
4.1 Лабораторные особенности неполовозрелых мышей C57BL/6 и Ldlr +/- . . . . .	79

4.2 Концентрация серотонина, 5-гидроксииндолуксусной кислоты и мембранного переносчика серотонина в крови у неполовозрелых мышей C57BL/6 и Ldlr +/- . . . . .	80
4.3 Оценка уровня экспрессии мРНК 5-НТ2А, 5-НТ2В рецепторов, мембранного переносчика в аорте у неполовозрелых мышей C57BL/6 и Ldlr +/- . . . . .	84
4.4 Влияние серотонина на сократимость миокарда левого желудочка у экспериментальных животных . . . . .	86
4.5 Морфологические особенности и иммуногистохимическая реакция на рецепторы серотонина и мембранный переносчик серотонина в аорте и левом желудочке у неполовозрелых мышей C57BL/6 и Ldlr +/- . . . . .	90
ЗАКЛЮЧЕНИЕ . . . . .	102
ВЫВОДЫ . . . . .	121
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ . . . . .	124
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ . . . . .	124
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ . . . . .	125
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ . . . . .	129
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА . . . . .	155
ПРИЛОЖЕНИЕ 1 - Калькулятор вероятности наличия сосудистого ремоделирования у детей с гетерозиготной СГХС . . . . .	159

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

На сегодняшний день сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) остаются главной причиной смертности и инвалидизации населения земного шара. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, каждый год от болезней системы кровообращения умирает около 18 миллионов человек [28, 56, 118].

Дислипидемия – ведущая причина развития и прогрессирования ССЗ [28, 29, 37, 86, 88, 191]. Суммарный экономический ущерб от ССЗ, связанных с гиперхолестеринемией, в Российской Федерации оценивается примерно в 1,3 трлн рублей, что эквивалентно 1,5% валового внутреннего продукта (ВВП) [8, 28, 34]. В 40-60% случаев дислипидемии имеют наследственный характер [113].

Семейная гиперхолестеринемия (СГХС) – самое распространенное генетически обусловленное нарушение липидного обмена, сопровождающееся повышенной концентрацией общего холестерина (ОХ), липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) в плазме крови, ранним развитием атеросклеротического поражения магистральных сосудов и высоким риском развития ССЗ в молодом возрасте [9, 12, 28, 29, 100, 146, 152, 191]. В мире проживает приблизительно 35 млн. человек с семейной гиперхолестеринемией, из них 6,8–8,5 миллионов – дети [28, 109, 146, 152, 191].

Гетерозиготная форма СГХС в течение первых десятилетий жизни чаще всего протекает бессимптомно [141, 152, 191]. Однако, несмотря на отсутствие жалоб, пациенты с гетерозиготной формой СГХС подвергаются пожизненной экспозиции экстремально высокими концентрациями ХС ЛПНП и отнесены к категории высокого или очень высокого сердечно-сосудистого риска [14, 29, 100, 191].

Гиперхолестеринемия лежит в основе потери эластичности и повышения жесткости артериальных сосудов [152, 219, 228, 235]. Изменения эластических свойств артерий указывают на формирование сосудистых изменений еще задолго

до появления клинически выраженных симптомов [42, 152]. Их можно отнести к четким высокоинформативным предикторам последующих неблагоприятных событий [220]. Определение артериальной жесткости сосудов, толщины комплекса «интима – медиа» сонных артерий (ТКИМ) широко используется во взрослой популяции, однако в педиатрической практике, в силу объективных обстоятельств, его применение ограничено [152]. Высокие уровни атерогенных липидов в крови оказывают существенное влияние на сердце уже с детского возраста, приводя к гипертрофии левого желудочка (ЛЖ) и нарушению систолической и диастолической функции [91, 176].

В мировой литературе обсуждается роль серотонинергической системы, как важного звена в патогенезе развития и прогрессирования ССЗ [29, 54, 111, 152, 191, 200]. Повышенные концентрации серотонина (5-НТ) были описаны при артериальной гипертензии, атеросклерозе, ишемической болезни сердца [29, 98, 111, 128, 152, 191, 200, 229, 239]. На моделях животных было доказано, что развитие атеросклеротического процесса в сосудах связано с изменениями уровня серотонина в плазме крови [29, 191, 245]. Моноамин, активируя рецепторы 5-НТ<sub>2</sub>, воздействует на стенку сосудов и усиливает пролиферацию эндотелиальных и гладкомышечных клеток, способствуя гипертрофическому ремоделированию артерий [29, 136, 152, 191, 237, 245]. Серотонин изменяет соотношение коллагена-эластина, что в последующем приводит к повышению жесткости артериальной стенки и изменению ее эластических свойств [29, 152, 191, 221, 236]. Также моноамин участвует в образовании пенистых клеток макрофагов, стимулируя формирование атеросклеротических бляшек [29, 152, 191, 245]. На моделях неполовозрелых мышей было показано, что рецепторы серотонина 5-НТ<sub>2</sub> и 5-НТ<sub>4</sub> оказывают положительное инотропное и хронотропное действие на миокард желудочков, изменяя сократительную функцию сердца [3, 54].

Концентрация серотонина в плазме крови регулируется мембранным переносчиком серотонина (SERT), основная функция которого заключается в транспорте моноамина из плазмы в тромбоциты [29, 85, 152, 153, 191]. Нарушение

работы SERT, изменение скорости транспорта серотонина также связывают с развитием и прогрессированием ССЗ [85, 171, 175, 234].

В настоящее время исследования, касающиеся выявления новых звеньев механизма развития атеросклеротического изменения сосудов, активно ведутся во всем мире [50, 138, 215]. Чаще всего в качестве экспериментальной животной модели для изучения атеросклероза используют мышей. Это связано с легкостью разведения и содержания, возможностью проведения генетических манипуляций [29, 38, 191, 205]. Мыши с дефицитом рецептора липопротеина низкой плотности наиболее точно имитируют липидные нарушения и атеросклеротические процессы, наблюдаемые у человека [29, 170, 191]. Известно, что у пациентов с СГХС в 90% случаев определяются изменения в гене *LDLR* [12, 28, 100], наблюдение за мышами с подобным дефектом, может оказаться полезным для изучения механизмов формирования сосудистого ремоделирования при наследственной дислипидемии.

Определение новых возможностей ранней диагностики атеросклеротических изменений сосудистой стенки при гетерозиготной форме СГХС, начиная с раннего детского возраста, позволит своевременно начать адекватную липидснижающую терапию, замедлить темпы прогрессирования атеросклероза и значительно снизить инвалидизацию и смертность от сердечно-сосудистых заболеваний.

### **Степень разработанности темы исследования**

Большинство работ, посвященных изучению семейной гиперхолестеринемии у детей, касается вопросов этиологии, инструментальной диагностики и лечения [47, 114, 142, 145, 159, 213]. Однако до сих пор не до конца выясненными остаются некоторые механизмы развития сосудистого ремоделирования при наследственной гиперхолестеринемии. Участие серотонина в инициации ССЗ подтверждается исследованиями, которые были проведены в основном *in vitro* или на экспериментальных моделях животных [85, 147, 152, 245]. В отечественной литературе достаточное количество работ посвящено исследованию роли серотонина и его рецепторов в регуляции сократимости миокарда в постнатальном

онтогенезе экспериментальных животных [19, 95]. Публикаций, касающихся изучения влияния серотонинергической системы на механизмы развития и прогрессирования атеросклеротических изменений сосудов, изменение функции левого желудочка у неполовозрелых гетерозиготных мышей с дефицитом рецептора липопротеина низкой плотности нет.

Клинические исследования, посвященные изучению концентрации серотонина в крови, проведены преимущественно на взрослой популяции [128, 180, 229, 239]. В литературе в большинстве случаев описаны эффекты острого постинфарктного действия серотонина у взрослых пациентов [64, 152, 200, 239]. В доступной на сегодняшний день литературе отсутствуют исследования, посвященные изучению серотонинергической системы у детей с семейной гиперхолестеринемией.

Несмотря на то, что серотонин имеет широкий спектр возможных воздействий на сердечно-сосудистую систему, доступные к настоящему времени литературные данные не дают полного объяснения механизмов его влияния на развитие атеросклеротических изменений сосудов. Изучение серотонинергической системы будет способствовать лучшему пониманию механизмов ремоделирования сосудов при гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии на физиологическом уровне, а также позволит в будущем разработать новые молекулярные, биохимические биомаркеры ранней диагностики атеросклероза.

### **Цель исследования**

Определение клинико-диагностического значения концентрации серотонина, его метаболита и мембранного переносчика в крови у детей с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией с экспериментальным обоснованием новых механизмов атеросклероза.

### **Задачи исследования**

1. Определить концентрацию серотонина, его метаболита (5-гидроксииндолуксусной кислоты), мембранного переносчика серотонина в крови у детей с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией.
2. Исследовать структурно-функциональное состояние сосудов по показателям артериальной ригидности и толщины комплекса «интима – медиа» общей сонной артерии у детей с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией во взаимосвязи с показателями серотонинергической системы в крови.
3. Определить клиническую значимость изучаемых факторов, влияющих на развитие сосудистого ремоделирования у детей с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией.
4. Определить концентрацию серотонина, его метаболита (5-гидроксииндолуксусной кислоты), мембранного переносчика серотонина в крови у неполовозрелых здоровых и гетерозиготных мышей с дефицитом рецептора липопротеина низкой плотности.
5. Исследовать механизмы влияния серотонина на строение и функции левого желудочка и аорты у неполовозрелых здоровых и гетерозиготных мышей с дефицитом рецептора липопротеина низкой плотности.

### **Научная новизна**

Впервые установлено гиперсеротонинергическое состояние у детей с гетерозиготной СГХС при отсутствии клинических проявлений заболевания. Показано, что у пациентов с гетерозиготной СГХС концентрация 5-НТ в плазме крови и тромбоцитах, основного метаболита серотонина – 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ГИУК) в плазме крови, SERT в тромбоцитах выше по сравнению с детьми контрольной группы.

Установлено, что у детей с СГХС с наиболее выраженным ремоделированием сосудов (средняя скорость пульсовой волны (СПВср) > 97 перцентиля, ТКИМ > 95 перцентиля) наблюдается увеличение концентрации 5-НТ в плазме крови, 5-ГИУК в плазме крови и SERT в тромбоцитах относительно пациентов с СГХС с нормальными значениями СПВср и ТКИМ.

У пациентов с гетерозиготной СГХС в детском возрасте установлен комплекс факторов, оказывающих влияние на развитие ремоделирования сосудов - ОХ, ХС ЛПНП, липопротеиды высокой плотности (ХС ЛПВП), триглицериды (ТГ), 5-НТ в плазме крови, 5-ГИУК в плазме крови и возраст.

Впервые для изучения роли серотонинергической системы в механизме развития и прогрессирования сосудистых нарушений в качестве экспериментальных животных использовались неполовозрелые гетерозиготные мыши с дефицитом рецептора липопротеина низкой плотности (мыши *Ldlr*<sup>+/-</sup>).

Впервые установлено, что у неполовозрелых мышей *Ldlr*<sup>+/-</sup> определяется более высокая концентрация 5-НТ в плазме крови и тромбоцитах, 5-ГИУК в плазме крови и тромбоцитах, SERT в тромбоцитах по сравнению с одновозрастными контрольными животными.

У неполовозрелых мышей *Ldlr*<sup>+/-</sup> в аорте и ЛЖ выявлены морфологические признаки атеросклероза, что сопровождается увеличением экспрессии моноклональных антител (МКАТ) против SERT и рецепторов серотонина – 5-НТ<sub>2А</sub> и 5-НТ<sub>2В</sub> как в аорте, так и в ЛЖ. Впервые выявлено увеличение экспрессии мРНК 5-НТ<sub>2А</sub> и 5-НТ<sub>2В</sub> рецепторов и SERT в аорте мышей *Ldlr*<sup>+/-</sup> относительно животных C57BL/6.

Установлено, что у неполовозрелых мышей *Ldlr*<sup>+/-</sup> исходная величина силы сокращения миокарда ЛЖ значительно увеличена относительно одновозрастных животных группы контроля. Выявлено дозозависимое снижение силы сокращения миокарда мышей *Ldlr*<sup>+/-</sup> в сравнении с исходными значениями по мере роста концентрации 5-НТ. У одновозрастных мышей C57BL/6 5-НТ вызывает дозозависимое увеличение силы сокращения миокарда ЛЖ.

## Теоретическая и практическая значимость работы

Установлено, что у детей с гетерозиготной СГХС определяется гиперсеротонинергическое состояние, характеризующееся повышенными концентрациями 5-НТ в плазме крови и тромбоцитах, 5-ГИУК, SERT, которые коррелируют с основными показателями липидного профиля.

Установлено прогрессирующее ремоделирование сосудов у детей с гетерозиготной формой СГХС без клинических проявлений, что коррелирует с уровнем серотонина, его метаболита и переносчика в крови.

Разработана прогностическая модель для определения вероятности наличия сосудистого ремоделирования у детей с СГХС с учетом уровня общего холестерина, ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, ТГ, серотонина и 5-ГИУК в плазме крови, возраста.

Выявлено, что в отличие от одновозрастных мышей линии C57BL/6 у животных Ldlr<sup>+/-</sup> определяются изменения концентрации 5-НТ, его метаболита и SERT. Показано, что у мышей Ldlr<sup>+/-</sup> выявляются атеросклеротические изменения в аорте и ЛЖ. Сосудистые изменения у мышей Ldlr<sup>+/-</sup> сопровождаются увеличением экспрессии МКАТ против 5-НТ<sub>2А</sub>, 5-НТ<sub>2В</sub> рецепторов и SERT, а также увеличением экспрессии этих генов относительно контрольных животных. Установлено увеличение силы сокращения миокарда ЛЖ у мышей Ldlr<sup>+/-</sup>, которое дозозависимо снижается по мере повышения концентрации 5-НТ. У контрольных животных моноамин вызывает дозозависимое увеличение силы сокращения миокарда.

На основе проведенного исследования был определен возможный механизм развития ремоделирования сосудов при гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии с участием серотонинергической системы, включающий увеличение концентрации серотонина в плазме крови, активацию рецепторов 5-НТ<sub>2</sub> и мембранного переносчика.

## **Методология и методы исследования**

Диссертационное исследование проводилось с использованием общенаучных подходов в соответствии с поставленными целью и задачами. При выполнении работы применяли клинические, лабораторные, инструментальные, гистологические, иммуногистохимические методы исследования, иммуноферментный анализ, метод полимеразной цепной реакции, высокоэффективную жидкостную хроматографию, тензометрический метод изучения сократимости миокарда *in vitro*.

## **Внедрение результатов работы**

Результаты, полученные в ходе проведения исследования, внедрены в работу ГАУЗ «Детская республиканская клиническая больница» МЗ РТ, включены в образовательный процесс кафедр госпитальной педиатрии, пропедевтики детских болезней и факультетской педиатрии, нормальной физиологии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.

## **Положения, выносимые на защиту**

1. У детей гетерозиготная форма СГХС характеризуется активацией серотонинергической системы с увеличением концентрации серотонина в плазме крови и тромбоцитах, 5-гидроксииндолуксусной кислоты в плазме крови, мембранного переносчика серотонина в тромбоцитах.

2. Увеличение показателей серотонинергической системы у детей с гетерозиготной формой СГХС сопряжено с развитием сосудистого ремоделирования, характеризующегося утолщением толщины комплекса «интима – медиа» общей сонной артерии, увеличением артериальной ригидности сосудов.

3. У неполовозрелых гетерозиготных мышей с дефицитом рецептора липопротеина низкой плотности увеличена концентрация серотонина, его метаболита и мембранного переносчика в крови, при этом серотонин вызывает дозозависимое снижение силы сокращения миокарда левого желудочка.

4. Экспрессия мРНК 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub> рецепторов и мембранного переносчика серотонина в аорте генно-модифицированных мышей существенно увеличена, что сопровождается морфологическими признаками атеросклероза в виде пролиферации гладко-мышечных клеток, наличия пенистых клеток, положительной корреляции с уровнем холестерина в крови.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность результатов подтверждается корректно спланированным дизайном, достаточным объёмом выборки и современными методами исследования.

Материалы исследования доложены на X Международном молодежном научном медицинском форуме «Белые цветы» (Казань, 2023 г.), XXIV съезде физиологического общества им. И.П. Павлова (Санкт-Петербург, 2023 г.), XXII Российском конгрессе «Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии» с международным участием (Москва, 2023 г.), VII Международном конгрессе «Фундаментальная и клиническая электрофизиология. Актуальные вопросы современной медицины», посв. А.Ф. Самойлову (Казань, 2024 г.), конгрессе Европейского общества атеросклероза (Лион, 2024 г.), VIII Всероссийской школе-конференции по физиологии и патологии кровообращения (Москва, 2025 г.).

Научная работа явилась победителем конкурса «50 лучших инновационных идей для Республики Татарстан 2022г.» (Казань, 2022 г.), конкурса научно-исследовательских и научно-практических работ на соискание именных стипендий Мэра города Казани среди студентов и аспирантов (Казань, 2023 г.), призёром (III место) в секции молодых учёных на Алмазовском молодежном медицинском

форуме (Санкт-Петербург, 2023 г.), призёром (I место) в секции молодых учёных на V Научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Студеникинские чтения-2023» (Москва, 2023 г.), призёром (III место) в конкурсе молодых учёных на XXV Конгрессе педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (Москва, 2024 г.), призёром (I место) в секции молодых учёных на LXXXV научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины – 2024» (Санкт-Петербург, 2024 г.), призёром (III место) в секции молодых учёных на Пятой научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Виртуоз педиатрии» (Москва, 2024 г.), призёром (I место) в конкурсе молодых учёных на VIII национальном конгрессе с международным участием «Здоровые дети – будущее страны» (Санкт-Петербург, 2024 г.), призёром (I место) в конкурсе молодых учёных на международном медицинском форуме «Вузовская наука. Инновации» (Москва, 2025 г.), призёром (III место) в секции молодых учёных на международной медико-биологической научной конференции молодых учёных «Фундаментальная наука и клиническая медицина» (XXVIII Всероссийская конференция «Человек и его здоровье») (Санкт-Петербург, 2025 г.), призёром (II место) в конкурсе молодых учёных на IX национальном конгрессе с международным участием «Здоровые дети – будущее страны» (Санкт-Петербург, 2025 г.), призёром (Диплом победителя I степени) на международном конкурсе научно-исследовательских работ среди молодых ученых «Грани мировой науки» (2025г.).

### **Личный вклад автора**

Автор в ходе выполнения диссертационного исследования лично принимал участие на всех этапах работы: осуществление научно-информационного поиска, проведение осмотра и клинического обследования пациентов, ведение и систематизация первичной документации, комплексная оценка клинических и лабораторных данных, статистический анализ результатов, проведение

исследований на экспериментальных моделях животных. Автором самостоятельно проведена систематизация и научное обобщение полученных результатов, разработка основных положений исследования, формулировка выводов и практических рекомендаций, подготовка материалов для выступлений и публикации научных работ. Доля личного участия в работах, опубликованных в соавторстве, составляет 85%.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, из них 11 - в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией для публикации результатов диссертационных исследований, в том числе 7 – в научных изданиях, входящих в базы данных SCOPUS, Web of Science. По результатам проведенного исследования получено свидетельство государственной регистрации программы для ЭВМ: № 2023685796 «Оценка риска неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у детей с семейной гиперхолестеринемией».

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа изложена на 159 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной материалам и методам исследования, 2 глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 245 источников, из них – 211 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 28 таблицами, 28 рисунками, 1 приложением.

## ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Семейная гиперхолестеринемия – современное состояние проблемы

В современном мире сердечно-сосудистые заболевания являются главной причиной смертности и инвалидизации населения земного шара. По оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), каждый год от болезней системы кровообращения умирает около 18 миллионов человек [28, 56]. Несмотря на проведение профилактических мероприятий, направленных на оздоровление населения и улучшение качества жизни пациентов, смертность вследствие нарушений функций сердечно-сосудистой системы неуклонно растет из года в год [18, 28].

В настоящее время установлено, что дислипидемии – ведущая причина развития и прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний [10, 28, 29, 191]. Крупное международное исследование INTERHEART, проведенное в 52 странах мира, определило дислипидемии как одну из главных причин развития инфаркта миокарда (ИМ) [34, 134]. Суммарный экономический ущерб от ССЗ, связанных с гиперхолестеринемией, в Российской Федерации оценивается примерно в 1,3 трлн рублей, что эквивалентно 1,5% ВВП [8, 28, 34].

Согласно результатам эпидемиологического исследования ЭССЕ-РФ (Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в регионах Российской Федерации), проведенного в 2012-2014 гг. в 13 регионах Российской Федерации и включавшее наблюдение за более чем 20 тысячами человек, уровень холестерина повышен в среднем у 57,6 % трудоспособного населения, а 7,7% имеют выраженное повышение ( $>4,9$  ммоль/л) уровня липопротеидов низкой плотности [33].

На сегодняшний день не вызывает сомнений наличие прямой зависимости между смертностью от ССЗ и повышенным уровнем холестерина. Более того, доказано, что повышение уровня ОХ в крови на 10% от нормы увеличивает риск развития ССЗ на 20-30% [10, 28, 232].

Инфаркт миокарда, инсульт, заболевание периферических артерий – кульминация атеросклероза. Патологический процесс начинается с накопления аномальных липидов в интиме сосудов, что соответствует «обратимой» стадии. Затем изменения прогрессируют до поздней стадии, при которой ядро внеклеточных липидов покрывается фиброзно-мышечной капсулой, и завершается всё тромбозом, разрывом сосуда или острой ишемией [104, 191]. Известно, что большая часть клинических проявлений ССЗ возникает во взрослом возрасте, что привело к ошибочному мнению об отсутствии этой патологии у детей [191]. Однако, исследования последних лет показали, что атеросклероз – многоступенчатый процесс, который начинается еще внутриутробно и прогрессирует на протяжении всей жизни [73, 82, 191]. Это принципиально важно, поскольку кардинально меняет наше представление о «стадийности» процесса, и обосновывает необходимость выявления и коррекции дислипидемий уже в раннем детстве [191].

По данным NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey, США), нарушение липидного обмена регистрируется у 20% подростков в возрасте от 12 до 19 лет. Среди детей с ожирением распространенность гиперлипидемии превышает 40% [28, 120, 233]. Результаты двух крупных исследований — многоцентрового PDAY (Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth, США) и проспективного когортного Bogalusa Heart Study (США) — продемонстрировали, что атеросклеротические изменения в сосудах развиваются уже в детском возрасте [28, 44, 96, 152]. При этом было установлено, что степень покрытия поверхности интимы атеросклеротическими поражениями связана с повышенными концентрациями общего холестерина, ХС ЛПНП и триглицеридов, а также с более низкой концентрацией ХС ЛПВП [28, 44, 152].

Семейная гиперхолестеринемия - самое распространенное генетически обусловленное нарушение липидного обмена. Это моногенное заболевание из группы первичных дислипидемий, сопровождающееся повышенной концентрацией ХС ЛПНП в плазме крови, ранним развитием атеросклеротического

поражения магистральных сосудов и высоким риском развития сердечно-сосудистых заболеваний в молодом возрасте [7, 12, 28, 29, 152, 191].

Согласно результатам метаанализа, включавшего данные 11 млн человек, распространенность гетерозиготной формы семейной гиперхолестеринемии составляет 1 случай на 313 человек [28, 152, 243]. Семейную гиперхолестеринемия диагностируют в 10 раз чаще у людей с ишемической болезнью сердца (ИБС), в 20 раз чаще — с преждевременными сердечно-сосудистыми событиями, в 23 раза чаще — у лиц с тяжелой гиперхолестеринемией [28, 243]. В 90% стран мира распространенность семейной гиперхолестеринемии неизвестна [80, 243]. По данным метаанализа, проведенном F. Toft-Nielsen с соавт. (2022), самая высокая частота семейной гиперхолестеринемии отмечена среди темнокожих (1:192), а минимальная — у азиатов (1:400) [28, 227].

Во всем мире приблизительно 35 млн человек с семейной гиперхолестеринемией, из них 6,8–8,5 млн — дети; каждую минуту в мире рождается один ребенок с гетерозиготной формой семейной гиперхолестеринемии [28, 109, 146, 151, 191]. Дети составляют четверть всех пациентов с наследственной дислипидемией. Только у 2,1% взрослых диагноз был поставлен в детстве или подростковом возрасте [107]. В российском регистре РЕНЕССАНС (Регистр пациентов с семейной гиперхолестеринемией и пациентов очень высокого сердечно-сосудистого риска с недостаточной эффективностью проводимой гиполипидемической терапии), по данным на вторую половину 2022 г., зарегистрированы около 2300 человек [23, 28].

Семейная гиперхолестеринемия наследуется по аутосомно-доминантному типу [12, 16, 17, 28]. В 85–95% случаев к развитию заболевания приводят изменения в гене рецептора ЛПНП (*LDLR*) [12, 28, 48]. По последним данным, 93% вариантов гена *LDLR* отнесены к категории патогенных, а 7% охарактеризованы как варианты неопределенной значимости [28, 115]. В настоящее время известно более 2300 патогенных вариантов гена *LDLR*, способных нарушить функцию рецептора ЛПНП [28, 48, 80]. Вторая по частоте причина возникновения СГХС (от 5 до 10%) – изменения в гене аполипопротеина В (*APOB*) [12, 28]. Согласно

результатам крупного европейского исследования, в котором участвовали дети из 8 стран, распространенность патогенных вариантов гена *APOB* в различных популяциях сильно варьирует — от 0% в Греции до 39% в Чехии [28, 69]. Носители патогенного варианта гена *LDLR* имеют более высокие концентрации общего холестерина и ХС ЛПНП, а также более выраженные проявления атеросклероза, чем носители патогенных вариантов гена *APOB* [12, 28]. В 1-2% случаев СГХС обусловлена изменениями в гене *PCSK9* [17, 28]. *PCSK9* – белок, который синтезируется в печени и кишечнике и участвует в разрушении рецепторов ЛПНП. *PCSK9* связывается с рецептором ЛПНП на поверхности клетки и транспортирует образовавшийся комплекс в лизосому, где происходит его деградация [165, 169]. Уменьшение количества действующих рецепторов еще больше усиливает функциональную активность *PCSK9*, что, в свою очередь, активирует синтез липопротеидов содержащих апоВ в печени. В конечном итоге это также приводит к повышению уровня ОХ [12, 17, 28]. Изменения в генах *LDLRAP1* (адаптерный белок 1-го типа рецептора ЛПНП), *ABCG5* (член 5-го подсемейства G АТФ-связывающей кассеты), *ABCG8* (член 8-го подсемейства G АТФ-связывающей кассеты) и *CYP7A1* (холестерол-7- $\alpha$ -гидроксилаза) могут приводить к развитию очень редкой аутосомно-рецессивной (гомозиготной) формы семейной гиперхолестеринемии [12, 28, 48].

Известно, что в течение первых десятилетий жизни, гетерозиготная форма СГХС, как правило, протекает бессимптомно, соответственно клинические проявления заболевания отсутствуют [5, 152, 191]. Манифестация симптомов чаще всего приходится на возраст старше тридцати лет, при этом качество жизни значительно ухудшается, а ее продолжительность сокращается в среднем на 25 лет [5].

Для постановки диагноза семейной гиперхолестеринемии предложено несколько критериев [26, 144, 198]. Распространение получили голландские критерии (Dutch Lipid Clinics Network Criteria) для установления диагноза у взрослых, критерии Simon Broom, модифицированные критерии Европейского общества по атеросклерозу [12, 28]. В соответствии с российскими клиническими

рекомендациями [12] для установления семейной гиперхолестеринемии у детей в возрасте до 16 лет предлагается использовать критерии Simon Broom [28]. Эти критерии включают оценку семейного анамнеза в отношении ранних сердечно-сосудистых заболеваний у родителей и родственников второй степени родства (ишемическая болезнь сердца, инфаркты миокарда у мужчин до 55 лет, у женщин до 65 лет), повышение уровня ОХ и ХС ЛПНП, наличие сухожильных ксантом, а также положительные результаты тестов ДНК-диагностики [12, 28].

Детский возраст является оптимальным периодом для диагностики нарушений липидного обмена, особенно наследственного характера. Раннее выявление СГХС у детей и своевременное начало адекватной липидснижающей терапии позволят сдерживать темпы прогрессирования атеросклероза и значительно снизить инвалидизацию и смертность от сердечно-сосудистых заболеваний в старших возрастных группах.

## **1.2 Ремоделирование сосудов и изменение левого желудочка при семейной гиперхолестеринемии**

Атеросклероз – хроническое заболевание, которое прогрессирует на протяжении всей жизни и начинается уже в детском возрасте [99, 133, 191]. Начальные функциональные и морфологические изменения сосудов развиваются еще задолго до появления первых клинических симптомов [40]. Эндотелиальная дисфункция и увеличение жесткости сосудов – два ключевых патофизиологических механизма, участвующих в развитии и прогрессировании атеросклеротических процессов [51, 129].

В артериальных сосудах повреждение эндотелия запускает хронический воспалительный процесс, который постепенно приводит к ремоделированию артериальной стенки [131, 219]. Ремоделирование – сложный адаптивный процесс, развивающийся в ответ на различные физиологические и патофизиологические изменения в сосудах. Он состоит из структурных и функциональных изменений в трех слоях сосудистой стенки, включая гиперплазию интимы, утолщение и

истончение меди и фиброз адвентиции [105, 235]. Эластин и коллаген - наиболее распространенные компоненты внеклеточного матрикса в артериях. При атеросклерозе увеличивается количество волокон коллагена с одновременным уменьшением эластина [105, 223, 238]. Коллаген – жесткий белок, функция которого заключается в ограничении эластичности и растяжения сосудов [238]. Потеря эластичности и повышение сосудистой жесткости приводят к увеличению скорости пульсовых волн, так как они распространяются быстрее в жестких артериях [182]. Это вызывает увеличение постнагрузки на сердце за счет повышения пульсового давления и в дальнейшем приводит к гипертрофии левого желудочка. Кроме того, нарушается и перфузия миокарда, что может спровоцировать развитие сердечной недостаточности [51].

Артериальная жесткость – общепризнанный независимый предиктор сердечно-сосудистого риска [148, 186, 220]. Существует несколько методов оценки изменения эластических свойств артерий, однако согласно рекомендациям Европейского общества гипертонии (ESH), неинвазивное измерение средней скорости пульсовой волны (СПВ) является золотым стандартом оценки доклинического изменения сосудов у людей с высоким сердечно-сосудистым риском, куда также относятся и пациенты с СГХС [65, 101, 220]. СПВ - мера скорости распространения волны артериального давления, которая обратно пропорциональна эластичности артериальной стенки [51]. Согласно результатам метаанализа, включавшего данные 16 тысяч пациентов, которых наблюдали в среднем около 7,7 лет, увеличение СПВ на 1 м/с повышает риск сердечно-сосудистых событий, сердечно-сосудистой смертности и смертности от всех причин на 14%, 15% и 15% соответственно [121, 240]. Исследования последних лет подтверждают связь артериальной жесткости с кардиоваскулярными заболеваниями и в детском возрасте [121]. Р. Toupin с соавт. одними из первых в 2001 г. выявили зависимость между концентрацией липидов в плазме крови у детей, ожирением и изменением эластических свойств артерий [178]. В многоцентровом исследовании, в котором приняли участие более 2 тысяч детей и молодых людей, было обнаружено, что такие факторы риска развития ССЗ, как

высокий уровень ХС ЛПНП и низкий уровень ХС ЛПВП, избыточная масса тела и высокое артериальное давление, выявленные в детстве, обратно коррелируют с эластичностью артерий во взрослом возрасте [190].

Дополнительно артериальная жесткость также может измеряться с помощью индекса аугментации (AIx), который определяется как отношение прироста систолического артериального давления (САД) к пульсовому давлению (ПД) и является наиболее широко применяемым маркером отражения волн [130]. Отражение волн, возникающее во время сердечного цикла, в частности на уровне восходящей аорты, является важным фактором, определяющим нагрузку на левый желудочек и коронарный кровоток [130, 149].

Измерение СПВ и AIx может использоваться как для скрининга ранних изменений сосудистой стенки, так и для оценки эффективности лечения гиполипидемической терапии [220, 231]. В настоящее время наиболее распространенным инструментальным методом оценки жесткости артерий является суточное мониторирование артериального давления (СМАД) с последующей оценкой ригидности сосудистой стенки с технологией Vasotens® [220].

У детей с семейной гиперхолестеринемией функциональные и морфологические изменения артериальной стенки определяются уже в раннем возрасте [59, 181]. В кросс-секционном исследовании с участием 33 детей в возрасте от 7 до 18 лет A. Tran с соавт. (2019) показали, что значения СПВ у детей с СГХС были значительно выше по сравнению с группой здоровых детей того же возраста [168]. Результаты другого поперечного исследования с участием 125 пациентов с семейной гиперхолестеринемией в возрасте от 20 до 60 лет продемонстрировали, что у людей с наследственной дислипидемией определялись более высокие значения AIx по сравнению с контрольной группой того же возраста и пола [123].

Ремоделирование сосудов – один из ведущих прогностически неблагоприятных факторов, который практически всегда сопровождает течение атеросклероза, основного проявления семейной гиперхолестеринемии [108, 152,

206]. При атеросклерозе ремоделирование сосудов уже не характеризуется как адаптивный механизм, который, как правило, является ответом на гемодинамические или механические изменения [125, 206]. В этом случае патологический процесс сопровождается нарушением структуры стенок сосудов вследствие субэндотелиального накопления модифицированных липопротеидов с последующим хроническим воспалительным ответом [125]. Ремоделирование сосудов подразделяют на три вида: гипертрофическое (утолщение стенки сосуда), гипотрофическое (истончение сосудистой стенки) и эутрофическое (неизменная толщина сосудистой стенки) [150]. Гипертрофическое ремоделирование – основной механизм изменения артериальной стенки при атеросклерозе [206]. Этот тип ремоделирования характеризуется увеличением площади поперечного сечения из-за повышенной пролиферации и/или миграции гладкомышечных клеток [206, 224].

ТКИМ – маркер гиперплазии интимы. В детском возрасте небольшое утолщение ТКИМ отражает компенсаторную адаптацию интимальных и медиальных слоёв к давлению и кровотоку при отсутствии атеросклеротических изменений сосудов. ТКИМ физиологически увеличивается у детей в зависимости от возраста и роста, пола, этнической принадлежности. Однако увеличение ТКИМ выше порогового уровня свидетельствует о ремоделировании сосудов в ответ на факторы риска развития ССЗ [60]. Измерение ТКИМ общей сонной артерии – «золотой стандарт» ранней диагностики атеросклероза у пациентов с семейной гиперхолестеринемией [152]. В исследованиях, проведенных ранее, установлена связь между увеличенной ТКИМ и более высоким сердечно-сосудистым риском как цереброваскулярных, так и прочих сердечных-сосудистых событий [45, 57, 61].

Измерение ТКИМ может проводиться двумя способами: проксимально — чуть ниже луковицы общей сонной артерии (ОСА) или дистально, в области, где линии, разграничивающие контур комплекса интима-медиа, проходят параллельно [61]. Представленные в литературе данные указывают на то, что ТКИМ значительно отличается у детей с наследственной дислипидемией по сравнению с их здоровыми сверстниками, а терапия статинами может задержать ее прогрессирование [57, 59,

216]. Результаты японского исследования показали, что возраст является независимым фактором риска утолщения интимы-медиа, тогда как повышенный уровень ХС ЛПНП был независимым фактором риска более высокой толщины интимы-медиа только у молодых пациентов [106]. В 2021 году был опубликован крупный метаанализ, включавший 119 клинических исследований с участием 100 667 пациентов. Основным выводом работы заключался в том, что замедление прогрессирования ТКИМ общей сонной артерии снижал степень риска ССЗ [62].

Высокие уровни атерогенных липидов влияют на функцию левого желудочка уже с детского возраста [91, 176]. Изменение и нарушение функции левого желудочка при семейной гиперхолестеринемии возникает вследствие нескольких потенциальных механизмов [176]. Увеличение содержания липидов и липидных метаболитов (церамидов, свободных жирных кислот, перекиси липидов) в кардиомиоцитах оказывает токсическое воздействие на клетки, повреждая митохондрии, вызывая дефицит аденозинтрифосфата (АТФ) [63, 176, 230]. Исследование, проведенное на экспериментальных животных, показало, что гиперхолестеринемия уменьшает экспрессию миокардиального белка коннексина 43, который играет важную роль в электромеханическом взаимодействии сердца, являясь основным компонентом щелевого контакта. У кроликов со сниженным уровнем белка было выявлено нарушение сократительной функции желудочков [84]. Данная картина была описана как «холестериновая кардиомиопатия» [55, 176]. Кроме того, гиперхолестеринемия вызывает окислительный и нитрозативный стресс в микроциркуляторном русле, увеличивая продукцию активных форм кислорода и азота, что напрямую влияет на сократительную функцию миокарда [55]. Проведенное с использованием эхокардиографии итальянское исследование у пациентов с гиперхолестеринемией без ИБС выявило ранние субклинические нарушения систолической и диастолической функции левого желудочка [90]. В другой работе также сообщалось о серьезном ухудшении диастолической функции левого желудочка у бессимптомных пациентов с гиперхолестеринемией [195].

Гиперхолестеринемия приводит к гипертрофии левого желудочка за счет усиления окислительного стресса в сердце, изменения функции и экспрессии АТФ-

чувствительных калиевых каналов в миокарде, повышения концентрации эндотелина-1 в плазме и вазомоторных изменений, активации гипертрофических сигнальных путей в кардиомиоцитах [91, 112, 211]. Гипертрофия левого желудочка у детей с СГХС может возникать и из-за более высокой постнагрузки, вызванной повышенной жесткостью артерий [52, 89]. В исследовании под руководством G. Di Salvo (2012) было установлено, что у детей с гетерозиготной СГХС определяются морфологические и функциональные изменения левого желудочка – более толстые стенки и более высокая масса левого желудочка, индексированная по росту (2,7), относительно группы контроля [91].

Атеросклероз в детском возрасте, практически всегда, характеризуется отсутствием клинических симптомов, но в сосудах в тоже время уже происходят функциональные и морфологические изменения. Измерение артериальной жесткости и ТКИМ – два важных инструментальных метода диагностики ранних эндотелиальных повреждений, которые могут использоваться врачами в амбулаторной практике. Однако применение этих методов в педиатрии ограничено. СМАД с последующей оценкой артериальной ригидности – достаточно длительная по времени процедура, она не может использоваться у детей с небольшим обхватом плеча и доступна лишь в крупных медицинских центрах. Использование ТКИМ также ограничено у детей младше 5 лет. Необходимы простые и быстрые методы диагностики, позволяющие уже в младенчестве начинать соответствующие профилактические меры, предотвращая последующие сердечно-сосудистые осложнения. В связи с этим лабораторные маркеры, коррелирующие с ранним поражением сосудистой стенки, которым можно заменить сложные инструментальные способы диагностики, облегчат выявление атеросклероза на доклинической стадии в педиатрической популяции.

## 1.3 Роль серотонина в регуляции сердечно-сосудистой системы

### 1.3.1 Серотонин и его метаболит

Серотонин, 5-гидрокситриптамин – нейромедиатор, моноамин, который впервые был описан как сосудосуживающее средство [29, 191, 200]. Серотонин синтезируется с помощью фермента триптофангидроксилазы (ТРН) из незаменимой аминокислоты триптофана, поступающей с пищей [110, 137]. В организме 5-НТ выполняет широкий спектр функций и в зависимости от места синтеза подразделяется на центральный и периферический [137, 191]. Серотонин, как и другие моноамины, практически не проходит через неповрежденный гематоэнцефалический барьер [24, 54, 191]. В центральной нервной системе (ЦНС) он контролирует такие функции мозга, как активность вегетативных нейронов, реакцию на стресс, температуру тела, сон, настроение и аппетит [137, 191, 208]. Все эти процессы регулируются лишь примерно 5% собственного 5-НТ организма, который вырабатывается в ядрах шва ствола мозга [191, 202]. Оставшиеся 95% 5-НТ синтезируются на периферии, в основном энтерохромаффинными клетками в кишечнике с участием фермента триптофангидроксилазы 1 (ТРН1) [127, 191, 202]. Исследования последних лет показывают, что кардиомиоциты, нейроэндотелиальные клетки легких, почек, надпочечников, панкреатические В-клетки и адипоциты также способны вырабатывать серотонин [127, 191, 217]. Доказано, что в периферических артериях также существует локальная 5-гидрокситриптаминергическая система, способная синтезировать моноамин [152, 191, 217].

После синтеза в энтерохромаффинных клетках кишечника серотонин попадает в кровоток через капиллярное русло в подслизистом слое стенки кишечника [97, 153]. В плазме крови моноамин поглощается тромбоцитами при помощи мембранного переносчика серотонина [200] (рисунок 1). Попав в цитоплазму тромбоцитов, 5-НТ секвестрируется везикулярным переносчиком моноаминов (VMAT) во внутриклеточные плотные гранулы либо расщепляется моноаминоксидазой (MAO) [29, 85, 153, 191]. Предполагается, что тромбоциты

предназначены для жесткого контроля внутриклеточной концентрации 5-НТ [85]. Они являются основным циркулирующим резервуаром серотонина, хранят его в своих плотных гранулах в высоких концентрациях и высвобождают при активации [85, 137]. 5-НТ метаболизируется в печени и в конечном итоге выводится из организма в виде основного метаболита - 5-гидроксииндолуксусной кислоты [110]. Другие метаболиты серотонина включают 5-гидроксииндолуксусный альдегид (5-НЗА), 5-гидрокситриптофол (5-НТФЛ), N-ацетилсеротонин (НАС) и 5-метокситриптамин (5-МТ) [97, 183].

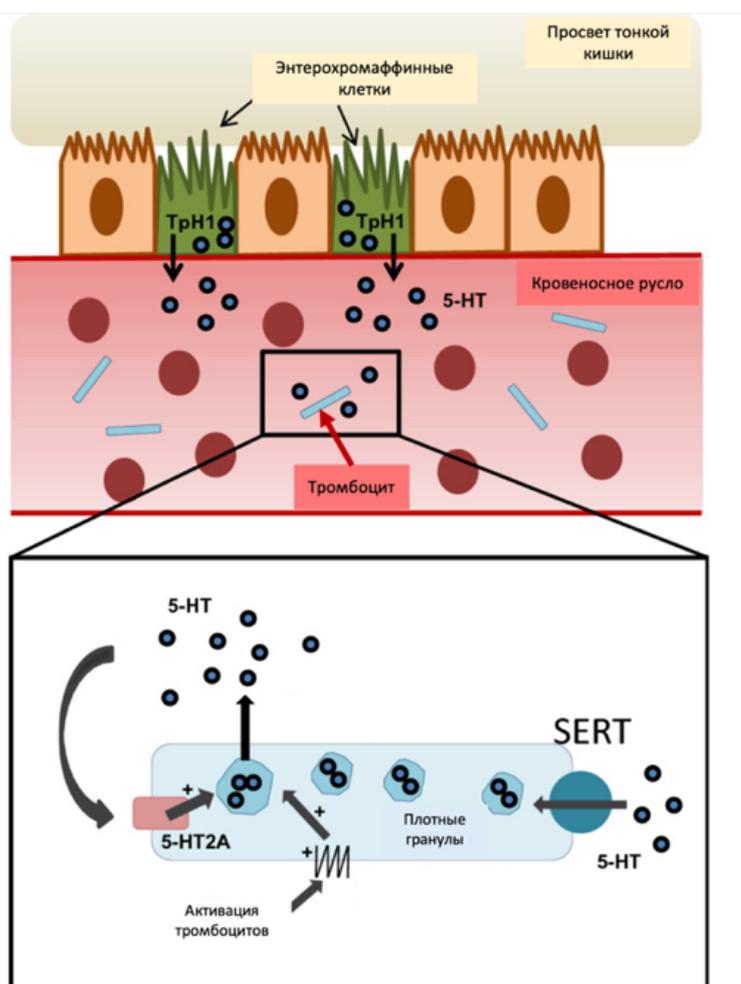


Рисунок 1 – Схема синтеза серотонина в энтерохромаффинных клетках кишечника (M. Rieder с соавт. (2020) [200])

Примечание – голубые прямоугольники – тромбоциты

Гиперхолестеринемия приводит к функциональному и структурному повреждению сосудистой стенки [158]. Связавшись с обнаженным коллагеном в местах повреждения эндотелия сосудов, циркулирующий фактор фон Виллебранда

(ФВ) индуцирует первичный гемостаз. Тромбоциты способны прикрепляться к ФВ через гликопротеин (GP) I $\beta$ a, экспрессируемый на их поверхности [194, 200]. Это стабильное связывание позволяет коллагену взаимодействовать с GP IIb/IIIa на тромбоцитах и активировать их [77]. Также гиперхолестеринемия способствует гиперреактивности тромбоцитов посредством прямого взаимодействия окисленных ЛПНП с мембраной тромбоцитов через рецепторы-скавенджеры, такие как CD36 и сигнальные пути, включая киназы семейства Src (SFК), митоген-активируемые протеинкиназы (МАРК) и никотинамидадениндинуклеотидфосфат (NADPH) оксидазу [29, 152, 172, 173]. При активации тромбоцитов ряд внутриклеточных сигнальных механизмов приводит к экзоцитозу плотных гранул. Они высвобождают широкий спектр молекул, таких как аденозиндифосфат (АДФ), АТФ, Ca<sup>2+</sup> и 5-НТ [29, 152, 200]. Поскольку сами тромбоциты экспрессируют соответствующие рецепторы для этих высвобождаемых веществ, включая рецепторы 5-НТ<sub>2A</sub>, секреция плотных гранул приводит к петле обратной связи, усиливающей агрегацию и активацию тромбоцитов в месте повреждения сосудов [200].

Участие серотонина в процессе активации и агрегации тромбоцитов было доказано на моделях лабораторных животных [200]. У животных, которым вводили 5-НТ, определялась повышенная агрегация тромбоцитов [36, 85, 214]. Напротив, у мышей с дефицитом TRH1 и низкими уровнями 5-НТ в периферической крови увеличивалось время кровотечения из-за нарушения высвобождения молекул из плотных гранул. Это приводило к снижению риска артериального тромбоза и экспериментальной венозной тромбоземболии [200, 204]. E. Ziu с соавт. (2012) доказали, что у мышей, которым вводили 5-НТ, время кровотечения из хвоста было сокращено [85, 152]. В исследованиях влияния 5-НТ на гемостаз было показано, что селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС) предрасполагают к кровотечению. Результаты научных работ свидетельствуют о том, что повышенный уровень 5-НТ в плазме крови представляет собой независимый фактор риска гиперреактивности тромбоцитов и потенциально повышенный риск тромбоза [85].

В периферических тканях 5-НТ оказывает влияние на регуляцию сосудистого тонуса, перистальтику кишечника, частоту и силу сердечных сокращений, дыхательную активность, гемостаз, иммунный ответ, эмбриональное развитие [19, 29, 137, 191, 200, 225]. Повышенные концентрации 5-НТ были описаны при артериальной гипертензии, атеросклерозе сонных артерий и ишемической болезни сердца [29, 191, 200]. В ряде исследований показано, что серотонин играет ключевую роль в развитии и прогрессировании сердечно-сосудистых заболеваний атеросклеротического генеза. Серотонин способствует вазоконстрикции, митогенезу, пролиферации гладкомышечных клеток (ГМК) и образованию пенистых клеток макрофагов [29, 152, 191, 245]. Серотонин может действовать и опосредованно, усиливая высвобождение и активность других вазоконстрикторов, таких как ангиотензин и норадреналин [19, 111, 152, 191].

В исследовании, посвященном определению роли 5-НТ в развитии атеросклероза, Y. Ma с соавт. (2022) подтвердили, что увеличение синтеза липопротеидов очень низкой плотности (ХС ЛПОНП) и снижение продукции ХС ЛПВП у лабораторных мышей с мутацией гена аполипопротеина Е, получавших диету с высоким содержанием жиров (HFD), были связаны с активацией серотонинергической системы. Кроме того, они обнаружили, что в макрофагах, которые проникают в интиму артерий и образуют пенистые клетки во время формирования атеросклеротических бляшек, была повышена экспрессия рецептора 5-НТ<sub>2A</sub>, TRH1 и декарбоксилазы ароматических L-аминокислот (AADC) [245]. AADC – фермент, под действием которого 5-гидрокситриптофан превращается в серотонин [39]. Это может свидетельствовать о возможности синтеза серотонина в макрофагах. На моделях животных было доказано, что сарпогрелат, как антагонист рецептора 5-НТ<sub>2A</sub>, может ингибировать развитие атеросклероза [152, 245]. Применение сарпогрелата у кроликов замедляло прогрессирование атеросклероза [196]. Также антагонист серотонина сарпогрелат оказывал благоприятное терапевтическое действие на пациентов с облитерирующим атеросклерозом и критической ишемией конечностей [94, 180]. В группе пациентов с сахарным диабетом II типа сарпогрелат уменьшал объем

бляшек в коронарных артериях [92, 152]. В исследовании, направленном на оценку взаимосвязи между уровнями 5-НТ в плазме и сосудистой деменцией, вызванной инсультом или атеросклеротическим поражением мелких сосудов, У. Ван с соавт. (2007) выявили значительную положительную корреляцию между ТКИМ и уровнями 5-НТ [128].

Доказано участие 5-НТ и в развитии инфаркта миокарда. Серотонин индуцирует агрегацию тромбоцитов и сокращение сосудов в местах коронарного атеросклероза, что в последующем приводит к образованию тромбов и развитию ишемии [64, 212]. При артериальной гипертензии кровеносные сосуды человека становятся более чувствительными к вазоконстрикторным эффектам 5-НТ, и этот эффект еще более усиливается действием других вазоконстрикторов, таких как ангиотензин и эндотелин [83, 171, 244]. В. Brenner с соавт. (2007) сообщают о 33% увеличении серотонина в плазме пациентов с диагнозом артериальная гипертензия после поступления в отделение неотложной помощи [171].

Наличие большого количества функций 5-НТ обусловлено разнообразием его рецепторов [29, 137, 191]. Рецепторы 5-НТ<sub>1</sub>, 5-НТ<sub>2</sub>, 5-НТ<sub>4</sub>, 5-НТ<sub>7</sub> и отвечают за периферические эффекты серотонина на сердечно-сосудистую систему [29, 127, 191]. Рецепторы подсемейства 5-НТ<sub>2</sub> были впервые описаны в 1979 году и подразделяются на подтипы 5-НТ<sub>2А</sub>, 5-НТ<sub>2В</sub> и 5-НТ<sub>2С</sub> [202, 209]. Многие типы клеток в периферических тканях экспрессируют рецепторы 5-НТ<sub>2А</sub> и 5-НТ<sub>2В</sub>, включая тромбоциты, фибробласты, лимфоциты и миоциты, ГМК [135]. На периферии тела экспрессия рецептора 5-НТ<sub>2С</sub> не была обнаружена [202]. Рецепторы 5-НТ<sub>2</sub> принадлежат к суперсемейству рецепторов, сопряженных с G-белком (GPCR) [29, 152, 166, 191]. С помощью молекулярно-динамического моделирования было подтверждено, что холестерин участвует в активации GPCR при помощи двух механизмов: прямого (изменение структуры рецептора вследствие непосредственного взаимодействия с холестерином) и косвенного (изменение (деформация) структуры мембраны) [29, 143, 152, 191].

Серотонин оказывает положительное инотропное и хронотропное действие на миокард желудочков [3, 54]. В большинстве случаев в физиологических

условиях этот процесс возникает вследствие активации рецепторов 5-НТ4 [54]. 5-НТ4 рецепторы вызывают каскад внутриклеточных реакций, опосредованных гуанозинтрифосфатным белком ( $G_s$ -белок), приводящих к увеличению количества мембранных белков и усилению тока через каналы  $Ca^{2+}$  L-типа [3, 53]. Активация 5-НТ4 рецепторов ведет к стимуляции  $G_s$ -белков и повышению активности аденилатциклаз. Образуется больше 3',5'-циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), который активирует цАМФ-зависимые протеинкиназы (ПКА). Это приводит к фосфорилированию и активации  $Ca^{2+}$  L-типа в сарколемме, риаудиновых рецепторах, фосфоламбана [54].

Повышенные концентрации серотонина способствуют активации в кардиомиоцитах менее чувствительных 5-НТ2 рецепторов, которые могут оказывать как положительное, так и отрицательное инотропное действие на миокард [3, 87]. Активация 5-НТ2 рецепторов вызывает каскад внутриклеточных реакций, опосредованных белками  $G_{\alpha q}$ , в результате которого происходит активация фосфолипазы C и гидролиз мембранных фосфолипидов до инозитол-1,4,5-трифосфата (ИТФ) и диацилглицерола (ДАГ) [54, 135]. ИТФ увеличивает концентрацию  $Ca^{2+}$  в цитозоле, высвобождая его из эндоплазматического ретикулула. ДАГ активирует протеинкиназу C (ПКС) и облегчает ее транслокацию из цитозоля в мембрану [135]. Дополнительно 5-НТ2 рецепторы способны стимулировать фосфолипазу A2 и высвобождение арахидоновой кислоты [49, 135]. Одновременно с положительным инотропным действием на миокард желудочков, рецепторы 5-НТ2В оказывают и отрицательный эффект [167]. Рецепторы 5-НТ2В стимулируют активацию конститутивной синтазы оксида азота (NOS), а именно ее эндотелиальной формы. Эндотелиальная NOS запускает внутриклеточную продукцию циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) и протеинкиназы G, что подавляет инотропную функцию сердца посредством десенсibilизации сердечных миофиламентов [135, 161]. Активация рецепторов 5-НТ2В может способствовать апоптозу в кардиомиоцитах, снижая соотношение Bcl-2/Bax и увеличивая активность каспаз [162, 192].

В то же время сверхэкспрессия рецепторов 5-HT<sub>2B</sub> приводит к гипертрофии кардиомиоцитов, усилению фиброза, что способствует снижению сократимости сердца [163, 131, 209]. Длительное воздействие сверхвысоких концентраций серотонина приводит к десенсibilизации положительного инотропного и хронотропного эффектов моноамина [78].

Несмотря на то, что 5-HT имеет широкий спектр возможных воздействий на сердечно-сосудистую систему, доступные к настоящему времени литературные данные не дают полного объяснения физиологических механизмов влияния серотонина на развитие сердечно-сосудистой патологии, в том числе, на атеросклеротическое поражение сосудов. Необходимо дальнейшее изучение клинических и физиологических эффектов 5-HT, мембранного переносчика серотонина, и их роли в механизме развития ремоделирования сосудов у детей с СГХС.

### **1.3.2 Мембранный переносчик серотонина**

Мембранный переносчик серотонина относится к семейству Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> зависимых переносчиков растворенных веществ (SLC6) [152, 153]. SERT обеспечивает насыщаемый механизм обратного захвата серотонина из синаптической щели [85, 152]. Хорошо изучена структура и роль SERT в пресинаптической мембране серотонинергических синапсов ЦНС, где он осуществляет функцию обратного захвата и переноса серотонина в пресинаптическую терминаль. Являясь натрий-зависимым мембранным белком SERT изменяет воздействие серотонина на рецепторы постсинаптической мембраны. От активности и плотности переносчика зависит концентрация серотонина в синаптическом контакте [85, 152, 153].

Входя в состав мембраны тромбоцитов [193], SERT обеспечивает транспорт серотонина из плазмы крови в тромбоциты и его запасание в плотных гранулах при помощи везикулярного переносчика моноаминов [85], либо расщепление внутриклеточной моноаминоксидазой [152, 153]. Показано, что повышение уровня серотонина в плазме крови коррелирует со снижением плотности молекул

переносчика на плазматической мембране тромбоцитов [110, 152]. SERT, участвуя в регуляции системного гомеостаза серотонина, входит в состав различных тканей организма человека [152]. Его обнаруживали в плазматических мембранах гладкомышечных клеток [160], кардиомиоцитов [19], легочного эндотелия [117], плацентарного эпителия [103]. Молекулярная структура SERT одинакова для всех типов клеток [210], однако его функциональная роль в различных тканях изучена недостаточно [152]. Установлено, что на тромбоцитах SERT обеспечивает депонирование серотонина из плазмы крови. Этот механизм связан с изменением концентрации последнего в крови, при этом в тромбоцитах запасается до 95% серотонина, а в плазме свободно циркулирует не более 5% [152, 171, 174].

Гомеостаз серотонина в организме человека обеспечивается в том числе конформационными изменениями SERT [35, 152]. Так, при концентрации серотонина в плазме крови менее 0,1 мкМ, SERT находится в «спящем» состоянии. Увеличение уровня свободного серотонина активирует SERT и стимулирует изменение его конформации из неактивной, обращенной внутрь, в новое положение наружу, которое сопровождается более высоким сродством к серотонину, что значительно активирует его транспорт. Аномально высокие уровни 5-НТ в плазме крови приводят к нарушению работы мембранного переносчика и возвращению в конформацию внутрь с низким сродством к серотонину. Несмотря на это, даже при самых высоких уровнях 5-НТ в плазме всегда есть небольшое количество молекул SERT на плазматической мембране тромбоцитов, которые все еще продолжают выводить 5-НТ из плазмы, но с более низкой скоростью. Они активны, вероятно, до тех пор, пока не будет достигнут физиологический уровень серотонина в плазме [110, 152, 153]. Благодаря эффекту обратной связи, серотонин контролирует свои собственные уровни концентрации в плазме, модулируя свойства поглощения SERT [171].

Е. Ziu с соавт. (2012) определяли функцию тромбоцитов после 24-часового повышения уровня серотонина у мышей *in vitro* и *in vivo*. Они выявили начальное увеличение SERT-опосредованного поглощения 5-НТ с усилением агрегации

тромбоцитов, за которым затем последовала потеря SERT на плазматической мембране тромбоцитов и ослабление поглощения 5-НТ [29, 85].

В исследовании, посвященном ответу тромбоцитов на серотонин у пациентов со стабильной ИБС, А. Kim с соавт. (2014) получили схожие данные. При стимулировании тромбоцитов высокими концентрациями 5-НТ наблюдалось значительное снижение их активации после достижения пикового уровня при концентрации 5-НТ 15 мкМ [175].

Последние исследования показали, что конформационные изменения SERT зависят не только от концентрации серотонина в плазме крови [35, 152]. Холестерин также способен взаимодействовать с SERT, изменяя его конфигурацию и функцию [152, 203]. Этот липид индуцирует временную конформацию наружу, увеличивая сродство мембранного переносчика к серотонину [147, 152]. S. M. Scanlon с соавт. (2001) изучали нарушение функциональной активности SERT в клетках эмбриональной почки человека, изменяя содержание холестерина в них [29, 152, 197]. Липидную среду имитировали при помощи мембранной модели, содержащей 15, 20 и 25 мол.% холестерина с производными фосфоколина и фосфоэтаноламина [155, 197, 222]. Снижение уровня холестерина приводило к уменьшению активности мембранного переносчика через изменение его конформации, что снижало сродство SERT к серотонину и, соответственно, скорость его транспорта [152, 197].

Было установлено, что при артериальной гипертензии нарушается скорость поглощения серотонина SERT [171]. Также уровень переносчика серотонина у людей связан с венозным тромбозом [200, 234].

В связи с этим можно предположить, что терапия, направленная на стимулирование экспрессии SERT на поверхности тромбоцитов и, таким образом, снижение уровня 5-НТ в плазме, может представлять собой новый подход к лечению атеросклероза, заболеваний периферических артерий, артериальной гипертензии и тромботических явлений.

## 1.4 Животные модели атеросклероза

Использование животных моделей атеросклероза – важный инструмент для изучения молекулярных и физиологических механизмов, лежащих в основе атеросклеротического изменения сосудов [29, 191]. Основное преимущество животных моделей – ускоренное образование бляшек, которое может быть достигнуто несколькими путями: кормление животных диетой западного типа богатой холестерином; манипуляция с генами, участвующими в метаболизме холестерина; введение дополнительных факторов риска развития атеросклероза [38, 205].

Первое доказательство, что атеросклероз может возникать у лабораторных животных, было представлено А.И. Игнатовским в 1908 году. Он выявил атеросклеротические поражения в стенке аорты кроликов, которых кормили пищей, обогащенной животным белком (в основном мясом, молоком и яичным желтком) [156, 191]. С тех пор для экспериментов использовались различные животные: кролики, мыши, крысы, морские свинки, хомяки, птицы, собаки [74, 81, 156, 179, 185, 189, 191]. На сегодняшний день мыши - наиболее часто используемые животные модели в экспериментальных исследованиях атеросклероза. Легкость разведения, низкая стоимость содержания, возможность проведения генетических манипуляций и относительно короткий период развития атеросклероза делают грызунов идеальными моделями для изучения атеросклеротических изменений сосудов [29, 38, 191, 205]. C57BL/6 - наиболее восприимчивая линия мышей, у которых развивается легкая гиперхолестеринемия и жировые полосчатые поражения в корне аорты после 3–9 месяцев питания диетой, богатой жирами [156, 199]. «Прорывом» в истории исследования атеросклероза стало создание в конце XX века на фоне линии C57BL/6 двух классических моделей трансгенных мышей: с дефицитом апопротеина E (*ApoE*  $-/-$ ) и с дефицитом рецептора липопротеина низкой плотности (ЛПНП) (*Ldlr*  $-/-$ ) [116, 191, 205]. Рецептор ЛПНП — мембранный белок с молекулярной массой 160 кДа, который опосредует эндоцитоз богатых холестерином ЛПНП и, таким образом, поддерживает уровень ХС ЛПНП

в плазме крови [29, 38]. По сравнению с мышами с нокаутом *ApoE*, грызуны с дефицитом рецептора липопротеина низкой плотности характеризуются более умеренным повышением уровня холестерина плазмы на 250 мг/дл при кормлении стандартной диетой с низким содержанием жиров, а повышенный уровень липопротеинов в основном представлен ХС ЛПНП [126, 156]. При диете с высоким содержанием жиров у мышей *Ldlr*  $-/-$  развивается тяжелая гиперхолестеринемия на уровне 900 мг/дл с накоплением липопротеидов очень низкой плотности и ХС ЛПНП, а также обширный атеросклероз [156, 242].

Мыши с нокаутом гена *Ldlr* наиболее точно имитируют липидные нарушения и атеросклеротические процессы, наблюдаемые у человека [29, 170, 191]. Отсутствие функционального рецептора LDLR встречается у людей с семейной гиперхолестеринемией, что делает модель с дефицитом рецептора липопротеина низкой плотности наиболее полезной и удобной для изучения наследственной дислипидемии и механизмов формирования атеросклеротических изменений сосудов [156, 191].

## **ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Диссертационное исследование проведено на кафедре госпитальной педиатрии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на базе ГАУЗ «Детская республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Республики Татарстан». Экспериментальная часть исследования проведена на кафедре нормальной физиологии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России. Исследование выполнялось при поддержке гранта, предоставляемого Российским научным фондом (№23-15-00417) «Серотонин, мембранный переносчик серотонина, триптофангидроксилаза и TRPC 3 и 6 каналы в патогенезе сосудистых поражений у детей», гранта Международного научного совета ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России (2022 г.) и программы «УМНИК» (№18123ГУ/2022).

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России (протокол №11 от 19.12.2023, протокол №5 от 21.05.2024).

### **2.1 Дизайн исследования**

#### **Клиническая часть исследования**

Проведено кросс-секционное исследование с участием 116 детей в возрасте от 5 до 17 лет включительно. Забор материала производился в период с 2022 г по 2024 гг. В основную группу вошли 58 пациентов с диагнозом «семейная гиперхолестеринемия, гетерозиготная форма», в группу контроля – 58 условно здоровых детей (рисунок 2).

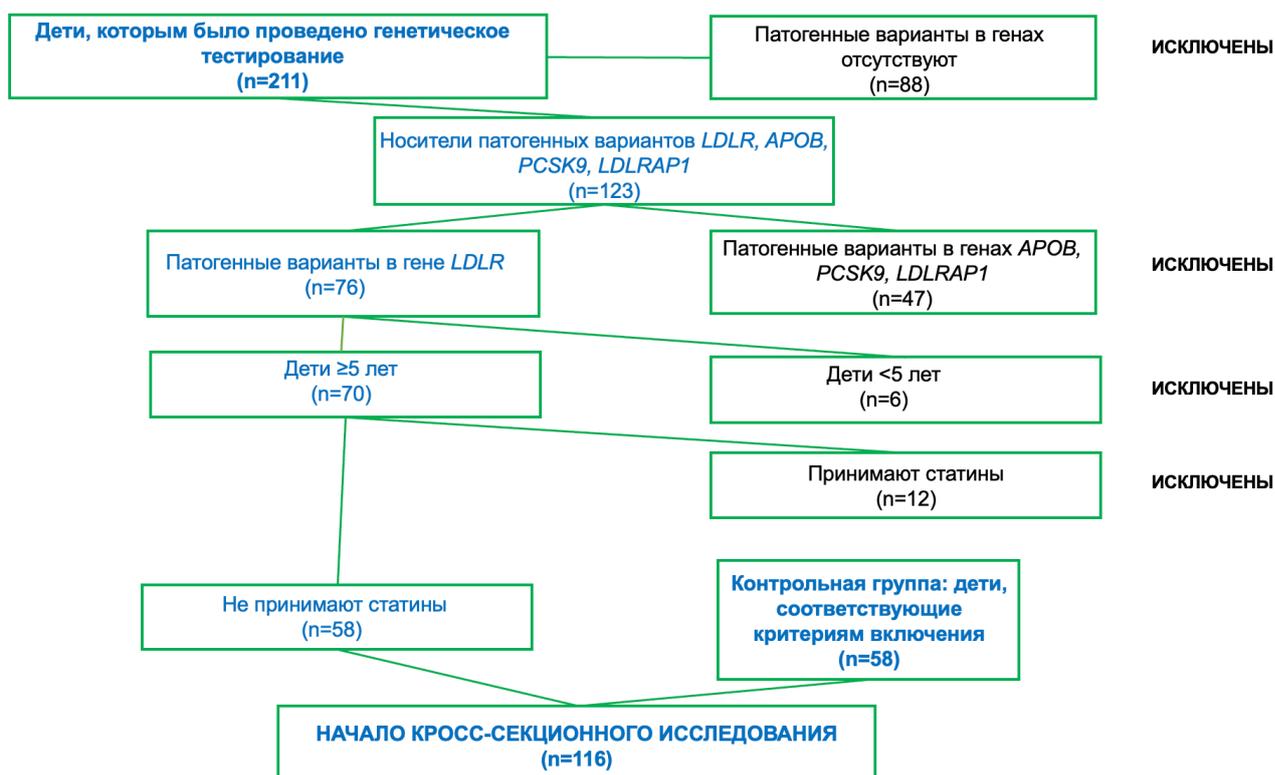


Рисунок 2 – Дизайн диссертационного исследования

### Критерии включения пациентов в основную группу:

- 1) возраст детей от 5 до 17 лет включительно;
- 2) установленный диагноз «Гетерозиготная форма семейной гиперхолестеринемии» в соответствии с Российскими клиническими рекомендациями, основанными на критериях Simon Broome Registry [12];
- 3) наличие патогенных вариантов в гене *LDLR*.

### Критерии невключения:

- 1) возраст детей <5 лет и >17 лет 11 месяцев и 29 дней;
- 2) применение гиполипидемических препаратов;
- 3) назначение препаратов, которые изменяют или взаимодействуют с моноаминергической системой;
- 4) основные заболевания/состояния, а также лекарственные препараты, которые могут обуславливать вторичное повышение ХС ЛПНП (холестаз, нефротический синдром, хроническая болезнь почек, сахарный диабет, гипотиреоз,

ожирение, синдром Кушинга; лекарственные средства – циклоспорин, диуретики, глюкокортикоиды, амиодарон, иммунодепрессанты, комбинированные оральные контрацептивы, антивирусная терапия при вирусе иммунодефицита человека);

5) наличие хронических заболеваний дыхательной, желудочно-кишечной, нервной систем в анамнезе.

В состав контрольной группы вошли условно-здоровые дети в возрасте от 5 до 17 лет без ССЗ и с уровнем ОХ < 4,4 ммоль/л.

### **Экспериментальная часть исследования**

Экспериментальная часть исследования проводилась на 48 неполовозрелых гетерозиготных мышах линии C57BL/6JGpt-Ldlr<sup>em1Cd82</sup>/Gpt (Ldlr +/-) в возрасте 5-7 недель (основная группа) и 36 мышах линии C57BL/6 (питомник лабораторных животных «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА) соответствующего возраста и пола (группа контроля). По данным возрастной периодизации мышей, возраст мышей был эквивалентен возрасту участников исследования клинической части [31].

Для получения основной группы гетерозиготных мышей линии C57BL/6JGpt-Ldlr<sup>em1Cd82</sup>/Gpt (Ldlr +/-) гомозиготные мыши линии C57BL/6JGpt-Ldlr<sup>em1Cd82</sup>/Gpt (Ldlr -/-) (кат. № T001464; GemPharmatech Co., Ltd., Китай) были скрещены с мышами линии C57BL/6 (питомник лабораторных животных «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА).

Все исследования были проведены в соответствии с этическими принципами и нормативными документами, рекомендованными Европейским научным фондом (ESF) и Хельсинкской декларацией о гуманном отношении к животным. Содержание животных и уход за ними осуществлялись в соответствии с правилами, изложенными в Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986).

## **2.2 Методы исследования клинической части**

### **2.2.1 Общие методы исследования**

Всем детям, включенным в исследование, проводили: объективный осмотр, антропометрию с последующей оценкой индекса массы тела (ИМТ) детей с учетом их пола и возраста с использованием критериев Z-score по рекомендациям ВОЗ [226], сбор анамнестических данных. Особое внимание уделялось семейному анамнезу (раннее развитие ССЗ, наличие инфаркта миокарда/инсульта у мужчин <55 лет, у женщин <60 лет, наличие сухожильных ксантом/дуги роговицы, липидный профиль родственников), наличие вредных привычек, сведениям о диете и ежедневной физической активности. Информация была получена в личной беседе с родителями во время обследования детей.

### **2.2.2 Лабораторные методы исследования**

Забор крови детям обеих групп проводился в утренние часы после ночного голодания. Обследование пациентов включало общеклинические методы исследования:

- Общеклинический анализ крови;
- Биохимический анализ крови: аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспаратаминотрансфераза (АСТ), билирубин, глюкоза, мочевины, креатинин, общий белок, щелочная фосфатаза, креатинфосфокиназа;
- Коагулограмма: фибриноген, тромбиновое время (ТВ), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), международное нормализованное отношение (МНО), протромбиновый индекс (ПТИ);
- Липидограмма: общий холестерин, триглицериды, холестерин липопротеинов высокой плотности, холестерин липопротеинов низкой плотности, индекс атерогенности определяли в сыворотке крови с помощью набора реактивов F. Hoffman La Roche (Швейцария) на автоматическом анализаторе Cobas 6000 (Roche, Швейцария).

### 2.2.3 Специальные методы исследования

#### **Определение концентраций серотонина в плазме крови и тромбоцитах, 5-ГИУК в плазме крови**

Концентрации серотонина в плазме крови и тромбоцитах, 5-ГИУК в плазме крови определялись методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с электрохимической детекцией на хроматографе LC - 304 T (BAS, США) и Gilson-307 на колонке Phenomenex C-18.4 мкм, 150x4.6 мм и амперометрическом детекторе LC - 4В с ячейкой TL - 5 (BAS, США).

Для проведения исследования использовалась венозная кровь, собранная в пробирки с этилендиаминуксусной кислотой в объеме 2 мл. Венозную кровь, полученную от участников исследования, центрифугировали 20 минут при температуре +4°C со скоростью 1000 об/мин. Затем отделяли плазму и форменные элементы и надосадок, богатый тромбоцитами, снова центрифугировали в течение 20 минут при температуре +4°C со скоростью 2500 об/мин. Плазму и осадок переносили в два эппендорфа. Измерения проводили на стеклоуглеродном электроде +0,85В против электрода сравнения Ag/AgCl. Объем вводимого образца составлял 20 мкл. Подвижная фаза содержала (г/л): дигидрофосфат калия – 9,56; цитрат натрия – 5,76; 1-октансульфонат натрия – 0,4 г; ЭДТА Na<sup>+</sup> — 0,1; ацетонитрил - 8%, рН – 3,0. Скорость подвижной фазы составляла 1,0 мл/мин. Для определения концентрации серотонина в тромбоцитах пересчет велся на 10<sup>9</sup> тромбоцитов [152].

#### **Количественное определение мембранного переносчика серотонина в тромбоцитах**

Для количественного определения мембранного переносчика серотонина использовали сэндвич-метод иммуноферментного анализа ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) производства Cloud-Clone Corp Lot: 221016400.

Для определения мембранного переносчика серотонина 2 мл венозной крови центрифугировали при комнатной температуре в течение 5 минут при скорости

200g. 200 мкл плазмы, обогащённой тромбоцитами, переносили в другую пробирку и добавляли 800 мкл физиологического раствора. Затем центрифугировали со скоростью 4500 g в течение 10 минут при температуре +4°C. Удаляли надосадочную жидкость и добавляли 200 мкл дистиллированной воды к осадку тромбоцитов. Моноклональные антитела были зафиксированы на микропланшете. Стандарты и образцы пипетировались в лунки согласно инструкции производителя и связывались с иммобилизованными антителами. После удаления несвязавшихся субстанций биотин-конъюгированные частицы добавлялись в реакционные лунки. После последующей промывки авидин-ферментный реагент и субстратный раствор добавляли для визуализации реакции. Анализ проводился на иммуноферментной роботизированной системе BioTek, расчет результатов велся встроенным программным обеспечением. Концентрацию измеряли в нг/мл.

#### **2.2.4 Инструментальные методы исследования**

##### **Оценка функционального состояния сердечно-сосудистой системы у детей**

Участникам исследования проводили эхокардиографическое исследование на аппарате «Philips Affiniti 70» (США) с использованием секторного датчика S5-1 по стандартной методике. При проведении исследования оценивались следующие параметры: диаметр аорты (ДАо, мм), раскрытие створок аортального клапана (РаскАоК, мм), левое предсердие (ЛП, мм), правый желудочек (ПЖ, мм), толщина межжелудочковой перегородки (ТМЖП, мм), толщина задней стенки левого желудочка (ТЗС ЛЖ, мм), конечный диастолический размер (КДР, мм), конечный систолический размер (КСР, мм), частота сердечных сокращений (ЧСС), фракция укорочения левого желудочка (ФУ, %), фракция выброса (ФВ, %), ударный объем (УО, мл), минутный объем кровообращения (МОК, л/мин), сердечный индекс (СИ, л/мин/м<sup>2</sup>).

Расчёт минутного объема кровообращения проводился по формуле (1):

$$\text{МОК} = \text{УО} \times \text{ЧСС} \text{ (л/мин)} \quad (1)$$

Сердечный индекс рассчитывался по формуле (2):

$$СИ = МОК / ППТ, \quad (2)$$

где ППТ – площадь поверхности тела в м<sup>2</sup>

Для диагностики гипертрофии миокарда левого желудочка проводили измерение массы миокарда левого желудочка (ММЛЖ) с использованием формулы (3) Devereux and Reichek, 1986, рекомендованной американским обществом эхокардиографии (ASE) [79]:

$$ММЛЖ = 0,8 \times 1,04 \times ((ТМЖП + ТЗСЛЖ + КДР)^3 - КДР^3) + 0,6, \quad (3)$$

где ММЛЖ – масса миокарда левого желудочка, г; ТМЖП – толщина межжелудочковой перегородки, см; КДР – конечно-диастолический размер ЛЖ, см; ТЗСЛЖ – толщина задней стенки левого желудочка, см.

Расчет индекса массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ) проводился по формуле (4):

$$ИММЛЖ = ММЛЖ / Н^{2,7}, \quad (4)$$

где ИММЛЖ – индекс массы миокарда левого желудочка; ММЛЖ – масса миокарда левого желудочка, г; Н – рост, м.

Значения индекса ММЛЖ/м<sup>2,7</sup>, превышающие 47,58 г/м<sup>2,7</sup> для мальчиков и 44,38 г/м<sup>2,7</sup> для девочек, что соответствует 99-му перцентилю распределения этого показателя, являются критерием гипертрофии миокарда левого желудочка [2].

### **Оценка суточного мониторирования артериального давления у детей**

Всем участникам исследования проводили суточное мониторирование артериального давления на аппарате ВPlab ® Standard А (ООО «Пётр Телегин», г. Нижний Новгород). При проведении СМАД оценивались следующие параметры: средние значения систолического артериального давления (САД) и диастолического артериального давления (ДАД) за сутки, день и ночь; индексы времени гипертензии (сутки, день, ночь) (ИВ), среднее пульсовое артериальное давление (сутки) (ПАД), вариабельность артериального давления в виде суточного индекса, степень ночного снижения и скорость утреннего подъема АД по Карио, частота сердечных сокращений (ЧСС).

## **Оценка параметров артериальной ригидности с использованием диагностической системы BPLab с технологией Vasotens®**

Детям двух групп была проведена оценка ригидности сосудистой стенки магистральных сосудов с использованием системы суточного мониторинга артериального давления BPLab® Standard A (ООО «Пётр Телегин», г. Нижний Новгород) с функцией Vasotens® 24 Stiffness в соответствии со стандартной методикой [15, 22].

В ходе инструментального обследования измеряли скорость пульсовой волны в аорте (СПВ), время распространения отраженной волны (RWTT), индекс аугментации (AIx), амбулаторный индекс ригидности артерий (AASI), максимальную скорость нарастания артериального давления ( $dp/dt$  (max)), а также параметры артериального давления (САД, ДАД, ПАД, ИВ) и ЧСС.

### **Оценка толщины комплекса интима-медиа общей сонной артерии**

В исследуемых группах было проведено измерение толщины комплекса интима-медиа общей сонной артерии. Оценка ТКИМ проводилась с помощью ультразвукового сканера HD11XE (Philips, США) с использованием линейного (3–12МГц) датчика. Ребенку накладывались электроды ЭКГ-модуля. Затем в положении лежа на спине с чуть повернутой головой в противоположную исследуемой артерии сторону, в В-режиме определяли дистальный сегмент общей сонной артерии (примерно на 1,5–2,0 см проксимальнее ее бифуркации) в продольном сканировании. Измерение ТКИМ проводили по задней стенке артерии. Оценка ТКИМ осуществлялась с обеих сторон в автоматическом режиме с помощью программного обеспечения QApps с использованием референсных значений, рекомендованных A. Doyon с соавт. (2013) [58].

### **2.3 Методы исследования в эксперименте**

В ходе проведения экспериментальной части исследования мышам двух групп был проведен следующий объем исследований: общий анализ крови,

определение уровня общего холестерина, определение концентрации серотонина и его метаболита (5-ГИУК) в плазме крови и тромбоцитах, исследование концентрации мембранного переносчика серотонина в тромбоцитах, определение уровня экспрессии мРНК 5-HT<sub>2A</sub> и 5-HT<sub>2B</sub> рецепторов, SERT в аорте, исследование влияния серотонина на показатели инотропной функции миокарда левого желудочка, морфологическое исследование гистологических срезов сердца и аорты, изучение экспрессии МКАТ против мембранного переносчика серотонина, 5-HT<sub>2A</sub> и 5-HT<sub>2B</sub> рецепторов в левом желудочке и аорте.

### **2.3.1 Лабораторные методы исследования**

Для проведения лабораторных исследований забор крови у мышей проводился посмертно после проведения эвтаназии животного. Эвтаназия животных проводилась в соответствии с ГОСТ 33215—2014 [6]. Использовался метод передозировки ингаляционным анестетиком – севофлуран  $\geq 6,5\%$ . После проведения эвтаназии, зафиксированной за конечности мыши, вскрывали грудную клетку и проводили процедуру забора крови из крупных вен с использованием шприца, в который предварительно был набран гепарин.

Мышам были проведены общеклинические методы исследования:

- Общеклинический анализ крови;
- Определение уровня общего холестерина в сыворотке крови.

#### **Количественное определение серотонина в плазме крови и тромбоцитах у мышей**

Определение серотонина в плазме крови и тромбоцитах проводили методом конкурентного иммуноферментного анализа ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) производства Cloud-Clone Corp Lot: 241020077.

Моноклональные антитела, специфичные к серотонину, были зафиксированы на микропланшете. Стандарты и образцы пипетировались в лунки согласно инструкции производителя и связывались с иммобилизованными антителами. После инкубации несвязавшийся конъюгат удаляли отмывкой. В

каждую лунку планшета добавляли авидин-ферментный реагент и проводили инкубацию. Количество связанного конъюгата было обратно пропорционально концентрации серотонина в образце. Для визуализации реакции после добавления субстратного раствора интенсивность окрашивания была обратно пропорциональна концентрации серотонина в образце. Измерение проводили на длине волны 450 нм. Анализ проводился на иммуноферментной роботизированной системе BioTek, расчет результатов велся встроенным программным обеспечением. Концентрацию измеряли в нг/мл.

### **Определение концентрации 5-ГИУК в плазме крови и тромбоцитах, мембранного переносчика серотонина в тромбоцитах у мышей**

Определение концентрации 5-гидроксииндолуксусной кислоты в плазме крови и тромбоцитах проводили конкурентного иммуноферментного анализа ELISA производства Cloud-Clone Corp Lot: 241020080.

Моноклональные антитела, специфичные к 5-ГИУК, были зафиксированы на микропланшете. Конкурентная реакция происходила между 5-ГИУК, меченным биотином, немеченным 5-ГИУК, и сорбированными антителами специфичными к 5-ГИУК. После инкубации несвязавшийся конъюгат удаляли отмывкой. В каждую лунку планшета добавляли авидин-ферментный реагент и проводили инкубацию. Количество связанного конъюгата было обратно пропорционально концентрации 5-ГИУК в образце. После добавления субстратного раствора интенсивность окрашивания была обратно пропорциональна концентрации серотонина в образце. Анализ проводился на иммуноферментной роботизированной системе BioTek, расчет результатов велся встроенным программным обеспечением. Концентрацию измеряли в нг/мл.

Для определения мембранного переносчика серотонина использовали метод количественного сэндвич формата ELISA производства Cloud-Clone Corp Lot: 241020081.

### **2.3.2 Определение уровня экспрессии мРНК 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub> рецепторов, мембранного переносчика серотонина в аорте**

После проведения эвтаназии у мышей были взяты фрагменты аорты. Определение уровня экспрессии мРНК 5-HT<sub>2A</sub> и 5-HT<sub>2B</sub> рецепторов, SERT проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

На первой стадии исследования выделяли мРНК из клеток аорты с использованием реагента для выделения суммарной РНК ExtractRNA (Евроген, Россия) и ингибитора РНКаз RiboCare (Евроген, Россия) согласно установленному протоколу. Выход РНК и чистоту препарата оценивали с помощью спектрофотометра Nanodrop Lite (ThermoFisher, США).

На втором этапе работы синтезировали кДНК с использованием набора реактивов MMLV RT kit (Евроген, Россия) и мРНК-матрицы в количестве 1 мкг согласно инструкции компании-производителя. Оценка уровня экспрессии генов выполнялась методом ПЦР в реальном времени. В качестве референсного гена использовался *Rpl27* (рибосомный белок L27). Дизайн праймеров осуществлялся на базе сайтов <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> и <https://eu.idtdna.com/>. Использовалась последовательность олигонуклеотидных праймеров для *Rpl27* и генов интереса, которые были синтезированы в организации «Евроген» (Россия).

Аmplификацию и визуализацию результатов проводили на приборе CFX96 (BioRad, США) с использованием кДНК и коммерческой смеси для ПЦР 5x qPCRmix-NS SYBR (Евроген, Россия) в объеме 20 мкл. Каждый образец был выполнен в двух повторностях. Расчет оценки уровня экспрессии генов проводили на основании сравнительной оценки величин порогового цикла, получаемых после проведения ПЦР с использованием метода  $2^{-\Delta\Delta C_t}$ .

### **2.3.3 Исследование влияния серотонина на инотропную функцию миокарда левого желудочка**

Инотропную функцию сердца в эксперименте изучали на полосках миокарда левого желудочка. Эксперименты проводились на установке PowerLab (ADInstruments), датчик силы MLT 050/D (ADInstruments). Эксперимент

регистрировался на персональном компьютере при помощи программного обеспечения AcqKnowledge.

После проведения эвтаназии у мышей извлекали сердца и помещали в чашку Петри с оксигенированным физиологическим раствором. Затем препарировали мышечные полоски миокарда длиной 2-3 мм и диаметром 0,8-1,0 мм, которые погружали в оксигенированный физиологический раствор. Препарат фиксировали вертикально одним концом к датчику силы, другим - к точке опоры, затем каждый препарат погружался в отдельный резервуар объемом 25 мл, в которые подавался рабочий раствор при температуре 28<sup>0</sup> С. Состав рабочего раствора представлен в таблице 1. Аэрацию раствора проводили в течение 30-60 минут. Для поддержания рН в пределах 7,3-7,4 в раствор добавляли основной и/или кислотный буферы Trizma (Sigma, USA). Препараты стимулировались через платиновые электроды.

Таблица 1 – Состав рабочего раствора

Вещество	Концентрация	Молярная масса	На 0,5 л (г)
NaCl	125 $\mu$ M	58,5 г/моль	3,65
KCl	2,5 $\mu$ M	74,5 г/моль	0,093
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 $\mu$ M	120 г/моль	0,06
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	2 $\mu$ M	111 г/моль	0,15
MgCl <sub>2</sub>	1 $\mu$ M	95 г/моль	0,048
Глюкоза (C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> )	11 $\mu$ M	180 г/моль	1,0

После погружения препаратов в резервуары следовал период приработки в течение 40–60 минут, в ходе которого мышечным полоскам постепенно придавалось оптимальное натяжение. Оптимальным натяжением считалась такая точка растяжения препарата, после преодоления которой начиналось снижение силы сокращения препарата.

По окончании периода приработки в течение 5 мин регистрировали исходные параметры сокращения. Затем проводили определение реакции инотропной функции сердца мышей линии C57BL/6JGpt-Ldlr<sup>em1Cd82</sup>/Gpt (Ldlr +/-) и C57BL/6, на серотонин (5-НТ – 5-hydroxytryptamine hydrochloride, Sigma) в возрастающих

концентрациях – 0,1  $\mu\text{M}$ , 1,0  $\mu\text{M}$  и 10,0  $\mu\text{M}$ . При помощи микропипетки добавляли в резервуар вещество первой концентрации (0,1  $\mu\text{M}$ ) и в течение 20 мин регистрировали параметры сокращения миокарда. По окончании 20 мин из резервуара сливался рабочий раствор с веществом, препарат трехкратно промывался физиологическим раствором в течение 5 мин, затем 5 мин регистрировали исходные показатели сокращения перед добавлением следующей концентрации вещества. Вторую (1,0  $\mu\text{M}$ ) и третью (10,0  $\mu\text{M}$ ) концентрации вещества добавляли по той же схеме, что и первую.

Амплитудно-временные характеристики сокращения рассчитывали по методике S. Laer 1998 г. [139]. Инотропную реакцию миокарда в ответ на стимуляцию веществами рассчитывали в процентах от исходного показателя. Общую длительность сокращения, длительность фаз сокращения и расслабления выражали в секундах, причем за длительность фаз сокращения и расслабления принимали 90% времени соответственно до и после пика силы.

### **2.3.4 Гистологическое исследование срезов левого желудочка и аорты.**

#### **Иммуногистохимическая реакция на мембранный переносчик серотонина, 5-НТ2А и 5-НТ2В рецепторы**

Были изучены аорта и левый желудочек сердца экспериментальных животных. Часть материала фиксировали в 10% нейтральном формалине по Лилли или жидкости Боуэна. Согласно общепринятой методике [27] после соответствующей проводки по спиртам возрастающей концентрации следовала обработка в ксилоле и заливка в парафин. На микротоме Leica SM 2000R изготавливали парафиновые срезы толщиной 4-5 мкм. Полученные препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Другую часть использовали для изготовления криостатных срезов, которые окрашивали Суданом III.

Для иммуногистохимического исследования (Петров С.В., Райхлин Н.Т., 2012) парафиновые срезы расплавляли в водяной бане Гистобат LEICA HI 1210 и помещали на предметные стекла, обработанные поли-L-лизинном и высушивали

при температуре 35°C в течение одного часа. После депарафинирования в оксилоле (2 мин.) следовала промывка и обезвоживание в двух 96% спиртах по 5 мин. в каждом и 70% спирте (10 мин.). Затем стекла со срезами промывали в дистиллированной воде, после чего следовала демаскировка антигенов в цитратном буфере (DAKO: Target Retrieval Solution, pH 6,0, код S 169984-2) в водяной бане при температуре 95° C (40 мин.). После остывания препаратов в этом же растворе до комнатной температуры и обработки в Трис-буфере (TBS, pH 7,4) проводили подавление эндогенной пероксидазы при помощи 3% раствора перекиси водорода (20 мин.). Затем следовала повторная промывка в Трис-буфере, после чего срезы оставляли в холодильнике при температуре 4° C в течение 12 часов. Иммуногистохимическое исследование проводили с помощью набора МКАТ, характеристика которых представлена в таблице 2.

Таблица 2 - Характеристика используемых моноклональных антител

антиген	клон	специфичность	рабочее разведение	фирма-производитель
SERT	поликлональные, код P31645	гладкомышечные и эндотелиальные клетки сосудов, кардиомиоциты	1:200	Affinity Biosciences (Cincinnati, USA)
5-НТ2А	поликлональные, код P28223	гладкомышечные и эндотелиальные клетки сосудов, кардиомиоциты	1:250	Affinity Biosciences (Cincinnati, USA)
5-НТ2В	поликлональные, код P41595	гладкомышечные и эндотелиальные клетки сосудов, фибробласты	1:200	Affinity Biosciences (Cincinnati, USA)

Первые антитела разводили специальным буфером с компонентом, препятствующим неспецифическому связыванию антител (DAKO: Antibody Diluent with Background Reducing Component, код S3002). Экспозиция первых МКАТ составляла 1 час при постоянной (30° C) температуре, поддерживаемой при помощи нагревательной платы (гистоплата LEICA HI 1220). Затем стекла со

срезами промывали в течение 10 мин. в Трис-буфере. Связывание первых антител с клеточными и структурными элементами определяли при помощи стандартного биотин-стрептавидин-пероксидазного метода (ДАКО: LSAB<sup>®</sup> + System-HRP, код K0690) с диаминобензидином в качестве хромогена. После промывки в дистиллированной воде препараты дополнительно окрашивали гаматоксилином Майера в течение 1-2 мин. Затем следовала повторная промывка в воде (15 мин.), дегидратация в 96% спирте (10 мин.) и осветление в карбол-ксилоле (5 мин.). Срезы заключали в канадский бальзам или в специальные среды фирмы ДАКО (Ultramount, Faramount, код S302580-2).

Микроскопическое исследование проводили с использованием микроскопа «Axioscop-Zeiss AG».

На гистологических срезах, окрашенных Суданом III при помощи морфометрической сетки случайного шага С.Б. Стефанова [32] определяли площадь липидов. Для подсчета клеток с различным иммуногистохимическим фенотипом использовали морфометрическую окулярную сетку Г.Г. Автандилова [1].

Принцип работы с морфометрической сеткой случайного шага заключался в следующем: сетку накладывали непосредственно на микропрепарат и под малым увеличением (окуляр x7, объектив – x10) подсчитывали количество пересечений сетки, приходящихся на изучаемую структуру. Положение сетки на гистологическом срезе несколько раз произвольно меняли, каждый раз повторяя подсчет. Полученное в результате подсчета общее число пересечений сетки, приходящихся на весь срез, принимали за 100%. Затем в проценты соответственно переводили количество пересечений сетки, приходящихся отдельно на изучаемую структуру.

Для количественного изучения клеточного состава использовали морфометрическую окулярную сетку, которая закреплялась внутри окуляра микроскопа. Она содержала 25 точек, которые визуализировались в поле зрения при просмотре микропрепарата. Изучение объектов проводили под большим увеличением: окуляр x10, объектив x90 (иммерсия). Подсчитывали количество

точек, приходящихся на различные клеточные элементы. Поле зрения на микропрепарате 40 раз меняли, произвольно перемещая его на предметном столике микроскопа, каждый раз повторяя подсчет. Таким образом, учитывали 1000 точек, приходящихся на различные клетки. Общее количество точек (1000) принимали за 100%. Затем вычисляли процентное соотношение различных типов клеток.

Полученные данные были обработаны статистически с вычислением критерия Стьюдента и величины  $p$  (достоверность отличий).

Все наблюдения были разделены на две группы: 1) контроль – 10 случаев; 2) основная (генно-модифицированные особи) - 10 случаев.

## **2.4 Методы статистической обработки данных**

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы STATISICA 8.0, Microsoft Excel 2007, StatTech v. 3.1.10 (разработчик - ООО "Статтех", Россия). Нормальное распределение признака констатировали при  $p > 0,05$  (тест Шапиро-Уилка). Непараметрические методы статистического анализа использовали в ином случае. При нормальном распределении признака рассчитывали среднюю арифметическую ( $M$ ) и 95% доверительный интервал (ДИ), при распределении признака, отличном от нормального, из мер центральной тенденции определяли медиану ( $Me$ ), из мер рассеяния – межквартильный размах (МКР, значения 25-го и 75-го перцентилей). Относительные частоты признаков представляли в процентах (%), рядом указывали полученные абсолютные значения и общее количество пациентов в группе ( $n/N$ ). Достоверность различий между группами рассчитывали с использованием  $t$ -критерия Стьюдента, критерия хи-квадрат, точного критерия Фишера (в группах с малым числом участников),  $U$ -критерия Манна-Уитни в зависимости от ситуации. Анализ связи двух признаков проводили с помощью ранговой корреляции по Спирмену ( $\rho$ ).

Построение прогностической модели вероятности определенного исхода (вероятность наличия сосудистого ремоделирования при гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии) выполнялось при помощи метода логистической регрессии. Мерой определенности, указывающей на ту часть дисперсии, которая может быть

объяснена с помощью логистической регрессии, служил коэффициент  $R^2$  Найджелкерка.

Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода, применялся метод анализа ROC-кривых. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off определялось по наивысшему значению индекса Юдена.

При создании уравнения логистической регрессии для определения наличия сосудистого ремоделирования при гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии анализировались следующие факторы: возраст; пол; масса тела; рост; z-score; в общеклиническом анализе крови количество: гемоглобина, лейкоцитов, эритроцитов, цветного показателя, тромбоцитов; в липидограмме концентрация: общего холестерина, липопротеидов высокой плотности, липопротеидов низкой плотности, триглицеридов; показатели биохимического анализа крови и коагулограммы; в результатах специальных методов исследования концентрация: серотонина в плазме крови и тромбоцитах, метаболита серотонина в плазме крови, мембранного переносчика серотонина в тромбоцитах, результаты инструментальных методов исследования: показатели ТКИМ, скорости пульсовой волны.

Проведенный лог-регрессионный анализ позволил выявить наиболее значимые для диагностики лабораторные показатели, отражающие степень ремоделирования сосудов при гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии.

Оценка диагностической значимости выбранных клинических тестов проводилась с помощью Receiver Operating Characteristic (ROC)-анализа с расчетом площади под кривой (AUROC - Area Under Receiver Operating Characteristic), чувствительности, специфичности, прогностической ценности положительного и отрицательного результатов. Критерием выбора порога отсечения (cut-off value) было требование максимальной суммарной чувствительности и специфичности модели.

Для оценки показателя "Ремоделирование сосудов при гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии" с помощью сравнительного анализа было

отобрано 7 пунктов: "Общий холестерин", "Липопротеины высокой плотности", "Липопротеины низкой плотности", "Триглицериды", "Серотонин в плазме крови", "5-гидроксииндолуксусная кислота", "Возраст". Число наблюдений составило 116: 58 пациентов с генетически подтвержденным диагнозом гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии, 58 – здоровые дети.

Наблюдаемая зависимость описывается уравнением (5):

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\% \quad (5)$$

$$z = -11,926 + 1,227X_{ОХ} + 2,024X_{ЛПВП} + 2,011X_{ЛПНП} - 3,770X_{ТГ} - 0,011X_{5НИАА} + 0,006X_{5-НТ} + 0,016X_{Возраст}$$

где P – вероятность показателя 2, X<sub>ОХ</sub> – ОХ, X<sub>ЛПВП</sub> – ЛПВП, X<sub>ЛПНП</sub> – ЛПНП, X<sub>ТГ</sub> – ТГ, X<sub>5НИАА</sub> – 5НИАА, X<sub>5-НТ</sub> – 5-НТ, X<sub>Возраст</sub> – Возраст

Полученная регрессионная модель является статистически значимой (p < 0,001). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель объясняет 84,4% наблюдаемой дисперсии показателя "Ремоделирование сосудов". Чувствительность и специфичность модели составили 94,8% и 94,8%, соответственно.

На основе предложенных моделей, был создан онлайн калькулятор для определения наличия сосудистого ремоделирования у детей с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией (Приложение 1), который размещен по ссылке:

<https://fluctio.ru/calc/calc.html>

## ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1 Клинико-лабораторные характеристики детей обследуемых групп

В исследовании приняли участие 116 детей в возрасте от 5 до 17 лет. Из них в основную группу вошли 58 пациентов с установленным диагнозом гетерозиготной формы семейной гиперхолестеринемии, в группу контроля – 58 детей без сердечно-сосудистых заболеваний.

Медиана возраста детей составила 10 лет (МКР 7-14). Количество мальчиков и девочек внутри двух групп было равным, доля мальчиков составила 50% (29/58). Схожесть групп по представленным признакам была достигнута особенностями отбора пациентов, которых отбирали попарно намеренно для исключения возможных вмешивающихся факторов. Т.е. каждому пациенту из основной группы подбирали «в пару» схожего по основным характеристикам ребенка из контрольной.

СГХС - моногенное заболевание с преимущественно аутосомно-доминантным типом наследования [12], поэтому особое внимание уделялось семейному анамнезу детей с наследственной дислипидемией. Ранние сердечно-сосудистые события (до 55 лет у мужчин и до 60 лет у женщин) определялись в большинстве семей (52/58) с основным проявлением в виде острого коронарного синдрома (ОКС) (73%), острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) (17%), атеросклероза брахиоцефальных артерий с последующим проведением каротидной эндартерэктомии (10%). Медиана возраста родственников на момент первого сердечно-сосудистого события составила 46 лет (МКР 38-54). В 21% (11/52) случаев это были родственники первой линии родства. Ранние сердечно-сосудистые события в 52% (27/52) случаев регистрировались у родственников детей по отцовской линии и в 48% (25/52) – у родственников со стороны матери.

36% (21/58) детей были зарегистрированы как индексные пациенты, что косвенно отражает эффективность работы детского липидного центра. Родители этих пациентов ранее не были обследованы на наличие СГХС. В большинстве случаев диагностический поиск на наличие СГХС начинался вследствие

обнаружения наследственной дислипидемии у отца ребенка. У 71% (41/58) детей повышенный уровень общего холестерина (Me 7 ммоль/л, МКР 4,5-9) был зарегистрирован у отцов. Среди родственников второй степени родства наиболее часто увеличение концентрации общего холестерина также наблюдалось у дедушек по отцовской линии.

У 31% (18/58) детей в семейном анамнезе были зарегистрированы случаи преждевременной смертности от сердечно-сосудистых заболеваний с медианой возраста смертельного исхода 44,5 лет (МКР 36-50).

Анализ семейного анамнеза здоровых детей показал, что сердечно-сосудистые события регистрировались только у родственников второй степени родства с развитием в возрасте старше 60 лет. 18% (20/58) родителей не контролировали уровень общего холестерина в плазме крови и не знали его на момент проведения беседы. Случаев преждевременной смерти от сердечно-сосудистых заболеваний среди родственников первой и второй линии родства у здоровых детей не было.

Дети с гетерозиготной формой СГХС и их здоровые сверстники были некурящими, физическая активность соответствовала возрастным нормам. Характерные для взрослых пациентов клинические признаки гиперлипидемии, такие как ксантомы сухожилий и кожи, корнеальная дуга роговицы, утолщение ахиллова сухожилия не были выявлены ни у одного ребенка с наследственной дислипидемией.

Была проведена оценка ИМТ детей с учетом их пола и возраста с использованием критериев Z-score по рекомендациям ВОЗ [226]. При анализе физического развития пациентов с наследственной дислипидемией не было выявлено отличий от общепопуляционных показателей [21]. В основной группе более половины детей имели нормальные значения ИМТ – 79,3% (46/58), 15,5% (9/58) пациентов с семейной гиперхолестеринемией – недостаточное питание легкой степени, а у 5,2% (4/58) была выявлена избыточная масса тела. Схожие данные были получены и при анализе ИМТ детей из группы контроля. ИМТ в диапазоне нормальных значений был зарегистрирован у 75,8% (44/58) детей, 15,5%

(9/58) детей имели дефицит, а 8,7% (5/58), напротив, избыток массы тела. Основные характеристики исследуемых групп представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Основные характеристики исследуемых групп

Признак	Контрольная группа		Основная группа		p
	Me	МКР	Me	МКР	
Возраст, лет	10	7-14	10	7-14	0,536
	М	ДИ	М	ДИ	
Рост, см	141,7	95,4-187,9	143,1	98,4-177,7	0,758
Вес, кг	38,2	1,8-74,6	37,7	6,1-69,3	0,868
z-score ИМТ	-0,07	-2,1-2	-0,18	-1,9-1,5	0,544

Детям в основной и контрольной группах был проведен общеклинический анализ крови, биохимический анализ крови и определение показателей свертывающей системы крови (коагулограмма). Показатели ОАК, биохимического анализа крови и стандартной коагулограммы (таблица 4) соответствовали возрастным нормам у всех детей [11], статистически значимых различий между сравниваемыми группами выявлено не было.

Таблица 4 – Лабораторные показатели обследуемых детей

Показатель	Контрольная группа		Основная группа		p
	М	ДИ	М	ДИ	
Общий белок, г/л	67,9	59,2-76,6	67,7	60,8-74,7	0,802
Общий билирубин мкмоль/л	6,3	4,9-9	5,5	4,5-7,9	0,842
АЛТ, Ед/л	10,9	2,4-19,5	13,2	2,1-24,2	0,17
АСТ, Ед/л	20,5	7,9-33,1	22,7	12,9-32,6	0,37
Глюкоза, ммоль/л	4,5	3,6-5,4	4,5	3,7-5,3	0,733
Мочевина, ммоль/л	3,9	2-5,9	4,2	1,8-6,6	0,182
Креатинин, мкмоль/л	51	26,8-75,2	48,2	20,8-75,7	0,265
ЩФ, Ед/л	212	107 - 316,8	214	61,8-366,2	0,864
КФК, Ед/л	90	76-116	98,6	14,9-182,2	0,821

Продолжение таблицы 4

Показатель	Контрольная группа		Основная группа		p
	М	ДИ	М	ДИ	
Фибриноген, г/л	2,5	1,2-3,9	2,5	1,4-3,7	0,801
ТВ, сек	18,2	14,1-22,4	18,5	15,1-21,8	0,485
АЧТВ, сек	36,2	25,8-46,6	37,1	26,2-48	0,387
МНО	1,03	0,7-1,3	1,1	0,7-1,4	0,254
ПТИ, %	96,3	65-127,6	96,7	57,9-135,4	0,899

Были проанализированы показатели липидного профиля у детей основной и контрольной групп. Уровень общего холестерина, липопротеидов низкой плотности у пациентов с семейной гиперхолестеринемией были выше в 1,7 и 2 раза соответственно, чем у детей в контроле ( $p < 0,001$ ) (рисунок 3).

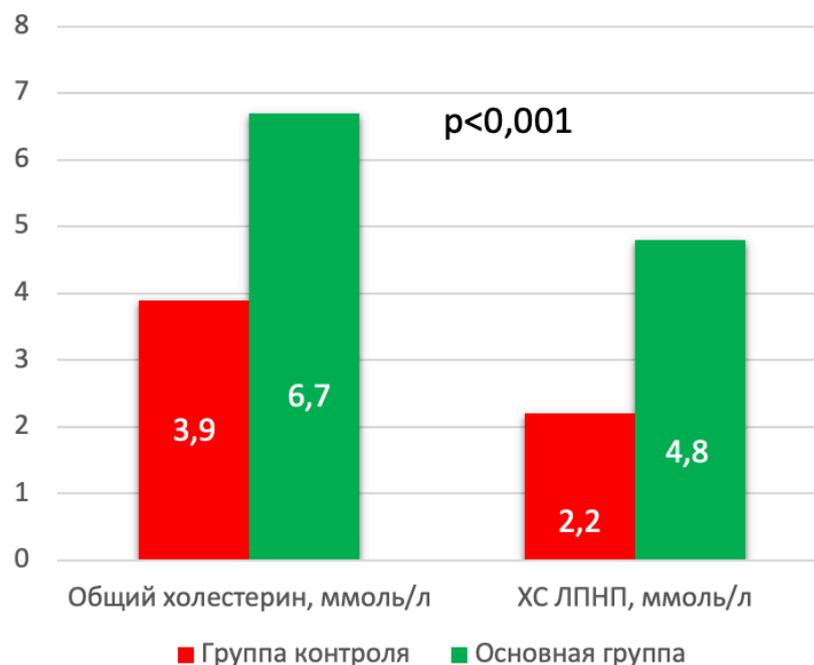


Рисунок 3 – Уровень общего холестерина и ХС ЛПНП у обследуемых детей

Средний уровень ХС ЛПВП в основной группе был ниже по сравнению со здоровыми детьми ( $p = 0,004$ ). При анализе результатов липидограммы было выявлено статистически значимое увеличение уровня ТГ у детей с наследственной дислипидемией. Результаты липидограммы представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Липидный профиль обследуемых детей

Показатель	Контрольная группа		Основная группа		p
	М	ДИ	М	ДИ	
ОХ, ммоль/л	3,9	2,5-5,3	6,7	3,9-9,6	<0,001
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,6	1,1-2,2	1,5	0,9-2	0,004
ХС ЛПНП, ммоль/л	2,2	1,2-3,1	4,8	2,1-7,5	<0,001
ТГ, ммоль/л	0,8	0,2-1,5	1	0,5-1,5	0,003
Индекс атерогенности	1,5	0,4-2,5	3,8	0,9-6,7	<0,001

Гетерозиготная форма семейной гиперхолестеринемии в течение первых десятилетий жизни, как правило, протекает бессимптомно и, соответственно, клинические проявления заболевания отсутствуют, что затрудняет диагностику наследственной дислипидемии в детском возрасте [146]. Анализ клинико-лабораторных характеристик детей обследуемых групп показал, что пациенты с гетерозиготной формой СГХС не имеют характерных клинических признаков гиперлипидемии и не отличаются от своих здоровых сверстников по параметрам физического развития, показателям общеклинического и биохимического анализов крови, коагулограммы.

### **3.2 Структурно-функциональные изменения сердца и сосудов у детей обследуемых групп**

#### **Анализ сердечно-сосудистой системы обследуемых детей по данным эхокардиографии**

Детям основной и контрольной групп было проведено эхокардиографическое исследование. Статистически значимых различий по основным показателям между двумя группами выявлено не было.

У детей с СГХС определялись нормальные морфометрические параметры сердца. Диаметр корня аорты, амплитуда раскрытия аортального клапана, размер левого предсердия, правого желудочка, толщина межжелудочковой перегородки и

задней стенки, конечный диастолический и систолический размеры левого желудочка пациентов с наследственной дислипидемией не отличались от показателей, полученных при обследовании здоровых детей (таблица 6).

Таблица 6 – Показатели эхокардиографического исследования обследуемых детей

Показатель	Контрольная группа		Основная группа		p
	Me	МКР	Me	МКР	
ДАо, мм	25,7	24,1-31,3	26,1	23-29,2	0,492
РаскАок, мм	21,2	18,1-31,3	18,6	17,3-27,4	0,058
ЛП, мм	27,1	24,9-31	25	22,9-26,8	0,063
ПЖ, мм	12,6	10,1-14,7	14	11,1-17,9	0,342
ТМЖП, мм	6,5	5,1-6,8	6,7	5,5-7,2	0,545
ТЗС ЛЖ, мм	6,2	5,2-7,3	6,35	5,2-7,5	0,67
КДР, мм	41	37-44	42	38-45	0,065
КСР, мм	28	26,5-30	30	27-31,5	0,525
ЧСС уд/мин	80	74-85	83	79-88	0,08

При сравнении гемодинамических показателей сердца, характеризующих систолическую функцию левого желудочка (фракция выброса (ФВ), фракция укорочения (ФУ), ударный объем (УО), минутный объем кровообращения (МОК), сердечный индекс (СИ) левого желудочка) статистически значимых различий между основной и контрольной группами также обнаружено не было (таблица 7).

Таблица 7 – Гемодинамические параметры сердца обследованных детей

Показатель	Контрольная группа		Основная группа		p
	Me	МКР	Me	МКР	
ФВ, %	68	65,1-70,9	67	65-70	0,345
ФУ, %	36	33-42,5	35	33,4-42	0,25
УО, мл	41	35-45	39,5	35-41,5	0,115
МОК, л/мин	4,13	3,5-4,32	3,95	3,1-4,35	0,422
СИ, л/мин/м <sup>2</sup>	3,2	2,7-3,5	3,1	2,6-3,3	0,38

Для выявления гипертрофии миокарда всем детям было проведено определение структурно-функциональных параметров сердца, включающий анализ ММЛЖ и его индексированного значения – ММЛЖ к росту в степени 2,7. В исследуемых группах статистически значимых отличий по данным показателям обнаружено не было (таблица 8).

Таблица 8 – Структурно-функциональные параметры сердца обследованных детей

Показатель	Контрольная группа		Основная группа		p
	Me	МКР	Me	МКР	
ММЛЖ, г	73,4	47,2-88,1	75,1	43,8-82,4	0,585
ИММЛЖ, г/м <sup>2,7</sup>	26,3	23,1-28,8	25,8	22,4-29,1	0,721

Индивидуальный анализ значений ИММЛЖ<sup>2,7</sup> выявил, что у 10,3% (6/58) пациентов с гетерозиготной СГХС исследуемый показатель превышал 95 перцентиль. Данные пациенты относятся к группе риска по развитию гипертрофии левого желудочка. Ни у одного ребенка из контрольной группы таких данных получено не было.

#### **Суточное мониторирование артериального давления обследованных детей с последующей оценкой ригидности сосудистой стенки**

Всем детям было проведено суточное мониторирование артериального давления с последующей оценкой ригидности сосудистой стенки. У 7% (4/58) детей с СГХС по данным СМАД была выявлена лабильная артериальная гипертензия. Пациентов со стабильной артериальной гипертензией обнаружено не было. Повышение артериального давления среди здоровых детей не наблюдалось.

У пациентов с СГХС медиана САД за сутки составила 106 [МКР 102-114] мм рт. ст., в дневное время 109,5 [МКР 105-117] мм рт. ст. и в ночное время 99 [МКР 91-103] мм рт. ст. У здоровых детей регистрировались более низкие значения САД, однако статистически значимое различие было обнаружено только при сравнении САД в ночное время (p=0,0014). Кроме показателей ДАД в ночное время (p<0,001),

значения ДАД также не отличались между двумя группами. При сравнении показателей ПАД, индекса времени гипертензии по САД и ДАД, ЧСС статистически значимых различий между основной и контрольной группами выявлено не было. Результаты суточного мониторирования артериального давления представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Показатели суточного мониторирования артериального давления обследованных детей

Показатель	Период наблюдения	Контрольная группа		Основная группа		p
		Me	МКР	Me	МКР	
САД, мм рт. ст.	сутки	101,5	97-112	106	102-114	0,051
	день	109,5	105-117	110	101-116	0,275
	ночь	93	87-103	99	91-103	<b>0,0014</b>
ДАД, мм рт. ст.	сутки	64	60-68	65	61-70	0,290
	день	67	63-71	67	64-72	0,948
	ночь	55	52-59	58,5	53-63	<b>&lt;0,001</b>
ИВ САД, %	сутки	3	0-15	5	1-12	0,780
	день	11	0-12	7	2-14	0,664
	ночь	1	0-8	3,5	0-9	0,775
ИВ ДАД, %	сутки	1	0-7	2	0-4	0,830
	день	1	0-2	1	0-2	0,534
	ночь	1,5	0-5	1,5	0-5	0,152
ЧСС, уд/мин	сутки	78	72-82	85,5	76-92	0,684
	день	81,5	74-92	88	81-96	0,331
	ночь	74	65-85	71,5	63-80	0,457
ПАД среднее, мм рт. ст.	сутки	41,5	37-46	43,5	38-49	0,179

## Продолжение таблицы 9

Показатель	Период наблюдения	Контрольная группа		Основная группа		p
		Me	МКР	Me	МКР	
Утренний подъем по Карио, мм рт. ст.	-	17	15-24	19	14-23	0,797

Примечание – жирным шрифтом отмечены значимые различия между группами

При анализе циркадной организации суточного профиля АД у пациентов основной группы был определен нормальный циркадный ритм по САД (dippers) у 84,6% (49/58) детей, недостаточное ночное снижение САД (non-dippers) у 12% (7/58), избыточное снижение САД (over-dippers) у 3,4% (2/58). У пациентов с СГХС в 79% (46/58) случаев регистрировался нормальный циркадный ритм по ДАД (dippers), а недостаточное ночное снижение ДАД (non-dippers) у 21% (12/58). Избыточного снижения ДАД не было ни у одного ребенка с наследственной дислипидемией.

Схожие данные были получены и при анализе циркадного профиля САД детей из группы контроля. У здоровых детей dippers, non-dippers, over-dippers по САД выявлено в 89,6% (52/58), 8,6% (5/58), 1,8% (1/58) случаев соответственно. Нормальный циркадный ритм по ДАД определялся у 89,5% (52/58) детей, non-dippers по ДАД у 10,5% (6/58). Избыточного снижения ДАД также не было выявлено ни у одного ребенка из группы контроля.

Наличие семейной гиперхолестеринемии сопровождалось увеличением скорости пульсовой волны. Анализ значений минимальной СПВ (СПВ<sub>мин</sub>), средней СПВ (СПВ<sub>ср</sub>) и максимальной СПВ (СПВ<sub>макс</sub>), полученных во время суточного мониторирования артериального давления, выявил статистически значимое повышение в основной группе при сравнении с контрольной ( $p < 0,001$ ) (рисунок 4).

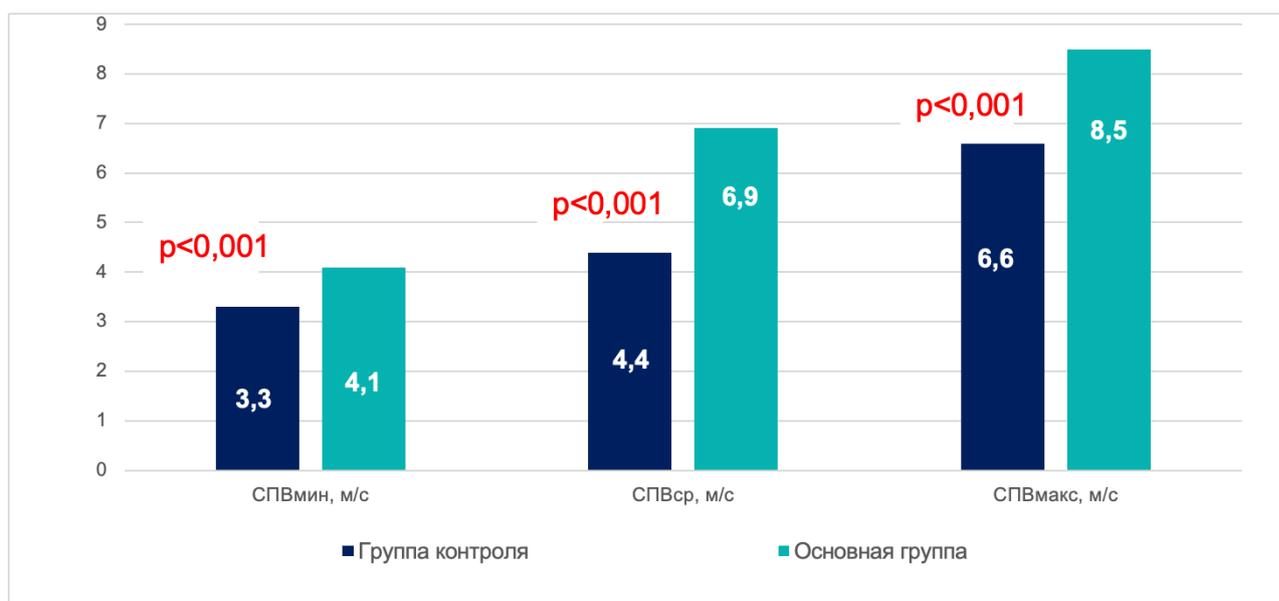


Рисунок 4 – Минимальная, средняя и максимальная скорость пульсовой волны в аорте (СПВмин, СПВср, СПВмакс) у детей основной и контрольной групп

Индивидуальный анализ значений СПВср и его соотношение с референсными значениями [187] выявил, что у 50% (29/58) пациентов с СГХС показатели средней СПВ превышали 97 перцентиль, а у 10% (6/58) – 90 перцентиль.

В ходе исследования не было обнаружено статистически значимых различий минимального (АІхмин) ( $p=0,057$ ) и максимального индекса аугментации (АІхмакс) ( $p=0,179$ ). В то же время были выявлены статистически значимые различия для среднего индекса аугментации (АІхср) у пациентов с семейной гиперхолестеринемией по сравнению с их здоровыми сверстниками ( $Me - 39,5$  [МКР -47 - -35] и  $Me - 51$  [МКР -58 - -45] ( $p<0,001$ )).

Также оценивались и другие показатели артериальной ригидности: минимальное RWTT, среднее RWTT, максимальное RWTT и амбулаторный индекс ригидности. Показатели минимального RWTT не отличались между двумя группами. У детей из основной группы среднее RWTT, максимальное RWTT и ААСІ были выше на 10,7%, 12,8% и 25% соответственно ( $p<0,001$ ). Результаты суточного мониторинга АД с последующей оценкой ригидности сосудистой стенки представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Результаты СМАД с оценкой параметров артериальной ригидности с использованием диагностической системы VPLab с технологией Vasotens® у детей обследуемых групп

Показатель	Группа контроля		Основная группа		p
	Me	МКР	Me	МКР	
СПВ <sub>мин</sub> , м/с	3,3	2,8-4,1	4,1	3,5-5,6	<0,001
СПВ <sub>ср</sub> , м/с	4,4	3,7-5,1	6,9	5,5-8	<0,001
СПВ <sub>макс</sub> , м/с	6,6	5,8-7,4	8,5	7,3-10,6	<0,001
AI <sub>хмин</sub> , %	-75	-84 - -69	-73,5	-82 - -67	0,179
AI <sub>хср</sub> , %	-51	-58 - -45	-39,5	-47 - -35	<0,001
AI <sub>хмакс</sub> , %	7,5	-3 - 26	9,5	3-30	0,179
RWTТ <sub>мин</sub> , м/с	98,5	86-112	101	89-118	0,120
RWTТ <sub>ср</sub> , м/с	135,5	125-145	150	139-157	<0,001
RWTТ <sub>макс</sub> , м/с	167,5	154-178	189	172-195	<0,001
AASI	0,4	0,2-0,7	0,5	0,2-0,8	<0,001
Минимальная (dp/dt) max, мм рт.ст./с	329	255-390	352	306-379	0,194
Средняя (dp/dt) max, мм рт.ст./с	551,5	389-630	602,5	580-712	<0,001
Максимальная (dp/dt) max, мм рт.ст./с	965,5	681-1004	1108	1026-1473	<0,001

Всем детям проводилось измерение максимальной скорости нарастания давления (dp/dt) max, которая отражает «динамическую» нагрузку на стенки сосудов во время прохождения пульсовой волны и определяется как максимальная производная давления в артерии по времени [70]. В группе детей с СГХС выявлено статистически значимое увеличение среднего и максимального (dp/dt) max относительно контроля (p<0,001).

Увеличение артериальной жесткости – один из самых ранних процессов, происходящих в стенке сосудов при развитии атеросклероза [140]. Вызванный гиперхолестеринемией, окислительный и нитрозативный стресс, а также хроническое воспаление в стенке сосудов ускоряют модификацию артерий, за счет повышения продукции активным форм кислорода, азота и усиления активации лейкоцитов [43, 122, 157, 164]. Настоящее исследование позволило выявить

наличие корреляций между показателями липидограммы и скоростью пульсовой волны (таблица 11).

Таблица 11 - Корреляция между основными показателями липидограммы и СПВ у детей

Показатель	СПВ <sub>мин</sub>		СПВ <sub>ср</sub>		СПВ <sub>макс</sub>	
	$\rho$	p	$\rho$	p	$\rho$	p
ОХ, ммоль/л	0,3	0,005	0,5	<0,001	0,5	<0,001
ХС ЛПВП, ммоль/л	-	-	-0,3	0,006	-0,2	0,007
ХС ЛПНП, ммоль/л	0,3	0,002	0,5	<0,001	0,5	<0,001

Примечание –  $\rho$  - коэффициент корреляции Спирмена

### Изучение толщины комплекса интима-медиа общей сонной артерии

Всем детям проводили измерение ТКИМ общей сонной артерии, которое является «золотым стандартом» ранней диагностики атеросклероза у пациентов с семейной гиперхолестеринемией. В педиатрии, несмотря на неинвазивность и высокую информативность, этот метод применяется намного реже, чем у взрослых [152]. Утолщение ТКИМ свидетельствует о гипертрофическом ремоделировании сосудов в ответ на различные факторы риска развития ССЗ [60]. Было выявлено увеличение ТКИМ общей сонной артерии у детей с семейной гиперхолестеринемией как справа (Me 0,45 [МКР 0,42-0,48] мм), так и слева (Me 0,45 [МКР 0,42-0,49] мм) по сравнению с контрольной группой (справа Me 0,4 [МКР 0,37-0,4] мм, слева Me 0,4 [МКР 0,37-0,41] мм) ( $p < 0,001$ ) (рисунок 5).

Не было обнаружено статистически значимой разницы между ТКИМ правой общей сонной артерии и ТКИМ левой общей сонной артерии как в контрольной, так и в основной группах ( $p > 0,05$ ). ТКИМ общей сонной артерии у детей исследуемых групп не зависела от пола ( $p > 0,05$ ).

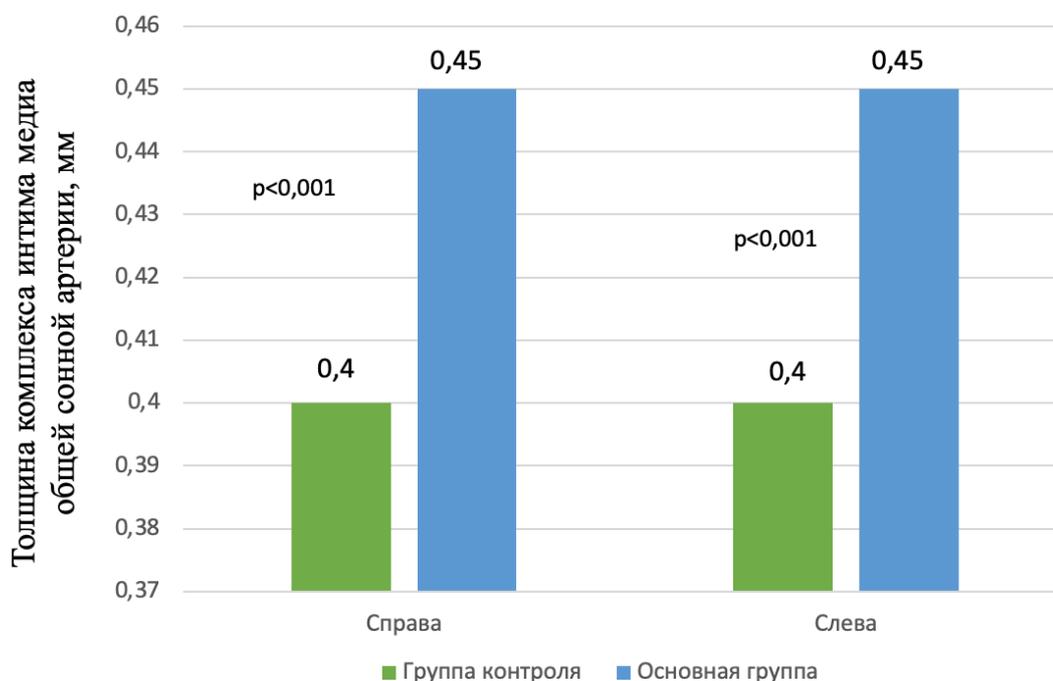


Рисунок 5 – Толщина комплекса интима-медиа правой и левой общей сонной артерии у детей обследуемых групп

Результаты, полученные при измерении ТКИМ у детей с СГХС, были индивидуально проанализированы с учетом референсных значений [58]. У большинства детей с семейной гиперхолестеринемией показатели ТКИМ превышали 95 перцентиль: увеличение нормативных показателей ТКИМ слева было выявлено в 58,6% (34/58) случаев, справа в 53,5% (31/58), с обеих сторон в 53,5% (31/58) случаев.

Корреляционный анализ показал наличие связей между ТКИМ и показателями липидограммы – ОХ ( $\rho = 0,7$ ,  $p < 0,001$ ), ХС ЛПНП ( $\rho = 0,7$ ,  $p < 0,001$ ), ХС ЛПВП ( $\rho = -0,3$ ,  $p = 0,003$ ) и ТГ ( $\rho = -0,2$ ,  $p = 0,013$ ).

У пациентов с гетерозиготной СГХС по данным эхокардиографического исследования нет признаков гипертрофии миокарда, однако у 10,3% детей ИММЛЖ<sup>2,7</sup> превышал значения 95-го перцентиля, что позволяет выделить их в особую группу риска по развитию данного состояния. Проведенное исследование суточного мониторинга артериального давления показало, что у детей с семейной гиперхолестеринемией не определяются выраженные различия в

показателях АД относительно здоровых сверстников. Течение наследственной дислипидемии сопровождается только статистически значимым увеличением САД и ДАД в ночное время. У пациентов с СГХС выявляются ранние изменения сосудистой стенки, которые характеризуются увеличением артериальной жесткости и утолщением ТКИМ общей сонной артерии.

### 3.3 Концентрация серотонина, его метаболита и мембранного переносчика при гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии у детей

Для выявления возможных предикторов ранних атеросклеротических изменений сосудистой стенки на доклиническом этапе в рамках настоящего исследования была проведена оценка концентрации серотонина в плазме крови, серотонина в тромбоцитах (плазма обогащённая тромбоцитами), метаболита серотонина (5-ГИУК) в плазме крови и мембранного переносчика серотонина в тромбоцитах у детей с СГХС и контрольной группы. Данные представлены в таблице 12.

Таблица 12 - Значения концентрации серотонина, его метаболита и переносчика у детей обследуемых групп

Показатель	Группа контроля		Основная группа		p
	Me	МКР	Me	МКР	
Среднее значение 5-НТ в плазме крови (пмоль/мл)	66,2	42,4-79,2	96,7	24,2-175,2	<0,001
Тромбоциты 5-НТ (пмоль/10 <sup>9</sup> тромбоцитов)	0,02	0,01-0,03	0,03	0,01-0,5	0,007
	М	ДИ	М	ДИ	
Тромбоциты 5-НТ (пмоль/мл)	6235403	723560-11747293	8530370	2326366-14734712	<0,001
SERT, нг/мл	0,03	0,01-0,06	0,04	0,02-0,07	<0,001
5-ГИУК в плазме крови (пмоль/мл)	20,9	8,4-33,5	27,2	14,2-40,1	<0,001

Концентрация 5-НТ в плазме крови у пациентов с семейной гиперхолестеринемией была в 1,5 раза выше, чем у здоровых детей ( $p < 0,001$ ).

Индивидуальный анализ концентрации серотонина в плазме крови показал, что у 83% (48) пациентов с СГХС уровень показателя превышал таковые в контрольной группе.

Повышенные концентрации атерогенных липидов в плазме крови индуцируют агрегацию тромбоцитов, стимулируя высвобождение серотонина в сосудистое русло [237]. В ходе исследования была обнаружена положительная корреляция между концентрацией серотонина в плазме крови и основными показателями липидного профиля: ОХ, ХС ЛПНП и отрицательная - с уровнем ХС ЛПВП (таблица 13).

Таблица 13 – Корреляция между концентрацией серотонина в плазме крови и показателями липидограммы у детей

Показатель	ОХ		ХС ЛПНП		ХС ЛПВП	
	$\rho$	p	$\rho$	p	$\rho$	p
Серотонин в плазме крови	0,5	<0,001	0,5	<0,001	-0,2	0,03

Примечание –  $\rho$  - коэффициент корреляции Спирмена

Выброс серотонина из тромбоцитов инициирует его вторую основную функцию – миграцию и пролиферацию ГМК в интиму, что приводит к утолщению стенок сосудов [29, 136, 191]. Серотонин через 5-НТ2А и 5-НТ2В рецепторы также запускает активацию фибробластов, что приводит к разрастанию соединительной ткани и увеличению жесткости сосудов [173, 191]. Настоящее исследование позволило выявить положительную связь концентрации серотонина в плазме крови с такими маркерами сосудистого ремоделирования, как ТКИМ, СПВмин, СПВср, СПВмакс, ААSI, средняя (dp/dt) max, максимальная (dp/dt) max, АIхмин и АIхср (таблица 14).

Таблица 14 – Корреляция между концентрацией серотонина в плазме крови и маркерами сосудистого ремоделирования у детей

Показатель	Серотонин в плазме крови	
	$\rho$	p
ТКИМ справа	0,5	<0,001
ТКИМ слева	0,5	<0,001
СПВмин	0,4	<0,001
СПВср	0,6	<0,001
СПВмакс	0,5	<0,001
AASI	0,3	<0,001
Средняя (dp/dt) max	0,3	0,005
Максимальная (dp/dt) max	0,4	<0,001
А1хмин	0,2	0,045
А1хср	0,2	0,025

Примечание –  $\rho$  - коэффициент корреляции Спирмена

Тромбоциты – основной циркулирующий резервуар 5-НТ. Они хранят его в своих гранулах в высоких концентрациях и высвобождают при активации [200]. При сравнительном анализе было выявлено статистически значимое повышение концентрации серотонина в тромбоцитах у детей с СГХС – М 8530370 (ДИ 2326366-14734712) пмоль/мл относительно их здоровых сверстников 6235403 (ДИ 723560-11747293) пмоль/мл ( $p < 0,001$ ).

Дополнительно был проведен подсчет концентрации серотонина на один тромбоцит. У детей с СГХС концентрация серотонина в тромбоцитах также была статистически значимо выше по сравнению с их здоровыми сверстниками (Ме 0,03 пмоль/ $10^9$  тромбоцитов (МКР 0,01-0,5) против 0,02 пмоль/ $10^9$  тромбоцитов (МКР 0,01-0,03) ( $p=0,007$ )).

Была выявлена положительная корреляция концентрации серотонина в плазме крови с его концентрацией в тромбоцитах как в общем количестве ( $\rho = 0,7$ ,  $p < 0,001$ ), так и в пересчете на один тромбоцит ( $\rho = 0,6$ ,  $p < 0,001$ ).

Проведённое исследование показало наличие связи между концентрацией серотонина в тромбоцитах и показателями ремоделирования сосудов, которые выявили путем измерения жесткости артериальных сосудов и толщины комплекса

интима-медиа общей сонной артерии, а также показателями липидограммы (таблица 15).

Таблица 15 – Корреляция между концентрацией серотонина в тромбоцитах, показателями липидограммы, ТКИМ и инструментальными маркерами артериальной жесткости у детей

Показатель	5-НТ в тромбоцитах		5-НТ в одном тромбоците	
	$\rho$	p	$\rho$	p
ОХ	0,3	<0,001	0,3	0,003
ХС ЛПНП	0,4	<0,001	0,3	<0,001
ТКИМ справа	0,4	<0,001	0,3	<0,001
ТКИМ слева	0,4	<0,001	0,3	<0,001
СПВмин	0,3	<0,001	0,3	0,002
СПВср	0,5	<0,001	0,4	<0,001
СПВмакс	0,4	<0,001	0,4	<0,001
АASI	0,3	<0,001	0,4	<0,001
Максимальная (dp/dt) max	0,3	0,003	0,2	0,035
AIхмин	0,2	0,02	0,2	0,013
AIхср	0,2	0,031	0,2	0,02

Примечание –  $\rho$  - коэффициент корреляции Спирмена

Настоящее исследование позволило выявить отрицательную связь между концентрацией серотонина в одном тромбоците и уровнем тромбоцитов ( $\rho = -0,3$ ,  $p=0,027$ ). Чем меньше количество тромбоцитов, тем больше серотонина запасается и хранится в одном тромбоците.

Серотонин метаболизируется в печени, легких и, в конечном итоге, выводится из организма в виде 5-гидроксииндолуксусной кислоты [29, 137, 152, 191]. Настоящее исследование показало, что средние показатели концентрации 5-ГИУК в основной группе в 1,3 раза превышали значения в группе контроля (М 27,2 пмоль/мл (ДИ 14,2-40,1) против М 20,9 пмоль/мл (ДИ 8,4-33,5) ( $p<0,001$ )).

Индивидуальный анализ концентрации 5-ГИУК в плазме крови у детей с СГХС показал, что у 51 (87%) ребенка основной группы уровень показателя превышал значения, полученные при обследовании детей группы контроля.

В ходе исследования была обнаружена положительная связь 5-ГИУК с концентрацией серотонина в плазме крови ( $\rho = 0,6$ ,  $p < 0,001$ ), серотонина в тромбоцитах – общем количестве ( $\rho = 0,6$ ,  $p < 0,001$ ) и в одном тромбоците ( $\rho = 0,5$ ,  $p < 0,001$ ).

Были выявлены связи между концентрацией 5-ГИУК и маркерами артериальной ригидности, ТКИМ и показателями липидограммы (таблица 16).

Таблица 16 – Корреляция между концентрацией 5-ГИУК в плазме крови, показателями липидограммы, ТКИМ и инструментальными маркерами артериальной ригидности у детей

Показатель	5-ГИУК в плазме крови	
	$\rho$	p
ОХ	0,5	<0,001
ХС ЛПНП	0,4	<0,001
ХС ЛПВП	-0,3	<0,001
ТКИМ справа	0,4	<0,001
ТКИМ слева	0,4	<0,001
СПВмин	0,2	0,0026
СПВср	0,4	<0,001
СПВмакс	0,4	<0,001
ААSI	0,3	0,001
Максимальная (dp/dt) max	0,2	0,008
AIхср	0,2	0,007

Примечание –  $\rho$  - коэффициент корреляции Спирмена

В плазме большая часть циркулирующего серотонина поглощается тромбоцитами при помощи мембранного переносчика серотонина [85, 200]. SERT - внутриклеточный белок, который экспрессируется на поверхности мембраны тромбоцитов и относится к семейству  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  зависимых переносчиков растворенных веществ [29, 153, 171, 191]. При увеличении концентрации 5-НТ в плазме крови повышаются уровни SERT плазматической мембраны тромбоцитов

и, тем самым, увеличивается поглощение серотонина [29, 153, 191]. У детей с СГХС среднее значение концентрации SERT в тромбоцитах составило 0,04 (ДИ 0,02-0,07) нг/мл, тогда как в группе контроля – 0,03 (ДИ 0,01-0,06) нг/мл ( $p < 0,001$ ). Корреляционный анализ подтвердил наличие связи между мембранным переносчиком и концентрацией серотонина в плазме крови и тромбоцитах, 5-ГИУК (рисунок 6).

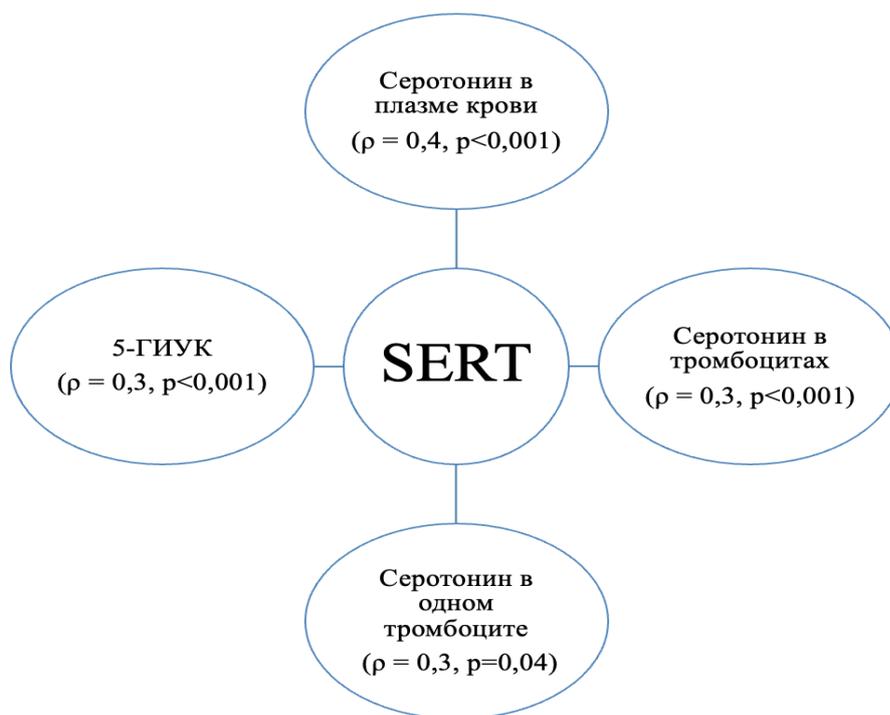


Рисунок 6 – Корреляция между концентрацией мембранного переносчика в тромбоцитах и показателями серотонина, 5-ГИУК

Обнаружена связь мембранного переносчика с показателями липидограммы и маркерами сосудистого ремоделирования (таблица 17).

Таблица 17 – Корреляция между концентрацией SERT в тромбоцитах, показателями липидограммы, ТКИМ и инструментальными маркерами артериальной ригидности у детей

Показатель	SERT в тромбоцитах	
	$\rho$	p
ОХ	0,3	0,003
ХС ЛПНП	0,3	0,005
ТКИМ справа	0,4	<0,001
ТКИМ слева	0,3	<0,001

## Продолжение таблицы 17

Показатель	SERT в тромбоцитах	
	$\rho$	p
СПВ <sub>мин</sub>	0,3	<0,001
СПВ <sub>ср</sub>	0,5	<0,001
СПВ <sub>макс</sub>	0,4	<0,001
AASI	0,3	<0,001
Минимальная (dp/dt) max	0,2	0,035
Средняя (dp/dt) max	0,2	0,024
Максимальная (dp/dt) max	0,3	<0,001
AI <sub>ср</sub>	0,2	0,012

Примечание –  $\rho$  - коэффициент корреляции Спирмена

В результате настоящего исследования были определены различные концентрации серотонина, 5-ГИУК и мембранного переносчика серотонина у детей с семейной гиперхолестеринемией в сравнении с группой условно-здоровых детей. Были обнаружены связи между показателями серотонинергической системы и результатами липидограммы, ТКИМ и маркерами артериальной жесткости сосудов.

На следующем этапе пациенты с СГХС были разделены на 2 группы: в первую группу вошли 29 детей (50%) с наиболее выраженными изменениями в сосудах, у которых показатели средней СПВ превышали 97 перцентиль в зависимости от возраста и пола, во вторую – 29 детей со значением средней СПВ не выше 97 перцентиля (таблица 18). Уровень тромбоцитов и липидограмма не отличались между двумя сравниваемыми группами. У детей с наиболее выраженными изменениями в сосудах концентрация серотонина в плазме крови была в 1,3 раза выше, чем у пациентов с нормальными значениями СПВ ( $p=0,011$ ). Было выявлено статистически значимое увеличение концентрации метаболита серотонина - 5-ГИУК в плазме крови и мембранного переносчика в тромбоцитах у детей с патологической СПВ ( $p<0,05$ ).

Таблица 18 – Сравнительный анализ результатов исследования у пациентов с СГХС в зависимости от СПВ

Показатель	СПВ <sub>ср</sub> <97 пер		СПВ <sub>ср</sub> >97 пер		p
	Me	МКР	Me	МКР	
Тромбоциты, x10 <sup>9</sup> /л	309	291-328	310	289-327	0,455
ОХ, ммоль/л	7,1	6,32-7,5	7	5,2-7,8	0,473
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,42	1,33-1,65	1,4	1,2-1,6	0,707
ХС ЛПНП, ммоль/л	5,2	4,44-5,82	4,7	3,5-5,5	0,162
ТГ, ммоль/л	0,8	0,6-1	0,8	0,6-1,1	0,482
Индекс атерогенности	4,07	3,26-4,54	3,5	2,5-4,7	0,754
ТКИМ слева	0,44	0,42-0,46	0,47	0,43-0,5	<b>0,017</b>
ТКИМ справа	0,43	0,41-0,46	0,46	0,43-0,49	<b>0,007</b>
Среднее значение 5-НТ в плазме крови (пмоль/мл)	88,94	78,5-98,5	113,3	71,7-136,8	<b>0,011</b>
Тромбоциты 5-НТ (пмоль/10 <sup>9</sup> тромбоцитов)	8673956	6147954-9672341	8816173	6329378-11693636	0,385
Тромбоциты 5-НТ (пмоль/мл)	0,03	0,02-0,03	0,03	0,02-0,04	0,243
SERT, нг/мл	0,04	0,03-0,04	0,05	0,04-0,05	<b>0,009</b>
5-ГИУК в плазме крови (пмоль/мл)	25,9	22,4-28,1	28	24,1-31,7	<b>0,04</b>

Примечание – жирным шрифтом отмечены статистически значимые различия между группами

В зависимости от выраженности патологических изменений в общей сонной артерии пациенты с СГХС также были разделены на две группы. В первую группу был включен 31 ребенок (53,5%) с ТКИМ выше 95 перцентиля в зависимости от

пола и возраста, во вторую группу – 27 детей (46,5%), у которых ТКИМ соответствовала нормальным значениям (таблица 19). В группе пациентов с СГХС с самыми высокими показателями ТКИМ определялось статистически значимое увеличение концентрации серотонина и 5-ГИУК в плазме крови, SERT в тромбоцитах. При этом уровень тромбоцитов не отличался между двумя группами. Таблица 19 – Сравнительный анализ результатов исследования у пациентов с СГХС в зависимости от значения ТКИМ

Показатель	ТКИМ<95пер		ТКИМ>95пер		p
	Me	МКР	Me	МКР	
Возраст, лет	9	7-13	11	6-15	0,383
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	309	289-320	310	289-332	0,252
ОХ, ммоль/л	6,84	4,48-7,43	7,07	6,06-7,91	0,22
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,4	1,2-1,6	1,43	1,27-1,65	0,917
ХС ЛПНП, ммоль/л	5,01	2,56-5,82	5,1	4,26-5,5	0,206
ТГ, ммоль/л	0,82	0,56-1,01	0,8	0,65-1,1	0,549
Индекс атерогенности	3,7	2-4,45	4	3,12-5	0,161
СПВмин, м/с	3,6	3,3-5,3	4,5	3,7-5,8	0,154
СПВср, м/с	6,2	5,2-7,5	7,3	6,1-8,9	<b>0,007</b>
СПВмакс, м/с	7,5	7,1-9,8	8,9	7,6-11,9	0,245
Среднее значение 5-НТ в плазме крови (пмоль/мл)	85,4	65,3-102,1	103,6	92,12-136,78	<b>0,004</b>
Тромбоциты 5-НТ (пмоль/ $10^9$ тромбоцитов)	8341808	6100746-9345160	9093182	6788829-12085639	0,156
Тромбоциты 5-НТ (пмоль/мл)	0,027	0,018-0,031	0,03	0,02-0,04	0,38
SERT, нг/мл	0,038	0,033-0,043	0,046	0,035-0,052	<b>0,02</b>

## Продолжение таблицы 19

Показатель	ТКИМ<95пер		ТКИМ>95пер		p
	Me	МКР	Me	МКР	
5-ГИУК в плазме крови (пмоль/мл)	25,63	22,15-27,64	28,1	26,1-33,1	<b>0,01</b>

Примечание – жирным шрифтом отмечены статистически значимые различия между группами

У детей с СГХС с высокими значениями средней СПВ и ТКИМ наблюдается увеличение концентрации серотонина, 5-ГИУК в плазме крови и SERT в тромбоцитах. Чем выраженнее патологические изменения в сосудах, тем выше значения показателей серотонинергической системы в крови.

На основе полученных при сравнении групп данных, с использованием метода бинарной логистической регрессии, была разработана прогностическая модель для определения вероятности наличия сосудистого ремоделирования у детей с СГХС. Учитывали уровень: общего холестерина ммоль/л (число), ХС ЛПВП ммоль/л (число), ХС ЛПНП ммоль/л (число), ТГ ммоль/л (число), 5-ГИУК пмоль/мл (число), 5-НТ в плазме крови пмоль/мл (число), возраст (число).

При увеличении показателя «ОХ» на 1 ммоль/л шансы прогрессирования сосудистого ремоделирования увеличивались в 3,4 раза, увеличении показателя «ХС ЛПНП» на 1 ммоль/л шансы прогрессирования атеросклероза увеличивались в 7,5 раз.

Характеристика предикторов модели приведена в таблице 20, оценки отношения шансов на рисунке 7.

Таблица 20 – Характеристики связи предикторов модели с шансами выявления ремоделирования сосудов у детей

Предикторы	Unadjusted		Adjusted	
	COR; 95% ДИ	p	AOR; 95% ДИ	p
ОХ	7,709; 3,428 – 17,340	< 0,001*	3,411; 1,294 – 8,980	0,013*
ХС ЛПВП	0,141; 0,035 – 0,571	0,006*	7,571; 0,401 – 142,879	0,177

## Продолжение таблицы 20

Предикторы	Unadjusted		Adjusted	
	COR; 95% ДИ	p	AOR; 95% ДИ	p
ХС ЛПНП	12,663; 4,284 – 37,450	< 0,001*	7,474; 1,600 – 34,918	0,011*
ТГ	0,166; 0,042 – 0,653	0,010*	0,023; 0,001 – 0,536	0,019*
5Н1АА	1,182; 1,093 – 1,278	< 0,001*	0,989; 0,839 – 1,165	0,891
5-НТ	1,031; 1,016 – 1,046	< 0,001*	1,006; 0,990 – 1,023	0,445
Возраст	1,000; 0,910 – 1,099	1,000	1,016; 0,831 – 1,242	0,874

Примечание – \* – влияние предиктора статистически значимо ( $p < 0,05$ )

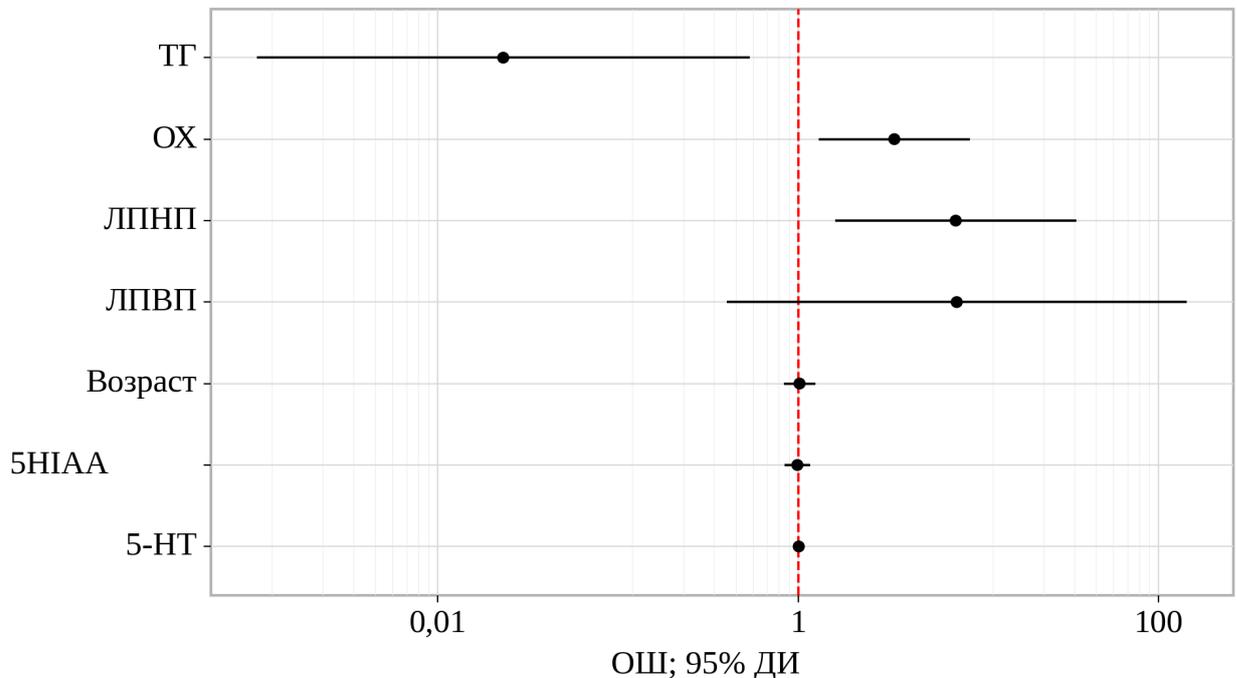


Рисунок 7 – Оценки отношения шансов с 95% ДИ для изучаемых предикторов сосудистого ремоделирования

Анализ чувствительности и специфичности разработанной модели представлен на рисунке 8.

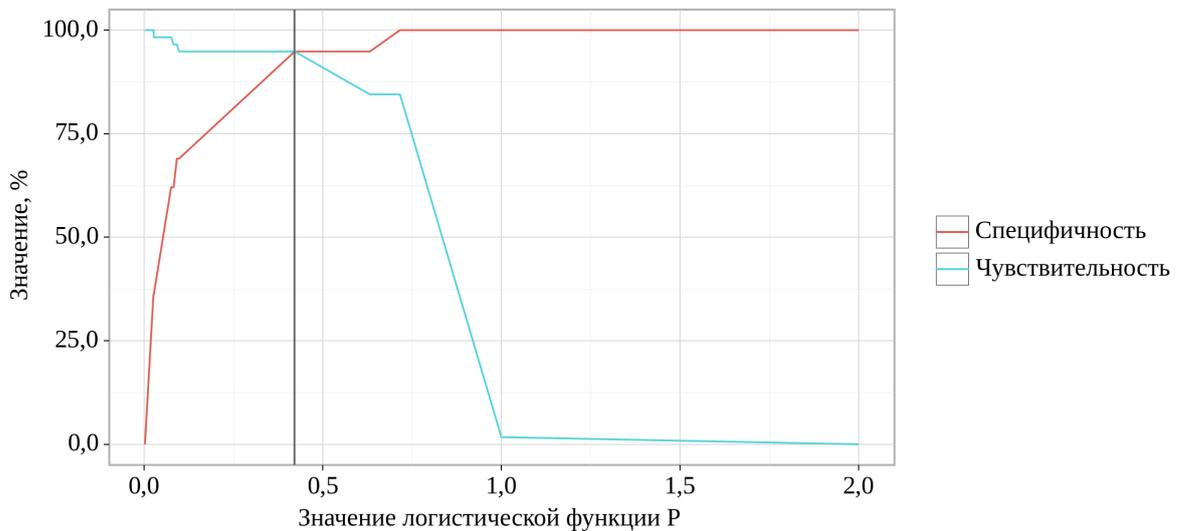


Рисунок 8 – Анализ чувствительности и специфичности модели в зависимости от пороговых значений оценок вероятности наличия сосудистого ремоделирования у детей

Пороговое значение логистической функции P в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 0,722. Наличие сосудистого ремоделирования прогнозировалось при значении логистической функции P выше данной величины или равном ей. Чувствительность и специфичность модели составили 94,8% и 94,8% соответственно.

На основании полученных результатов был разработан онлайн калькулятор, позволяющий определить наличие ремоделирования сосудов у детей с семейной гиперхолестеринемией (Приложение 1), который доступен по ссылке <https://fluctio.ru/calc/calc.html>

## ГЛАВА 4 РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧАСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ НА НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ МЫШАХ ЛИНИИ C57BL/6 И МЫШАХ С ДЕФИЦИТОМ РЕЦЕПТОРА ЛИПОПРОТЕИНА НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ

В настоящей работе исследование проводилось на гетерозиготных неполовозрелых мышах *Ldlr*<sup>+/-</sup>, что соответствует гетерозиготной форме семейной гиперхолестеринемии.

### 4.1 Лабораторные особенности неполовозрелых мышей C57BL/6 и *Ldlr* +/-

Экспериментальная часть исследования проводилась на 84 мышах в возрасте 5-7 недель: 48 мышей C57BL/6JGpt -*Ldlr*<sup>em1Cd82</sup>/Gpt (*Ldlr* +/-) – основная группа, 36 мышей (C57BL/6) – группа контроля.

Мышам двух групп был проведен ОАК. У генно-модифицированных мышей уровень гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов был выше по сравнению с одновозрастными мышами линии C57BL/6, однако укладывался в пределы референсных значений [20, 67]. Концентрация тромбоцитов у животных с гетерозиготной мутацией гена *Ldlr* была в 1,4 раза ниже, чем у мышей C57BL/6 ( $p < 0,001$ ) (таблица 21).

Таблица 21 – Результаты общего анализа крови мышей *Ldlr* +/- и мышей группы контроля

Показатель	Контрольная группа		Основная группа		p
	Me	МКР	Me	МКР	
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	6,9	6,6-7,3	7,4	6,9-7,6	<0,001
Гемоглобин, г/л	123	122-127	132,5	129,5-135,5	<0,001
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	7,3	6,9-7,9	9,4	8,5-11,2	<0,001
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	503,5	428,5-579,5	356	350,5-364,5	<0,001

Дополнительно всем животным определяли концентрацию общего холестерина в сыворотке крови. Уровень общего холестерина у мышей с

генетической мутацией был в 1,6 раз выше, чем у здоровых мышей (Ме 2,6 [МКР 2,4-2,9] против Ме 1,6 [МКР 1,5-1,6] ммоль/л) ( $p < 0,001$ ) (рисунок 9).

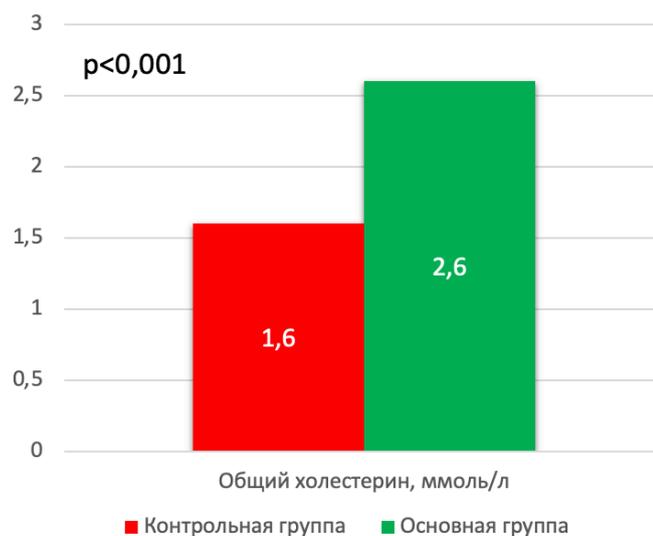


Рисунок 9 - Уровень общего холестерина у мышей Ldlr +/- и мышей группы контроля

#### 4.2 Концентрация серотонина, 5-гидроксииндолуксусной кислоты и мембранного переносчика серотонина в крови у неполовозрелых мышей C57BL/6 и Ldlr +/-

В экспериментальной части исследования мышам двух групп определяли концентрацию серотонина в плазме крови, серотонина в тромбоцитах (плазма обогащенная тромбоцитами), метаболита серотонина (5-ГИУК) в плазме крови и тромбоцитах, мембранного переносчика серотонина в тромбоцитах. Результаты исследования представлены в таблице 22.

Таблица 22 - Значения показателей серотонина, его метаболита и мембранного переносчика у мышей Ldlr +/- и мышей группы контроля

Показатели	Контрольная группа		Основная группа		p
	Ме	МКР	Ме	МКР	
5-НТ в плазме крови (нг/мл)	9,6	9,4-9,7	10,7	9,2-11,9	<0,001
Тромбоциты 5-НТ (нг/мл)	3,4	3,1-3,5	4,4	4,1-5,4	<0,001

## Продолжение таблицы 22

Показатели	Контрольная группа		Основная группа		p
	Me	МКР	Me	МКР	
5-ГИУК в плазме крови (нг/мл)	6,8	6,5-7,6	9,4	7,5-10,1	<0,001
Тромбоциты 5-ГИУК (нг/мл)	4	3,4-4,5	5,6	4,2-6,8	<0,001
SERT (нг/мл)	0,16	0,16-0,18	0,2	0,18-0,21	<0,001

Серотонин после синтеза в энтерохромаффинных клетках кишечника высвобождается в плазму крови [191, 200]. Концентрация серотонина в плазме крови у генно-модифицированных животных была в 1,2 раза выше, чем у мышей контрольной группы ( $p < 0,001$ ).

В плазме большая часть циркулирующего 5-НТ поглощается тромбоцитами, где либо разрушается, либо запасается в плотных гранулах в высоких концентрациях и высвобождается при активации [171, 200]. Концентрация серотонина в тромбоцитах у животных основной группы по сравнению с группой контроля также была выше на 29,5 % ( $p < 0,001$ ).

Как и в клинической части исследования, уровень основного метаболита серотонина - 5-ГИУК в плазме крови был выше у мышей основной группы в 1,4 раза ( $p < 0,001$ ). Дополнительно в рамках экспериментальной части была определена концентрация метаболита серотонина в тромбоцитах. У животных C57B6/JGpt-Ldlr<sup>em1Cd82</sup>/Gpt (Ldlr +/-) концентрация 5-ГИУК в тромбоцитах была выше на 40% по сравнению с мышами C57BL/6 ( $p < 0,001$ ) (рисунок 10).

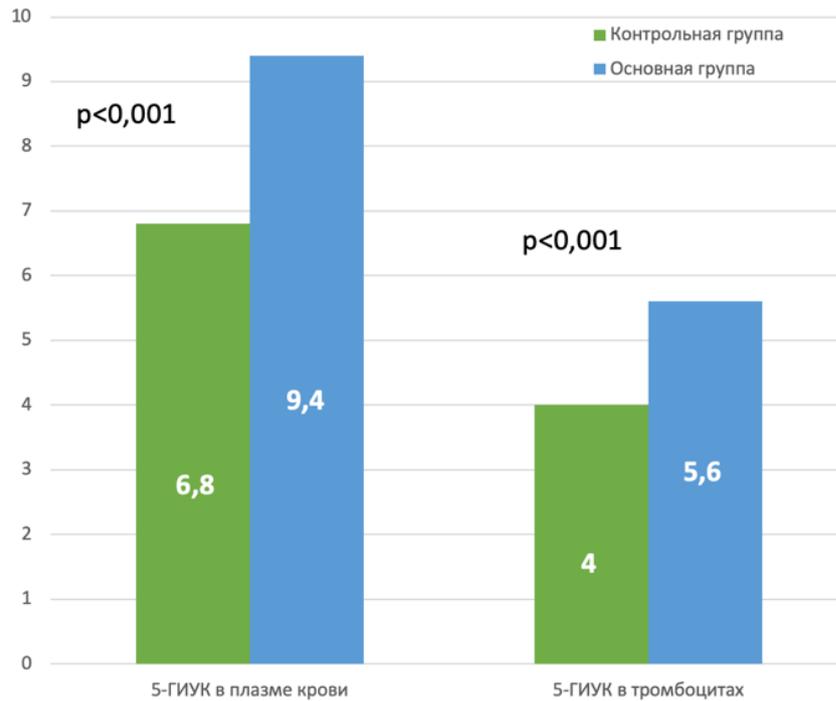


Рисунок 10 – Концентрация 5-ГИУК в плазме крови и тромбоцитах у мышей Ldlr +/- и мышей группы контроля

Увеличение уровня свободного серотонина в плазме крови активирует мембранный переносчик, основной функцией которого является регулирование концентрации моноамина в плазме крови [153]. Результаты исследования продемонстрировали увеличение концентрации мембранного переносчика у животных с повышенным уровнем холестерина по сравнению с мышами контрольной группы (Me 0,2 [МКР 0,18-0,21] против Me 0,16 [МКР 0,16-0,18] нг/мл ( $p < 0,001$ )).

Гиперхолестеринемия приводит к функциональному и структурному повреждению сосудистой стенки, что влечет за собой последующую активацию тромбоцитов и высвобождение из них серотонина [158, 200]. В исследовании были выявлены корреляции между основными показателями серотонинергической системы и общим холестерином, а также тромбоцитами (таблица 23).

Таблица 23 - Корреляция между концентрацией серотонина, 5-ГИУК, мембранного переносчика и уровнем общего холестерина, тромбоцитов

Показатель	Тромбоциты		Общий холестерин		5-НТ плазма		5-ГИУК плазма		SERT	
	$\rho$	p	$\rho$	p	$\rho$	p	$\rho$	p	$\rho$	p
5-НТ в плазме крови	-0,65	<0,05	0,68	<0,05	-	-	0,41	<0,05	0,12	<0,05
Тромбоциты 5-НТ	-0,62	<0,05	0,72	<0,05	0,56	<0,05	0,50	<0,05	0,30	<0,05
5-ГИУК в плазме крови	-0,51	<0,05	0,61	<0,05	0,41	<0,05	-	-	0,23	<0,05
Тромбоциты 5-ГИУК	-0,32	<0,05	0,48	<0,05	0,28	<0,05	0,58	<0,05	0,22	<0,05
SERT	-0,38	<0,05	0,39	<0,05	0,12	<0,05	0,23	<0,05	-	-

Примечание –  $\rho$  - коэффициент корреляции Спирмена

Данные, полученные в ходе экспериментальной части работы, согласуются с результатами клинического исследования, проведенного с участием детей с семейной гиперхолестеринемией. У неполовозрелых мышей *Ldlr*<sup>+/-</sup>, как и у детей с семейной гиперхолестеринемией, определяется статистически значимое увеличение концентрации серотонина в плазме крови и тромбоцитах, 5-ГИУК в плазме крови и SERT в тромбоцитах по сравнению с мышами линии C57BL/6. Настоящее исследование показало наличие положительных корреляционных связей общего холестерина с концентрацией серотонина, его метаболита и переносчика в плазме крови.

#### **4.3 Оценка уровня экспрессии мРНК 5-НТ2А, 5-НТ2В рецепторов, мембранного переносчика в аорте у неполовозрелых мышей C57BL/6 и *Ldlr* +/-**

Большое количество функций серотонина обусловлено разнообразием его рецепторов и наличием мембранного переносчика [29, 137, 191].

В настоящем исследовании была проведена оценка уровня экспрессии мРНК 5-НТ2А, 5-НТ2В рецепторов, SERT в аорте генно-модифицированных мышей и здоровых животных.

Рецептор 5-НТ2А участвует в пролиферации и дифференцировке ГМК, активирует агрегацию тромбоцитов, увеличивает сократимость сердечной мышцы и повышает артериальное давление [135]. У неполовозрелых гетерозиготных мышей с дефицитом рецептора липопротеина низкой плотности уровень экспрессии рецептора 5-НТ2А в аорте был статистически значимо выше и составил 1,56 (0,85-2,87) относительно мышей C57BL/6 1,00 (0,78-1,28) ( $p < 0,001$ ). Была обнаружена положительная корреляция между экспрессией мРНК рецептора 5-НТ2А и общим холестерином, показателями серотонинергической системы (таблица 24).

Таблица 24 – Корреляция между экспрессией мРНК рецептора 5-НТ2А и общим холестерином, показателями серотонинергической системы у экспериментальных животных

Показатель	Экспрессия мРНК рецептора 5-НТ2А	
	$\rho$	p
Общий холестерин	0,63	<0,001
5-НТ в плазме крови	0,65	<0,001
Тромбоциты 5-НТ	0,64	<0,001
5-ГИУК в плазме крови	0,41	<0,001
Тромбоциты 5-ГИУК	0,36	<0,001
SERT	0,31	0,003

Примечание –  $\rho$  - коэффициент корреляции Спирмена

5-НТ2В рецепторы активируют фибробласты, что в последующем приводит к разрастанию соединительной ткани и увеличению жесткости сосудов [152, 131, 191]. У генно-модифицированных мышей экспрессия гена 5-НТ2В также была увеличена по сравнению со здоровыми животными (1,2 (1,06-1,36) против 1,00 (0,94-1,06)) ( $p < 0,05$ ).

Как и в случае с рецепторами серотонина в настоящем исследовании у мышей основной группы наблюдалось увеличение экспрессии мРНК мембранного переносчика серотонина. SERT – двунаправленный переносчик, который регулирует внутриклеточные и внеклеточные уровни серотонина [131, 191]. Экспрессия гена SERT у неполовозрелых гетерозиготных мышей с дефицитом рецептора липопротеина низкой плотности составила 1,3 (1,01-1,68), у животных C57BL/6 - 1,00 (0,93-1,08) ( $p < 0,05$ ).

Проведенное исследование показало статистически значимое увеличение экспрессии мРНК 5-НТ2А, 5-НТ2В рецепторов, SERT в аорте у неполовозрелых гетерозиготных мышей с дефицитом рецептора липопротеина низкой плотности по сравнению с мышами линии C57BL/6. Были выявлены корреляционные связи между экспрессией мРНК 5-НТ2А рецептора и показателями серотонинергической системы, общим холестерином. Также была обнаружена положительная связь между экспрессией гена SERT и концентрацией серотонина в плазме крови. Эти

данные дополнительно подтверждают наличие изменений в серотонинергической системе у животных с мутацией гена *Ldlr*.

#### **4.4 Влияние серотонина на сократимость миокарда левого желудочка у экспериментальных животных**

Серотонин через рецепторы 5-HT<sub>2</sub> и 5-HT<sub>4</sub> участвует в регуляции инотропной функции миокарда, изменяя его сократительную способность. Эффект серотонина зависит от чувствительности рецепторов и их количества на кардиомиоцитах. Показано, что повышенная экспрессия 5-HT<sub>2B</sub> рецепторов приводит к развитию гипертрофии миокарда [131, 135, 191].

В настоящей работе мышам основной и контрольной групп было проведено исследование влияния серотонина в различных концентрациях на показатели инотропной функции миокарда левого желудочка. Результаты представлены в таблице 25.

Исходные величины силы сокращения миокарда левого желудочка у генно-модифицированных мышей и животных группы контроля отличались. Установлено статистически значимое увеличение силы сокращения миокарда у животных основной группы относительно мышей группы контроля (соотношение 1,7:1) ( $p < 0,001$ ). При введении серотонина в концентрации 0,1 мкмоль сила сокращения миокарда левого желудочка мышей *Ldlr*<sup>+/-</sup> уменьшалась на 14,3% от исходных значений, тогда как у животных группы контроля этот показатель увеличивался на 10,5% ( $p = 0,03$ ). У мышей с дефицитом рецептора липопротеина низкой плотности по мере роста концентрации введенного моноамина (1 мкмоль и 10 мкмоль) сила сокращения снижалась на 44,5% и 54,2% соответственно. Миокард левого желудочка мышей группы контроля реагировал на концентрации серотонина 1 мкмоль и 10 мкмоль увеличением силы сокращения на 33,7% и 78,2% (рисунок 11). Статистически значимые различия силы сокращения миокарда между двумя группами были выявлены при всех концентрациях серотонина ( $p < 0,05$ ).

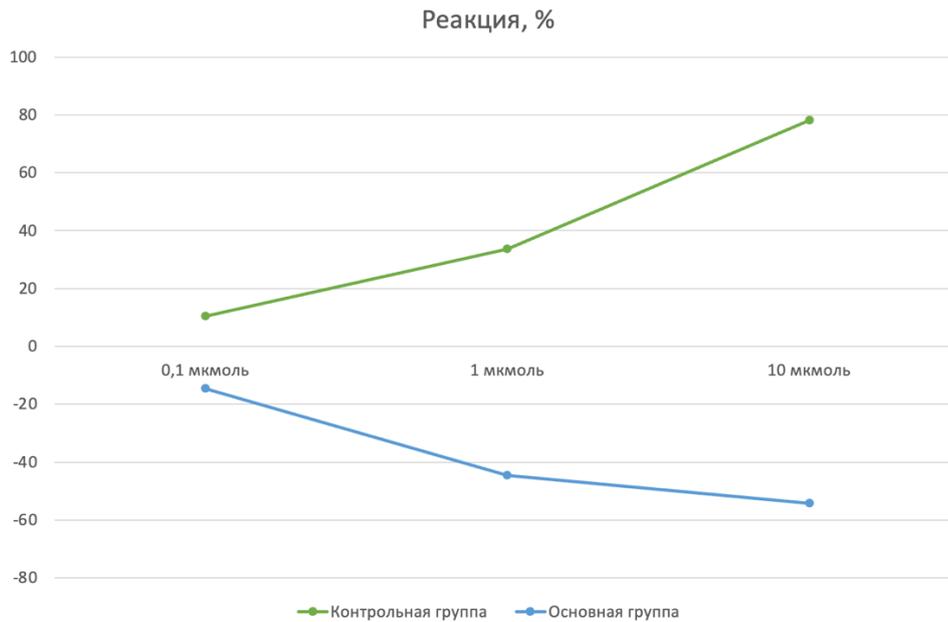


Рисунок 11 – Реакция силы сокращения миокарда левого желудочка мышей основной группы и группы контроля на серотонин

Исходные показатели времени сокращения ( $T_{max}$ ) не отличались у генномодифицированных и здоровых мышей ( $p=0,38$ ). Как в основной группе, так и в группе контроля  $T_{max}$  миокарда левого желудочка дозозависимо уменьшался по сравнению с исходным временем. Статистически значимые различия между двумя группами были выявлены только при концентрации серотонина 1 мкмоль и 10 мкмоль. Медиана длительности сокращения миокарда левого желудочка у мышей  $Ldlr^{+/-}$  при введении моноамина в концентрации 1 мкмоль составила 76000 [МКР 73000-78500] мкс, у здоровых животных – 74000 [МКР 73000-89000] мкс ( $p=0,048$ ). При концентрации серотонина равной 10 мкмоль,  $T_{max}$  животных основной группы также был ниже относительно мышей группы контроля ( $p=0,008$ ).

Как и в случае с  $T_{max}$ , исходные величины длительности расслабления ( $T_{min}$ ) не различались между двумя группами ( $p=0,97$ ). По мере увеличения концентрации серотонина расслабление миокарда левого желудочка генномодифицированных и здоровых мышей происходило быстрее на 10,7-14% и 6,4-18,3% соответственно от исходных показателей. Статистически значимые

межгрупповые различия были выявлено только при концентрации серотонина 10 мкмоль ( $p=0,014$ ).

У неполовозрелых гетерозиготных мышей с дефицитом рецептора липопротеина низкой плотности определяется уменьшение силы сокращения, времени сокращения и длительности расслабления миокарда левого желудочка на повышающиеся концентрации серотонина. Реакция миокарда левого желудочка мышей основной группы и группы контроля при введении различных концентраций серотонина отличается. Было установлено дозозависимое снижение силы сокращения миокарда генно-модифицированных мышей, тогда как у животных группы контроля данный показатель увеличивался. Время сокращения и длительность расслабления постепенно уменьшаются по мере повышения концентрации серотонина в обеих группах.

Таблица 25 – Влияние серотонина на силу сокращения, время сокращения и длительность расслабления миокарда левого желудочка у мышей Ldlr +/- и мышей группы контроля

Концентрация серотонина	Контрольная группа		Основная группа		p
	Me	МКР	Me	МКР	
	<b>Сила сокращения, мг</b>				
Исходное значение	1612,5	1249,47-1771,7	2787,2	2217,44-3060,57	<0,001
0,1 мкмоль	1782,5*	1637,21-1934,12	2390,21*	1680,44-2662,54	0,03
1 мкмоль	2156,48*	1655,19-2267,09	1548,22*	1324,77-2142,03	0,048
10 мкмоль	2874,15*	2448,87-2935,14	1276,54*	882,55-1432,85	<0,001
	<b>Время сокращения, мкс</b>				
Исходное значение	83000	78000-90000	86500	84500-89500	0,38
0,1 мкмоль	76000	74000-94000	80000*	76000-84500	0,407
1 мкмоль	74000*	73000-89000	76000*	73000-78500	0,048
10 мкмоль	72000*	68000-77000	70000*	67500-71500	0,008
	<b>Длительность расслабления, мкс</b>				
Исходное значение	142000	128000-164000	149000	145500-156000	0,97
0,1 мкмоль	133000	124000-159000	133000*	125000-149500	0,58
1 мкмоль	131000	117000-153000	134000*	115000-157500	0,85
10 мкмоль	116000*	103000-122000	128000*	107500-138000	0,014

Примечание: \* - статистически значимые отличия от исходных значений ( $p < 0,05$ ); мг – миллиграмм; мкс - микросекунда

#### 4.5 Морфологические особенности и иммуногистохимическая реакция на рецепторы серотонина и мембранный переносчик серотонина в аорте и левом желудочке у неполовозрелых мышей C57BL/6 и Ldlr +/-

Исследование было проведено на 20 мышах в возрасте 5-7 недель: 10 мышей (C57BL/6JGpt -Ldlr<sup>em1Cd82</sup>/Gpt (Ldlr +/-) – основная группа, 10 мышей (C57BL/6) – группа контроля.

##### Контрольная группа

В аорте четко определялись внутренняя оболочка (интима), средняя оболочка и наружная (адвентициальная) оболочка (рисунок 12).

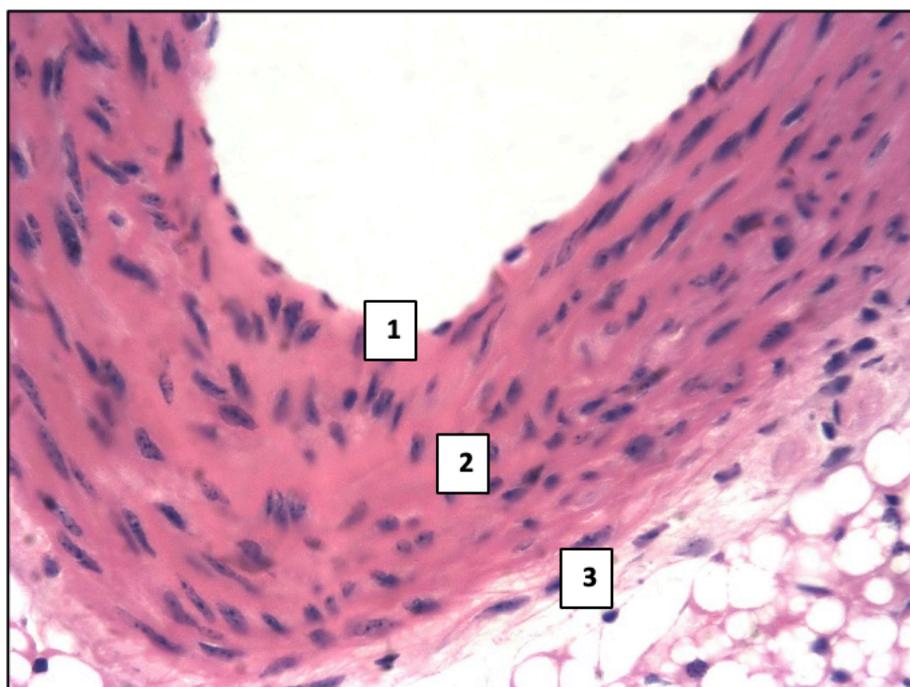


Рисунок 12 - Нормальная гистологическая структура аорты мышей: 1 –внутренняя оболочка, 2 – средняя оболочка, 3 – адвентициальная оболочка. Контрольная группа. Окраска гематоксилином и эозином. x 400

Интима была представлена одним слоем плоских эндотелиальных клеток со слабо выраженным субэндотелиальным слоем из рыхлой соединительной ткани. Средняя оболочка содержала эластические волокна и гладкомышечные клетки.

Наружная оболочка была построена из рыхлой волокнистой соединительной ткани с наличием толстых эластических и коллагеновых волокон. Жировая ткань, судя по окраске Суданом III, выявлялась только в адвентициальной оболочке. Иммуногистохимический анализ показал положительную экспрессию всех применяемых МКАТ. Так, количество SERT, 5-HT2A и 5-HT2B-позитивных клеток составило соответственно  $16,2 \pm 1,18\%$ ,  $18,9 \pm 1,22\%$  и  $21,5 \pm 1,46\%$ . При этом МКАТ против SERT и 5-HT2A экспрессировались преимущественно в эндотелии и гладкомышечных клетках (рисунок 13), а МКАТ против 5-HT2B еще и в фибробластах.

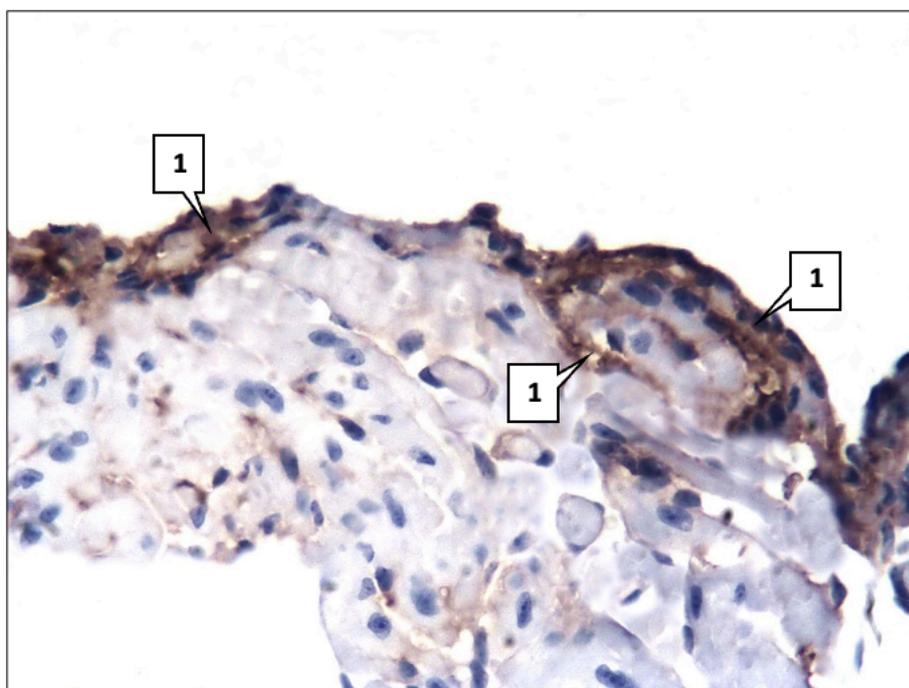


Рисунок 13 - Экспрессия МКАТ против SERT в аорте мышей (1). Контрольная группа. LSAB-метод с докраской гематоксилином. x 400

Левый желудочек сердца также, как и аорта, имел обычное гистологическое строение. В его стенке четко определялись эндокард, миокард и эпикард. Эндокард был представлен одним слоем эндотелиоцитов и тонким субэндотелиальным слоем из соединительной ткани. Миокард был образован мышечными волокнами из кардиомиоцитов. Здесь также содержались фибробласты, кровеносные сосуды и коллагеновые волокна. Эпикард состоял из тонкого соединительно-тканного слоя, покрытого мезотелием. Жировая ткань выявлялась преимущественно в эпикарде,

тогда как в эндокарде и миокарде содержание липидов было незначительным – всего  $0,09 \pm 0,02\%$  от общей площади среза левого желудочка. Иммуногистохимически, также как и в аорте, выявлялась экспрессия МКАТ против SERT, 5-HT<sub>2A</sub> и 5-HT<sub>2B</sub>. Отличительной особенностью являлось более высокое содержание SERT и 5-HT<sub>2A</sub>-позитивных клеток, поскольку они экспрессировались еще и в кардиомиоцитах -  $27,4 \pm 2,13\%$  и  $39,9 \pm 2,78\%$  соответственно. При этом в одних случаях SERT выявлялся преимущественно в эндотелии сосудов (рисунок 14), а в других – преимущественно в кардиомиоцитах (рисунок 15).

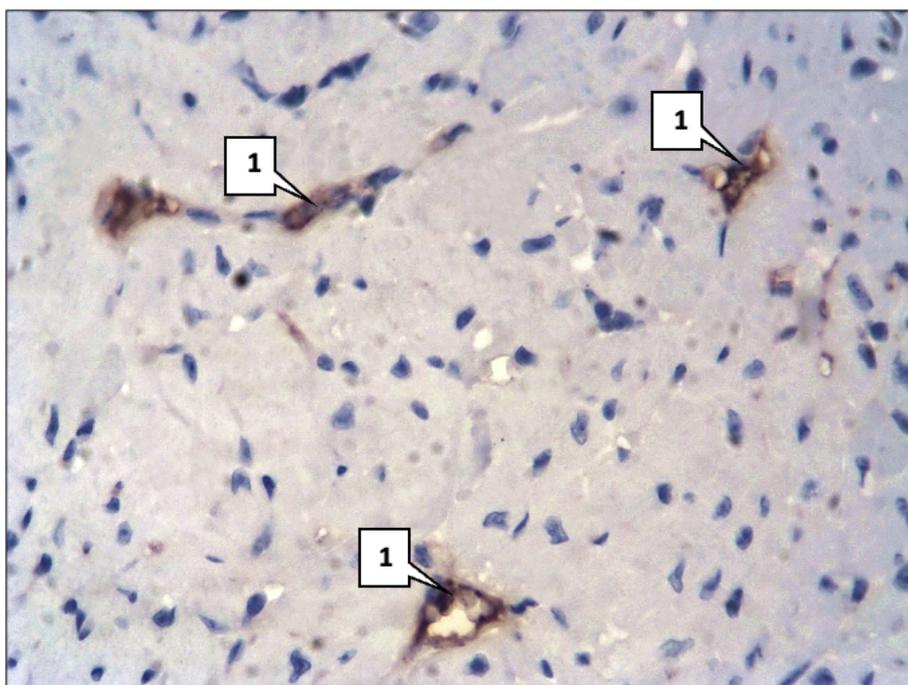


Рисунок 14 - Экспрессия МКАТ против SERT в эндотелии сосудов миокарда мышей (1). Контрольная группа. LSAB-метод с докраской гематоксилином. х 400

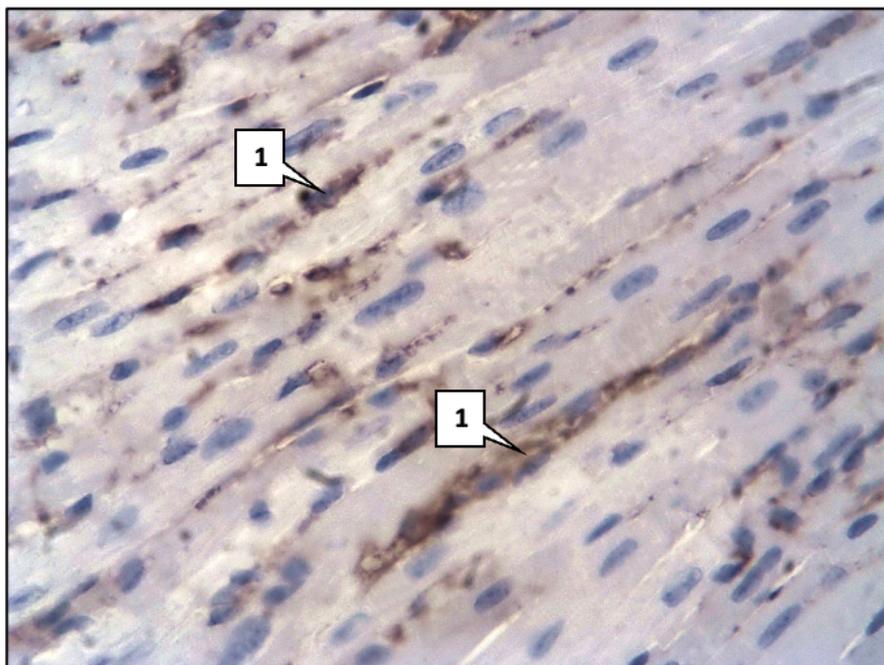


Рисунок 15 - Экспрессия МКАТ против SERT в кардиомиоцитах мышей (1).  
Контрольная группа. LSAB-метод с докраской гематоксилином. х 400

### **Основная группа (генно-модифицированные мыши Ldlr +/-)**

В большинстве наблюдений в аорте имело место очаговое повреждение эндотелия, повышение проницаемости в виде плазматического пропитывания, накопления во внутренней оболочке белков плазмы и фибриногена. Отмечалось мукоидное набухание, разрушение отдельных эластических и коллагеновых волокон, а также пролиферация гладкомышечных клеток. Данная морфологическая картина соответствует самой ранней стадии атеросклероза. В отдельных случаях в аорте наблюдались более выраженные изменения. Так, в интиме отмечалось отложение эозинофильных гиалиноподобных масс (рисунки 16, 17) или скопление липидов в виде очаговой инфильтрации с началом формирования атеросклеротической бляшки, выбухающей в просвет аорты (рисунок 18).

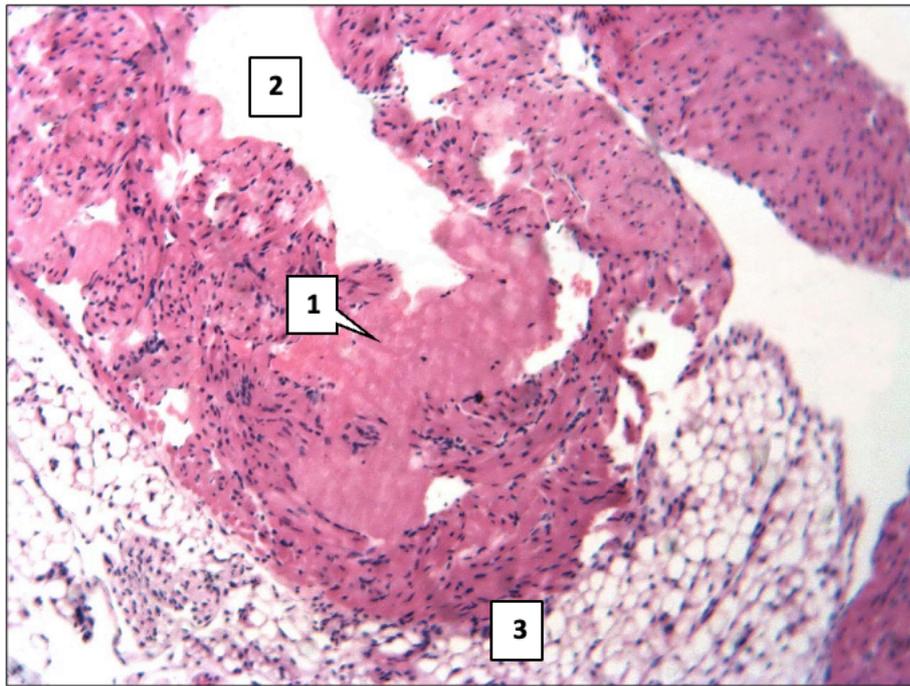


Рисунок 16 - Отложение эозинофильных гиалиноподобных масс (1) в интима аорты. 2 – просвет сосуда, 3 – адвентициальная оболочка. Основная группа.

Окраска гематоксилином и эозином. x 200

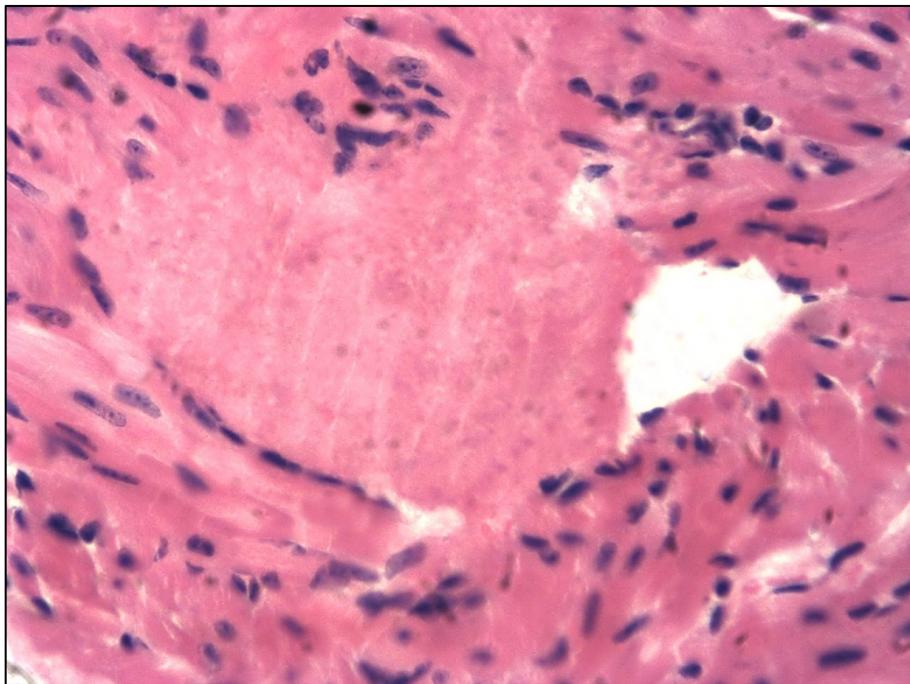


Рисунок 17 - Деталь рисунка 16. x 400

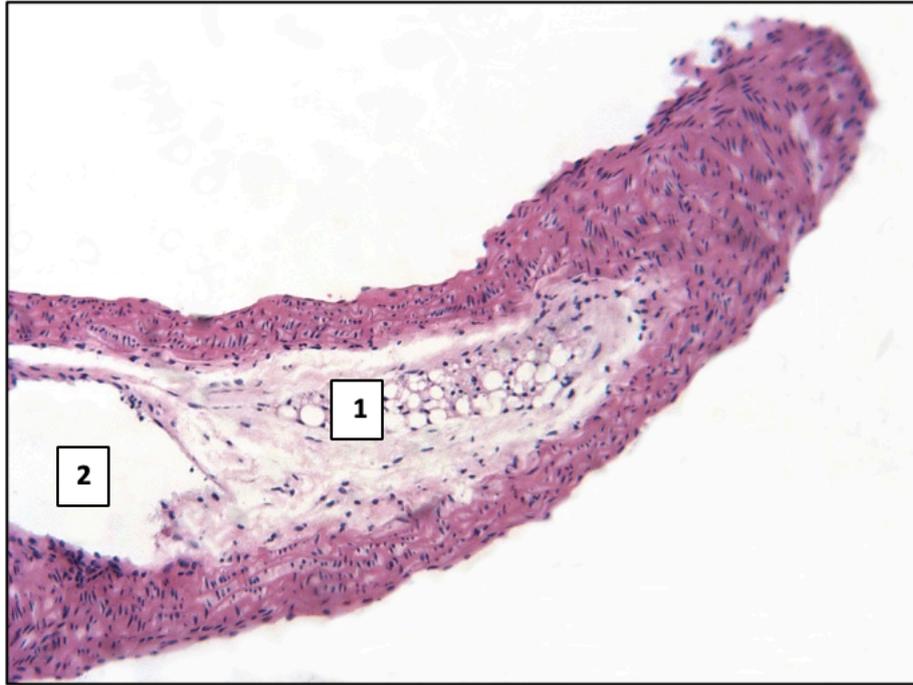


Рисунок 18 - Скопление липидов в виде очаговой инфильтрации с началом формирования атеросклеротической бляшки (1), выбухающей в просвет (2) аорты.

Основная группа. Окраска гематоксилином и эозином. x 200

Липиды выявлялись в отдельных гладкомышечных клетках и макрофагах, которые носят название «пенистых» или «ксантомных» клеток (рисунок 19). Липиды выявлялись окраской Суданом III (рисунок 20), площадь, занимаемая ими в интиме и средней оболочке аорты составила  $0,82 \pm 0,09\%$ . Подобная морфологическая картина соответствует второй микроскопической стадии атеросклероза, определяемой как липоидоз.

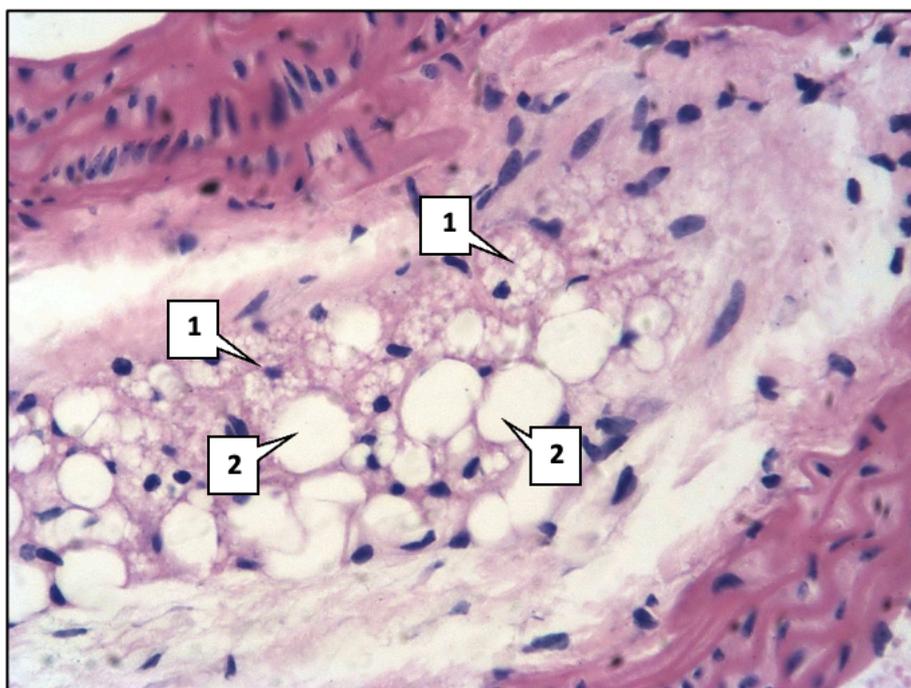


Рисунок 19 - Деталь рисунка 18. Ксантомные клетки (1), липиды (2). x 400

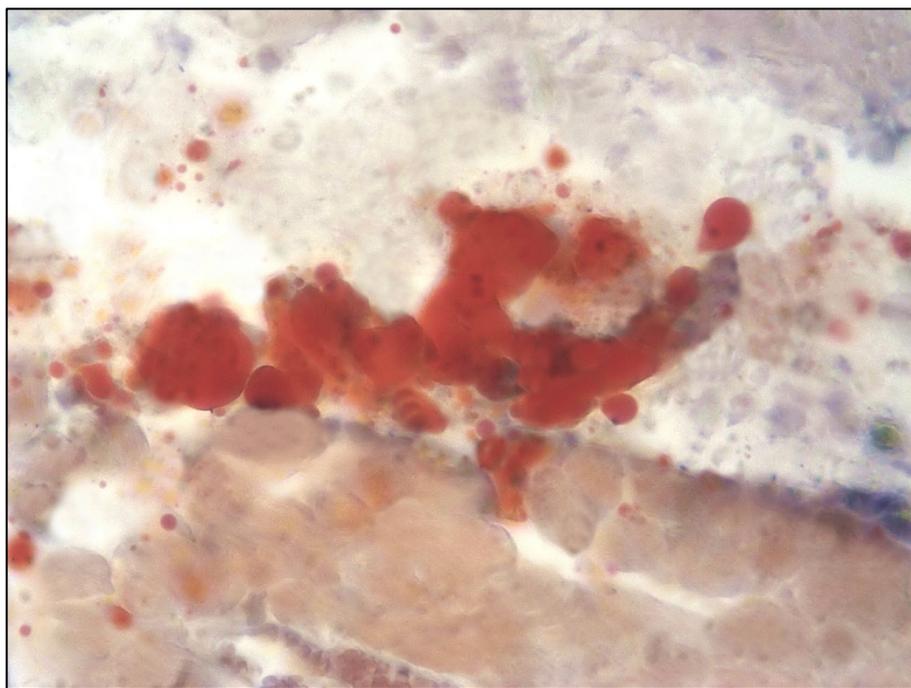


Рисунок 20 - Липиды в интима аорты. Основная группа. Окраска Суданом III. x 400

Иммуногистохимический анализ показал значительное увеличение экспрессии МКАТ против SERT, 5-HT<sub>2A</sub> и 5-HT<sub>2B</sub> в аорте по сравнению с контрольной группой (таблица 26), (рисунки 21, 22).

Таблица 26 - Содержание ИГХ-положительных клеточных элементов в интиме и средней оболочке аорты (в % от общего числа клеток, M±SD)

ИГХ-положительные клеточные элементы	Контрольная группа	Основная группа	p
SERT+ клетки	16,2±1,18	25,3±1,97	<0,05
5-HT2A+ клетки	18,9±1,22	24,9±1,80	<0,05
5-HT2B+ клетки	21,5±1,46	32,4±2,05	<0,05

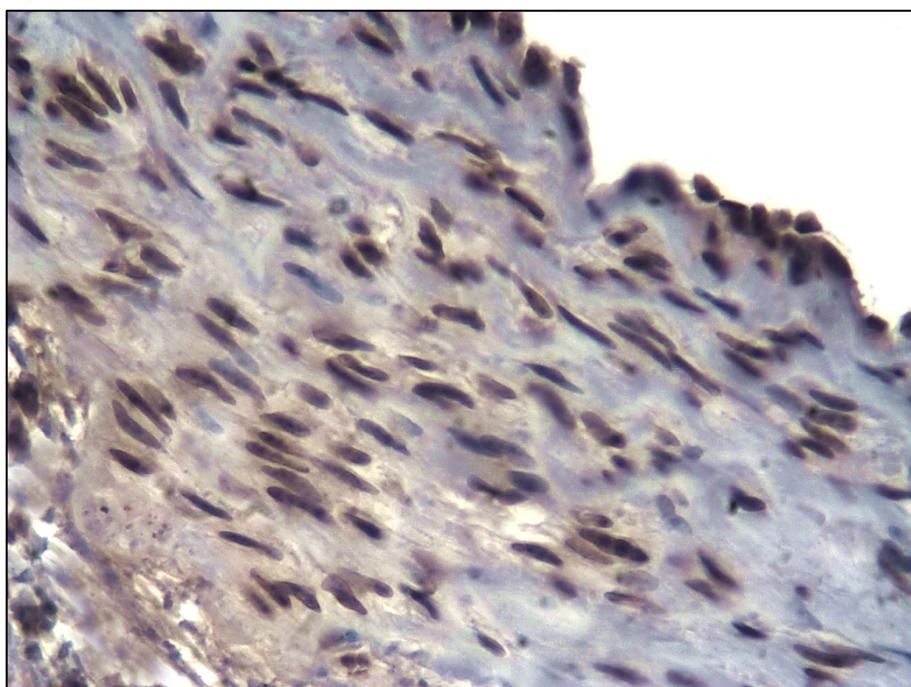


Рисунок 21 - Экспрессия МКАТ против 5-HT2A в аорте. Основная группа. LSAB-метод с докраской гематоксилином. x 400

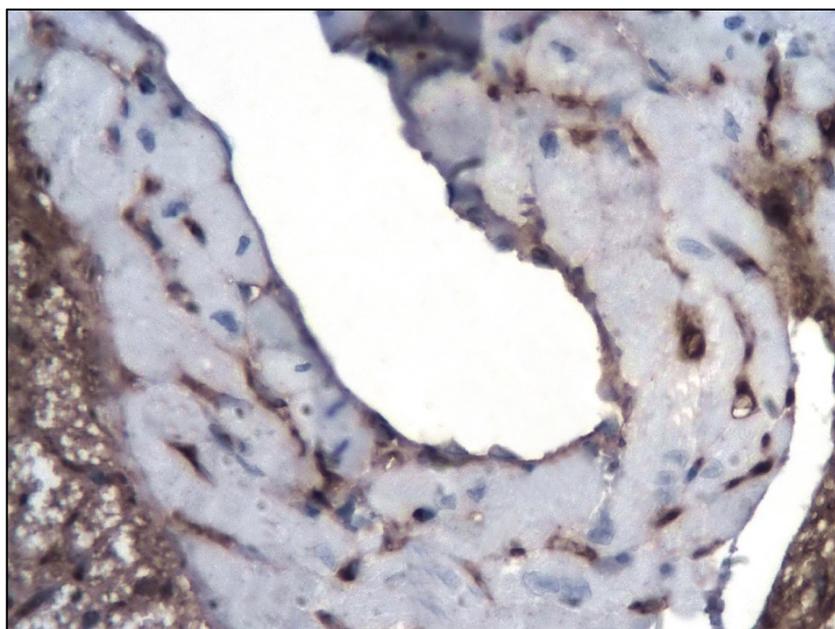


Рисунок 22 - Экспрессия МКАТ против 5-НТ2В в аорте. Основная группа. LSAB-метод с докраской гематоксилином. х 400.

При этом наиболее выраженная реакция МКАТ, особенно против SERT, наблюдалась в зоне отложения эозинофильных гиалиноподобных масс и липидов (рисунки 23, 24).

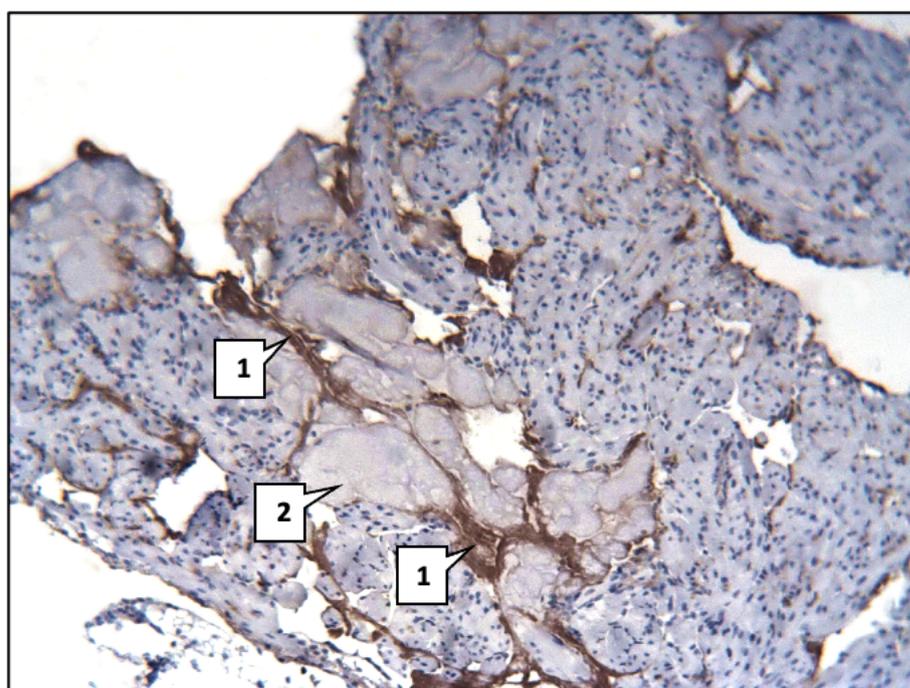


Рисунок 23 - То же наблюдение, что на рисунке 16. Выраженная реакция МКАТ против SERT (1) в зоне отложения гиалиноподобных масс (2). Основная группа. LSAB-метод с докраской гематоксилином. х 200

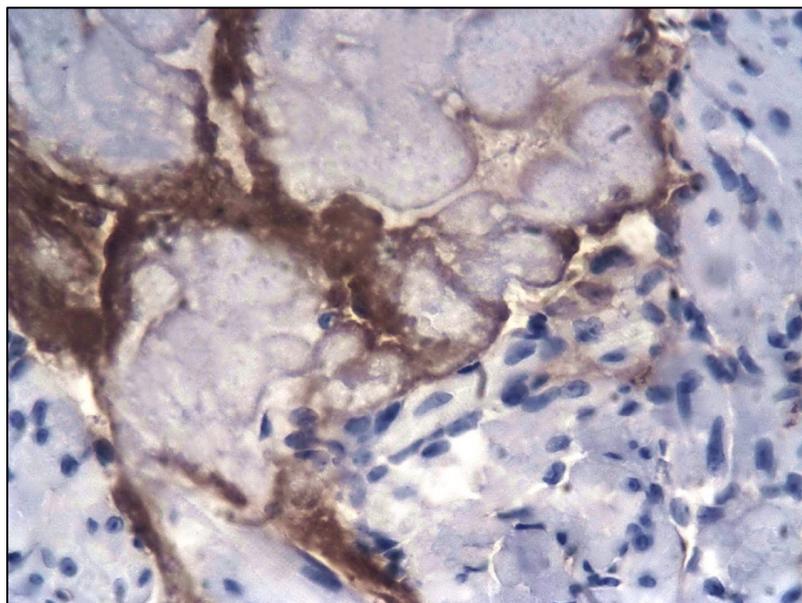


Рисунок 24 - Деталь рисунка 23. x 400

В левом желудочке сердца, параллельно с аортой, происходили определенные изменения. Так, в эндокарде и миокарде увеличивалась площадь липидов до  $1,7 \pm 0,011\%$  (рисунок 25, таблица 27), а также возрастала экспрессия МКАТ против SERT, 5-НТ2А и 5-НТ2В в сравнении с животными контрольной группы (таблица 28, рисунки 26, 27).



Рисунок 25 - Липиды (1) в строме миокарда. Основная группа. Окраска Суданом III. x 400

Таблица 27 - Площадь липидов в интиме и средней оболочке аорты, а также в эндокарде и миокарде левого желудочка сердца (в % от общей площади среза, M±SD)

Орган	Контрольная группа	Основная группа	p
аорта	-	0,82±0,09	
сердце	0,09±0,02	1,7±0,011	<0,05

Таблица 28 - Содержание ИГХ-позитивных клеточных элементов в эндокарде и миокарде левого желудочка сердца (в % от общего числа клеток, M±SD)

ИГХ-позитивные клеточные элементы	Контрольная группа	Основная группа	p
SERT+ клетки	27,4±2,13	36,3±2,25	<0,05
5-HT2A+ клетки	39,9±2,78	48,3±2,99	<0,05
5-HT2B+ клетки	19,5±1,74	28,6±2,05	<0,05

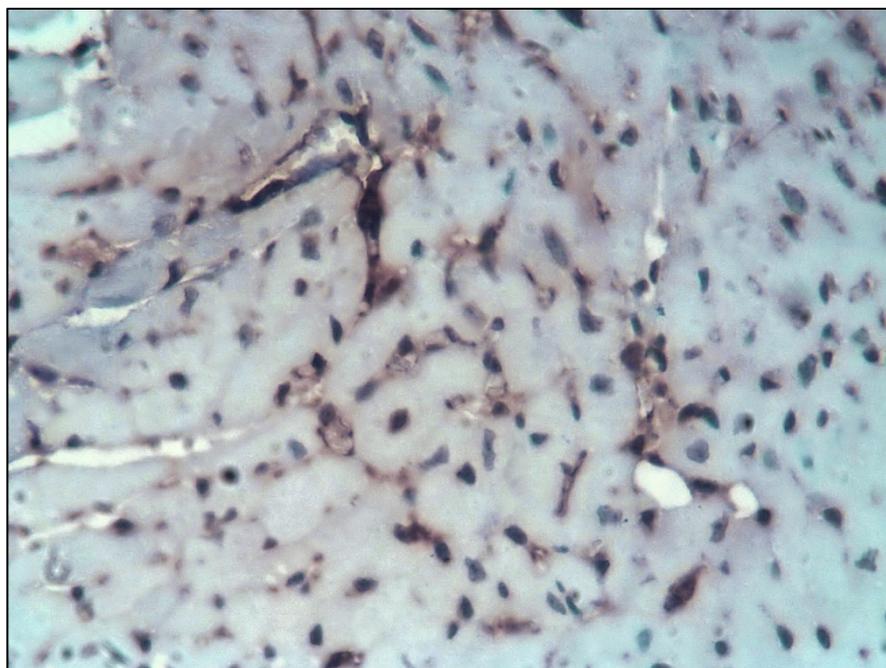


Рисунок 26 - Экспрессия МКАТ против 5-НТ2А в миокарде. Основная группа.

LSAB-метод с докраской гематоксилином. x 400

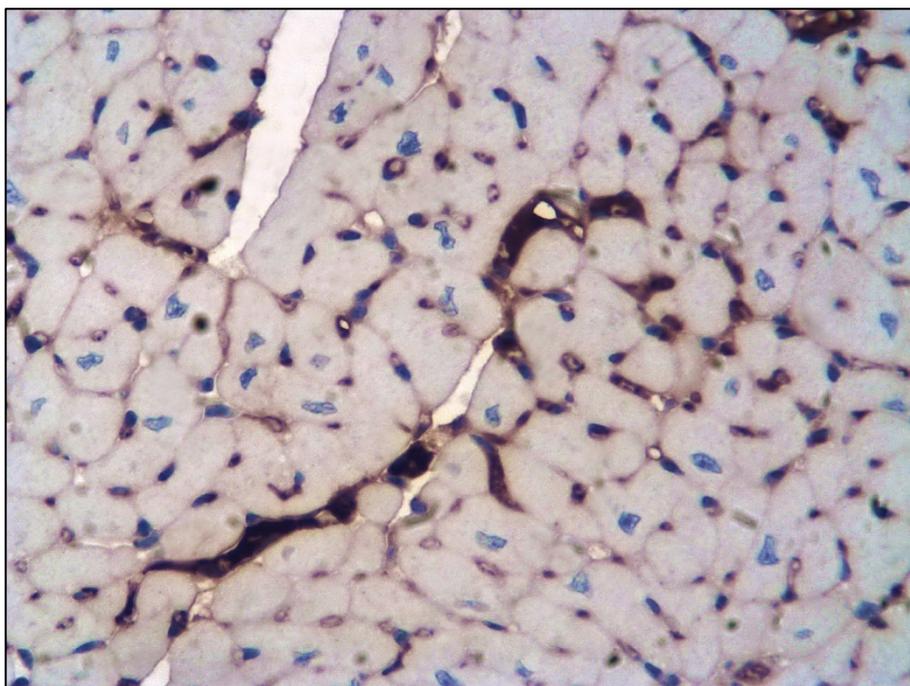


Рисунок 27 - Экспрессия МКАТ против 5-НТ2В в миокарде. Основная группа.

LSAB-метод с докраской гематоксилином. х 400

Как показало исследование, у генно-модифицированных мышей выявлялись морфологические признаки атеросклероза, что подтверждалось как гистологическими методами исследования, так и ИГХ- анализом с увеличением экспрессии МКАТ против SERT, 5-НТ2А и 5-НТ2В. Морфологические изменения в аорте коррелировали с изменениями в левом желудочке сердца, где также увеличивалось содержание липидов и количество клеток, экспрессирующих данные МКАТ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На протяжении последних десятилетий ССЗ остаются основными причинами смертности и инвалидизации населения земного шара. По данным всемирного исследования Global Burden of Disease (Исследование глобального бремени болезней) в 2021 году только от ИБС умерли около 9,5 миллионов человек, а индекс DALY (годы жизни с поправкой на инвалидность) был равен 185 миллионам потерянных лет жизни [25, 29, 191, 218].

На сегодняшний день доказано, что дислипидемии вносят «основной вклад» в развитие и прогрессирование болезней системы кровообращения [28, 29, 37, 86, 88, 191]. Чем выше уровень ХС ЛПНП в плазме крови, тем быстрее прогрессирует атеросклероз и увеличивается риск развития ССЗ атеросклеротического генеза [29, 82].

СГХС – моногенное заболевание с преимущественно аутосомно-доминантным типом наследования, характеризующееся высоким уровнем атерогенных липидов в плазме крови, что в последствии приводит к раннему атеросклеротическому поражению магистральных сосудов и развитию сердечно-сосудистых заболеваний в молодом возрасте [13, 28, 29, 152, 188, 191]. У пациентов с СГХС риск развития ИБС увеличивается более чем в 10 раз, что позволяет отнести их к группам высокого или очень высокого сердечно-сосудистого риска [14, 29, 100, 191].

Каждый год во всем мире рождается примерно 450 000 детей с СГХС, и они составляют четверть всех пациентов с наследственной дислипидемией. Только у 2,1% взрослых диагноз был поставлен в детстве или подростковом возрасте. Несмотря на значительные успехи в диагностике наследственной дислипидемии, доказано, что на сегодняшний день выявлено лишь менее 10% людей любого возраста с СГХС [72, 107].

Гетерозиготная форма семейной гиперхолестеринемии в течение первых десятилетий жизни, как правило, протекает бессимптомно и, соответственно, клинические проявления заболевания отсутствуют. Однако результаты двух

крупных исследований, проведенных в США (многоцентрового PDAY (Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth) и проспективного когортного Bogalusa Heart Study) продемонстрировали, что атеросклеротический процесс начинается уже в детском возрасте. При этом было установлено, что степень покрытия поверхности интимы атеросклеротическими поражениями была связана с повышенными концентрациями ОХ, ХС ЛПНП и ТГ, а также с более низкой концентрацией ХС ЛПВП [28, 44, 96, 152].

В ряде исследований было показано, что гиперхолестеринемия может вызывать потерю эластичности и повышенную жесткость артериальных сосудов, приводящую к увеличению скорости пульсовой волны [152, 184, 219]. Ремоделирование сосудов связано со структурными изменениями в артериях, характеризующихся утолщением комплекса интима-медиа, который также является доклиническим маркером раннего поражения сосудов [68, 152]. Изменения эластических свойств артерий могут указывать на функциональное нарушение задолго до появления клинически выраженных симптомов [42, 152]. Исследование артериальной жесткости, измерение ТКИМ достаточно широко распространено среди взрослых пациентов [30, 41, 152], в педиатрии этот метод диагностики применяется намного реже.

В мировой литературе обсуждается роль серотонинергической системы, как важного звена в патогенезе развития ССЗ атеросклеротического генеза. Повышенные концентрации серотонина были описаны при артериальной гипертензии, атеросклерозе, ишемической болезни сердца у взрослых пациентов [98, 111, 128, 152, 191, 200, 229, 239]. Моноамин оказывает воздействие на стенку сосуда, способствует митогенезу, образованию пенистых клеток макрофагов, стимулируя формирование атеросклеротических бляшек [29, 152, 191, 245]. Серотонин также влияет на активацию и агрегацию тромбоцитов, усиливая различные пути первичного гемостаза, что в последующем приводит к образованию тромбов и развитию ишемии [152, 200]. Активируя 5-НТ4 и 5-НТ2 рецепторы, моноамин участвует в регуляции сократительной функции сердца [3, 4, 54].

Серотонин имеет широкий спектр возможных воздействий на сердечно-сосудистую систему, однако доступные к настоящему времени литературные данные не дают полного объяснения механизмов его влияния на развитие сердечно-сосудистой патологии, в том числе, на ремоделирование сосудов у детей с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией. Результаты подобного рода исследований не встречаются в научной литературе.

Все вышеперечисленные положения явились основанием для инициации данного исследования, цель которого является определить клинко-диагностическое значение концентрации серотонина, его метаболита и мембранного переносчика в крови как маркера ремоделирования сосудов при гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии, а также экспериментально обосновать новые неизученные механизмы развития атеросклероза.

На базе республиканского центра липидологии для детей ГАУЗ «Детская республиканская клиническая больница» Министерства здравоохранения Республики Татарстан было проведено кросс-секционное исследование с участием двух педиатрических групп. Забор материала производился в период с 2022 г. по 2024 гг. В исследовании приняли участие 116 детей в возрасте от 5 до 17 лет. Из них в основную группу вошли 58 пациентов с установленным, в соответствии с диагностическими критериями Simon Broome Registry, диагнозом «Гетерозиготная форма семейной гиперхолестеринемии» [12] с мутацией в гене *LDLR*, в группу контроля – 58 условно-здоровых детей. Средний возраст участников исследования в обеих группах составил 10 (МКР 7-14) лет. Количество мальчиков и девочек внутри двух групп было равным, доля мальчиков составила 50% (29/58), девочек – 50% (29/58). Группы не имели статически значимых различий по возрасту, полу. Схожесть групп была достигнута особенностями отбора пациентов, который был аналогичен методологии отбора участников в исследование случай-контроль.

Результаты настоящего исследования продемонстрировали, что у родственников первой и второй линии родства детей с гетерозиготной формой СГХС определялся отягощенный семейный анамнез по сердечно-сосудистым заболеваниям в сравнении с их здоровыми сверстниками. В 90% семей (52/58) были

зарегистрированы ранние сердечно-сосудистые события в виде ОКС (73%), ОНМК (17%), атеросклероза брахиоцефальных артерий с последующим проведением каротидной эндартерэктомии (10%). Средний возраст родственников на момент первого сердечно-сосудистого события составил 46 лет (МКР 38-54). У 31% (18/58) детей в семейном анамнезе были зарегистрированы случаи преждевременной смертности от сердечно-сосудистых заболеваний с медианой возраста смертельного исхода 44,5 лет (МКР 36-50). При анализе семейного анамнеза здоровых детей аналогичных событий отмечено не было.

Всем детям был проведён объективный осмотр и оценка ИМТ с учетом их пола и возраста с использованием критериев z-score. Ни у одного ребенка с СГХС не было выявлено характерных клинических признаков гиперлипидемии (ксантомы сухожилий, корнеальная дуга роговицы, утолщение ахиллова сухожилия). Как в основной, так и в контрольных группах более половины детей имели нормальные значения ИМТ. В основной группе нормальные значения ИМТ были у 79,3% (46/58) детей, 15,5% (9/58) пациентов с семейной гиперхолестеринемией имели недостаточное питание легкой степени, а у 5,2% (4/58) была выявлена избыточная масса тела. В группе контроля ИМТ в диапазоне нормальных значений был зарегистрирован у 75,8% (44/58) детей, 15,5% (9/58) детей были отнесены к группе недостаточного питания, а 8,7% (5/58) имели избыточную массу тела. Статистически значимых различий между группами по росту, весу, z-score установлено не было. Физическое развитие детей с СГХС не отличалось от их здоровых сверстников и находилось в пределах общепопуляционных норм.

В январе 2024 года в журнале Lancet было опубликовано самое крупное на сегодняшний день кросс-секционное исследование, посвященное детям с СГХС. Исследование проводилось с использованием регистра FHSC (Глобальный регистр семейной гиперхолестеринемии), где были собраны данные пациентов из 48 стран [107]. Средний возраст детей составлял 9,6 (МКР 5,8–13,2) лет. В процентном соотношении доля мальчиков и девочек была 49,8% и 50,2% соответственно, что согласуется результатами представленного исследования. Так же, как и в

настоящей работе у большинства детей и подростков в регистре FHSC клинические признаки гиперлипидемии отсутствовали.

Результаты общеклинического анализа крови, биохимического анализа крови и стандартной коагулограммы не выявили статистически значимых различий между группами. Анализ липидного профиля показал, что у детей с СГХС определяются характерные для данного заболевания лабораторные особенности. Выявлено, что у пациентов с гетерозиготной СГХС концентрация общего холестерина (М 6,7 [ДИ 3,9-9,6] ммоль/л против М 3,9 [ДИ 2,5-5,3] ммоль/л) и ХС ЛПНП (М 4,8 [ДИ 2,1-7,5] ммоль/л против М 2,2 [ДИ 1,2-3,1] ммоль/л) выше в 1,7 и 2 раза соответственно относительно детей группы контроля ( $p < 0,001$ ). Также установлено статистически значимое снижение уровня ХС ЛПВП у детей основной группы в сравнении со здоровыми сверстниками (М 1,5 [ДИ 0,9-2] ммоль/л против М 1,6 [ДИ 1,1-2,2] ммоль/л) ( $p = 0,004$ ). При анализе результатов липидограммы было выявлено статистически значимое увеличение уровня ТГ ( $p = 0,003$ ) у детей с наследственной дислипидемией, однако эти показатели укладывались в пределы референсных значений (М 1 [ДИ 0,5-1,5] ммоль/л против М 0,8 [ДИ 0,2-1,5] ммоль/л).

Анализ клинико-лабораторных характеристик детей обследуемых групп показал, что пациенты с гетерозиготной формой СГХС не имеют характерных клинических признаков гиперлипидемии и не отличаются от своих здоровых сверстников по параметрам физического развития, показателям общеклинического и биохимического анализа крови, коагулограммы. Однако, несмотря на бессимптомное течение заболевания, дети уже с раннего возраста подвергаются длительному воздействию высоких концентраций атерогенных липопротеидов на стенку артериальных сосудов, что приводит к раннему изменению сосудистой стенки и нарушению функция эндотелия. В связи с этим детям с гетерозиготной СГХС было проведено расширенное инструментальное обследование сердечно-сосудистой системы для оценки и контроля атеросклеротических изменений сосудов.

Для исследования структурно-функциональных изменений сердца всем детям было проведено эхокардиографическое исследование. Нарушений функций миокарда левого желудочка у пациентов с СГХС выявлено не было. ММЛЖ и ИММЛЖ к площади поверхности тела ( $\text{г/м}^2$ ) и к росту в степени 2,7 не отличались между двумя сравниваемыми группами. При индивидуальном анализе значений ИММЛЖ<sup>2,7</sup> было выявлено, что у 10,3% (6/58) пациентов с гетерозиготной СГХС исследуемый показатель превышал 95 перцентиль, что относит этих детей в группу риска по формированию гипертрофии миокарда левого желудочка и обосновывает необходимость дальнейшего динамического наблюдения с проведением эхокардиографии. Полученные данные согласуются с результатами исследования G. Di Salvo с соавт. (2012), где было установлено, что у детей с гетерозиготной СГХС фракция выброса левого желудочка не отличается от значений, зарегистрированных у детей в группе контроля, при более высоких показателях ИММЛЖ<sup>2,7</sup> [91].

Всем участникам исследования было проведено суточное мониторирование артериального давления. У 7% (4/58) детей с СГХС была выявлена лабильная артериальная гипертензия. Пациентов со стабильной артериальной гипертензией в основной группе обнаружено не было. Повышение артериального давления среди здоровых детей не наблюдалось. При сравнении показателей САД и ДАД за сутки и в дневное время статистически значимых различий между основной и контрольной группами выявлено не было. Анализ показателей СМАД у пациентов с СГХС показал статистически значимое увеличение значений САД (Me 99 [МКР 91-103] мм рт. ст.) и ДАД (Me 58,5 [МКР 53-63] мм рт. ст.) в ночное время относительно здоровых детей (Me 93 [МКР 87-103] мм рт. ст. и Me 55 [МКР 52-59] мм рт. ст. соответственно) ( $p < 0,05$ ). Остальные параметры СМАД (ПАД, индекс времени гипертензии по САД и ДАД, ЧСС) не отличались между двумя группами.

При анализе циркадной организации суточного профиля АД было выявлено, что у здоровых детей нормальный циркадный ритм по САД (dippers) регистрировался у 89,6% (52/58) детей, недостаточное ночное снижение САД (non-dippers) у 8,6% (5/58), избыточное снижение САД (over-dippers) у 1,8% (1/58). В

группе пациентов с СГХС *dippers*, *non-dippers*, *over-dippers* по САД зафиксировано у 84,6% (49/58), 12% (7/58), 3,4% (2/58) случаев соответственно. Анализ циркадного профиля ДАД показал, что нормальный циркадный ритм по ДАД определялся у 89,5% (52/58) детей из группы контроля, *non-dippers* по ДАД у 10,5% (6/58). У пациентов с СГХС в 79% (46/58) случаев регистрировался *dippers* по ДАД, а у 21% (12/58) - *non-dippers* по ДАД. Избыточного снижения ДАД (*night-peakers*) не было выявлено ни у одного ребенка из двух групп.

Атеросклероз – многоступенчатый процесс, который начинается еще внутриутробно и прогрессирует на протяжении всей жизни [73, 82, 191]. Начальные функциональные и морфологические изменения в сосудах развиваются еще задолго до появления первых клинических симптомов [40]. Гиперхолестеринемия приводит к потере эластичности и повышенной жесткости артериальных сосудов. Повышенная жесткость артериальной стенки является результатом сложных структурных изменений в средней оболочке магистральных артерий. Данный показатель является независимым предиктором смертности от сердечно-сосудистых заболеваний [219, 228, 235].

Для определения степени субклинического атеросклеротического поражения артериальных сосудов участникам исследования была проведена оценка параметров артериальной ригидности. Результаты настоящего исследования показали, что основные показатели, характеризующие артериальную жесткость (скорость пульсовой волны в аорте, время распространения отраженной волны, индекс аугментации, максимальная скорость нарастания давления амбулаторный индекс ригидности артерий, время) у пациентов с СГХС значительно отличались от таковых у здоровых детей. Было выявлено увеличение минимальной СПВ до 4,1 [МКР 3,5-5,6] м/с, средней СПВ до 6,9 [МКР 5,5-8] м/с и максимальной СПВ до 8,5 [МКР 7,3-10,6] м/с у детей основной группы относительно группы контроля (3,3 [МКР 2,8-4,1] м/с, 4,4 [МКР 3,7-5,1] м/с и 6,6 [МКР 5,8-7,4] м/с соответственно) ( $p < 0,001$ ).

Детям с СГХС был проведен индивидуальный анализ значений средней СПВ с учетом референсных значений в зависимости от возраста и пола [187]. У 50%

(29/58) пациентов с СГХС показатели средней СПВ превышали 97 перцентиль. По литературным данным значения средней СПВ выше 97 перцентиля считаются патологическими [102].

При сравнении результатов других показателей, характеризующих артериальную жесткость, было выявлено статистически значимое повышение среднего  $AIx$  у детей с СГХС (-39,5 [МКР -47 - -35] %) относительно группы контроля (-51 [МКР -58 - -45] %) ( $p < 0,001$ ). В норме индекс аугментации – отрицательный и при увеличении жесткости артерий его величина становится более положительной [22].

У детей с СГХС также определялось статистически значимое увеличение среднего RWTТ в 1,1 раз, максимального RWTТ в 1,13 раз и AASI в 1,25 раз соответственно относительно группы контроля ( $p < 0,001$ ). В группе детей с СГХС выявлено статистически значимое увеличение среднего  $(dp/dt)_{max}$  и максимального  $(dp/dt)_{max}$  по сравнению с аналогичными показателями у здоровых детей ( $p < 0,001$ ).

Полученные данные согласуются с результатами других исследований [168, 181, 220]. Кросс-секционное исследование под руководством А. Tran с соавт (2019), в котором приняли участие 33 ребенка показало, что значения СПВ у пациентов с СГХС были значительно выше по сравнению с группой здоровых детей того же возраста [168]. В исследовании S. Riggio с соавт. (2010) также было выявлено, что, по сравнению с контрольной группой, пациенты с СГХС имеют более высокие значения СПВ и  $AIx$  [181].

С целью изучения взаимосвязи показателей артериальной жесткости (скорости пульсовой волны) и липидограммы у детей с гетерозиготной СГХС был проведен корреляционный анализ. Выявлены положительные прямые связи между средней скоростью пульсовой волны и уровнем общего холестерина ( $\rho = 0,5$ ,  $p < 0,001$ ), ХС ЛПНП ( $\rho = 0,5$ ,  $p < 0,001$ ) и отрицательная связь с ХС ЛПВП ( $\rho = -0,3$ ,  $p = 0,006$ ).

Измерение ТКИМ общей сонной артерии - «золотой стандарт» ранней диагностики атеросклероза у пациентов с семейной гиперхолестеринемией, так как

данный показатель является объективным критерием степени ремоделирования сосудистой стенки [66]. Было выявлено, что у детей СГХС толщина комплекса интима-медиа общей сонной артерии увеличена как справа (Ме 0,45 [МКР 0,42-0,48] мм), так и слева (Ме 0,45 [МКР 0,42-0,49] мм) по сравнению с группой здоровых детей (Ме 0,4 [МКР 0,37-0,4] мм и Ме 0,4 [МКР 0,37-0,41] мм соответственно) ( $p < 0,001$ ).

Результаты настоящей работы согласуются с данными, полученными и в других исследованиях. Метаанализ, включавший более 900 статей, показал, что у детей с СГХС ТКИМ значительно увеличена относительно здоровых сверстников [60]. D. Kusters и соавт. (2014) установили, что у пациентов с СГХС уже в возрасте 8 лет наблюдается значимое утолщение ТКИМ по сравнению с их здоровыми братьями и сестрами [59].

Согласно последним научным исследованиям [154, 177], ТКИМ >95 перцентиля по возрасту и полу является патологическим и указывает на повышенный риск ССЗ. Результаты инструментального исследования у детей с СГХС были индивидуально проанализированы с учетом референсных значений в педиатрической популяции [58]. У большинства детей основной группы показатели ТКИМ превышали 95 перцентиль: увеличение ТКИМ слева было выявлено в 58,6% (34/58) случаев, справа в 53,5% (31/58), с обеих сторон в 53,5% (31/58) случаев.

Как и в случае с артериальной жесткостью, были выявлены взаимосвязи между ТКИМ и показателями липидограммы: общим холестерином ( $\rho = 0,7$ ,  $p < 0,001$ ), ХС ЛПНП ( $\rho = 0,7$ ,  $p < 0,001$ ) и ХС ЛПВП ( $\rho = -0,3$ ,  $p = 0,003$ ).

Результаты инструментальных исследований подтверждают, что у детей гетерозиготная форма СГХС сопровождается развитием сосудистого ремоделирования, характеризующегося утолщением ТКИМ общей сонной артерии и увеличением артериальной ригидности сосудов.

Ремоделирование сосудов – сложный адаптивный процесс, развивающийся в ответ на различные физиологические и патофизиологические изменения в сосудах [105, 235]. Исследования последних лет показывают, что серотонинергическая

система может участвовать в патогенезе развития и прогрессирования атеросклеротических заболеваний [29, 152, 191, 200, 245].

В настоящем исследовании выявлено, что семейная гиперхолестеринемия сопровождается повышением концентрации серотонина в плазме крови в 1,5 раза (Ме 96,7 [МКР 24,2-175,2] пмоль/мл) относительно контрольной группы (Ме 66,2 [МКР 42,4-79,2] пмоль/мл) ( $p < 0,001$ ). Было установлено, что у 83% (48) пациентов с СГХС уровень показателя превышал таковые в группе контроля. Дети с семейной гиперхолестеринемией имели более высокие уровни 5-НТ в тромбоцитах по сравнению со здоровыми детьми, как в общем количестве (соотношение: 1,4:1), так и в пересчете на один тромбоцит (соотношение: 1,5:1) ( $p < 0,001$ ). Возможной причиной увеличения концентрации серотонина в тромбоцитах у пациентов с семейной гиперхолестеринемией может быть его повышенный синтез в микросеротонинергических системах организма [152, 201]. Доказано, что в периферических артериях существует локальная 5-гидрокситриптаминергическая система, способная синтезировать серотонин [29, 152, 191, 217]. Повышенные концентрации серотонина в плазме крови и в тромбоцитах у детей с СГХС могут быть также обусловлены изменением активности фермента МАО (нарушение расщепления серотонина) или ТРН1 (увеличение синтеза серотонина).

5-НТ метаболизируется в печени, легких и, в конечном итоге, выводится из организма в виде 5-гидроксииндолуксусной кислоты [29, 137, 152, 191]. Настоящее исследование показало, что уровни 5-ГИУК в плазме крови у пациентов с СГХС были выше (М 27,2 [ДИ 14,2-40,1] пмоль/мл), чем у здоровых детей (М 20,9 [ДИ 8,4-33,5] пмоль/мл) ( $p < 0,001$ ). В литературе отсутствуют исследования, посвященные изучению 5-ГИУК у детей с семейной гиперхолестеринемией.

Мембранный переносчик серотонина - белок, который является основным механизмом регулирования концентрации серотонина в плазме крови [153, 171]. При увеличении концентрации 5-НТ в плазме крови повышаются уровни SERT плазматической мембраны тромбоцитов и, тем самым, увеличивается поглощение серотонина [29, 153, 191]. Было выявлено, что уровни SERT у детей с семейной

гиперхолестеринемией были в 1,3 раза выше относительно группы контроля ( $p < 0,001$ ).

Гиперхолестеринемия способствует гиперреактивности тромбоцитов посредством прямого взаимодействия окисленных ЛПНП с мембраной тромбоцитов [29, 152, 173, 191]. При активации тромбоцитов ряд внутриклеточных сигнальных механизмов приводит к экзоцитозу плотных гранул. Они высвобождают широкий спектр молекул, таких как АДФ, АТФ,  $Ca^{2+}$  и 5-НТ. Поскольку сами тромбоциты экспрессируют соответствующие рецепторы для этих высвобождаемых веществ, включая рецепторы 5-НТ<sub>2A</sub>, секреция плотных гранул приводит к петле обратной связи, усиливающей агрегацию и активацию тромбоцитов в месте повреждения сосудов [29, 152, 200]. Проведенный в настоящем исследовании корреляционный анализ выявил связи между концентрацией серотонина, 5-ГИУК в плазме крови и основными показателями липидного профиля: положительные с общим холестерином, ХС ЛПНП и отрицательную - с уровнем ХС ЛПВП ( $p < 0,001$ ).

Серотонин, являясь митогеном ГМК, способствует их росту в стенках артерий, что в последующем приводит к ремоделированию сосудов [98, 125, 152, 241]. Опосредованное гладкомышечными клетками ремоделирование компонентов структурного внеклеточного матрикса, таких как коллаген и эластин, увеличивает жесткость артерий [152, 224]. Серотонин через 5-НТ<sub>2A</sub> и 5-НТ<sub>2B</sub> рецепторы запускает активацию фибробластов, что также приводит к разрастанию соединительной ткани и увеличению жесткости сосудов [152, 173, 191]. В ходе настоящего исследования выявлены положительные корреляции между показателями серотонинергической системы и маркерами артериальной ригидности (СПВ<sub>мин</sub>, СПВ<sub>ср</sub>, СПВ<sub>макс</sub>, ААSI, АIхср), ТКИМ.

В ходе работы было определено, что у 50% детей с СГХС, у которых показатели средней СПВ превышали 97 перцентиль, концентрация серотонина в плазме крови была увеличена в 1,3 раза, метаболита серотонина в 1,1 раз, мембранного переносчика серотонина в 1,25 раз относительно пациентов основной группы, но с нормальными значениями средней СПВ ( $p < 0,05$ ).

Был проведен сравнительный анализ показателей серотонинергической системы у детей с СГХС, у которых ТКИМ соответствовала нормальным значениям (27 (46,5%) пациентов) и пациентов с ТКИМ >95 перцентиля (31 (53,5%) ребенок). Выявлено, что в группе детей с СГХС с патологическим ТКИМ концентрация серотонина в плазме крови была выше в 1,2 раза, 5-ГИУК в плазме крови 1,1 раз, SERT в тромбоцитах в 1,2 раза относительно детей с нормальными значениями ТКИМ ( $p < 0,05$ ).

Исследований, посвященных взаимосвязи серотонина и атеросклероза крайне мало и в большинстве случаев подтверждаются результатами, полученными на взрослой популяции [128, 152, 180, 229, 239]. К. Vikenes с соавт. (1999) установили, что высокие уровни серотонина в богатой тромбоцитами плазме связаны с ишемической болезнью сердца и прогрессированием сердечно-сосудистых заболеваний [239]. Было обнаружено, что сарпогрелат, являющийся антагонистом рецепторов 5-НТ<sub>2А</sub>, улучшает исход болезни у пациентов с заболеваниями периферической артерий [152, 180]. В другом исследовании была выявлена сильная положительная корреляция между ТКИМ и уровнями 5-НТ у взрослых пациентов с атеросклеротическим поражением сонных артерий [128, 152].

В проведенном исследовании на основе полученных при сравнении групп данных, с использованием метода бинарной логистической регрессии, разработана прогностическая модель для определения вероятности наличия сосудистого ремоделирования у детей с СГХС. Учитывали уровень: общего холестерина ммоль/л (число), ХС ЛПВП ммоль/л (число), ХС ЛПНП ммоль/л (число), ТГ ммоль/л (число), 5-ГИУК пмоль/мл (число), 5-НТ в плазме крови пмоль/мл (число), возраст (число). Чувствительность и специфичность полученной прогностической модели составили 94,8% и 94,8%, соответственно.

Наблюдаемая зависимость описывалась уравнением (5):

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\% \quad (5)$$

$$z = -11,926 + 1,227X_{ОХ} + 2,024X_{ЛПВП} + 2,011X_{ЛПНП} - 3,770X_{ТГ} - 0,011X_{5НТ} + 0,006X_{5-НТ} + 0,016X_{Возраст}$$

где  $P$  – вероятность показателя 2,  $X_{OX}$  – ОХ,  $X_{ЛПВП}$  – ЛПВП,  $X_{ЛПНП}$  – ЛПНП,  $X_{ТГ}$  – ТГ,  $X_{5НИАА}$  – 5НИАА,  $X_{5-НТ}$  – 5-НТ,  $X_{Возраст}$  – Возраст.

Таким образом, результаты исследования демонстрируют активацию серотонинергической системы у детей с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией, которая проявлялась увеличением концентрации серотонина в плазме крови и тромбоцитах, 5-ГИУК в плазме крови, мембранного переносчика серотонина в тромбоцитах. Показатели серотонинергической системы коррелируют с маркерами ремоделирования сосудов и параметрами липидного профиля.

В настоящей работе также было проведено исследование на экспериментальных моделях животных – неполовозрелых гетерозиготных мышах линии C57BL/6JGpt-Ldlr<sup>em1Cd82</sup>/Gpt (Ldlr +/-). Гетерозиготные мыши с дефицитом рецептора липопротеина низкой плотности наиболее точно имитируют человеческие нарушения липидного обмена и атеросклеротические процессы, которые возникают при семейной гиперхолестеринемии [29, 170, 191].

Исследование было проведено на 84 мышах в возрасте от 5 до 7 недель, что соответствовало возрасту участников клинической части работы. Из них в основную группу вошли 48 мышей C57BL/6JGpt-Ldlr<sup>em1Cd82</sup>/Gpt (Ldlr +/-), в группу контроля – 36 мышей линии C57BL/6.

По результатам общеклинического анализа крови было выявлено, что у генно-модифицированных мышей концентрация тромбоцитов в крови ниже в 1,4 раза относительно группы контроля ( $p < 0,001$ ). Также было установлено статистически значимое увеличение гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов у животных основной группы в сравнении со здоровыми мышами ( $p < 0,001$ ), при этом все показатели укладывались в пределы референсных значений [20, 67].

Для мышей с мутацией гена *Ldlr* характерной особенностью является повышение уровня общего холестерина в сыворотке крови в связи с дефицитом рецептора ЛПНП [191, 205]. Рецептор ЛПНП — мембранный рецептор, который опосредует эндоцитоз богатых холестерином ЛПНП и, таким образом, поддерживает нормальный уровень ХС ЛПНП в плазме крови [29, 38, 191]. В

настоящем исследовании уровень общего холестерина у мышей с нарушением метаболизма холестерина был значительно выше, по сравнению с контрольной группой (соотношение 1,6:1) (Ме 2,6 [МКР 2,4-2,9] против Ме 1,6 [МКР 1,5-1,6] ммоль/л) ( $p < 0,001$ ).

Как и у детей с гетерозиготной СГХС у генно-модифицированных мышей было установлено гиперсеротонинергическое состояние. Выявлено, что группе животных с мутацией гена *Ldlr* концентрация серотонина в плазме крови была выше и составила 10,7 [МКР 9,2-11,9] нг/мл по сравнению с мышами контрольной группы - 9,6 [МКР 9,4-9,7] нг/мл ( $p < 0,001$ ). При анализе концентрации серотонина в тромбоцитах отмечалось статистически значимое увеличение его уровня в группе генно-модифицированных мышей относительно здоровых животных (Ме 4,4 [МКР 4,1-5,4] против Ме 3,4 [МКР 3,1-3,5] нг/мл) ( $p < 0,001$ ).

Было выявлено, что концентрация 5-ГИУК в плазме крови и тромбоцитах у мышей основной группы была выше в 1,4 раза относительно животных группы контроля ( $p < 0,001$ ). Эти данные дополнительно подтверждают наличие изменений серотонинергической системы у животных с мутацией гена *Ldlr*. В литературе отсутствуют исследования, посвященные изучению 5-ГИУК у мышей с атеросклеротическими изменениями сосудов.

Как и в случае с 5-НТ в настоящем исследовании, у мышей основной группы наблюдали более высокие уровни SERT, чем в контроле (соотношение: 1,2:1) ( $p < 0,001$ ). В исследованиях последних лет было обнаружено, что аномально высокий уровень серотонина в плазме крови приводит к нарушениям доставки SERT тромбоцитами [29, 110, 152]. Первоначально по мере увеличения концентрации 5-НТ в плазме крови повышаются уровни SERT плазматической мембраны и увеличивается поглощение серотонина. Однако при продолжении роста уровня 5-НТ показатели переносчика серотонина снижаются ниже пороговых значений. Высокий уровень 5-НТ в плазме ограничивает его собственное поглощение тромбоцитами путем подавления SERT и изменения функциональных характеристик переносчика. Однако, даже при самых высоких уровнях 5-НТ в плазме всегда есть небольшое количество активных молекул

переносчика на плазматической мембране тромбоцитов, которые продолжают выводить 5-НТ из плазмы, но с более низкой скоростью [29, 152, 153, 171]. В настоящем исследовании не определялась потеря функции мембранного переносчика серотонина. Предположительно, такие результаты были получены вследствие того, что концентрация серотонина в плазме крови у мышей не достигала аномально высоких значений в связи с «небольшим стажем» заболевания и неполовозрелым возрастом экспериментальных животных.

Был проведен корреляционный анализ, который установил наличие связей между уровнем общего холестерина и концентрацией серотонина в плазме крови, серотонина в тромбоцитах, 5-ГИУК в плазме крови и тромбоцитах, мембранным переносчиком ( $p < 0,001$ ). Аналогичные корреляционные взаимосвязи были выявлены и у детей в клинической части исследования.

Проведенное исследование показало наличие морфологических признаков атеросклероза у генно-модифицированных мышей, что подтверждалось гистологическими методами исследования. На препаратах аорты и левого желудочка, окрашенных Суданом III, определялись липиды в ГМК и макрофагах. Площадь, занимаемая липидами в интимае и средней оболочке аорты мышей *Ldlr* +/- составила  $0,82 \pm 0,09\%$ , в эндокарде и миокарде левого желудочка -  $1,7 \pm 0,011\%$ . У мышей линии C57BL/6 липиды в интимае и средней оболочке аорты не определялись.

Т. Arai с соавт. (1999) в своем исследовании выявили, что у половозрелых гетерозиготных мышей с дефицитом рецепторов липопротеинов низкой плотности определялись атеросклеротические поражения в корне аорты [75, 191]. Аналогичные данные были получены и с участием гетерозиготных хомяков с дефицитом *Ldlr* [124, 191].

В ходе настоящего исследования было выявлено, что у генно-модифицированных мышей с нарушенным метаболизмом холестерина и прогрессирующим атеросклерозом в аорте и левом желудочке определялась повышенная экспрессии МКАТ против SERT, 5-НТ2А и 5-НТ2В рецепторов по сравнению с животными контрольной группы ( $p < 0,05$ ). При анализе результатов

ПЦР также было установлено, что экспрессия мРНК 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub> рецепторов, SERT в аорте генно-модифицированных мышей была выше на 56%, 20%, 30% соответственно относительно здоровых животных ( $p < 0,05$ ). Проведенный корреляционный анализ определил наличие положительной связи между экспрессией мРНК рецептора 5-HT<sub>2A</sub> и уровнем общего холестерина ( $p < 0,001$ ).

Серотонин принимает «активное участие» в развитии и прогрессировании атеросклеротических процессов, благодаря своей классической функции – пролиферация ГМК. В этом механизме участвуют рецепторы серотонина 5-HT<sub>2</sub> [29, 136, 191]. Выброс серотонина из тромбоцитов инициирует миграцию и пролиферацию ГМК в интиму, что приводит к утолщению стенок сосудов. ГМК – преобладающий тип клеток в атеросклеротических бляшках [29, 191, 236]. В очаге поражения ГМК поддерживают стабильность атероматозных бляшек за счет формирования фиброзной капсулы и производства внеклеточного матрикса. Однако на ранней стадии атеросклероза ГМК «играют противоположную роль». Внеклеточный матрикс, продуцируемый на начальных этапах формирования бляшки, может связываться с аполипопротеинами, что усугубляет накопление липидов в субинтимае [29, 46, 191]. В отличие от клеток скелетных мышц, которые окончательно дифференцированы, зрелые ГМК – высокопластичные и способны к фенотипическим изменениям в ответ на изменения сигналов окружающей среды [29, 69, 191]. В физиологических условиях ГМК проявляют ограниченную пролиферативную, миграционную и синтетическую активность. В таком состоянии их основной фенотип - сократительный, необходимый для регуляции вазомоторного тонуса в кровеносных сосудах [29, 191, 236]. Каскад реакций, возникающий при гиперхолестеринемии, приводит к переключению ГМК на синтетический фенотип, что сопровождается потерей сократительных маркеров, переходом к ромбовидной морфологии и заметным увеличением пролиферации, миграции и синтеза белка [29, 76, 119, 191]. Синтетические ГМК секретируют хемокины и цитокины, составляя микросреду воспалительной бляшки, которая далее активирует и способствует фенотипическому переходу ГМК на макрофагоподобные (усиление воспалительных реакций и высвобождение

матриксных металлопротеиназ), миофибробластоподобные (реорганизация внеклеточного матрикса, отложение коллагена) и остеобластохондроцитоподобные (сосудистая кальцификация) [29, 191, 236]. ГМК играют и важную роль в образовании пенистых клеток в артериальной бляшке. S. Allahverdian с соавт. (2014) показали, что около 50%, от общего количества пенистых клеток в интиме коронарных артерий человека являются производными ГМК, а не моноцитов [29, 71, 191]. Еще в исследовании 1986 года было доказано, что ГМК аорты крупного рогатого скота *in vitro* реагировали на серотонин увеличением синтеза ДНК ГМК. Этот эффект ослаблялся при добавлении антагонистов рецептора серотонина [29, 191, 207]. В работе S. Watada с соавт. (2013) было продемонстрировано, что ежедневное применение сарпогрелата (антагонист рецепторов 5-НТ2А и 5-НТ2В) в течение 8 недель уменьшало утолщение интимы аорты у крыс [29, 93, 191]. Применение сарпогрелата у кроликов уменьшало площадь атеросклеротических бляшек и замедляло прогрессирование атеросклероза за счет антипролиферативного действия на клетки гладких мышц [29, 191, 196].

На периферии серотонин участвует в регуляции многих сердечно-сосудистых функций [136, 173]. Одна из них – координация сократительной функции сердца [3, 4, 54]. Было установлено, что у генно-модифицированных мышей исходная величина силы сокращения миокарда левого желудочка была увеличена в 1,7 раз по сравнению с животными группы контроля. По мере увеличения концентрации серотонина определялось дозозависимое снижение силы сокращения миокарда трансгенных мышей на 14,3%, 44,5%, 54,2% от исходных значений ( $p < 0,05$ ). Миокард левого желудочка контрольных мышей, наоборот, реагировал увеличением силы сокращения на 10,5%, 33,7%, 78,2% от исходных значений ( $p < 0,05$ ). Было установлено дозозависимое снижение времени сокращения и длительности расслабления по мере повышения концентрации серотонина у мышей основной и контрольной групп. Повышенные концентрации серотонина в крови способствуют активации в кардиомиоцитах менее чувствительных 5-НТ2 рецепторов, которые могут оказывать положительное

инотропное действие на миокард, что объясняет высокие исходные величины силы сокращения мышцей Ldlr +/- по сравнению с животными группы контроля [3, 87]. Активация 5-HT<sub>2B</sub> рецепторов также приводит к развитию отрицательного инотропного эффекта, что наблюдалось в настоящем исследовании [78, 167]. В отличие от результатов, полученных при эхокардиографическом обследовании детей с СГХС, при исследовании функции миокарда левого желудочка у мышцей Ldlr +/- были выявлены функциональные изменения относительно здоровых животных. Такие различия, предположительно, получены вследствие того, что тензометрия является более чувствительным методом исследования.

Таким образом, результаты, полученные в ходе клинко-экспериментального исследования детей с гетерозиготной СГХС и мышцей Ldlr +/- позволяют объяснить новые неизученные механизмы формирования сосудистого ремоделирования при семейной гиперхолестеринемии. У пациентов с гетерозиготной СГХС и у мышцей Ldlr +/- определялись аналогичные изменения в работе серотонинергической системы - увеличение концентрации серотонина в плазме крови и тромбоцитах, 5-ГИУК в плазме крови, мембранного переносчика в тромбоцитах. При анализе результатов клинической и экспериментальной части исследования была определена положительная корреляция между общим холестерином и изучаемыми показателями. Увеличение экспрессии рецепторов 5-HT<sub>2A</sub> и 5-HT<sub>2B</sub> в аорте генно-модифицированных мышцей, выявленное иммуногистохимическим анализом и методом ПЦР, объясняют изменения в сосудах, которые были установлены у детей с помощью инструментальных методов диагностики. Гиперхолестеринемия приводит к функциональному и структурному повреждению сосудистой стенки, что влечет за собой активацию тромбоцитов и высвобождение из них серотонина. Дополнительно гиперреактивность тромбоцитов возникает вследствие прямого взаимодействия окисленных ЛПНП с мембраной тромбоцитов. Увеличение концентрации серотонина в плазме крови активирует рецепторы 5-HT<sub>2</sub> на ГМК сосудов, фибробластах, усиливая их пролиферацию, что в последующем приводит к увеличению жесткости артерий и гиперплазии интимы. Механизм

ремоделирования сосудов при гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии с участием серотонинергической системы представлен на рисунке 28.

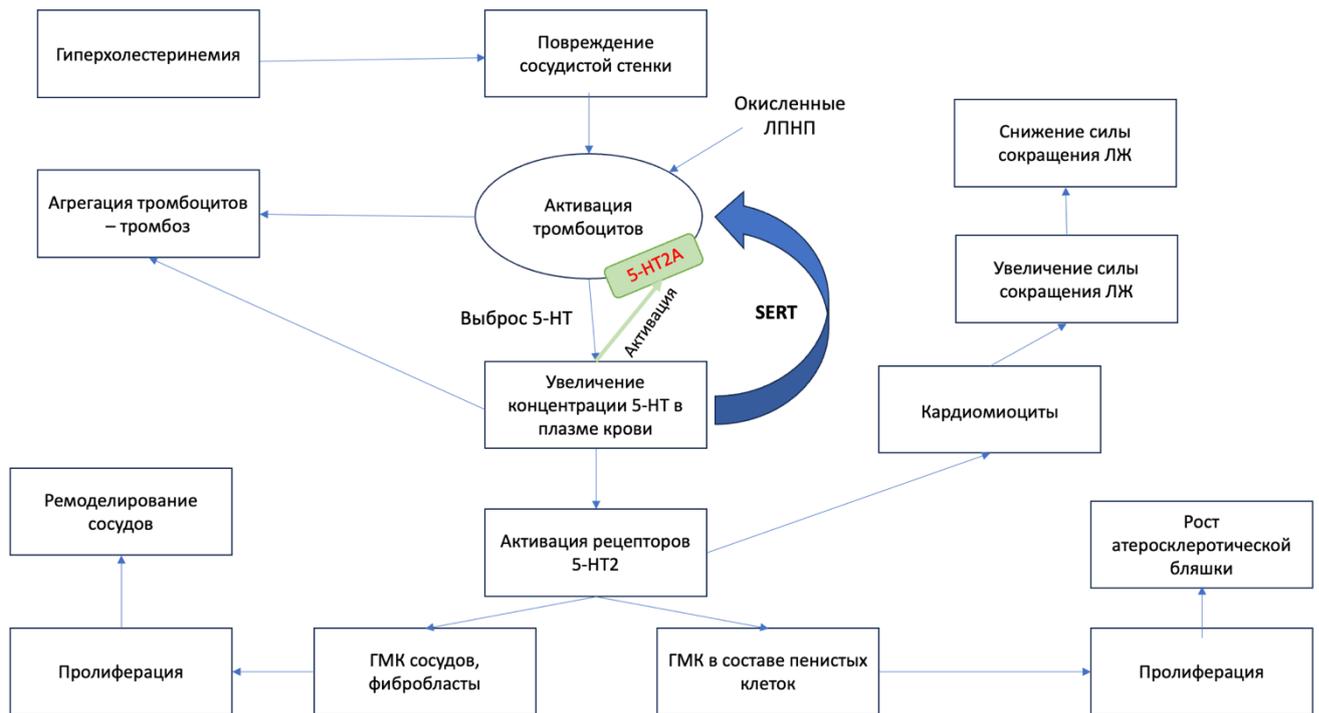


Рисунок 28 – Механизм формирования сосудистого ремоделирования при участии серотонинергической системы

Примечание – ЛЖ – левый желудочек

Результаты настоящего исследования вносят значительный вклад в понимание механизмов ремоделирования сосудов у детей с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией. Использование серотонина и его метаболита в качестве лабораторных маркеров позволяет определить наличие ремоделирования сосудов у пациентов с гетерозиготной СГХС наравне с инструментальными методами диагностики, а также отобрать целевую группу пациентов, нуждающихся в углублённом обследовании и активном диспансерном наблюдении.

## ВЫВОДЫ

1. У детей гетерозиготная форма СГХС характеризуется активацией серотонинергической системы. Концентрация серотонина в плазме крови увеличена в 1,5 раза, серотонина в тромбоцитах в общем количестве и в пересчете на один тромбоцит - в 1,4 и 1,5 раз соответственно, 5-ГИУК в плазме крови в 1,3 раза, мембранного переносчика серотонина в тромбоцитах в 1,3 раза относительно контрольной группы ( $p < 0,001$ ). Установлены связи между концентрацией серотонина, 5-ГИУК в плазме крови и основными показателями липидного профиля: положительные с ОХ, ХС ЛПНП и отрицательная - с уровнем ХС ЛПВП ( $p < 0,001$ ).
2. У пациентов с семейной гиперхолестеринемией установлены признаки сосудистого ремоделирования в виде повышения артериальной жесткости. Скорость распространения пульсовой волны в аорте, ААСI, RWTТ (среднее и максимальное), АIх (среднее),  $(dp/dt)_{max}$  (среднее и максимальное) у детей с СГХС значимо выше относительно контрольной группы ( $p < 0,001$ ). У 50% детей основной группы со средней СПВ в аорте  $>97$  перцентиля показатели серотонинергической системы были наиболее высокими - концентрация серотонина в плазме крови была в 1,3 раза выше, 5-ГИУК в плазме крови в 1,1 раз выше, мембранного переносчика в тромбоцитах в 1,25 раз выше относительно пациентов с нормальными значениями средней СПВ ( $p < 0,05$ ). Определены положительные корреляции средней СПВ с концентрацией серотонина ( $\rho = 0,6$ ,  $p < 0,001$ ), 5-ГИУК ( $\rho = 0,4$ ,  $p < 0,001$ ) в плазме крови, мембранного переносчика ( $\rho = 0,5$ ,  $p < 0,001$ ) и показателями липидограммы - ОХ ( $\rho = 0,5$ ,  $p < 0,001$ ), ХС ЛПНП ( $\rho = 0,5$ ,  $p < 0,001$ ), ХС ЛПВП ( $\rho = -0,3$ ,  $p = 0,006$ ).
3. Установлено, что у пациентов с гетерозиготной формой СГХС толщина комплекса интима-медиа общей сонной артерии справа и слева увеличена в 1,1 раз относительно группы контроля ( $p < 0,001$ ). У 53,5% пациентов основной группы с показателями ТКИМ  $>95$  перцентиля концентрация серотонина в плазме крови увеличена в 1,2 раза, 5-ГИУК в плазме крови в 1,1 раз, мембранного переносчика в тромбоцитах в 1,2 раза относительно детей с нормальными значениями ТКИМ

( $p < 0,05$ ). Выявлены положительные связи ТКИМ с концентрацией серотонина ( $\rho = 0,5$ ,  $p < 0,001$ ), его метаболита ( $\rho = 0,4$ ,  $p < 0,001$ ) в плазме крови, мембранного переносчика ( $\rho = 0,4$ ,  $p < 0,001$ ) и липидами - ОХ ( $\rho = 0,7$ ,  $p < 0,001$ ), ХС ЛПНП ( $\rho = 0,7$ ,  $p < 0,001$ ), ХС ЛПВП ( $\rho = -0,3$ ,  $p = 0,003$ ).

4. Установлен комплекс факторов, оказывающих сочетанное влияние на сосудистое ремоделирование у детей с гетерозиготной формой семейной гиперхолестеринемией - общий холестерин, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП, ТГ, серотонин в плазме крови, 5-ГИУК в плазме крови и возраст. При увеличении показателя общего холестерина на 1 ммоль/л шансы прогрессирования сосудистого ремоделирования увеличивались в 3,4 раза, при увеличении показателя ХС ЛПНП на 1 ммоль/л шансы прогрессирования атеросклероза увеличивались в 7,5 раз.

5. У неполовозрелых мышей *Ldlr*<sup>+/-</sup> уровень общего холестерина в сыворотке крови выше в 1,6 раз по сравнению с одновозрастными мышами линии C57BL/6 ( $p < 0,001$ ). Концентрация серотонина в плазме крови у мышей *Ldlr*<sup>+/-</sup> увеличена в 1,2 раза, серотонина в тромбоцитах в 1,3 раза, 5-ГИУК в плазме крови и в тромбоцитах в 1,4 раза и мембранного переносчика в тромбоцитах в 1,25 раз относительно животных группы контроля ( $p < 0,001$ ). Корреляционный анализ выявил прямые связи уровня общего холестерина с концентрацией серотонина в плазме крови, серотонина в тромбоцитах, 5-ГИУК в плазме крови и тромбоцитах, мембранным переносчиком в тромбоцитах ( $p < 0,001$ ).

6. У неполовозрелых гетерозиготных мышей *Ldlr*<sup>+/-</sup> определяются атеросклеротические изменения в аорте и левом желудочке. Экспрессия МКАТ против рецепторов серотонина 5-НТ2А и 5-НТ2В и мембранного переносчика в аорте и левом желудочке у генно-модифицированных мышей выше в сравнении с одновозрастными мышами C57BL/6 ( $p < 0,05$ ). Экспрессия мРНК 5-НТ2А и 5-НТ2В рецепторов в аорте мышей *Ldlr*<sup>+/-</sup> выше в 1,5 раза и 1,2 раза соответственно, мембранного переносчика серотонина в 1,3 раза относительно контрольных мышей ( $p < 0,05$ ). Выявлена положительная связь экспрессии мРНК 5-НТ2А рецептора с концентрацией серотонина в плазме крови и тромбоцитах, 5-ГИУК в плазме крови и тромбоцитах, мембранного переносчика, общего холестерина ( $p < 0,05$ ).

7. Установлено, что у неполовозрелых гетерозиготных мышей *Ldlr*<sup>+/-</sup> исходная величина силы сокращения миокарда левого желудочка выше в 1,7 раз относительно одновозрастных мышей *C57BL/6* ( $p < 0,001$ ). Сила сокращения миокарда левого желудочка мышей *Ldlr*<sup>+/-</sup> уменьшается на 14,3%, 44,5%, 54,2% от исходных значений по мере роста концентрации серотонина от 0,1 мкмоль до 10 мкмоль ( $p < 0,05$ ). Миокард левого желудочка мышей *C57BL/6* дозозависимо реагирует на серотонин увеличением силы сокращения на 10,5% - 78,2% от исходных значений ( $p < 0,05$ ). Установлено дозозависимое снижение времени сокращения и длительности расслабления по мере повышения концентрации серотонина у мышей линии *C57BL/6* и *Ldlr*<sup>+/-</sup>.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Оценка показателей серотонинергической системы в сочетании с артериальной жесткостью и ТКИМ рекомендованы к использованию в качестве ранней диагностики атеросклеротического ремоделирования сосудов.
2. Педиатрам и детским кардиологам рекомендовано использовать прогностическую модель для определения вероятности наличия сосудистого ремоделирования у детей с семейной гиперхолестеринемией на основе комплекса факторов - общего холестерина, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП, ТГ, серотонина в плазме крови, 5-ГИУК в плазме крови и возраста. Наличие сосудистого ремоделирования прогнозируется при значении логистической функции  $P > 72\%$ .

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Предполагается продолжение исследования по изучению влияния серотонинергической системы на формирование сосудистого ремоделирования у детей с гетерозиготной СГХС на фоне гиполипидемической терапии. В рамках экспериментальной части работы на генно-модифицированных мышах представляется перспективным изучение эффективности использования антагонистов серотониновых рецепторов, как препаратов, замедляющих развитие и прогрессирование атеросклероза.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

- АД – артериальное давление
- АДФ - аденозиндифосфат
- АЛТ – аланинаминотрансфераза
- АСТ – аспартатаминотрансфераза
- АТФ – аденозинтрифосфат
- АЧТВ - активированное частичное тромбопластиновое время
- ВВП – валовый внутренний продукт
- ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
- ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
- ГМК - гладкомышечные клетки
- ДАГ - диацилглицерол
- ДАД – диастолическое артериальное давление
- Дао – диаметр аорты
- ДИ – доверительный интервал
- ИБС - ишемическая болезнь сердца
- ИВ – индекс времени гипертензии
- ИГХ – иммуногистохимическое исследование
- ИМ – инфаркт миокарда
- ИММЛЖ – индекс массы миокарда левого желудочка
- ИМТ – индекс массы тела
- ИТФ - инозитол-1,4,5-трифосфат
- КДО – конечный диастолический объем
- КДР – конечный диастолический размер
- КСО – конечный систолический объем
- КСР – конечный систолический размер
- КФК – креатинфосфокиназа
- ЛЖ – левый желудочек
- ЛП – левое предсердие
- МКАТ - моноклональные антитела

МКР – межквартильный размах

ММЛЖ – масса миокарда левого желудочка

МНО - международное нормализованное отношение

МОК – минутный объем кровообращения

ОАК – общий анализ крови

ОКС – острый коронарный синдром

ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения

ОСА – общая сонная артерия

ОХ – общий холестерин

ПАД – пульсовое артериальное давление

ПЖ – правый желудочек

ПКА - цАМФ-зависимая протеинкиназа

ПКС - протеинкиназа С

ПТИ - протромбиновый индекс

ПЦР - полимеразная цепная реакция

РаскАоК – раскрытие створок аортального клапана

САД – систолическое артериальное давление

СГХС – семейная гиперхолестеринемия

СИ- сердечный индекс

СИОЗС - селективные ингибиторы обратного захвата серотонина

СМАД – суточное мониторирование артериального давления

СПВ – скорость распространения пульсовой волны в аорте

СПВмакс – максимальная скорость распространения пульсовой волны в аорте

СПВмин – минимальная скорость распространения пульсовой волны в аорте

СПВср – средняя скорость распространения пульсовой волны в аорте

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ТВ - тромбиновое время

ТГ – триглицериды

ТЗС ЛЖ – толщина задней стенки левого желудочка

ТКИМ – толщина комплекса интима-медиа

ТМЖП – толщина межжелудочковой перегородки

УО – ударный объем

ФВ- фракция выброса

ФВ - фактор фон Виллебранда

ФУ – фракция укорочения

ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности

ХС ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности

ХС ЛПОНП – холестерин липопротеинов очень низкой плотности

цАМФ – циклический аденозинмонофосфат

цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат

ЦНС - центральная нервная система

ЧСС – частота сердечных сокращений

ЩФ – щелочная фосфатаза

ЭКГ – электрокардиограмма

ЭХО-КГ – эхокардиография

5-ГИУК - 5-гидроксииндолуксусная кислота

АADC - декарбоксилаза ароматических L-аминокислот

ААСI – амбулаторный индекс жесткости артерий

АВСG5 - член 5-го подсемейства G АТФ-связывающей кассеты

АВСG8 - член 8-го подсемейства G АТФ-связывающей кассеты

АIх – индекс аугментации

АРОВ – аполипопротеин В

АРОЕ - аполипопротеин Е

СYP7A1- холестерол-7- $\alpha$ -гидроксилаза

(dp/dt) max - максимальная скорость нарастания давления

FHSC - глобальный регистр семейной гиперхолестеринемии

GP – гликопротеин

GPCR - рецепторы, сопряженные с G-белком

G<sub>s</sub> белок - гуанозинтрифосфатный белок

HFD - диета с высоким содержанием жиров

LDLR – рецептор липопротеина низкой плотности

LDLRAP1 – адаптер рецептора липопротеина низкой плотности

M – средняя арифметическая

MAO – моноаминоксидаза

MAPK - митоген-активируемая протеинкиназа

Me – медиана

NADPH - никотинамидадениндинуклеотидфосфат

NAS - N-ацетилсеротонин

NOS - синтаза оксида азота

PCSK9 – пропротеин конвертаза субтилизин/кексин тип 9

ROC-анализ (receiver operating characteristic) - метод наглядного сравнения и оценки качества моделей бинарных классификаторов с нахождением оптимального порога разделения для отнесения объектов к тому или иному классу путем построения ROC-кривых

RWTT – время распространения отраженной волны

SERT - мембранный переносчик серотонина

SLC6 - Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> зависимый переносчик растворенных веществ

Tmax - время сокращения

Tmin - длительность расслабления

TPH – триптофангидроксилаза

TPH1 – триптофангидроксилаза 1

VMAT - везикулярный переносчик моноаминов

5-HT – серотонин

5-HTPL - 5-гидрокситриптофол

5-НЗА - 5-гидроксииндолуксусный альдегид

5-MT - 5-метокситриптамин

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов. – Москва : Медицина, 1990. – 382 с.
2. Александров, А. А. Диагностика, лечение и профилактика артериальной гипертензии у детей и подростков. Клинические рекомендации / А. А. Александров, О. А. Кисляк, И. В. Леонтьева // Системные гипертензии. – 2020. – № 2. – С. 7-35.
3. Влияние серотонина на инотропную функцию миокарда левого желудочка неполовозрелых спонтанно-гипертензивных крыс / Г. Н. Афлятумова, Р. С. Недорезова, Р. Р. Нигматуллина [и др.] // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2015. – Т. 101, № 8. – С. 898-908.
4. Влияние серотонина на сократимость миокарда левого желудочка у неполовозрелых крыс с моделью медикаментозного ринита / А. В. Безбрызгов, Р. Р. Нигматуллина, Г. Ф. Абзалетдинова [и др.] // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2025. – № 1. – С. 104-113.
5. Гиперхолестеринемия у детей и подростков : фокус на семейный вариант / И. Н. Захарова, И. М. Османов, И. И. Пшеничникова [и др.] // Медицинский совет. – 2021. – № 17. – С. 294-299.
6. ГОСТ 33215-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200127789> (дата обращения: 05.07.2025)
7. Диагностика семейной гиперхолестеринемии у детей : каскадный скрининг от теории к практике / Л. Ф. Галимова, Д. И. Садыкова, Е. С. Сластиникова [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2020. – Т. 19, № 3. – С. 191-196.
8. Дислипидемии в Российской Федерации : популяционные данные, ассоциации с факторами риска / О. М. Драпкина, А. Э. Имаева, В. А. Куценко [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2023. – Т. 22, № 8. – С. 92-104.

9. Исаева, А. С. Генетические причины нарушений липидного обмена / А. С. Исаева, Е. А. Исакова // *Norwegian Journal of Development of the International Science*. – 2018. – № 17. – С. 34-39.
10. Касумова, Ф. Н. Липидный профиль и распространенность дислипидемий у женщин с ИБС по данным эпидемиологического и клинического обследования / Ф. Н. Касумова // *Клиническая Медицина Казахстана*. – 2012. – № 4 (26). – С. 5-10.
11. Кильдиярова, Р. Р. Лабораторные и функциональные исследования в практике педиатра / Р. Р. Кильдиярова. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 192 с.
12. Клинические рекомендации по семейной гиперхолестеринемии / М. В. Ежов, С. С. Бажан, А. И. Ершова [и др.] // *Атеросклероз*. – 2019. – Т. 15, № 1. – С. 58-98.
13. Клинические рекомендации. Семейная гиперхолестеринемия. Год утверждения 2018. – URL: <https://org.gnicpm.ru/wp-content/uploads/2021/11/semejnaaya-giperholestr..pdf> (дата обращения: 05.07.2025)
14. COMPLAINTNESS OF PATIENTS WITH HETEROZYGOTIC FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA: 5 years of observation of the renaissance register / У. В. Чубыкина, М. В. Ежов, Т. А. Рожкова [и др.] // *Кардиологический вестник*. – 2023. – Т. 18, № 3. – С. 35-48.
15. Ледяев, М. Я. Ранняя диагностика маскированной артериальной гипертензии у детей подросткового возраста / М. Я. Ледяев, С. С. Мозолева, Л. К. Гавриков // *Саратовский научно-медицинский журнал*. – 2016. – № 4. – С. 574-578.
16. Леонтьева, И. В. Семейная гомозиготная гиперхолестеринемия у детей : стратегия ранней диагностики и лечения / И. В. Леонтьева // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. – 2021. – Т. 66, № 4. – С. 118-128.
17. Леонтьева, И. В. Современная стратегия диагностики и лечения семейной гетерозиготной гиперхолестеринемии у детей / И. В. Леонтьева // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 27-40.
18. Маль, Г. С. Вторичная гиперлипидемия : определение, фенотипы и индуцирующие факторы / Г. С. Маль, А. М. Смахина // *Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний*. – 2021. – Т. 9, № 32. – С. 43-51.

19. Нигматуллина, Р. Р. Влияние блокатора мембранного переносчика серотонина флуоксетина на инотропную функцию миокарда в онтогенезе крыс / Р. Р. Нигматуллина, В. Л. Матвеева, М. Д. Чибирева // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2014. – Т. 100, № 3. – С. 348-359.
20. Особенности показателей крови и адаптационного статуса мышей линий Balb/c и C57BL/6 при отсутствии специальных воздействий / Г. В. Жукова, Е. М. Франциянц, А. И. Шихлярова [и др.] // Южно-Российский онкологический журнал. – 2023. – Т. 4, № 4. – С. 44-56.
21. Оценка физического развития детей младшего школьного возраста (7-10 лет) : результаты когортного исследования / М. В. Ходжиева, В. А. Скворцова, Т. Э. Боровик [и др.] // Педиатрическая фармакология. – 2016. – Т. 13, № 4. – С. 362-366.
22. Программное обеспечение «Анализ ригидности артерий при суточном мониторинге Vasotens24». Руководство пользователя (редакция 12.2019). – URL:  
[https://bplab.ru/images/docs/Анализ\\_ригидности\\_артерий\\_при\\_суточном\\_мониторинге\\_Vasotens4.pdf?ysclid=kznumwtu4q](https://bplab.ru/images/docs/Анализ_ригидности_артерий_при_суточном_мониторинге_Vasotens4.pdf?ysclid=kznumwtu4q) (дата обращения 15.09.2025)
23. Пятилетний период наблюдения за пациентами с гомо- и гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией в регистре РЕНЕССАНС / У. В. Чубыкина, М. В. Ежов, Т. А. Рожкова [и др.] // Атеросклероз и дислипидемии. – 2023. – № 1. – С. 5-18.
24. Роль дофамина в регуляции сердечно-сосудистой системы / Р. Р. Нигматуллина, Д. И. Садыкова, К. Р. Салахова [и др.] // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2024. – № 4. – С. 25-38.
25. Садыкова, Д. И. Значение дисфункции эндотелия при артериальной гипертензии у детей и подростков / Д. И. Садыкова, Е. В. Сергеева, Г. Н. Афлятумова // Практическая медицина. – 2014. – № 9. – С. 24-27.
26. Садыкова, Д. И. Семейная гиперхолестеринемия у детей: клинические проявления, диагностика, лечение / Д. И. Садыкова, Л. Ф. Галимова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2017. – Т. 62, № 5. – С. 119-123.

27. Саркисов, Д. С. Микроскопическая техника. Руководство для врачей и лаборантов / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов – Москва : Медицина, 1996. – 544 с.
28. Семейная гиперхолестеринемия у детей. Современное состояние проблемы / Д. И. Садыкова, К. Р. Салахова, Л. Ф. Галимова [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2023. – Т. 22, № 3. – С. 231-240.
29. Серотонин, 5-ГИУК и мембранный переносчик серотонина в крови как биомаркеры семейной гиперхолестеринемии у неполовозрелых мышей с дефицитом рецептора липопротеина низкой плотности / Р. Р. Нигматуллина, Д. И. Садыкова, К. Р. Салахова [и др.] // Молекулярная медицина. – 2025. – Т. 23, № 4. – С. 30-38.
30. Согласованное мнение российских экспертов по оценке артериальной жесткости в клинической практике / Ю. А. Васюк, С. В. Иванова, Е. Л. Школьник [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2016. – Т. 15, № 2. – С. 4-19.
31. Соотношение возрастов основных лабораторных животных (мышей, крыс, хомячков и собак) и человека : актуальность для проблемы возрастной радиочувствительности и анализ опубликованных данных / А. Н. Котеров, Л. Н. Ушенкова, Э. С. Зубенкова [и др.] // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2018. – Т. 63, № 1. – С. 5-27.
32. Стефанов, С. Б. Морфометрическая сетка случайного шага как средство ускоренного измерения элементов морфогенеза / С. Б. Стефанов // Цитология. – 1974. – № 6 – С. 785-787.
33. Филиппов, Е. В. Дислипидемии и их ассоциации с хроническими неинфекционными заболеваниями (исследование Меридиан-РО) / Е. В. Филиппов, С. С. Якушин, В. С. Петров // Клиницист. – 2016. – Т. 10, № 3. – С. 32-40.
34. Экономический ущерб от гиперхолестеринемии на популяционном уровне в Российской Федерации / А. В. Концевая, Ю. А. Баланова, А. Э. Имаева [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2018. – Т. 14, № 3. – С. 393-401.

35. A dualistic conformational response to substrate binding in the human serotonin transporter reveals a high affinity state for serotonin / H. Bjerregaard, K. Severinsen, S. Said [et al.] // *J Biol Chem.* – 2015. – Vol. 290, № 12. – P. 7747-7755.
36. A serotonin-induced N-glycan switch regulates platelet aggregation / C. P. Mercado, M. V. Quintero, Y. Li [et al.] // *Sci Rep.* – 2013. – Vol. 3. – P. 2795.
37. Advances in Treatment of Dyslipidemia / J. Dybiec, W. Baran, B. Dąbek [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2023. – Vol. 24, № 17. – P. e3288.
38. Animal models of atherosclerosis / B. Emini Veseli, P. Perrotta, G. De Meyer // *Eur J Pharmacol.* – 2017. – Vol. 816. – P. 3-13.
39. Aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC) is crucial for brain development and motor functions / D. F. Shih, C. D. Hsiao, M. Y. Min [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, № 8. – P. e71741.
40. Arterial mechanical changes in children with familial hypercholesterolemia / Y. Aggoun, D. Bonnet, D. Sidi D [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2000. – Vol. 20, № 9. – P. 2070-2075.
41. Arterial Stiffness and Coronary Ischemia : New Aspects and Paradigms / A. Vallée, A. Cinaud, A. Protogerou [et al.] // *Curr Hypertens Rep.* – 2020. – Vol. 22, № 1. – P. e5.
42. Arterial stiffness and vascular aging : mechanisms, prevention, and therapy / M. J. Herzog, P. Müller, K. Lechner [et al.] // *Signal Transduct Target Ther.* – 2025. – Vol. 10, № 1. – P. e282.
43. Association between lipid profiles and arterial stiffness : A secondary analysis based on a cross-sectional study / L. Wang, F. Zhi, B. Gao [et al.] // *J Int Med Res.* – 2020. -Vol. 48, № 7. – P. e300060520938188.
44. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults The Bogalusa Heart Study / G. S. Berenson, S. R. Srinivasan, W. Bao [et al.] // *N Engl J Med.* – 1998. – Vol. 338, № 23. – P. 1650-1656.
45. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors : the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993 / L. E. Chambless, G. Heiss, A. R. Folsom [et al.] // *Am J Epidemiol.* – 1997. – Vol. 146, № 6. – P. 483-494.

46. Atherosclerosis : The Involvement of Immunity, Cytokines and Cells in Pathogenesis, and Potential Novel Therapeutics / C. Su, Y. Lu, Z. Wang [et al.] // *Aging Dis.* – 2023. – Vol. 14, № 4. – P. 1214-1242.
47. Barriers to Early Diagnosis and Treatment of Familial Hypercholesterolemia : Current Perspectives on Improving Patient Care / R. Alonso, L. Perez de Isla, O. Muñiz-Grijalvo [et al.] // *Vasc Health Risk Manag.* – 2020. – Vol. 16. – P. 11-25.
48. Berberich, A. J. A Modern Approach to Dyslipidemia / A. J. Berberich, R. A. Hegele // *Endocr Rev.* – 2022. – Vol. 43, № 4. – P. 611-653.
49. Berg, K. A. 5-hydroxytryptamine 2C receptor activation inhibits 5-hydroxytryptamine1B-like receptor function via arachidonic acid metabolism / K. A. Berg, S. Maayani, W. P. Clarke // *Mol Pharmacol.* – 1996. – Vol. 50, № 4. – P. 1017-1023.
50. Björkegren, J. L. Atherosclerosis : Recent developments / J. L. Björkegren, A. J. Lusis // *Cell.* – 2022. – Vol. 185, № 10. – P. 1630-1645.
51. Böhm, B. Vascular health determinants in children / B. Böhm, R. Oberhoffer // *Cardiovasc Diagn Ther.* - 2019. – Vol. 9. – P. 269-280.
52. Calcification of medial elastic fibers and aortic elasticity / N. Niederhoffer, I. Lartaud-Idjouadiene, P. Giummelly [et al.] // *Hypertension.* – 1997. – Vol. 29, № 4. – P. 999-1006.
53. Cardiac overexpression of the human 5-HT<sub>4</sub> receptor in mice / U. Gergs, M. Baumann, A. Böckler [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2010. – Vol. 299, № 3. – P. 788-798.
54. Cardiac Roles of Serotonin (5-HT) and 5-HT-Receptors in Health and Disease / J. Neumann, B. Hofmann, S. Dhein [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – Vol. 24. – P. e4765.
55. Cardiac systolic and diastolic dysfunction after a cholesterol-rich diet / Y. Huang, K. E. Walker, F. Hanley [et al.] // *Circulation.* – 2004. – Vol. 109, № 1. – P. 97-102.
56. Cardiovascular diseases // World Health Organization: Official website. – URL: [https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases#tab=tab_1). (accessed 11.11.2025).

57. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group / D. H. O'Leary, J. F. Polak, R. A. Kronmal [et al.] // *N Engl J Med.* – 1999. – Vol. 340, № 1. – P. 14-22.
58. Carotid artery intima-media thickness and distensibility in children and adolescents : Reference values and role of body dimensions / A. Doyon, D. Kracht, A. K. Bayazit [et al.] // *Hypertension.* – 2013. – № 62. – P. 550-556.
59. Carotid intima-media thickness in children with familial hypercholesterolemia / D. M. Kusters, A. Wiegman, J. J. Kastelein [et al.] // *Circ Res.* – 2014. – Vol. 114, № 2. – P. 307-310.
60. Carotid Intima-Media Thickness in Healthy Children and Adolescents : Normative Data and Systematic Literature Review / A. Drole Torkar, E. Plesnik, U. Groselj [et al.] // *Front Cardiovasc Med.* – 2020. – Vol. 7. – P. e597768.
61. Carotid intima-media thickness (IMT) in patients with severe familial and non-familial hypercholesterolemia : The effect of measurement site on the IMT correlation with traditional cardiovascular risk factors and calcium scores / R. Gałąska, D. Kulawiak-Gałąska, M. Chmara [et al.] // *Cardiol J.* – 2021. – Vol. 28, № 2. – P. 271-278.
62. Carotid Intima-Media Thickness Progression as Surrogate Marker for Cardiovascular Risk : Meta-Analysis of 119 Clinical Trials Involving 100 667 Patients / P. Willeit, L. Tschiderer, E. Allara [et al.] // *Circulation.* – 2020. – Vol. 142, № 7. – P. 621-642.
63. Ceramide is a cardiotoxin in lipotoxic cardiomyopathy / T. S. Park, Y. Hu, H. L. Noh [et al.] // *J Lipid Res.* – 2008. – Vol. 49, № 10. – P. 2101-2112.
64. Changes in serum serotonin levels in patients with acute coronary syndrome and stable angina undergoing percutaneous coronary intervention / D. Han, J. H. Choi, D. Kim [et al.] // *J Int Med Res.* – 2020. – Vol. 48, № 12. – P. e300060520970104.
65. Chia, P. Y. Overview of the Assessment of Endothelial Function in Humans / P. Y. Chia, A. Teo, T. W. Yeo // *Front Med (Lausanne).* – 2020. – Vol. 7. – P. e542567.

66. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction : the Rotterdam Study / M. L. Bots, A. W. Hoes, P. J. Koudstaal [et al.] // *Circulation*. – 1997. – № 96. – P. 1432-1437.
67. Comparative hemostatic parameters in BALB/c, C57BL/6 and C3H/He mice / M. Barrios, A. Rodríguez-Acosta, A. Gil [et al.] // *Thromb Res*. – 2009. – Vol. 124, № 3. – P. 338-343.
68. Comparison of carotid intima-media thickness, arterial stiffness, and brachial artery flow mediated dilatation in diabetic and nondiabetic subjects (The Chennai Urban Population Study [CUPS-9]) / R. Ravikumar, R. Deepa, C. Shanthirani [et al.] // *Am J Cardiol*. – 2002. – Vol. 90, № 7. – P. 702-727.
69. Comparison of the mutation spectrum and association with pre and post treatment lipid measures of children with heterozygous familial hypercholesterolaemia (FH) from eight European countries / M. Futema, U. Ramaswami, L. Tichy [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2021. – Vol. 319. – P. 108-117.
70. Continual measurement of arterial dP/dtmax enables minimally invasive monitoring of left ventricular contractility in patients with acute heart failure / P. Ostadal, D. Vondrakova, A. Krüger [et al.] // *Crit Care*. – 2019. – Vol. 23, № 1. – P. e364.
71. Contribution of intimal smooth muscle cells to cholesterol accumulation and macrophage-like cells in human atherosclerosis / S. Allahverdian, A. C. Chehroudi, B. M. McManus [et al.] // *Circulation*. – 2014. – Vol. 129, № 15. – P. 1551-1559.
72. Cost-effectiveness of a cascade screening program for the early detection of familial hypercholesterolemia / P. Lázaro, L. Pérez de Isla, G. F. Watts [et al.] // *J Clin Lipidol*. – 2017. – Vol. 11, № 1. – P. 260-271.
73. Daniels, S. R. Lipid screening and cardiovascular health in childhood / S. R. Daniels, F. R. Greer, Committee on Nutrition // *Pediatrics*. – 2008. – Vol. 122, № 1. – P. 198-208.
74. Davis, H. R. Reticuloendothelial system response to hyperlipidemia in rhesus and cynomolgus monkeys / H. R. Davis, D. Vesselinovitch, R. W. Wissler // *J Leukoc Biol*. – 1984. – Vol. 36, № 1. – P. 63-80.

75. Decreased atherosclerosis in heterozygous low density lipoprotein receptor-deficient mice expressing the scavenger receptor BI transgene / T. Arai, N. Wang, M. Bezouevski [et al.] // *J Biol Chem.* – 1999. – Vol. 274, № 4. – P. 2366-2371.
76. Déglise, S. Vascular smooth muscle cells in intimal hyperplasia, an update / S. Déglise, C. Bechelli, F. Allagnat // *Front Physiol.* – 2023. – Vol. 13. – P. e1081881.
77. Denis, C. V. Platelet adhesion receptors and their ligands in mouse models of thrombosis / C. V. Denis, D. D. Wagner // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2007. – Vol. 27, № 4. – P. 728-739.
78. Desensitization of the human 5-HT<sub>4</sub> receptor in isolated atria of transgenic mice / U. Gergs, J. Fritsche, S. Fabian [et al.] // *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* – 2017. – Vol. 390, № 10. – P. 987-996.
79. Devereux R. B. Echocardiographic determination of left ventricular mass in man. Anatomic validation of the method / R. B. Devereux, N. Reichek // *Circulation.* – 1977. – № 55 (4). – P. 613-618.
80. Di Taranto, M. D. Genetic Heterogeneity of Familial Hypercholesterolemia : Repercussions for Molecular Diagnosis / M. D. Di Taranto, G. Fortunato // *Int J Mol Sci.* – 2023. – Vol. 24, № 4. – P. e3224.
81. Diabetes-induced accelerated atherosclerosis in swine / R. G. Gerrity, R. Natarajan, J. L. Nadler [et al.] // *Diabetes.* – 2001. – Vol. 50, № 7. - 1654-1665.
82. Diet and Lipid-Lowering Nutraceuticals in Pediatric Patients with Familial Hypercholesterolemia / M. E. Capra, G. Biasucci, G. Banderali [et al.] // *Children (Basel).* – 2024. – Vol. 11, № 2. – P. e250.
83. Divergent effects of serotonin on coronary-artery dimensions and blood flow in patients with coronary atherosclerosis and control patients / P. Golino, F. Piscione, J. T. Willerson [et al.] // *N Engl J Med.* – 1991. – Vol. 324, № 10. – P. 641-648.
84. Downregulated myocardial connexin 43 and suppressed contractility in rabbits subjected to a cholesterol-enriched diet / L. C. Lin, C. C. Wu, H. I. Yeh [et al.] // *Lab Invest.* – 2005. – Vol. 85, № 10. – P. 1224-1237.

85. Down-regulation of the serotonin transporter in hyperreactive platelets counteracts the pro-thrombotic effect of serotonin / E. Ziu, C. P. Mercado, Y. Li [et al.] // *J Mol Cell Cardiol.* – 2012. – Vol. 52, № 5. – P. 1112-1121.
86. Du, Z. Dyslipidemia and Cardiovascular Disease : Current Knowledge, Existing Challenges, and New Opportunities for Management Strategies / Z. Du, Y. Qin // *J Clin Med.* – 2023. – Vol. 12, № 1. – P. e363.
87. Dual serotonergic regulation of ventricular contractile force through 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>4</sub> receptors induced in the acute failing heart / E. Qvigstad, I. Sjaastad, T. Brattelid [et al.] // *Circ Res.* – 2005. – Vol. 97, № 3. – P. 268-276.
88. Dyslipidemia management for primary prevention of cardiovascular events : Best in-clinic practices / N. Thongtang, R. Sukmawan, E. Llanes [et al.] // *Prev Med Rep.* – 2022. – Vol. 27. – P. e101819.
89. Early echocardiographic signs of cardiovascular affection in pediatric familial hypercholesterolemia / H. Ibrahim, H. Saad, O. Abdelaziz [et al.] // *Eur J Pediatr.* – 2023. – Vol. 182, № 10. – P. 4389-4397.
90. Early impairment of left ventricular function in hypercholesterolemia and its reversibility after short term treatment with rosuvastatin A preliminary echocardiographic study / E. Talini, V. Di Bello, C. Bianchi [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2008. – Vol. 197, № 1. – P. 346-354.
91. Early left ventricular abnormalities in children with heterozygous familial hypercholesterolemia / G. Di Salvo, A. F. D'Aiello, B. Castaldi [et al.] // *J Am Soc Echocardiogr.* – 2012. – Vol. 25, № 10. – P. 1075-1082.
92. Effect of sarpogrelate, a selective 5-HT<sub>2A</sub> receptor antagonist, on characteristics of coronary artery disease in patients with type 2 diabetes / D. H. Lee, E. J. Chun, J. H. Hur [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2017. – Vol. 257. – P. 47-54.
93. Effect of sarpogrelate hydrochloride, a 5-hydroxytryptamine<sub>2</sub> receptor antagonist, on allograft arteriosclerosis after aortic transplantation in rats / S. Watada, H. Harada, K. Matsubara [et al.] // *Transpl Immunol.* – 2013. – Vol. 29. – P. 162-166.

94. Effect of sarpogrelate treatment on the prognosis after endovascular therapy for critical limb ischemia / M. Takahara, H. Kaneto, N. Katakami // Heart Vessels. – 2014. – Vol. 29, № 4. – P. 563-567.
95. Effect of serotonin on myocardial contractility in newborn rats with excess and deficiency of serotonin in the embryonic period / M. Zh. Akhmetova, R. R. Nigmatullina, F. A. Mindubayeva, G. M. Tykezhanova // Bulletin of the Karaganda university. Biology. Medicine. Geography Series. – 2021. – Vol. 101, № 1. – P. 82-87.
96. Effects of serum lipoproteins and smoking on atherosclerosis in young men and women. The PDAY Research Group. Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth / H. C. McGill, C. A. McMahan, G. T. Malcom [et al.] // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 1997. – Vol. 17, № 1. – P. 95-106.
97. Emerging Roles for Serotonin in Regulating Metabolism : New Implications for an Ancient Molecule / J. M. Yabut, J. D. Crane, A. E. Green [et al.] // Endocr Rev. – 2019. – Vol. 40, № 4. – P. 1092-1107.
98. Endothelin-1, nitric oxide, serotonin and high blood pressure in male adolescents / G. N. Aflyatumova, R. R. Nigmatullina, D. I. Sadykova [et al.] // Vasc Health Risk Manag. – 2018. – Vol. 14. – P. 213-223.
99. Enhanced status of inflammation and endothelial activation in subjects with familial hypercholesterolaemia and their related unaffected family members : a case control study / T. Rahman, N. S. Hamzan, A. Mokhsin [et al.] // Lipids Health Dis. – 2017. – Vol. 16, № 1. – P. e81.
100. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias : lipid modification to reduce cardiovascular risk 2019 / D. J. Richter, M. S. Sabatine, M. R. Taskinen [et al.] // Eur Heart J. – 2020. – Vol. 41, № 1. – P. 111-188.
101. ESC/ESH 2018 Guidelines for the management of arterial hypertension / B. Williams, G. Mancia, W. Spiering [et al.] // Eur Heart J. – 2018. – Vol. 39, № 33. – P. 3021-3104.
102. European Society of Hypertension guidelines for the management of high blood pressure in children and adolescents / E. Lurbe, E. Agabiti-Rosei, J. K. Cruickshank [et al.] // J Hypertens. – 2016. – Vol. 34, № 10. – P. 1887-1920.

103. Evidence for an imipramine-sensitive serotonin transporter in human placental brush-border membranes / D. F. Balkovetz, C. Tiruppathi, F. H. Leibach [et al.] // *J Biol Chem.* – 1989. – Vol. 264, № 4. – P. 2195-2198.
104. Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents : summary report / Expert Panel on Integrated Guidelines for Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents, National Heart, Lung, Blood Institute // *Pediatrics.* – 2011. – Vol. 128. – P. 213-256.
105. Extracellular matrix dynamics in vascular remodeling / Z. Ma, C. Mao, Y. Jia [et al.] // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2020. – Vol. 319, № 3. – P. 481-499.
106. Factors Associated with Carotid Atherosclerosis and Achilles Tendon Thickness in Japanese Patients with Familial Hypercholesterolemia: A Subanalysis of the Familial Hypercholesterolemia Expert Forum (FAME) Study / M. Ogura, M. Harada-Shiba, D. Masuda [et al.] // *J Atheroscler Thromb.* – 2022. – Vol. 29, № 6. – P. 906-922.
107. Familial hypercholesterolaemia in children and adolescents from 48 countries: a cross-sectional study / European Atherosclerosis Society Familial Hypercholesterolaemia Studies Collaboration // *Lancet.* – 2024. – Vol. 403, № 10421. – P. 55-66.
108. Familial hypercholesterolaemia in children and adolescents: gaining decades of life by optimizing detection and treatment / A. Wiegman, S. S. Gidding, G. F. Watts [et al.] // *Eur Heart J.* – 2015. – Vol. 36, № 36. – P. 2425-2437.
109. Familial hypercholesterolemia - treatment update in children, systematic review / S. Ziółkowska, N. Kijek, I. Zendran [et al.] // *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab.* – 2022. – Vol. 28, № 2. – P. 152-161.
110. Fraer, M. Serotonin: a different player in hypertension-associated thrombosis / M. Fraer, F. Kilic // *Hypertension.* – 2015. – Vol. 65, № 5. – P. 942-948.
111. Frishman, W. H. Serotonin and the heart / W. H. Frishman, P. Grewall // *Ann Med.* – 2000. – Vol. 32, № 3. – P. 195-209.
112. Garcia, J. A. Factors and mechanisms involved in left ventricular hypertrophy and the anti-hypertrophic role of nitric oxide / J. A. Garcia, E. K. Incerpi // *Arq Bras Cardiol.* – 2008. – Vol. 90, № 6. – P. 409-416.

113. García-Giustiniani, D. Genetics of Dyslipidemia / D. García-Giustiniani, R. Stein // *Arq Bras Cardiol.* – 2016. – Vol. 106, № 5. – P. 434-438.
114. Genes Potentially Associated with Familial Hypercholesterolemia / S. Mikhailova, D. Ivanoshchuk, O. Timoshchenko [et al.] // *Biomolecules.* – 2019. – Vol. 9, № 12. – P. e807.
115. Genetic testing for familial hypercholesterolemia-past, present, and future / M. Futema, A. Taylor-Beadling, M. Williams [et al.] // *J Lipid Res.* – 2021. – Vol. 62. – P. e100139.
116. Getz, G. S. Do the Apoe<sup>-/-</sup> and Ldlr<sup>-/-</sup> Mice Yield the Same Insight on Atherogenesis? / G. S. Getz, C. A. Reardon // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2016. – Vol. 36, № 9. – P. 1734-1741.
117. Gillis, C. N. The fate of circulating amines within the pulmonary circulation / C. N. Gillis, B. R. Pitt // *Annu Rev Physiol.* – 1982. – Vol. 44. – P. 269-281.
118. Global burden of cardiovascular diseases attributed to low physical activity: An analysis of 204 countries and territories between 1990 and 2019 / Y. Luo, J. Liu, J. Zeng [et al.] // *Am J Prev Cardiol.* – 2024. – Vol. 17. – P. e100633.
119. Gomez, D. Smooth muscle cell phenotypic switching in atherosclerosis / D. Gomez, G. K. Owens // *Cardiovasc Res.* – 2012. – Vol. 95, № 2. – P. 156-164.
120. Gujral, J. Pediatric Dyslipidemia / J. Gujral, J. Gupta // In: *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK585106>. Accessed on November 11, 2025.*
121. Hanssen, H. Vascular biomarkers in the prevention of childhood cardiovascular risk: From concept to clinical implementation / H. Hanssen // *Front Cardiovasc Med.* – 2022. – Vol. 9. – P. e935810.
122. Hansson, G. K. Inflammation and Atherosclerosis: The End of a Controversy / G. K. Hansson // *Circulation.* – 2017. – Vol. 136, № 20. – P. 1875-1877.
123. Heterozygous familial hypercholesterolaemic patients have increased arterial stiffness, as determined using the augmentation index / N. Plana, R. Ferré, J. Merino [et al.] // *J Atheroscler Thromb.* – 2011. – Vol. 18, № 12. – P. 1110-1116.

124. Heterozygous Ldlr-Deficient Hamster as a Model to Evaluate the Efficacy of PCSK9 Antibody in Hyperlipidemia and Atherosclerosis / Y. Wu, M. J. Xu, Z. Cao [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20, № 23. – P. e5936.
125. Human miR-221/222 in Physiological and Atherosclerotic Vascular Remodeling / D. A. Chistiakov, I. A. Sobenin, A. N. Orekhov [et al.] // *Biomed Res Int.* – 2015. – Vol. 2015. – P. e354517.
126. Hypercholesterolemia in low density lipoprotein receptor knockout mice and its reversal by adenovirus-mediated gene delivery / S. Ishibashi, M. S. Brown, J. L. Goldstein [et al.] // *J Clin Invest.* – 1993. – Vol. 92, № 2. – P. 883-893.
127. Imamdin, A. Exploring the Role of Serotonin as an Immune Modulatory Component in Cardiovascular Diseases / A. Imamdin, E. P. van der Vorst // *Int J Mol Sci.* – 2023. – Vol. 24, № 2. – P. e1549.
128. Impact of increased plasma serotonin levels and carotid atherosclerosis on vascular dementia / Y. Ban, T. Watanabe, A. Miyazaki [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2007. – Vol. 195, № 1. – P. 153-159.
129. Impaired endothelium-dependent vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolaemia / P. J. Chowienczyk, G. F. Watts, J. R. Cockcroft [et al.] // *Lancet.* – 1992. – Vol. 340, № 8833. – P. 1430-1432.
130. Increased arterial stiffness and heart rate variability over time in heart transplant recipients : A cross-sectional study using peripheral arterial tonometry / J. A. de Souza, D. C. Brandão, M. D. Rodrigues-Machado [et al.] // *JHLT Open.* – 2025. – Vol. 9. – P. e100339
131. Increased release of serotonin from rat primary isolated adult cardiac myofibroblasts / E. Tarbit, I. Singh, J. N. Peart [et al.] // *Sci Rep.* – 2021. – Vol. 11, № 1. – P. e20376.
132. Induction of endothelin-1 production in endothelial cells via co-operative action between CD40 and lectin-like oxidized LDL receptor (LOX-1) / K. Sakurai, L. Cominacini, U. Garbin [et al.] // *J Cardiovasc Pharmacol.* – 2004. – Vol. 44. – P. 173-180.

133. Insull, W. The pathology of atherosclerosis: plaque development and plaque responses to medical treatment / W. Insull // *Am J Med.* – 2009. – Vol. 122. – P. 3-14.
134. INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study / S. Yusuf, S. Hawken, S. Ounpuu [et al.] // *Lancet.* – 2004. – Vol. 364, № 9438. – P. 937-952.
135. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CX. Classification of Receptors for 5-hydroxytryptamine; Pharmacology and Function / N. M. Barnes, G. P. Ahern, C. Becamel [et al.] // *Pharmacol Rev.* – 2021. – Vol. 73, № 1. – P. 310-520.
136. Jayakumar, J. The roles of serotonin in cell adhesion and migration, and cytoskeletal remodeling / J. Jayakumar, M. M. Panicker // *Cell Adh Migr.* – 2021. – Vol. 15, № 1. – P. 261-271.
137. Kanova, M. Serotonin-Its Synthesis and Roles in the Healthy and the Critically Ill / M. Kanova, P. Kohout // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 9. – P. e4837.
138. Kowara, M. Pathophysiology of Atherosclerotic Plaque Development-Contemporary Experience and New Directions in Research / M. Kowara, A. Cudnoch-Jedrzejewska // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 7. – P. e3513.
139. Laer, S. Receptor mechanisms involved in the 5-HT-induced inotropic action in the rat isolated atrium / S. Laer, F. Remmers, H. J. Scholz // *Br. J Pharmacol.* – 1998. – Vol. 123. – P. 1182-1188.
140. LDL-C/HDL-C ratio associated with carotid intima-media thickness and carotid plaques in male but not female patients with type 2 diabetes / R. Du, M. Li, X. Wang [et al.] // *Clin Chim Acta.* – 2020. – Vol. 511. – P. 215-220.
141. Levenson, A. E. Familial Hypercholesterolemia / A. E. Levenson, S. D. Ferranti // Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA) : MDTText.com, Inc., 2000. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK395572/> (accessed 11.11. 2025).
142. Life Course Approach for Managing Familial Hypercholesterolemia / S. S. Gidding, D. J. Blom, B. McCrindle // *J Am Heart Assoc.* – 2025. – Vol. 14, № 7. – P. e038458.

143. Ligand-dependent conformations and dynamics of the serotonin 5-HT(2A) receptor determine its activation and membrane-driven oligomerization properties / J. Shan, G. Khelashvili, S. Mondal [et al.] // *PLoS Comput Biol.* – 2012. – Vol. 8, № 4. – P. e1002473.
144. Louter, L. Cascade screening for familial hypercholesterolemia: Practical consequences / L. Louter, J. Defesche, J. Roeters van Lennep // *Atheroscler Suppl.* – 2017. – Vol. 30. – P. 77-85.
145. Low-Cost High-Throughput Genotyping for Diagnosing Familial Hypercholesterolemia / S. Ibrahim, J. van Rooij, A. Verkerk [et al.] // *Circ Genom Precis Med.* – 2023. – Vol. 16, № 5. – P. 462-469.
146. Mainieri, F. Recent Advances on Familial Hypercholesterolemia in Children and Adolescents / F. Mainieri, V. M. Tagi, F. Chiarelli // *Biomedicines.* – 2022. – Vol. 10, № 5. – P. e1043.
147. Mapping Cholesterol Interaction Sites on Serotonin Transporter through Coarse-Grained Molecular Dynamics / M. Ferraro, M. Masetti, M. Recanatini [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11, № 12. – P. e0166196.
148. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2, and serum elastase activity are associated with systolic hypertension and arterial stiffness / A. Yasmin, C. M. McEniery, S. Wallace [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2005. – Vol. 25. – № 2. – P. e372.
149. Measurement of central augmentation index by three different methods and techniques : Agreement among Arteriograph, Complior, and Mobil-O-Graph devices / T. G. Papaioannou, J. Thymis, D. Benas [et al.] // *J Clin Hypertens (Greenwich).* – 2019. – Vol. 21, № 9. – P. 1386-1392.
150. Mechanisms of arterial remodelling : lessons from genetic diseases / B. J. van Varik, R. J. Rennenberg, C. P. Reutelingsperger [et al.] // *Front Genet.* – 2012. – Vol. 3. – P. e290.
151. Medeiros, A. M. Genetic Testing in Familial Hypercholesterolemia : Is It for Everyone? / A. M. Medeiros, M. Bourbon // *Curr Atheroscler Rep.* – 2023. – Vol. 25, № 4. – P. 127-132.

152. Membrane Transporter of Serotonin and Hypercholesterolemia in Children / D. Sadykova, R. Nigmatullina, K. Salakhova [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2024. – Vol. 25, № 2. – P. e767.
153. Mercado, C. P. Molecular mechanisms of SERT in platelets: regulation of plasma serotonin levels / C. P. Mercado, F. Kilic // *Mol Interv.* – 2010. – Vol. 10, № 4. – P. 231-241.
154. Metabolic syndrome, clustering of cardiovascular risk factors and high carotid intima-media thickness in children and adolescents / M. Zhao, C. A. Caserta, C. C. Medeiros [et al.] // *J Hypertens.* – 2020. – Vol. 38, № 4. – P. 618-624.
155. Modeling lipid raft domains containing a mono-unsaturated phosphatidylethanolamine species / M. Ferraro, M. Masetti, M. Recanatini [et al.] // *RSC advances.* – 2015. – Vol. 5, № 47. – P. 37102-37111.
156. Mouse models of atherosclerosis : a historical perspective and recent advances / Y. T. Lee, H. Y. Lin, Y. W. Chan [et al.] // *Lipids Health Dis.* – 2017. – Vol. 16, № 1. – P. e12.
157. Mozos, I. Crosstalk between Oxidative and Nitrosative Stress and Arterial Stiffness / I. Mozos, C. T. Luca // *Curr Vasc Pharmacol.* – 2017. – Vol. 15, № 5. – P. 446-456.
158. Napoli, C. Involvement of oxidation-sensitive mechanisms in the cardiovascular effects of hypercholesterolemia / C. Napoli, L. O. Lerman // *Mayo Clin Proc.* – 2001. – Vol. 76, № 6. – P. 619-631.
159. New Case Detection by Cascade Testing in Familial Hypercholesterolemia : A Systematic Review of the Literature / C. Lee, M. Rivera-Valerio, H. Bangash [et al.] // *Circ Genom Precis Med.* – 2019. – Vol. 12, № 11. – P. e002723.
160. Ni, W. 5-hydroxytryptamine in the cardiovascular system: focus on the serotonin transporter (SERT) / W. Ni, S. W. Watts // *Clin Exp Pharmacol Physiol.* – 2006. – Vol. 33, № 7. – P. 575-583.
161. Nitric oxide and cardiac function: ten years after, and continuing / P. B. Massion, O. Feron, C. Dessy [et al.] // *Circ Res.* – 2003. – Vol. 93, № 5. – P. 388-398.

162. Oltvai, Z. N. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death / Z. N. Oltvai, C. L. Milliman, S. J. Korsmeyer // *Cell*. – 1993. – Vol. 74, № 4. – P. 609-619.
163. Overexpression of the serotonin 5-HT<sub>2B</sub> receptor in heart leads to abnormal mitochondrial function and cardiac hypertrophy / C. G. Nebigil, F. Jaffré, N. Messaddeq [et al.] // *Circulation*. – 2003. – Vol. 107, № 25. – P. 3223-3229.
164. Oxidative Stress and Arterial Dysfunction in Peripheral Artery Disease / A. Ismaeel, R. S. Brumberg, J. S. Kirk [et al.] // *Antioxidants (Basel)*. – 2018. – Vol. 7, № 10. – P. e145.
165. Page, M. M. PCSK9 inhibitors - mechanisms of action / M. M. Page, G. F. Watts // *Aust Prescr*. – 2016. – Vol. 39, № 5. – P. 164-167.
166. Parajulee, A. Structural studies of serotonin receptor family / A. Parajulee, K. Kim // *BMB Rep*. – 2023. – Vol. 56, № 10. – P. 527-536.
167. PDZ-dependent activation of nitric-oxide synthases by the serotonin 2B receptor / P. Manivet, S. Mouillet-Richard, J. Callebert [et al.] // *J Biol Chem*. – 2000. – Vol. 275, № 13. – P. 9324-9331.
168. Pediatric heterozygous familial hypercholesterolemia patients have locally increased aortic pulse wave velocity and wall thickness at the aortic root / A. Tran, B. Burkhardt, A. Tandon [et al.] // *Int J Cardiovasc Imaging*. – 2019. – Vol. 35, № 10. – P. 1903-1911.
169. PCSK9-mediated degradation of the LDL receptor generates a 17 kDa C-terminal LDL receptor fragment / K. Tveten, T. Str, K. E. Berge // *J Lipid Res*. – 2013. – Vol. 54, № 6. – P. 1560-1566.
170. Pitavastatin attenuates hypercholesterolemia-induced decline in serotonin transporter availability / S. J. Chen, R. L. Cho, S. H. Yeh [et al.] // *Lipids Health Dis*. – 2024. – Vol. 23, № 1. – P. e250.
171. Plasma serotonin levels and the platelet serotonin transporter / B. Brenner, J. T. Harney, B. A. Ahmed [et al.] // *J Neurochem*. – 2007. – Vol. 102, № 1. – P. 206-215.

172. Platelet CD36 links hyperlipidemia, oxidant stress and a prothrombotic phenotype / E. A. Podrez, T. V. Byzova, M. Febbraio [et al.] // *Nat Med.* -2007. – Vol. 13, № 9. – P. 1086-1095.
173. Platelet Redox Imbalance in Hypercholesterolemia : A Big Problem for a Small Cell / A. Morotti, C. Barale, E. Melchionda [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2022. – Vol. 23, № 19. – P. e11446.
174. Platelets release pathogenic serotonin and return to circulation after immune complex-mediated sequestration / N. Cloutier, I. Allaey, G. Marcoux [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2018. – Vol. 115, № 7. – P. 1550-1559.
175. Platelet response to serotonin in patients with stable coronary heart disease / D. A. Kim, W. G. McClure, J. B. Neighoff [et al.] // *Am J Cardiol.* – 2014. – Vol. 114, № 2. – P. 181-186.
176. Prediction of subtle left ventricular systolic dysfunction in homozygous and heterozygous familial hypercholesterolemia: Genetic analyses and speckle tracking echocardiography study / E. Saracoglu, S. Kılıç, E. Vuruşkan [et al.] // *Echocardiography.* – 2018. – Vol. 35, № 9. – P. 1289-1299.
177. Predictors of elevated carotid intima-media thickness as a surrogate marker for cardiovascular disease in pediatric chronic kidney disease / E. Yulianti, R. Palupi-Baroto, S. Nugroho [et al.] // *PLoS One.* – 2025. – Vol. 20, № 8. – P. e0329412.
178. Presence of increased stiffness of the common carotid artery and endothelial dysfunction in severely obese children : a prospective study / P. Tounian, Y. Aggoun, B. Dubern [et al.] // *Lancet.* – 2001. – Vol. 358, № 9291. – P. 1400-1404.
179. Principles and Applications of Rabbit Models for Atherosclerosis Research / J. Fan, Y. Chen, H. Yan [et al.] // *J Atheroscler Thromb.* – 2018. – Vol. 25, № 3. – P. 213-220.
180. Prospective study of sarpogrelate hydrochloride on patients with arteriosclerosis obliterans / S. Ren, S. Qian, W. Wang [et al.] // *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* – 2013. – Vol. 19, № 1. – P. 30-34.
181. Pulse wave velocity and augmentation index, but not intima-media thickness, are early indicators of vascular damage in hypercholesterolemic children / S. Riggio, G.

Mandraffino, M. A. Sardo [et al.] // *Eur J Clin Invest.* – 2010. – Vol. 40, № 3. – P. 250-257.

182. Pulse wave velocity as a measure of arterial stiffness in patients with familial hypercholesterolemia: a systematic review and meta-analysis / Ž. Reiner, L. E. Simental-Mendía, M. Ruscica [et al.] // *Arch Med Sci.* – 2019. – Vol. 15, № 6. – P. 1365-1374.

183. Quantification of serotonin and eight of its metabolites in plasma of healthy volunteers by mass spectrometry / P. J. Eugster, M. Dunand, B. Grund [et al.] // *Clin Chim Acta.* – 2022. – Vol. 535. – P. 19-26.

184. Recommendations for Improving and Standardizing Vascular Research on Arterial Stiffness: A Scientific Statement From the American Heart Association / R. R. Townsend, I. B. Wilkinson, E. L. Schiffrin [et al.] // *Hypertension.* – 2015. – Vol. 66, № 3. – P. 698-722.

185. Recommendation on Design, Execution, and Reporting of Animal Atherosclerosis Studies: A Scientific Statement From the American Heart Association / A. Daugherty, A. R. Tall, M. J. Daemen [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2017. – Vol. 37, № 9. – P. 131-157.

186. Reference intervals of aortic pulse wave velocity assessed with an oscillometric device in healthy children and adolescents from Argentina / A. Díaz, Y. Zócalo, D. Bia [et al.] // *Clin Exp Hypertens.* – 2019. – Vol. 41, № 2. – P. 101-112.

187. Reference values of aortic pulse wave velocity in a large healthy population aged between 3 and 18 years / E. V. Hidvégi, M. Illyés, B. Benczúr [et al.] // *J. Hypertens.* – 2012. – № 30. – P. 2314-2321.

188. Refinement of the diagnostic approach for the identification of children and adolescents affected by familial hypercholesterolemia : Evidence from the LIPIGEN study / M. Casula, M. Gazzotti, M. E. Capra [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2023. – Vol. 385. – P. e117231.

189. Research methods for animal models of atherosclerosis (Review) / Y. Zhang, M. Fatima, S. Hou [et al.] // *Mol Med Rep.* – 2021. – Vol. 24, № 6. – P. e871.

190. Risk factors identified in childhood and decreased carotid artery elasticity in adulthood: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study / M. Juonala, M. J. Järvisalo, N. Mäki-Torkko [et al.] // *Circulation*. – 2005. – Vol. 112, № 10. – P. 1486-1493.
191. Role of Serotonin, Membrane Transporter, and 5-HT<sub>2</sub> Receptors in Pathogenesis of Atherosclerotic Plaque Formation in Immature Heterozygous Low-Density Lipoprotein-Receptor-Deficient Mice / D. Sadykova, R. Nigmatullina, K. Salakhova [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2025. – Vol. 26, № 13. – P. e6184.
192. Role of 5-HT<sub>2B</sub> receptors in cardiomyocyte apoptosis in noradrenaline-induced cardiomyopathy in rats / C. F. Bai, J. C. Liu, R. Zhao [et al.] // *Clin Exp Pharmacol Physiol*. – 2010. – Vol. 37, № 7. – P. 145-151.
193. Rudnick, G. Active transport of 5-hydroxytryptamine by plasma membrane vesicles isolated from human blood platelets / G. Rudnick // *J Biol Chem*. – 1977. – Vol. 252, № 7. – P. 2170-2174.
194. Ruggeri, Z. M. Adhesion mechanisms in platelet function / Z. M. Ruggeri, G. L. Mendolicchio // *Circ Res*. – 2007. – Vol. 100, № 12. – P. 1673-1685.
195. Salmasi, A. M. Impaired left ventricular diastolic function during isometric exercise in asymptomatic patients with hyperlipidaemia / A. M. Salmasi, P. Frost, M. Dancy // *Int J Cardiol*. – 2004. – Vol. 95, № 2. – P. 275-280.
196. Sarpogrelate HCl, a selective 5-HT<sub>2A</sub> antagonist, retards the progression of atherosclerosis through a novel mechanism / T. Hayashi, D. Sumi, H. Matsui-Hirai [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2003. – Vol. 168, № 1. – P. 23-31.
197. Scanlon, S. M. Membrane cholesterol modulates serotonin transporter activity / S. M. Scanlon, D. C. Williams, P. Schloss // *Biochemistry*. – 2001. – Vol. 40, № 35. – P. 10507-10513.
198. Schefelker, J. M. Screening and Management of Dyslipidemia in Children and Adolescents / J. M. Schefelker, A. L. Peterson // *J Clin Med*. – 2022. – Vol. 11, № 21. – P. e6479.
199. Schreyer, S. A. C57BL/6 mice fed high fat diets as models for diabetes-accelerated atherosclerosis / S. A. Schreyer, D. L. Wilson, R. C. LeBoeuf // *Atherosclerosis*. – 1998. – Vol. 136, № 1. – P. 17-24.

200. Serotonin : a platelet hormone modulating cardiovascular disease / M. Rieder, N. Gauchel, C. Bode [et al.] // *J Thromb Thrombolysis*. – 2021. – Vol. 52, № 1. – P. 42-47.
201. Serotonin, hematopoiesis and stem cells / G. Fouquet, T. Coman, O. Hermine [et al.] // *Pharmacol Res*. – 2019. – Vol. 140. – P. 67-74.
202. Serotonin Receptors in Myocardial Infarction: Friend or Foe? / F. S. Bahr, M. Ricke-Hoch, E. Ponimaskin [et al.] // *ACS Chem Neurosci*. – 2024. – Vol. 15, № 8. – P. 1619-1634.
203. Serotonin transporter regulation by cholesterol-independent lipid signaling / C. M. Deveau, E. Rodriguez, A. Schroering [et al.] // *Biochem Pharmacol*. – 2021. – Vol. 183. – P. e114349.
204. Serotonylation of small GTPases is a signal transduction pathway that triggers platelet alpha-granule release / D. J. Walther, J. U. Peter, S. Winter [et al.] // *Cell*. – 2003. – Vol. 115, № 7. – P. 851-862.
205. Small rodent models of atherosclerosis / Y. Zhao, H. Qu, Y. Wang [et al.] // *Biomed Pharmacother* – 2020. – Vol. 129. – P. e110426.
206. Specialized Pro-Resolving Lipid Mediators : New Therapeutic Approaches for Vascular Remodeling / L. S. Díaz Del Campo, R. Rodrigues-Díez, M. Salaiques [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2022. – Vol. 23, № 7. – P. e3592.
207. Stimulation of aortic smooth muscle cell mitogenesis by serotonin / G. M. Nemecek, S. R. Coughlin, D. A. Handley [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 1986. – Vol. 83, № 3. – P. 674-678.
208. Structure, dynamics and lipid interactions of serotonin receptors: excitements and challenges / P. Sarkar, S. Mozumder, A. Bej [et al.] // *Biophys Rev*. – 2020. – Vol. 13, № 1. – P. 101-122.
209. Structure, Function, and Pharmaceutical Ligands of 5-Hydroxytryptamine 2B Receptor / Q. Wang, Y. Zhou, J. Huang [et al.] // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2021. – Vol. 14, № 2. – P. e76.
210. Substrate binding and translocation of the serotonin transporter studied by docking and molecular dynamics simulations / M. Gabrielsen, A. W. Ravna, K. Kristiansen [et al.] // *J Mol Model*. – 2012. – Vol. 18, № 3. – P. 1073-1085.

211. Sugden, P. H. Signaling pathways activated by vasoactive peptides in the cardiac myocyte and their role in myocardial pathologies / P. H. Sugden // *J Card Fail.* – 2002. – Vol. 8, № 6. – P. 359-369.
212. T102C polymorphism of the serotonin (5-HT) 2A receptor gene in patients with non-fatal acute myocardial infarction / S. Yamada, H. Akita, K. Kanazawa [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2000. – Vol. 150, № 1. – P. 143-148.
213. Tandirerung, F. J. Does Genotype Affect the Efficacy of PCSK9 Inhibitors in the Treatment of Familial Hypercholesterolemia? / F. J. Tandirerung // *Cardiovasc Drugs Ther.* – 2025. – Vol. 39, № 2. – P. 405-413.
214. Targeted inhibition of the serotonin 5HT2A receptor improves coronary patency in an in vivo model of recurrent thrombosis / K. Przyklenk, A. L. Frelinger, M. D. Linden [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2010. – Vol. 8, № 2. – P. 331-340.
215. The clinical relevance of the reversal of coronary atherosclerotic plaque / A. Cesaro, V. Acerbo, C. Indolfi [et al.] // *Eur J Intern Med.* – 2024. – Vol. 129. – P. 16-24.
216. The Effect of Long-Term Atorvastatin Therapy on Carotid Intima-Media Thickness of Children With Dyslipidemia / G. Karapostolakis, M. Vakaki, A. Attilakos [et al.] // *Angiology.* – 2021. – Vol. 72, № 4. – P. 322-331.
217. The existence of a local 5-hydroxytryptaminergic system in peripheral arteries/ W. Ni, T. J. Geddes, J. R. Priestley [et al.] // *Br J Pharmacol.* – 2008. – Vol. 154. – № 3. – P. 663-674.
218. The Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk : A Compass for Future Health / M. Vaduganathan, G. A. Mensah, J. V. Turco [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2022. – Vol. 80, № 25. – P. 2361-2371.
219. The Impact of the Blood Lipids Levels on Arterial Stiffness / M. Baba, M. Maris, D. Jianu [et al.] // *J Cardiovasc Dev Dis.* – 2023. – Vol. 10, № 3. – P. e127.
220. The Importance of Arterial Stiffness Assessment in Patients with Familial Hypercholesterolemia / B. Kovács, O. Cseprekál, A. Diószegi [et al.] // *J Clin Med.* – 2022. – Vol. 11, № 10. – P. e2872.

221. The importance of serotonin level in the diagnosis of familial hypercholesterolemia in children / K. R. Salakhova, D. I. Sadykova, E. S. Slastnikova [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2024. – Vol. 395. – P. 130.
222. The MARTINI force field: coarse grained model for biomolecular simulations / S. J. Marrink, H. J. Risselada, S. Yefimov [et al.] // *J Phys Chem B*. – 2007. – Vol. 111, № 27. – P. 7812-7824.
223. The nitrite/elastin reaction: implications for in vivo degenerative effects / D. C. Paik, W. G. Ramey, J. Dillon [et al.] // *Connect Tissue Res*. – 1997. – Vol. 36, № 3. – P. 241-251.
224. The Role of Vascular Smooth Muscle Cells in Arterial Remodeling: Focus on Calcification-Related Processes / A. Jaminon, K. Reesink, A. Kroon [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2019. – Vol. 20, № 22. – P. e5694.
225. The system of serotonin and its metabolism in platelets in children with congenital heart defects of an early age / F. Mindubayeva, Y. Niyazova, S. Kabiyeva [et al.] // *Georgian Medical News*. – 2020. – Vol. 298. – P. 42-46.
226. The WHO Child Growth Standards // WHO: site. – URL: <https://www.who.int/tools/child-growth-standards/standards> (accessed 17.09.2025).
227. Toft-Nielsen, F. Familial Hypercholesterolemia Prevalence Among Ethnicities-Systematic Review and Meta-Analysis / F. Toft-Nielsen, F. Emanuelsson, M. Benn // *Front Genet*. – 2022. – Vol. 13. – P. e840797.
228. Townsend, R. R. Arterial Stiffness: Recommendations and Standardization / R. R. Townsend // *Pulse (Basel)*. – 2017. – Vol. 1. – P. 3-7.
229. Transcardiac serotonin concentration is increased in selected patients with limiting angina and complex coronary lesion morphology / E. K. van den Berg, J. M. Schmitz, C. R. Benedict [et al.] // *Circulation*. – 1989. – Vol. 79, № 1. – P. 116-124.
230. Transgenic expression of fatty acid transport protein 1 in the heart causes lipotoxic cardiomyopathy / H. C. Chiu, A. Kovacs, R. M. Blanton [et al.] // *Circ Res*. – 2005. – Vol. 96, № 2. – P. 225-233.

231. Twenty-Four-Hour Ambulatory Pulse Wave Analysis in Hypertension Management: Current Evidence and Perspectives / S. Omboni, I. N. Posokhov, Y. V. Kotovskaya [et al.] // *Curr Hypertens Rep.* – 2016. – Vol. 18, № 10. – P. e72.
232. Universal Screening for Familial Hypercholesterolemia in Children / G. Klančar, U. Grošelj, J. Kovač [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2015. – Vol. 66, № 11. – P. 1250-1257.
233. Universal versus targeted blood cholesterol screening among youth : The CARDIAC project / S. K. Ritchie, E. C. Murphy, C. Ice [et al.] // *Pediatrics.* – 2010. – Vol. 126, № 2. – P. 260-265.
234. VAMP8 and serotonin transporter levels are associated with venous thrombosis risk in a Spanish female population. Results from the RETROVE Project / D. Llobet, C. Vallvé, I. Tirado [et al.] // *Thromb Res.* – 2019. – Vol. 181. – P. 99-105.
235. Vascular Aging and Arterial Stiffness / L. R. Mikael, A. M. Paiva, M. M. Gomes [et al.] // *Arq Bras Cardiol.* – 2017. – Vol. 109, № 3. – P. 253-258.
236. Vascular smooth muscle cell phenotypic switching in atherosclerosis / Y. Yu, Y. Cai, F. Yang [et al.] // *Heliyon.* – 2024. – Vol. 10, № 18. – P. e37727.
237. Vascular smooth muscle proliferation : synergistic interaction between serotonin and low density lipoproteins / S. Koba, R. Pakala, T. Watanabe [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 1999. – Vol. 34, № 5. – P. 1644-1651.
238. Vascular Stiffness in Aging and Disease / S. F. Vatner, J. Zhang, C. Vyzas [et al.] // *Front Physiol.* – 2021. – Vol. 12. – P. e762437.
239. Vikenes, K. Serotonin is associated with coronary artery disease and cardiac events / K. Vikenes, M. Farstad, J. E. Nordrehaug // *Circulation.* – 1999. – Vol. 100, № 5. – P. 483-489.
240. Vlachopoulos, C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness : a systematic review and meta-analysis / C. Vlachopoulos, K. Aznaouridis, C. Stefanadis // *J Am Coll Cardiol.* – 2010. – Vol. 55, № 13. – P. 1318-1327.
241. Watts, S. W. 5-HT in systemic hypertension: foe, friend or fantasy? / S. W. Watts // *Clin Sci (Lond).* – 2005. – Vol. 108, № 5. – P. 399-412.

242. Western-type diets induce insulin resistance and hyperinsulinemia in LDL receptor-deficient mice but do not increase aortic atherosclerosis compared with normoinsulinemic mice in which similar plasma cholesterol levels are achieved by a fructose-rich diet / S. Merat, F. Casanada, M. Sutphin [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 1999. – Vol. 19, № 5. – P. 1223-1230.
243. Worldwide Prevalence of Familial Hypercholesterolemia : Meta-Analyses of 11 Million Subjects / S. O. Beheshti, C. M. Madsen, A. Varbo [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2020. – Vol. 75, № 20. – P. 2553-2566.
244. Yildiz, O. Serotonin and vasoconstrictor synergism / O. Yildiz, J. R. Smith, R. E. Purdy // *Life Sci.* – 1998. – Vol. 62, № 19. – P. 1723-1732.
245. 5-HT<sub>2A</sub> Receptor and 5-HT Degradation Play a Crucial Role in Atherosclerosis by Modulating Macrophage Foam Cell Formation, Vascular Endothelial Cell Inflammation, and Hepatic Steatosis / Y. Ma, X. Liang, C. Li [et al.] // *J Atheroscler Thromb.* – 2022. – Vol. 29, № 3. – P. 322-336.

## СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

Рисунок 1 – Схема синтеза серотонина в энтерохромаффинных клетках кишечника.....	26
Рисунок 2 – Дизайн диссертационного исследования.....	37
Таблица 1 – Состав рабочего раствора.....	47
Таблица 2 - Характеристика используемых моноклональных антител .....	49
Таблица 3 - Основные характеристики исследуемых групп.....	56
Таблица 4 - Лабораторные показатели обследуемых детей.....	56
Рисунок 3 - Уровень общего холестерина и ХС ЛПНП у обследуемых детей.....	57
Таблица 5 - Липидный профиль обследуемых детей.....	58
Таблица 6 - Показатели эхокардиографического исследования обследуемых детей.....	59
Таблица 7 - Гемодинамические параметры сердца обследованных детей.....	59
Таблица 8 - Структурно-функциональные параметры сердца обследованных детей .....	60
Таблица 9 - Показатели суточного мониторирования артериального давления обследованных детей .....	61
Рисунок 4 - Минимальная, средняя и максимальная скорость пульсовой волны в аорте (СПВмин, СПВср, СПВмакс) у детей основной и контрольной групп .....	63
Таблица 10 - Результаты СМАД с оценкой параметров артериальной ригидности с использованием диагностической системы VPLab с технологией Vasotens® у детей обследуемых групп .....	64
Таблица 11 - Корреляция между основными показателями липидограммы и СПВ у детей .....	65
Рисунок 5 - Толщина комплекса интима-медиа правой и левой общей сонной артерии у детей обследуемых групп .....	66
Таблица 12 - Значения концентрации серотонина, его метаболита и переносчика у детей обследуемых групп .....	67

Таблица 13 - Корреляция между концентрацией серотонина в плазме крови и показателями липидограммы у детей.....	68
Таблица 14 - Корреляция между концентрацией серотонина в плазме крови и маркерами сосудистого ремоделирования у детей .....	69
Таблица 15 - Корреляция между концентрацией серотонина в тромбоцитах, показателями липидограммы, ТКИМ и инструментальными маркерами артериальной жесткости у детей .....	70
Таблица 16 - Корреляция между концентрацией 5-ГИУК в плазме крови, показателями липидограммы, ТКИМ и инструментальными маркерами артериальной ригидности у детей.....	71
Рисунок 6 – Корреляция между концентрацией мембранного переносчика в тромбоцитах и показателями серотонина, 5-ГИУК.....	72
Таблица 17 - Корреляция между концентрацией SERT в тромбоцитах, показателями липидограммы, ТКИМ и инструментальными маркерами артериальной ригидности у детей .....	72
Таблица 18 - Сравнительный анализ результатов исследования у пациентов с СГХС в зависимости от СПВ .....	74
Таблица 19 - Сравнительный анализ результатов исследования у пациентов с СГХС в зависимости от ТКИМ.....	75
Таблица 20 - Характеристики связи предикторов модели с шансами выявления ремоделирования сосудов у детей.....	76
Рисунок 7 – Оценки отношения шансов с 95% ДИ для изучаемых предикторов сосудистого ремоделирования.....	77
Рисунок 8 – Анализ чувствительности и специфичности модели в зависимости от пороговых значений оценок вероятности наличия сосудистого ремоделирования у детей.....	78
Таблица 21 - Результаты общего анализа крови мышей Ldlr +/- и мышей группы контроля.....	79
Рисунок 9 - Уровень общего холестерина у мышей Ldlr +/- и мышей группы контроля.....	80

Таблица 22 - Значения показателей серотонина, его метаболита и мембранного переносчика у мышей Ldlr +/- и мышей группы контроля.....	80
Рисунок 10 – Концентрация 5-ГИУК в плазме крови и тромбоцитах у мышей Ldlr +/- и мышей группы контроля.....	82
Таблица 23 - Корреляция между концентрацией серотонина, 5-ГИУК, мембранного переносчика и уровнем общего холестерина, тромбоцитов.....	83
Таблица 24 – Корреляция между экспрессией мРНК рецептора 5-НТ2А и общим холестерином, показателями серотонинергической системы у экспериментальных животных.....	85
Рисунок 11 – Реакция силы сокращения миокарда левого желудочка мышей основной группы и группы контроля на серотонин.....	87
Таблица 25 – Влияние серотонина на силу сокращения, время сокращения и длительность расслабления миокарда левого желудочка у мышей Ldlr +/- и мышей группы контроля.....	89
Рисунок 12 - Нормальная гистологическая структура аорты мышей: 1 –внутренняя оболочка, 2 – средняя оболочка, 3 – адвентициальная оболочка. Контрольная группа. Окраска гематоксилином и эозином. х 400.....	90
Рисунок 13 - Экспрессия МКАТ против SERT в аорте мышей (1). Контрольная группа. LSAB-метод с докраской гематоксилином. х 400.....	91
Рисунок 14 - Экспрессия МКАТ против SERT в эндотелии сосудов миокарда мышей (1). Контрольная группа. LSAB-метод с докраской гематоксилином. х 400.....	92
Рисунок 15 - Экспрессия МКАТ против SERT в кардиомиоцитах мышей (1). Контрольная группа. LSAB-метод с докраской гематоксилином. х 400.....	93
Рисунок 16 - Отложение эозинофильных гиалиноподобных масс (1) в интиме аорты. 2 – просвет сосуда, 3 – адвентициальная оболочка. Основная группа. Окраска гематоксилином и эозином. х 200.....	94
Рисунок 17 - Деталь рисунка 16. х 400.....	94

Рисунок 18 - Скопление липидов в виде очаговой инфильтрации с началом формирования атеросклеротической бляшки (1), выбухающей в просвет (2) аорты. Основная группа. Окраска гематоксилином и эозином. x 200.....	95
Рисунок 19 - Деталь рисунка 18. Ксантомные клетки (1), липиды (2). x 400.....	96
Рисунок 20 - Липиды в интиме аорты. Основная группа. Окраска Суданом III. x 400.....	96
Таблица 26 - Содержание ИГХ-позитивных клеточных элементов в интиме и средней оболочке аорты (в % от общего числа клеток, $M \pm SD$ ).....	97
Рисунок 21 - Экспрессия МКАТ против 5-HT <sub>2A</sub> в аорте. Основная группа. LSAB-метод с докраской гематоксилином. x 400.....	97
Рисунок 22 - Экспрессия МКАТ против 5-HT <sub>2B</sub> в аорте. Основная группа. LSAB-метод с докраской гематоксилином. x 400.....	98
Рисунок 23 - То же наблюдение, что на рисунке 16. Выраженная реакция МКАТ против SERT (1) в зоне отложения гиалиноподобных масс (2). Основная группа. LSAB-метод с докраской гематоксилином. x 200.....	98
Рисунок 24 - Деталь рисунка 23. x 400.....	99
Рисунок 25 - Липиды (1) в строме миокарда. Основная группа. Окраска Суданом III. x 400.....	99
Таблица 27 - Площадь липидов в интиме и средней оболочке аорты, а также в эндокарде и миокарде левого желудочка сердца (в % от общей площади среза, $M \pm SD$ ).....	100
Таблица 28 - Содержание ИГХ-позитивных клеточных элементов в эндокарде и миокарде левого желудочка сердца (в % от общего числа клеток, $M \pm SD$ ).....	100
Рисунок 26 - Экспрессия МКАТ против 5-HT <sub>2A</sub> в миокарде. Основная группа. LSAB-метод с докраской гематоксилином. x 400.....	100
Рисунок 27 - Экспрессия МКАТ против 5-HT <sub>2B</sub> в миокарде. Основная группа. LSAB-метод с докраской гематоксилином. x 400.....	101
Рисунок 29 – Механизм формирования сосудистого ремоделирования при участии серотонинергической системы.....	120

## Приложение 1 – Калькулятор вероятности наличия сосудистого ремоделирования у детей с гетерозиготной СГХС

Ссылка на интернет-ресурс с доступом к калькулятору <https://fluctio.ru/calc/calc.html>

### Оценка риска неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у детей с семейной гиперхолестеринемией

Общий холестерин (ммоль/л) – ОХ:	<input type="text" value="0.0"/>
Холестерин ЛПВП (ммоль/л) – ЛПВП:	<input type="text" value="0.0"/>
Холестерин ЛПНП (ммоль/л) – ЛПНП:	<input type="text" value="0.0"/>
Триглицериды (ммоль/л) – ТГ:	<input type="text" value="0.0"/>
5-гидроксииндолуксусная кислота (пмоль/мл) – 5-НИАА:	<input type="text" value="0.0"/>
Серотонин (пмоль/мл) – 5-НТ:	<input type="text" value="0.0"/>
Возраст (лет)	<input type="text" value="0"/>

Результат (%):