

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

академик РАН Л. С. Барбараш (Кемерово, РФ)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

зам. гл. редактора д-р мед. наук, чл.-корр. РАН О. Л. Барбараш (Кемерово, РФ)

зам. гл. редактора д-р мед. наук, проф. Г. В. Артамонова (Кемерово, РФ)

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР

д-р мед. наук, проф. РАН Е. В. Григорьев (Кемерово, РФ)

ЧЛЕНЫ РЕДКОЛЛЕГИИ

академик РАН Б. Г. Алякян (Москва, РФ)
д-р мед. наук, проф. О. Ю. Александрова (Москва, РФ)
академик РАН Л. И. Афтанас (Новосибирск, РФ)
д-р мед. наук, проф. С. А. Бернс (Кемерово, РФ)
чл.-корр. РАН С. А. Бойцов (Москва, РФ)
академик РАН М. И. Воевода (Новосибирск, РФ)
д-р мед. наук В. И. Ганюков (Кемерово, РФ)
д-р мед. наук, проф. А. А. Гарганеева (Томск, РФ)
д-р мед. наук, проф. А. И. Грицан (Красноярск, РФ)
д-р мед. наук О. В. Груздева (Кемерово, РФ)
д-р мед. наук, проф. И. М. Давидович (Хабаровск, РФ)
д-р мед. наук С. В. Иванов (Кемерово, РФ)
академик РАН Р. С. Карпов (Томск, РФ)
д-р мед. наук В. В. Кашталап (Кемерово, РФ)
д-р мед. наук, проф. М. Ю. Киров (Архангельск, РФ)
д-р мед. наук О. В. Корпачева (Омск, РФ)
д-р мед. наук, проф. Е. Д. Космачева (Краснодар, РФ)
д-р биол. наук Ю. А. Кудрявцева (Кемерово, РФ)
чл.-корр. РАН В. В. Ломиворотов (Новосибирск, РФ)
чл.-корр. РАН Ю. Б. Лишманов (Томск, РФ)
д-р мед. наук С. А. Макаров (Кемерово, РФ)

д-р мед. наук С. Е. Мамчур (Кемерово, РФ)
д-р мед. наук, проф. Л. Н. Маслов (Томск, РФ)
академик РАН Ю. П. Никитин (Новосибирск, РФ)
академик РАН С. В. Попов (Томск, РФ)
академик РАН В. П. Пузырев (Томск, РФ)
д-р мед. наук, проф. В. А. Руднов (Екатеринбург, РФ)
д-р мед. наук, проф. А. Б. Салмина (Красноярск, РФ)
д-р мед. наук, проф. И. В. Самородская (Москва, РФ)
д-р мед. наук, проф. И. И. Староверов (Москва, РФ)
д-р мед. наук А. Н. Сумин (Кемерово, РФ)
д-р мед. наук Р. С. Тарасов (Кемерово, РФ)
д-р мед. наук, проф. А. Т. Тепляков (Томск, РФ)
академик РАН И. Е. Чазова (Москва, РФ)
д-р мед. наук, проф. А. М. Чернявский (Новосибирск, РФ)
д-р мед. наук, проф. Г. А. Чумакова (Барнаул, РФ)
д-р мед. наук, проф. С. П. Чумакова (Томск, РФ)
д-р мед. наук, проф. Е. Ю. Шерстобоев (Томск, РФ)
д-р мед. наук, проф. В. М. Шипулин (Томск, РФ)
академик РАН Е. В. Шляхто (Санкт-Петербург, РФ)
д-р мед. наук Д. Л. Шукевич (Кемерово, РФ)

МЕЖДУНАРОДНЫЙ РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

д-р биол. наук, проф. А. В. Баранова (Вирджиния, США)
д-р Дж. А. Рейсс (Вашингтон, США)
проф. А. М. Сейфалиан (Лондон, Англия)
д-р биол. наук, проф. И. Г. Халиулин (Бристоль, Англия)
д-р мед. наук, проф. Я. Л. Эльгудин (Кливленд, США)
д-р мед. наук, Э. Миррахимов (Бишкек, Кыргызстан)
д-р мед. наук, проф. Г. Виджейрагхаван (Тируванантапурам, Индия)

Журнал «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор). Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № ФС77-63011 от 10 сентября 2015 г.

Учредитель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Кемеровская обл., г. Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6).

Решением Высшей аттестационной комиссии (ВАК) Министерства образования и науки РФ научно-практический рецензируемый журнал «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний» включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых рекомендована публикация основных результатов диссертационных исследований на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук по следующим специальностям: 14.01.05 Кардиология, 14.01.26 Сердечно-сосудистая хирургия, 14.01.04 Внутренние болезни.

Полнотекстовые версии всех номеров размещены на веб-сайте журнала в разделе архив (<https://www.nii-kpssz.com/jour/issue/archive>), в Научной электронной библиотеке: www.elibrary.ru и Научной электронной библиотеке «CYBERLENINKA» www.cyberleninka.ru. Правила публикации авторских материалов: <https://www.nii-kpssz.com/jour/about/submissions#authorGuidelines> Информация о подписке: <https://www.nii-kpssz.com/jour/index>. Подписка по каталогу «Роспечать»: индекс подписки – 25217.

Воспроизведение опубликованных материалов без письменного согласия редакции не допускается. Авторские материалы могут не отражать точку зрения редакции. Ответственность за достоверность информации в рекламных публикациях несет рекламодатель.

Периодичность: четыре раза в год. План-график выхода номеров в текущем году представлен на веб-сайте журнала (<https://www.nii-kpssz.com/jour/index>).

EDITOR-IN-CHIEF

RAS academician L. S. Barbarash (Kemerovo, RF)

ASSOCIATE EDITORS

RAS cor. member O. L. Barbarash (Kemerovo, RF)
PhD, Prof. G. V. Artamonova (Kemerovo, RF)

PUBLISHING EDITOR

PhD, RAS Prof. E. V. Grigoriev (Kemerovo, RF)

EDITORIAL BOARD

RAS academician B. G. Alekyan (Moscow, RF)
PhD, Prof. O. Yu. Aleksandrova (Moscow, RF)
RAS academician L. I. Aftanas (Novosibirsk, RF)
PhD., Prof. S. A. Berns (Kemerovo, RF)
RAS cor. member S. A. Boytsov (Moscow, RF)
RAS academician I. E. Chazova (Moscow, RF)
PhD, Prof. A. M. Chernyavsky (Novosibirsk, RF)
PhD, Prof. G. A. Chumakova (Barnaul, RF)
PhD, Prof. S.P. Chumakova (Tomsk, RF)
PhD, Prof. I. M. Davidovich (Khabarovsk, RF)
PhD V. I. Ganyukov (Kemerovo, RF)
PhD, Prof. A. A. Garganeeva (Tomsk, RF)
PhD, Prof. A.I. Grican (Krasnoyarsk, RF)
PhD O. V. Gruzdeva (Kemerovo, RF)
PhD S. V. Ivanov (Kemerovo, RF)
RAS academician R. S. Karpov (Tomsk, RF)
PhD. V. V. Kashtalap (Kemerovo, RF)
PhD, Prof. M.Yu. Kirov (Arkhangelsk, RF)
PhD O.V. Korpacheva (Omsk, RF)
PhD., Prof. E. D. Kosmacheva (Krasnodar, RF)
PhD Yu. A. Kudryavtseva (Kemerovo, RF)

RAS cor. member Yu. B. Lishmanov (Tomsk, RF)
RAS cor. member V.V. Lomivorotov (Novosibirsk, RF)
PhD S. A. Makarov (Kemerovo, RF)
PhD S. E. Mamchur (Kemerovo, RF)
PhD, Prof. L.N. Maslov (Tomsk, RF)
RAS academician Yu. P. Nikitin (Novosibirsk, RF)
RAS academician S. V. Popov (Tomsk, RF)
RAS academician V. P. Puzyrev (Tomsk, RF)
PhD, Prof. V.A. Rudnov (Yekaterinburg, RF)
PhD, Prof. A.B. Salmina (Krasnoyarsk, RF)
PhD, Prof. I. V. Samorodskaya (Moscow, RF)
PhD, Prof. E.YU. Sherstoboev (Tomsk, RF)
PhD, Prof. V. M. Shipulin (Tomsk, RF)
RAS academician E. V. Shlyakhto (Saint Petersburg, RF)
PhD D.L. Shukevich (Kemerovo, RF)
PhD, Prof. I. I. Staroverov (Moscow, RF)
PhD A. N. Sumin (Kemerovo, RF)
PhD R. S. Tarasov (Kemerovo, RF)
PhD, Prof. A. T. Teplyakov (Tomsk, RF)
RAS academician M. I. Voevoda (Novosibirsk, RF)

INTERNATIONAL ADVISORY BOARD

PhD, Associate Prof. A. V. Baranova (Virginia, USA)
PhD, Prof. I. G. Khaliulin (Bristol, UK)
MD, J. A. Reiss (Washington, USA)
Prof. A. M. Seifalian (London, UK)
PhD, Prof. Ya. L. Elgudin (Cleveland, USA)
PhD, E. Mirrakhimov (Bishkek, Kyrgyzstan)
PhD, Prof. G. Vijayaraghavan (Thiruvananthapuram, India)

This periodical has been registered with Federal Service for Supervision in the Sphere of Telecom, Information Technologies and Mass Communications (Roskomnadzor; PI № FC77-63011 issued of September 10, 2015).

Founder: Federal State Budgetary Institution «Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases» (Russian Federation, Kemerovo region, Kemerovo, 6, Sosnoviy Blvd., 650002).

The journal is recommended by the Russian Highest Certifying Commission for publication of the results of degree theses on the following disciplines: 14.01.05 Cardiology, 14.01.26 Cardiovascular Surgery, 14.01.04 Internal diseases.

Complete versions of all issues are published in the archive on the journal's official web-site (<https://www.nii-kpssz.com/jour/issue/archive>), Scientific Electronic Library (www.elibrary.ru) and open-access Research Electronic Library «CYBERLENINKA» www.cyberleninka.ru. Authors guidelines: <https://www.nii-kpssz.com/jour/about/submissions#authorGuidelines>

For subscription: <https://www.nii-kpssz.com/jour/index>. The subscription index in the catalog «Newspapers. Journals» Rospechat – 25217.

Reprints of the published content without written approval of the editors is not allowed. Author's manuscripts may not reflect the point of view of the editorial board. The advertiser is responsible for the reliability of information provided in the advertisements.

Published: 4 issues per year. The schedule is presented in the web-site (<https://www.nii-kpssz.com/jour/index>)

ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ		EDITORIAL	
ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ / INTERNAL MEDICINE			
Е.Д. Баздырев Коронавирусная инфекция – актуальная проблема XXI века	6	E.D. Bazdyrev Coronavirus disease: a global problem of the 21st century	
КАРДИОЛОГИЯ / CARDIOLOGY			
О.Л. Барбараш, В.Н. Каретникова, В.В. Кашталап, Т.Н. Зверева, А.М. Кочергина Новая коронавирусная болезнь (COVID-19) и сердечно-сосудистые заболевания	17	O.L. Barbarash, V.N. Karetnikova, V.V. Kashtalap, T.N. Zvereva, A.M. Kochergina New coronavirus disease (COVID-19) and cardiovascular disease	
ДАЙДЖЕСТ		RESEARCH DIGEST	
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТАЯ ХИРУРГИЯ / CARDIOVASCULAR SURGERY			
О.Л. Барбараш, В.Н. Каретникова, В.В. Кашталап, Т.Н. Зверева, А.М. Кочергина, Н.А. Кочергин Новости конгресса Американского колледжа кардиологов в 2020 году	29	O.L. Barbarash, V.N. Karetnikova, V.V. Kashtalap, T.N. Zvereva, A.M. Kochergina, N.A. Kochergin The Congress of the American College of Cardiology in review	
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ		ORIGINAL STUDIES	
КАРДИОЛОГИЯ / CARDIOLOGY			
С.В. Михайлова, Д.Е. Иваношчук, Н.С. Широкова, Е.В. Шахтшнейдер Полиморфизм гена <i>APOA5</i> у пациентов с первичной гиперлипидемией.	38	S.V. Mikhailova, D.E. Ivanoshchuk, N.S. Shirokova, E.V. Shakhtshneider Polymorphism of the <i>APOA5</i> gene in patients with primary hyperlipidemia	
М.Д. Зверева, О.С. Сабурова, И.С. Мельников, С.Г. Козлов, З.А. Габбасов Современные возможности определения и применения в клинике мономера С-реактивного белка	45	M.D. Zvereva, O.S. Saburova, I.S. Melnikov, S.G. Kozlov, Z.A. Gabbasov Monomeric C-reactive protein in coronary artery disease	
А.И. Масляницына, И.М. Каданова, А.И. Незнанов, П.Б. Ермолинский, Ю.И. Гурфинкель, А.А. Пигуренко, Л.И. Дячук, А.Е. Луговцов, А.В. Приезжев Микрореологические свойства крови и капиллярный кровоток при артериальной гипертензии и сахарном диабете второго типа: исследование оптическими методами <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>	53	A.I. Maslianitsyna, I.M. Kadanova, A.I. Neznanov, P.B. Ermolinskiy, Yu.I. Gurfinkel, A.A. Pigurenko, L.I. Dyachuk, A.E. Lugovtsov, A.V. Priezzhev Microreologic properties of blood and capillary blood flow in case of arterial hypertension and type 2 diabetes mellitus: <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> optical assessment	
ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ / INTERNAL MEDICINE			
Ю.И. Рагино, Н.А. Кузьминых, В.И. Облаухова, В.С. Шрамко, Д.В. Денисова, Л.В. Щербакова Характеристика факторов риска у молодых людей с ранней ишемической болезнью сердца на фоне абдоминального ожирения	64	Yu.I. Ragino, N.A. Kuzminykh, V.I. Oblaukhova, V.S. Shramko, D.V. Denisova, L.V. Shcherbakova Risk factor profile in young adults with early coronary artery disease and abdominal obesity	
ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ / PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY			
Е.А. Великанова, А.Г. Кутихин, В.Г. Матвеева, А.Е. Тупикин, М.Р. Кабилов, Л.В. Антонова Сравнение профиля генной экспрессии колониеформирующих эндотелиальных клеток из периферической крови человека и эндотелиальных клеток коронарной артерии	74	E.A. Velikanova, A.G. Kutikhin, V.G. Matveeva, A.E. Tupikin, M.R. Kabilov, L.V. Antonova Comparison of gene expression profiles of human peripheral blood derived endothelial colony-forming cells and coronary artery endothelial cells	

АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР		REVIEW	
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТАЯ ХИРУРГИЯ / CARDIOVASCULAR SURGERY			
М.Ю. Ханова, В.Г. Матвеева, Л.В. Антонова, Е.В. Григорьев Роль регуляторных Т-клеток в системном воспалительном ответе	82	M.Yu. Khanova, V.G. Matveeva, L.V. Antonova, E.V. Grigoriev Role of regulatory T-cells in the systemic inflammatory response syndrome	
ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ / PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY			
В.А. Хотина, В.Н. Сухоруков, Д.А. Каширских, И.А. Собенин, А.Н. Орехов Метаболизм холестерина в макрофагах	91	V.A. Khotina, V.N. Sukhorukov, D.A. Kashirskikh, I.A. Sobenin, A.N. Orekhov Cholesterol metabolism in macrophages	
Д.А. Каширских, В.А. Хотина, В.Н. Сухоруков, И.А. Собенин, А.Н. Орехов Клеточные и тканевые маркеры атеросклероза	102	D.A. Kashirskikh, V.A. Khotina, V.N. Sukhorukov, I.A. Sobenin, A.N. Orekhov Cell and tissue markers of atherosclerosis	
Д.В. Шарыш, А.В. Марков, М.С. Назаренко Получение клеточных суспензий артерий при атеросклерозе	114	D.V. Sharysh, A.V. Markov, M.S. Nazarenko Preparation of cell suspensions from arteries affected with atherosclerosis	

Уважаемые коллеги!

Приглашаем вас принять участие в формировании номеров на 2020 г.
Свои работы вы можете направить **через электронную редакцию** журнала по адресу
<https://www.nii-kpssz.com/jour/index>

Подаваемые рукописи необходимо оформить **по правилам редакции журнала**
<https://www.nii-kpssz.com/jour/about/submissions#authorGuidelines>

Тематика и график выхода номеров в 2020 г.:

№ 3/2020. Лучевая диагностика болезней системы кровообращения. Комплексные проблемы реабилитации

Прием статей осуществляется до 22 июля 2020 г.

Печатный номер будет опубликован 25 сентября 2020 г.

№ 4/2020. Поисковые научные исследования (кардиология, ССХ, патофизиология, внутренние болезни)

Прием статей осуществляется до 21 октября 2020 г.

Печатный номер будет опубликован 17 декабря 2020 г.

УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ, ДРУЗЬЯ!

Особенностями фундаментальной кардиологии и тканевой инженерии сердца и сосудов на современном этапе является активная интеграция достижений молекулярной и клеточной физиологии в трансляционную медицину. Прямым следствием этого являются широкое распространение персонифицированной диагностики и фармакотерапии и постепенное тестирование перспективных прототипов тканеинженерных имплантатов в доклинических испытаниях с планируемым внедрением лучших моделей в клиническую практику. Кроме того, современные интервенционная кардиология и кардиохирургия характеризуются неуклонно растущей долей малоинвазивных вмешательств с использованием нового поколения медицинских изделий, изготовленных из биосовместимых композиционных материалов с усовершенствованными биомеханическими характеристиками.

В данном номере журнала представлены экспертные обзорные статьи по проблемным аспектам биологии атеросклероза: метаболизму холестерина в макрофагах, молекулярным и клеточным маркерам прогрессирования атеросклеротических бляшек. Особое внимание обращаем на обзорно-методическую статью по дезагрегации артерий и атеросклеротических бляшек – одному из наиболее важных аспектов проведения экспериментов в области сосудистой биологии. Также несомненный интерес представляют результаты исследований патогенетических регенеративных маркеров при ишемической болезни сердца, отраженные в статьях научных коллективов Москвы. Перспективным способом терапии ишемических состояний является трансплантация аутологичных эндотелиальных клеток, предварительно дифференцированных *in vitro* из легко получаемой мононуклеарной фракции периферической крови.

Главный редактор академик РАН
Л.С. Барбараш



Значительное внимание в текущем номере журнала уделено вопросам коморбидных состояний, рассматриваемых как с позиции механизмов развития и взаимного отягощения, особенностей диагностики, так и управления рисками неблагоприятных исходов.

Главным испытанием этого года для всего человечества, безусловно, стала инфекция, вызванная коронавирусом нового типа, – COVID-19. Во второй номер нашего журнала единогласным решением редакционного совета вошли статьи, посвященные эпидемиологическим и кардиологическим аспектам COVID-19.

Доброго вам здоровья, продуктивной научной работы и спасенных жизней ваших пациентов, коллеги! Берегите себя.



УДК 616.98:578.834+616.12+616.24-008.4

DOI 10.17802/2306-1278-2020-9-2-6-16

КОРОНАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ – АКТУАЛЬНАЯ ПРОБЛЕМА XXI ВЕКА

Е.Д. Баздырев ✉

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Сосновский бульвар, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Основные положения

- Новый штамм коронавируса, SARS-CoV-2, – возбудитель острого инфекционного заболевания Coronavirus disease 2019 (COVID-19) – обнаружен более чем в 200 странах мира.

Резюме

В декабре 2019 г. в Китае зарегистрирована серия необъяснимых случаев пневмонии. Последующие исследования выявили новый штамм коронавируса – SARS-CoV-2, который является возбудителем острого инфекционного заболевания Coronavirus disease 2019 (COVID-19). За короткий период времени эпидемия новой коронавирусной инфекции переросла в пандемию, охватившую более 200 стран мира. Представленный обзор включает актуальные данные по этиологии, эпидемиологии, патогенезу, клиническим проявлениям, принципам диагностики и лечения коронавирусной инфекции нового типа, а также отражает представления о влиянии COVID-19 на сердечно-сосудистую систему.

Ключевые слова

Коронавирусная инфекция • COVID-19 • SARS-CoV-2 • Пандемия • Сердечно-сосудистые заболевания • Острый респираторный дистресс-синдром

Поступила в редакцию: 20.04.2020; принята к печати: 06.05.2020

CORONAVIRUS DISEASE: A GLOBAL PROBLEM OF THE 21ST CENTURY

E.D. Bazdyrev ✉

Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, 6, Sosnoviy Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

Highlights

- A novel strain of coronavirus, SARS-CoV-2, the causative agent of the acute infectious disease named as coronavirus disease 2019 (COVID-19), has outbreaked as a global pandemic affecting over 200 countries.

Abstract

A series of unexplained cases with pneumonia have been reported in China since December 2019. Subsequent studies have found a novel strain of coronavirus, SARS-CoV-2, as the causative agent of acute infectious disease that has been named as coronavirus disease 2019 (COVID-19). COVID-19 has outbreaked as a global pandemic affecting over 200 countries. This review focuses on a novel coronavirus disease, reporting all available data on its etiology, epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, principles of diagnosis and treatment. In addition, the impact of COVID on the cardiovascular system is highlighted.

Keywords

Coronavirus infection • COVID-19 • SARS-CoV-2 • Pandemic • Cardiovascular disease • Acute respiratory distress syndrome

Received: 20.04.2020; accepted: 06.05.2020

Список сокращений

АПФ-2 – ангиотензин-превращающий фермент 2-го типа	COVID-19 – острое инфекционное заболевание, вызванное SARS-CoV-2
ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром	SARS-CoV-2 – тяжелый острый респираторный синдром коронавируса-2
ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания	
ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии	

Для корреспонденции: Евгений Дмитриевич Баздырев, edb624@mail.ru; адрес: Сосновский бульвар, 6, Кемерово, Россия, 650002

Corresponding author: Evgeny D. Bazdyrev, edb624@mail.ru; address: 6, Sosnoviy blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

Единственное, что всерьез угрожает господству человека на планете, это – вирус.

Джошуа Ледерберг

Введение

В декабре 2019 г. в Ухане (провинция Хубэй, Китай) зарегистрирована серия необъяснимых случаев пневмонии – в дальнейшем у заболевших выделен новый штамм коронавируса. В начале января 2020 г. Всемирная организация здравоохранения предварительно назвала вирус новым коронавирусом 2019 г. (2019-nCoV) и уже в конце месяца, 30 января, объявила вспышку 2019-nCoV чрезвычайной ситуацией международного значения в области общественного здравоохранения. В феврале 2020 г. инфекционному заболеванию присвоено название коронавирусной инфекции COVID-19 (Coronavirus disease 2019), а возбудителем признан тяжелый острый респираторный синдром коронавируса-2 (SARS-CoV-2).

За последние 17 лет семейство коронавирусов стало причиной уже третьей эпидемии. На первый взгляд схожесть коронавирусной инфекции COVID-19 с вспышками атипичной пневмонии в 2002 г. и ближневосточного респираторного синдрома в 2012 г. не вызывала сильных опасений. Однако с учетом быстрого роста новых случаев заражения по всему миру и высокого уровня летальности 11 марта 2020 г. Всемирная организация здравоохранения объявила о пандемии COVID-19.

Этиология коронавирусной инфекции

Коронавирусы – это семейство РНК-содержащих вирусов диаметром от 60 до 140 нм с шипообразными выступами на поверхности, способных инфицировать человека и некоторых животных [1, 2]. Выделяют четыре рода коронавирусов: Alpha-, Beta-, Gamma- и Deltacoronavirus. В большинстве случаев естественными хозяевами данной группы вирусов являются млекопитающие [3].

До 2019 г. в значительной степени изучены шесть серотипов коронавирусов, которые инфицировали человека и вызывали респираторные заболевания. До развития эпидемии атипичной пневмонии было известно о круглогодичной циркуляции четырех штаммов коронавирусов (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HKU1B), которые вызывают поражение преимущественно верхних дыхательных путей легкой и средней степени тяжести. В этиологической структуре острых респираторных вирусных инфекций данные типы коронавирусов занимают второе место (15–30%), уступая лишь риновирусам [1, 4].

Наряду с этим выделяют два других штамма – печально известные SARS-CoV и MERS-CoV, ко-

торые вызвали эпидемии с большим количеством неблагоприятных исходов [5].

В 2002 г. выделен новый серотип коронавируса, SARS-CoV, возбудитель атипичной пневмонии, протекающей в форме острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) у людей. Эпидемия SARS-CoV 2002–2003 гг. началась в Китае и охватила 37 стран, было зафиксировано 8 422 случая заболевания атипичной пневмонией, из которых 916 – со смертельным исходом. Уровень смертности составил 11% [2, 6–8].

Через 10 лет, в 2012 г., системы здравоохранения сталкиваются с новым видом семейства коронавирусов, возбудителем ближневосточного респираторного синдрома – MERS-CoV. MERS-CoV был выявлен в 21 стране. В сравнении с атипичной пневмонией в мире было зарегистрировано в три раза меньше заболевших (2 494 человека) ближневосточным респираторным синдромом, но с более высоким уровнем летальности – 34% (858 случаев) [2, 6–8].

По окончании эпидемии SARS-CoV новые случаи атипичной пневмонии не регистрируются, тогда как MERS-CoV продолжает циркулировать и вызывать новые случаи ближневосточного респираторного синдрома [3].

В декабре 2019 г. в Китае выделен еще один серотип коронавирусной инфекции, который получил название SARS-CoV-2, ставший причиной развития острого инфекционного заболевания COVID-19 [3]. SARS-CoV-2 относится к семейству Betacoronavirus, представляет собой одноцепочечный РНК-содержащий вирус. Данный тип коронавируса, так же как и два предыдущих (SARS-CoV и MERS-CoV), относится ко второй группе патогенности [3]. Предположительно является рекомбинантным, между коронавирусом летучих мышей и неизвестным по происхождению коронавирусом, а генетическая последовательность SARS-CoV-2 на 79% схожа с последовательностью SARS-CoV [3, 9].

По состоянию на 15 апреля 2020 г. пандемия COVID-19 охватила более чем 200 стран, зафиксировано более 2 млн (2 000 438) случаев заражения, из которых 126 623 – со смертельным исходом [10, 11].

Эпидемиология коронавирусной инфекции

Источником заболевания является инфицированный человек, в том числе в инкубационном периоде. Данный период составляет от 2 до 14 суток, в среднем от 5 до 7 дней. Максимальное выделение вируса от зараженного пациента происходит в первые три дня заболевания, но, по данным ряда публикаций, выделение вируса может начинаться за двое суток (48 ч) до появления клинической симптоматики [3, 12]. Выделение вируса обычно продолжается до двух недель

(в среднем 12 дней) при легком и умеренном течении заболевания. В тяжелых случаях выделение вируса может наблюдаться более двух недель. Как полагают, SARS-CoV-2 распространяется главным образом через бессимптомных носителей [13–15].

Основные пути передачи COVID-19 – воздушно-капельный, воздушно-пылевой и контактный (рис. 1), но не исключается и фекально-оральный [3, 13]. Передается коронавирусная инфекция нового типа как правило при чихании, кашле и разговоре на расстоянии с источником инфекции менее 1,5–2 м. Кроме этого, инфекция распространяется при объятиях, рукопожатии, поцелуях и других вариантах непосредственного контакта с больным COVID-19. Предметы, любые поверхности, продукты питания, обсемененные вирусом, также могут стать факторами передачи инфекции [3].

По оценкам, репродуктивный индекс SARS-CoV-2 составляет от 2 до 3: каждый носитель SARS-CoV-2, как ожидается, заразит два – три человека в восприимчивой популяции [16, 17]. Для сравнения, среднее значение данного индекса для сезонного гриппа составляет около 1,3 [18].

Восприимчивость к возбудителю SARS-CoV-2 высокая среди всех возрастных групп, но отмечается, что дети и люди более молодого возраста подвержены заболеванию в меньшей степени, хотя в последнее время данное предположение вызывает сомнения. К группе более высокого риска как заражения, так и неблагоприятного течения отнесены лица старше 65 лет, а также пациенты, имеющие хронические заболевания сердечно-сосудистой системы, болезни бронхо-легочной системы, сахарный диабет, онкологическую патологию и др. [13].

Основные звенья патогенеза коронавирусной инфекции

Betacoronavirus способен инфицировать людей-хозяев через ангиотензин-превращающий фермент 2 (АПФ-2), который выступает рецептором для SARS-CoV-2 [19–21]. АПФ-2 является мембранно-связанным белком, который экспрессируется во многих клетках человека, включая дыхательные пути, эндотелий сосудов, почечную ткань, органы сердечно-сосудистой системы и эпителий кишечника [13, 21]. По

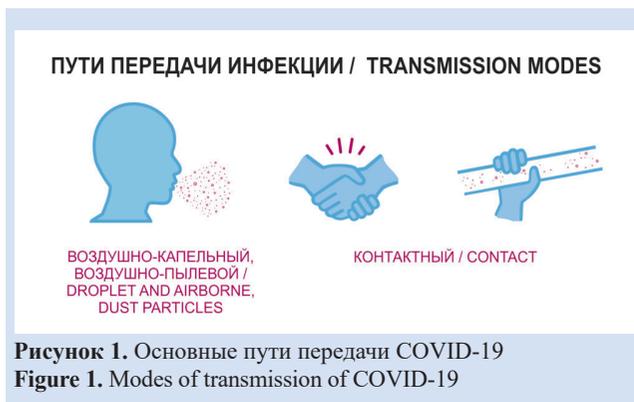
данным С.Р. Sodhi, более 80% этих рецепторов экспрессируются именно на поверхности альвеолярных эпителиальных клеток типа II и сердечно-сосудистых эндотелиальных клеток, что и обуславливает уязвимость двух основных систем организма (бронхо-легочной и сердечно-сосудистой) при COVID-19 [22].

На основании исследований, посвященных изучению коронавирусов как SARS-CoV, так и MERS-CoV, еще в 2015 г. показано, что циркулирующие коронавирусы летучих мышей имеют потенциал заражения человека с использованием человеческого АПФ-2 в качестве рецептора в клетках-хозяев [19]. Филогенетический анализ SARS-CoV-2 демонстрирует, что новый Betacoronavirus имеет сходный с коронавирусом SARS-CoV рецептор-связывающий домен [20] и SARS-CoV-2 также использует АПФ-2 в качестве рецептора для проникновения в клетки человека [13].

Таким образом, исследования подтвердили, что вирус попадает в организм человека, прежде всего на слизистую оболочку дыхательных путей, через рецептор АПФ-2 [2, 23]. Кроме этого, не исключается прямое повреждающее действие SARS-CoV-2 и на кардиомиоциты. По данным исследования G.Y. Oudit и коллег, вирусная РНК SARS-CoV обнаружена в 35% образцов аутопсии сердца пациентов, инфицированных SARS-CoV во время вспышки атипичной пневмонии в Торонто [24].

После внедрения вирус размножается в эпителии верхних и нижних дыхательных путей, вызывая повреждение эпителиального и эндотелиального компонентов аэрогематического барьера легких. Поврежденные эпителиальные клетки продуцируют цитокины (IL2, IL7, IL10, GCSF, IP10, MCP1, MIP1A и TNF α) [2, 13, 23, 25], которые привлекают лейкоциты – нейтрофилы и макрофаги – и активируют соседние эндотелиальные клетки. Активированные эндотелиальные клетки и проникшие лейкоциты стимулируют инфильтрацию. Вместе с этим лейкоциты индуцируют продукцию активных форм кислорода и оксида азота, которые тоже повреждают альвеоларно-капиллярный барьер, а активированные макрофаги вызывают апоптоз эпителиальных клеток [25]. У некоторых пациентов к концу первой недели заболевание может прогрессировать до пневмонии, дыхательной недостаточности и смерти [2, 13, 23]. Вирус и/или присоединенная бактериальная инфекция, кроме диффузного повреждения альвеоцитов, вызывает повышение проницаемости клеточных мембран и усиленный транспорт жидкости, богатой альбумином и фибрином, в интерстициальную ткань легкого и просвет альвеол с последующим развитием интерстициального и альвеолярного отека.

Наряду с этим наблюдается изменение свойств сурфактанта, в частности эластических: он быстрее разрушается при циклических растяжениях в акте дыхания и в меньшей степени воздействует на силы поверхностного натяжения внутри альвеолы [26].



Это приводит к коллапсу альвеол и, как результат, резкому нарушению газообмена и развитию ОРДС. Кроме активации воспалительного ответа гипоксемия, наблюдаемая у пациентов с тяжелой пневмонией и ОРДС, может потенцировать развитие полиорганной недостаточности, синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания и в некоторых случаях приводит к летальному исходу [27, 28]. Этапы развития ОРДС вследствие коронавирусной инфекции представлены на рис. 2.



Рисунок 2. Развитие острого респираторного дистресс-синдрома при коронавирусной инфекции

Примечание: АПФ-2 – ангиотензин-превращающий фермент 2.

Figure 2. The development of acute respiratory distress syndrome triggered by coronavirus infection

Note: ACE – angiotensin-converting enzyme 2.

Клиническая картина коронавирусной инфекции

Выделяют несколько клинических вариантов течения COVID-19:

1. Острая респираторная вирусная инфекция.
2. Пневмония без проявления дыхательной недостаточности.
3. Пневмония с острой дыхательной недостаточностью.
4. ОРДС.
5. Сепсис.
6. Септический (инфекционно-токсический) шок.

В соответствии с клиническим вариантом течения отмечают несколько степеней тяжести данного заболевания:

- Легкая форма – при поражении только верхних дыхательных путей.
- Среднетяжелое течение – при развитии пневмонии без признаков дыхательной недостаточности.
- Тяжелая форма – при развитии пневмонии с острой дыхательной недостаточностью.
- Очень тяжелая / критическая форма – при развитии ОРДС, сепсиса, септического шока, полиорганной недостаточности.

К основным клиническим симптомам заболевания относят: повышение температуры тела (более чем в 90% случаев); преимущественно сухой или с небольшим количеством мокроты кашель (80%); одышку (55%), наиболее выраженную к 6–8-му дню от момента инфицирования; миалгию и утомляемость (44%); ощущение заложенности в грудной клетке (>20%). Кроме этого, может наблюдаться спутанность сознания (9% случаев), головная боль (8%), кровохарканье (5%), диарея (3%), тошнота, рвота и сердцебиение. Причем последние могут дебютировать при нормальном уровне температуры тела [3].

Лабораторная диагностика коронавирусной инфекции

Для диагностики COVID-19 используют метод полимеразной цепной реакции. Основной способ лабораторной верификации коронавирусной инфекции нового типа – биологический материал из носоглотки и/или ротоглотки (мазок). Дополнительным материалом исследования могут быть промывные воды бронхов (бронхоальвеолярный лаваж), эндо- или трахеальный, назофарингеальный аспират, мокрота, биопсийный или аутопсийный материал легких, сыворотка, цельная кровь, моча, фекалии [3].

Диагностический алгоритм при COVID-19

Для верификации COVID-19, вызванной SARS-CoV-2, в соответствии с временными рекомендациями Минздрава России по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции [3],

необходимы клинические, лабораторные и инструментальные методы исследования. Комплексная оценка включает сбор эпидемиологического анамнеза (уточнение о поездках в эпидемиологически неблагоприятные регионы, возможных контактах с больными COVID-19 или лицами с подозрением на него и др.); физикальное обследование (осмотр видимых слизистых, аускультация, перкуссия и др.), в том числе термометрию и пульсоксиметрию; общий клинический анализ крови, включая анализ лейкоцитарной формулы. По данным китайских коллег, для COVID-19 характерна лимфопения (82,1% случаев), лейкопения (33,7%) и тромбоцитопения (36,2%) [27].

Кроме этого, рекомендован анализ ряда биохимических параметров. Биохимический анализ не несет какой-либо специфической информации о вирусе, но является неотъемлемым в диагностике декомпенсации хронической патологии, осложнений и критических состояний. Также рекомендовано определение уровня С-реактивного белка в сыворотке крови. С-реактивный белок коррелирует с тяжестью течения, распространенностью воспалительной инфильтрации и прогнозом при пневмонии. Быстрое и существенное повышение уровня С-реактивного белка может свидетельствовать о присоединении вторичной инфекции (вирусно-бактериальной пневмонии).

Из инструментальных методов исследования в рекомендованный алгоритм входят компьютерная томография легких, как наиболее чувствительный метод диагностики вирусной пневмонии, и электрокардиография [3]. При невозможности выполнения компьютерной томографии необходима обзорная рентгенография органов грудной клетки в передней прямой и боковой проекциях. При неизвестной локализации воспалительного процесса целесообразно выполнять рентгенографию в правой боковой проекции [3].

Согласно временным клиническим рекомендациям Министерства здравоохранения РФ, к типичным критериям вирусной пневмонии по данным компьютерной томографии, в том числе при COVID-19, относится наличие многочисленных уплотнений ткани легкого по типу матового стекла. Данные уплотнения преимущественно округлой формы, различной протяженности, с признаками консолидации или без таковых [3]. Также в пользу COVID-19 свидетельствуют утолщения междольковой интерстиции по типу булыжной мостовой, наличие симптома воздушной бронхограммы. Локализация процесса преимущественно с двух сторон, в нижних долях легких; может наблюдаться мультилобулярный двусторонний характер поражения.

Электрокардиография не несет специфической информации, однако в настоящее время известно, что вирусная инфекция и пневмония, помимо декомпенсации хронических сопутствующих заболе-

ваний, увеличивают риск развития нарушений ритма сердца, а также острого коронарного синдрома. Анализ электрокардиограммы важен и с позиции оценки кардиотоксичности на фоне применяемой, прежде всего этиотропной, терапии COVID-19.

Основные принципы лечения COVID-19

В соответствии с клиническим опытом лечения атипичной пневмонии, ближневосточного респираторного синдрома выделяют несколько этиотропных препаратов, которые рекомендовано применять комбинированно: лопинавир + ритонавир, хлорохин, гидроксихлорохин, препараты интерферонов [3]. Среди препаратов, которые находятся на стадии клинических испытаний у пациентов с COVID-19, также можно отметить фавипиравир, умифеновир, ремдесивир [11]. Но имеющиеся на сегодняшний день результаты применения данных препаратов не доказывают их эффективность или неэффективность.

Лечение всех сопутствующих хронических заболеваний должно осуществляться в соответствии с действующими клиническими рекомендациями или стандартами. Кроме этого, уже опубликованы ряд руководств по ведению пациентов в условиях пандемии COVID-19, среди которых «Временные методические рекомендации Министерства здравоохранения РФ по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» [3], «Руководство по диагностике и лечению болезней системы кровообращения в контексте пандемии COVID-19» [29], «Анестезиолого-реанимационное обеспечение пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19» [30].

Симптоматическое лечение заключается в купировании лихорадки, с целью чего могут использовать жаропонижающие препараты, такие как парацетамол или ибупрофен. Антипиретики назначают при увеличении температуры выше 38,0–38,5 °С. Но жаропонижающие препараты могут применять и при более низких цифрах: при плохой переносимости лихорадки, повышении артериального давления, а также выраженной тахикардии (особенно при ишемических изменениях или нарушениях ритма).

Кроме этого, рекомендована комплексная терапия ринита, ринофарингита в виде назначения увлажняющих, элиминационных препаратов, а также назальных деконгестантов. При симптомах бронхита с целью улучшения отхождения мокроты при продуктивном кашле рекомендованы мукоактивные препараты (ацетилцистеин, амброксол, карбоцистеин, комбинированные препараты, в том числе растительные средства на основе экстракта плюща, тимьяна, первоцвета). При присоединении или усугублении бронхообструктивного синдрома рекомендована бронхолитическая терапия преимущественно с использованием небулайзера (сальбутамол, комбинированный фенотерол – ипратропия бромид + фенотерол).

Сердечно-сосудистые заболевания и COVID-19

Согласно представленным в литературе данным, выделяют несколько вариантов поражения сердечно-сосудистой системы: острое повреждение миокарда, нарушение ритма сердца, миокардит, возникновение и/или усугубление сердечной недостаточности, тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) и др. [31–34]. Так, среди пациентов с COVID-19 и сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) отмечен более высокий уровень смертности: 10,5% среди пациентов с ССЗ, 6,0% – с артериальной гипертензией. При этом для пациентов без коморбидной сердечно-сосудистой патологии этот показатель составил 0,9% [32, 33].

Механизмы, приводящие к повреждению сердечно-сосудистой системы в условиях воздействия SARS-CoV-2, пока полностью не установлены. В первую очередь необходимо отметить возраст пациентов: при физиологическом старении организма иммунитет снижается, поэтому пожилые люди более восприимчивы как к любым инфекционным агентам, в том числе SARS-CoV-2, так и усугублению течения многих хронических заболеваний (в том числе сердечно-сосудистых) на фоне COVID-19 [35].

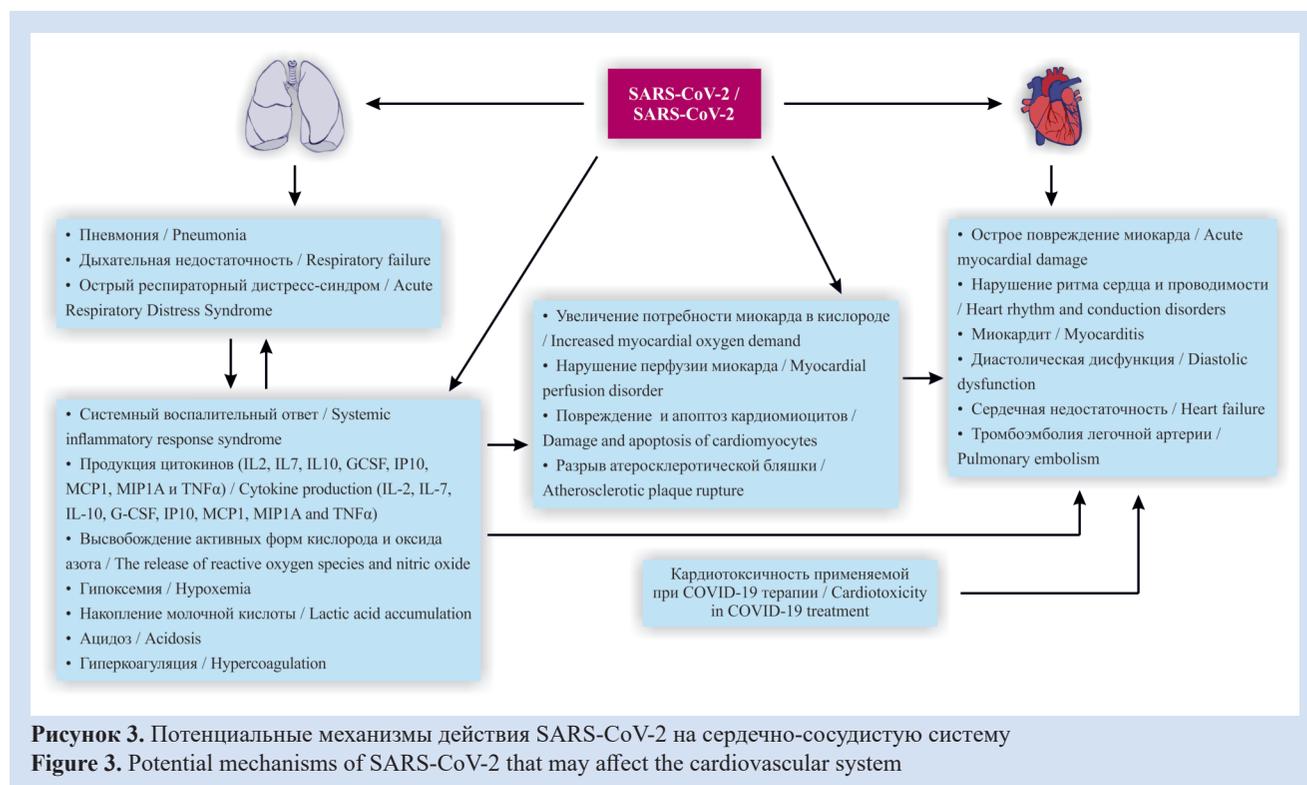
Не исключается прямое повреждающее действие SARS-CoV-2 на кардиомиоциты: это доказывают результаты исследования G.Y. Oudit и соавт. [24]. Показано, что АПФ-2 является важной мишенью для SARS-CoV [36], а молекулярное моделирование продемонстрировало высокое структурное сходство между рецептор-связывающими доменами SARS-CoV и SARS-CoV-2 [37]. Напомним, АПФ-2 экспрессируется в том числе и в органах сердечно-сосудистой системы, следовательно, кро-

ме развития пневмонии возможно воздействие и на ткани миокарда. Кроме этого, тяжелое течение COVID-19 (пневмония, ОРДС) сопровождается значительным нарушением газообмена, что приводит к гипоксемии. Гипоксемия в свою очередь значительно снижает энергообеспечение клеточного метаболизма и увеличивает анаэробную ферментацию, вызывая внутриклеточный ацидоз и высвобождение активных форм кислорода. Активные формы кислорода нарушают фосфолипидный слой клеточной мембраны, что в итоге может привести к повреждению и апоптозу кардиомиоцитов.

С другой стороны, накопление молочной кислоты и гипоксия, вызванные дыхательной недостаточностью, приводят к формированию диастолической дисфункции, недостаточной перфузии миокарда, сопровождающейся гиперкоагуляцией, что может обуславливать развитие острого инфаркта миокарда [38]. Кроме того, гипоксемия, вызванная COVID-19, может спровоцировать фибрилляцию предсердий, которая в большинстве случаев является рефрактерной до улучшения функции легких [23]. Схема вовлечения сердечно-сосудистой системы при коронавирусной инфекции представлена на рис. 3.

Так, по данным L.Q. Li, у 138 госпитализированных пациентов с COVID-19 нарушение ритма регистрировалось в 16,7% случаев и закономерно чаще у пациентов, находившихся в отделении интенсивной терапии, по сравнению с пациентами, переносящими инфекцию в более легкой форме (44,4 против 6,9%) [31].

Повышение уровня тропонина, как одного из маркеров миокардиального повреждения, описано у многих пациентов, инфицированных COVID-19.



В метаанализе четырех исследований, включившем 341 пациента, уровень тропонина I был значительно выше среди пациентов с тяжелым течением COVID-19 в сравнении с пациентами с более легкой формой заболевания [39]. Кроме изолированного повышения данного биомаркера у пациентов с COVID-19 встречаются электро- и эхокардиографические нарушения, которые ассоциированы с более тяжелым течением заболевания и худшим прогнозом. По данным когортных исследований, проведенных в Китае среди госпитализированных пациентов, такие нарушения наблюдались у 7–17% пациентов [32–34]. Значительно чаще сочетание повышения тропонина и электро- и эхокардиографических нарушений встречалось у пациентов отделения интенсивной терапии (22,2 против 2,0%, $p < 0,001$) и при летальном исходе (59 против 1%, $p < 0,0001$) [34, 40]. Необходимо помнить, что увеличение тропонина может быть обусловлено острым повреждением почек в отсутствии кардиальной патологии [41].

Острый коронарный синдром (острый инфаркт миокарда первого типа) отмечен в единичных случаях. Описано, что на фоне системной воспалительной реакции при воздействии вируса могут быть нарушения целостности атеросклеротической бляшки и, как следствие, на фоне нестабильности системной гемодинамики формироваться интракоронарный тромбоз и острый коронарный синдром [23, 32].

По данным F. Zhou и коллег, сердечная недостаточность выявлена у 23% пациентов с COVID-19 [34]. Отмечено, что сердечная недостаточность наблюдалась чаще, чем острое повреждение почек, и в большем количестве случаев ассоциирована с летальностью (51,9 против 11,7%). Является ли сердечная недостаточность наиболее частой причиной обострения ранее существовавшей дисфункции левого желудочка по сравнению с новой кардиомиопатией (из-за миокардита или стрессовой кардиомиопатии), пока не ясно [42]. Правожелудочковая сердечная недостаточность и связанная с ней легочная гипертензия также должны рассматриваться в контексте тяжелой пневмонии и ОРДС [35]. Несмотря на описанные единичные случаи развития ТЭЛА у пациентов с COVID-19, результаты ряда ретроспективных исследований демонстрируют повышение уровня D-димера и продуктов деградации фибрина. При этом повышение данных лабораторных параметров прокоагулянтного фона может привести к эпизоду ТЭЛА. Также фактором риска ТЭЛА может выступать вынужденная длительная иммобилизация пациентов с тяжелым течением COVID-19 [43, 44].

Кроме ухудшения имеющейся сердечно-сосудистой патологии, прямого повреждающего воздействия коронавируса может наблюдаться и опосредованное: кардиотоксическое воздействие применяемой при COVID-19 терапии, прежде всего противовирусной. Если рибавирин не оказывает прямого

токсичного действия при сердечно-сосудистых заболеваниях, то лопинавир и ритонавир могут привести к удлинению интервала QT и PR, особенно у пациентов с исходными нарушениями (длительное QT) или тех, кто подвержен риску нарушений проводимости, включая больных, принимавших другие препараты, пролонгирующие интервал QT [45].

Кроме этого, противовирусная терапия может оказывать влияние на уже получаемую терапию по поводу различных ССЗ. Так, рибавирин, лопинавир и ритонавир могут влиять на дозировку антикоагулянтов: рибавирин воздействует на дозировку варфарина [46], а лопинавир / ритонавир может потребовать снижения дозы или отказа от таких препаратов, как ривароксабан и апиксабан [47, 48]. Лопинавир и ритонавир могут влиять на активность ингибиторов P2Y₁₂ посредством ингибирования CYP3A4, что приводит к снижению сывороточной концентрации активных метаболитов клопидогрела и прасугрела и повышению концентрации тикагрелора. Учитывая повышение уровня тикагрелора в сыворотке с такими препаратами (лопинавир / ритонавир) [35], одновременный прием с тикагрелором не рекомендуется в США и Канаде из-за чрезмерного риска кровотечений. И наоборот, есть доказательства того, что клопидогрел не всегда обеспечивает достаточное ингибирование тромбоцитов при одновременном назначении лопинавира и ритонавира в отличие прасугрела, как оценено в анализе VerifyNow P2Y₁₂ [49, 50]. Если во время лечения лопинавиром / ритонавиром необходимо назначение препаратов данной группы (ингибиторов P2Y₁₂), можно использовать прасугрел; однако, если имеются противопоказания (инсульт или транзиторная ишемическая атака, низкий индекс массы тела, кровотечение и др.), могут быть рассмотрены альтернативные антиагреганты [35].

Большое внимание уделяется назначению статинов, которые, как и антикоагулянты, могут взаимодействовать с комбинацией лопинавира и ритонавира и могут быть ответственны за развитие миопатии. В частности, ловастатин и симвастатин противопоказаны для совместного применения с лопинавиром / ритонавиром из-за риска рабдомиолиза, а аторвастатин и розувастатин следует вводить в минимально возможной дозе [35, 45]. Ремдесивир является исследуемым препаратом, ранее оцененным при эпидемии Эболы, и в настоящее время изучается у пациентов с COVID-19. Несмотря на то что о высокой токсичности на сердечно-сосудистую систему не сообщалось, было отмечено развитие гипотонии и последующей остановки сердца после нагрузочной дозы у одного пациента (среди 175) при лечении Эболы [51].

Поскольку рецептор АПФ-2 является механизмом проникновения для SARS-CoV-2 [52], у пациентов с ССЗ роль ренин-ангиотензиновой системы

привлекает большое внимание. Предположительно, АПФ-2 может выполнять два противоположных действия у пациентов с COVID-19, особенно с коморбидными ССЗ. С одной стороны, АПФ-2 защищает от гипертонии, фиброза и гипертрофии миокарда, нарушения ритма и атеросклероза [53], с другой, выступая в качестве рецептора для проникновения в клетки человека, увеличивает восприимчивость к вирусу SARS-CoV-2 [13, 52].

Предыдущие исследования показали, что ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента и блокаторы рецепторов ангиотензина могут усиливать экспрессию или предотвращать потерю АПФ-2, который является одним из механизмов активности данных препаратов [53]. Но на сегодняшний день отсутствуют весомые клинические данные, подтверждающие эти гипотезы.

Заключение

В настоящее время мир столкнулся с чрезвычайной ситуацией – вспышкой нового инфекционного заболевания. Глобальное воздействие COVID-19 представляет серьезную угрозу не только обще-

ственному здравоохранению, но и мировой экономике. Несмотря на приобретенный опыт верификации, диагностики, подходов к лечению коронавирусной инфекции нового типа, сохраняется высокая обеспокоенность мирового сообщества ввиду быстрого темпа распространения COVID-19, отсутствия специфического лечения и высокой летальности. Несомненно, для решения очередного вызова человечеству в виде нового вируса необходимо объединение сил всего медицинского сообщества.

Благодарности

Публикация подготовлена в рамках сотрудничества с научно-образовательным центром мирового уровня «Кузбасс».

Конфликт интересов

Е.Д. Баздырев заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовом обеспечении НИИ КПССЗ.

Информация об авторах

Баздырев Евгений Дмитриевич, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний отдела оптимизации медицинской помощи при сердечно-сосудистых заболеваниях федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-3023-6239

Author Information Form

Bazdyrev Evgeny D., PhD, Head of the Laboratory for the Epidemiology of Cardiovascular Diseases, Cardiovascular Disease Medical Care Optimization Department, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-3023-6239

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Su S., Wong G., Shi W., Liu J., Lai A.C.K., Zhou J. et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol.* 2016; 24: 490-502. doi: 10.1016/j.tim.2016.03.003.
2. Singhal T. A review of coronavirus disease-2019 (COVID-19). *Indian J Pediatr.* 2020; 87(4): 281-286. doi: 10.1007/s12098-020-03263-6.
3. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Временные методические рекомендации Версия 4.0 (27.03.20). Режим доступа: <https://urlid.ru/c30s> (дата обращения 16.04.2020).
4. Chen Y., Liu Q., Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol.* 2020; 92(4):418-423. doi: 10.1002/jmv.25681.
5. Cui J., Li F., Shi Z.L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2019; 17: 181-192.
6. Chan K.S., Zheng J.P., Mok Y.W., Li Y.M., Liu Y.N., Chu C.M. et al. SARS: prognosis, outcome and sequelae. *Respirology.* 2003; 8(Suppl): 36-40. doi:10.1046/j.1440-1843.2003.00522.x
7. Badawi A., Ryoo S.G. Prevalence of diabetes in the 2009 influenza A (H1N1) and the middle east respiratory syndrome coronavirus: a systematic review and meta-analysis. *J Public Health Res.* 2016; 5(3): 733. doi: 10.4081/jphr.2016.733.
8. Li B., Yang J., Zhao F., Zhi L., Wang X., Liu L. et al. Prevalence and impact of cardiovascular metabolic diseases on COVID-19 in China. *Clin Res Cardiol.* 2020. doi: 10.1007/s00392-020-01626-9.
9. Sun P., Lu X., Xu C., Sun W., Pan B. Understanding of COVID-19 based on current evidence. *J Med Virol.* 2020. doi: 10.1002/jmv.25722.
10. Стопкоронавирус.рф [интернет]. Режим доступа: <https://xn--80aesfpebagmfbcl0a.xn--p1ai/#> (дата обращения 16.04.2020).
11. Sanders J.M., Monogue M.L., Jodlowski T.Z., Cutrell J.B. Pharmacologic treatments for coronavirus disease 2019 (COVID-19): a review. *JAMA.* 2020. doi: 10.1001/jama.2020.6019.
12. Han Y., Yang H. The transmission and diagnosis of 2019 novel coronavirus infection disease (COVID-19): a Chinese perspective. *J Med Virol.* 2020. doi: 10.1002/jmv.25749.
13. Tan W., Abouhosn J. The cardiovascular burden of coronavirus disease 2019 (COVID-19) with a focus on congenital heart disease. *Int J Cardiol.* 2020. doi: 10.1016/j.ijcard.2020.03.063.
14. Bai Y., Yao L., Wei T. Presumed asymptomatic carrier transmission of COVID-19. *JAMA.* 2020; 21: 19-20.
15. Mizumoto K., Kagaya K., Zarebski A. Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama, Japan, 2020. *Eurosurveillance.* 2020; 25(10): 2000180. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.10.2000180.
16. Li Q., Guan X., Wu P., Zhou L., Tong Y., Ren R. et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med.* 2020; 382(13): 1199-1207. doi:10.1056/NEJMoa2001316.
17. Flahault A. Has China faced only a herald wave of SARS-CoV-2? *Lancet.* 2020; 395(10228): 947. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30521-3 49.

18. Coburn B.J., Wagner B.G., Blower S. Modeling influenza epidemics and pandemics: insights into the future of swine flu (H1N1). *BMC Med.* 2009; 7(1): 30. doi:10.1186/1741-7015-7-30.
19. Menachery V.D., Yount B.L., Debbink K., Agnihothram S., Gralinski L.E., Plante J.A. et al. A SARS-like cluster of circulating bat coronaviruses shows potential for human emergence. *Nat. Med.* 2015; 21(12): 1508-1513. doi: 10.1038/nm.3985.
20. Wan Y., Shang J., Graham R., Baric R.S., Li F. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS. *J Virol.* 2020; 94(7): 1-9. doi: 10.1128/jvi.00127-20.
21. Jia H.P., Look D.C., Shi L., Hickey M., Pewe L., Netland J. et al. ACE2 receptor expression and severe acute respiratory syndrome coronavirus infection depend on differentiation of human airway epithelia. *J Virol.* 2005; 79(23): 14614-14621. doi: 10.1128/jvi.79.23.14614-14621.2005.
22. Sodhi C.P., Wohlford-Lenane C., Yamaguchi Y., Prindle T., Fulton W.B., Wang S. et al. Attenuation of pulmonary ACE2 activity impairs inactivation of des-Arg9 bradykinin/BKB1R axis and facilitates LPS-induced neutrophil infiltration. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2018; 314(1): 17-31. doi: 10.1152/ajplung.00498.2016.
23. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020; 395(10223): 507-513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
24. Oudit G.Y., Kassiri Z., Jiang C., Liu P.P., Poutanen S.M., Penninger J.M. et al. SARS-coronavirus modulation of myocardial ACE2 expression and inflammation in patients with SARS. *Eur J Clin Invest.* 2009; 39(7): 618-625. doi: 10.1111/j.1365-2362.2009.02153.x.
25. Short K.R., Kroeze E.J.B.V., Fouchier R.A.M., Kuiken T. Pathogenesis of influenza-induced acute respiratory distress syndrome. *Lancet Infect Dis.* 2014; 14(1): 57-69. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70286-X.
26. Mora R., Arold S., Marzan Y., Suki B., Ingenito E.P. Determinants of surfactant function in acute lung injury and early recovery. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000; 279(2): 342-349. doi:10.1152/ajplung.2000.279.2.342.
27. Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y., Liang W.H., Ou C.Q., He J.X. et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.* 2020. doi: 10.1056/NEJMoa2002032.
28. Yang X., Yu Y., Xu J., Shu H., Xia J., Liu H. et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med.* 2020; 2600(20): 1-7. doi: [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30079-5](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30079-5).
29. Руководство по диагностике и лечению болезней системы кровообращения в контексте пандемии COVID-19. Режим доступа: <https://urlid.ru/c30r> (дата обращения 18.04.2020).
30. Анестезиолого-реанимационное обеспечение пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19: ключевые положения. Версия 1 от 07 апреля 2020 года. Методические рекомендации. Режим доступа: <https://urlid.ru/c30q> (дата обращения 18.04.2020).
31. Li L.Q., Huang T., Wang Y.Q., Wang Z.P., Liang Y., Huang T.B. et al. COVID-19 patients' clinical characteristics, discharge rate and fatality rate of meta-analysis. *J Med Virol.* 2020. doi: 10.1002/jmv.25757.
32. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020; 395(10223): 497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
33. Wang D., Hu B., Hu C., Zhu F., Liu X., Zhang J. et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA.* 2020. doi: 10.1001/jama.2020.1585.
34. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z. et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2020; 395(10229): 1054-1062. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3.
35. Driggin E., Madhavan M.V., Bikdeli B., Chuich T., Laracy J., Bondi-Zoccai G. et al. Cardiovascular considerations for patients, health care workers, and health systems during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. *J Am Coll Cardiol.* 2020. doi: 10.1016/j.jacc.2020.03.031.
36. Li F., Li W., Farzan M., Harrison S.C. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science.* 2005; 309(5742): 1864-1868. doi:10.1126/science.1116480.
37. Lu R., Zhao X., Li J., Niu P., Yang B., Wu H. et al. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet.* 2020; 395(10224): 565-574. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
38. Xu Z., Shi L., Wang Y., Zhang J., Huang L., Zhang C. et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med.* 2020; 8(4): 420-422. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
39. Lippi G., Lavie C.J., Sanchis-Gomar F. Cardiac troponin I in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): Evidence from a meta-analysis. *Prog Cardiovasc Dis.* 2020. doi: 10.1016/j.pcad.2020.03.001.
40. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W. et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020; 579(7798): 270-273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.
41. Thygesen K., Alpert J.S., Jaffe A.S., Chaitman B.R., Bax J.J., Morrow D.A. et al. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *J Am Coll Cardiol.* 2018; 72: 2231-2264. doi: 10.1016/j.jacc.2018.08.1038.
42. Buzon J., Roignot O., Lemoine S., Perez P., Kimmoun A., Levy B. et al. Takotsubo cardiomyopathy triggered by influenza A virus. *Intern Med.* 2015; 54(16): 2017-2019. doi: 10.2169/internalmedicine.54.3606.
43. Tang N., Li D., Wang X., Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost.* 2020; 18(4): 844-847. doi: 10.1111/jth.14768.
44. Fan B.E., Chong V.C.L., Chan S.S.W., Lim G.H., Lim K.G.E., Tan G.B. et al. Hematologic parameters in patients with COVID-19 infection. *Am J Hematol.* 2020. doi: 10.1002/ajh.25774.
45. KALETRA(R) oral film coated tablets, oral solution, lopinavir ritonavir oral film coated tablets, oral solution. Product Insert. AbbVie Inc. (per FDA), North Chicago, IL, 2013. Available at: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/021251s046_021906s0391bl.pdf (accessed 13.04.2020)
46. DeCarolis D.D., Westanmo A.D., Chen Y.C., Boese A.L., Walquist M.A., Rector T.S. Evaluation of a potential interaction between new regimens to treat hepatitis C and warfarin. *Ann Pharmacother.* 2016; 50(11): 909-917. doi: 10.1177/1060028016660325.
47. Frost C.E., Byon W., Song Y., Wang J., Schuster A.E., Boyd R.A. et al. Effect of ketoconazole and diltiazem on the pharmacokinetics of apixaban, an oral direct factor Xa inhibitor. *Br J Clin Pharmacol.* 2015; 79(5): 838-846. doi: 10.1111/bcp.12541.
48. Mueck W., Kubitzka D., Becka M. Co-administration of rivaroxaban with drugs that share its elimination pathways: pharmacokinetic effects in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol.* 2013; 76(3): 455-466. doi: 10.1111/bcp.12075.
49. Ikonen M.K., Tornio A., Lapatto-Reiniluoto O., Neuvonen M., Neuvonen P.J., Niemi M. et al. Clopidogrel increases dasabuvir exposure with or without ritonavir, and ritonavir inhibits the bioactivation of clopidogrel. *Clin Pharmacol Ther.* 2019; 105(1): 219-228. doi: 10.1002/cpt.1099.
50. Marsousi N., Daali Y., Fontana P., Reny J.L., Ancrenaz-Sirot V., Calmy A. et al. Impact of boosted antiretroviral therapy on the pharmacokinetics and efficacy of clopidogrel and prasugrel active metabolites. *Clin Pharmacokinet.* 2018; 57(10): 1347-1354. doi: 10.1007/s40262-018-0637-6.

51. Mulangu S., Dodd L.E., Davey R.T., Tshiani Mbaya O., Proschan M., Mukadi D. et al. A randomized, controlled trial of ebola virus disease therapeutics. *N Engl J Med.* 2019; 381(24): 2293-2303. doi: 10.1056/NEJMoa1910993.

52. Wrapp D., Wang N., Corbett K.S., Goldsmith J.A., Hsieh C.L., Abiona O. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV

spike in the prefusion conformation. *Science.* 2020; 367(6483): 1260-1263. doi: 10.1126/science.abb2507.

53. Patel V.B., Zhong J.C., Grant M.B., Oudit G.Y. Role of the ACE2/angiotensin 1-7 axis of the renin-angiotensin system in heart failure. *Circ Res.* 2016; 118(8): 1313-1326. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.307708.

REFERENCES

1. Su S., Wong G., Shi W., Liu J., Lai A.C.K., Zhou J. et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol.* 2016; 24: 490-502. doi: 10.1016/j.tim.2016.03.003.

2. Singhal T. A review of coronavirus disease-2019 (COVID-19). *Indian J Pediatr.* 2020; 87(4): 281-286. doi: 10.1007/s12098-020-03263-6.

3. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Временные методические рекомендации. Версия 4.0 (27.03.20). [Ministry of Health of the Russian Federation. Temporary guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19). Version 4.0 (03/27/20).]. Available at: <https://urlid.ru/c30s> (accessed 16.04.2020) (In Russian).

4. Chen Y., Liu Q., Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol.* 2020; 92(4):418-423. doi: 10.1002/jmv.25681.

5. Cui J., Li F., Shi Z.L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2019; 17: 181-192.

6. Chan K.S., Zheng J.P., Mok Y.W., Li Y.M., Liu Y.N., Chu C.M. et al. SARS: prognosis, outcome and sequelae. *Respirology.* 2003; 8(Suppl): 36-40. doi:10.1046/j.1440-1843.2003.00522.x

7. Badawi A., Ryoo S.G. Prevalence of diabetes in the 2009 influenza A (H1N1) and the middle east respiratory syndrome coronavirus: a systematic review and meta-analysis. *J Public Health Res.* 2016; 5(3): 733. doi: 10.4081/jphr.2016.733.

8. Li B., Yang J., Zhao F., Zhi L., Wang X., Liu L. et al. Prevalence and impact of cardiovascular metabolic diseases on COVID-19 in China. *Clin Res Cardiol.* 2020. doi: 10.1007/s00392-020-01626-9.

9. Sun P., Lu X., Xu C., Sun W., Pan B. Understanding of COVID-19 based on current evidence. *J Med Virol.* 2020. doi: 10.1002/jmv.25722.

10. Stopkoronavirus.rf: [Internet]. [Stopkoronavirus.rf: [Internet].]. Available at: <https://xn--80aesfpebagmfbcl0a.xn--plai/#> (accessed 23.06.2013) (In Russian).

11. Sanders J.M., Monogue M.L., Jodlowski T.Z., Cutrell J.B. Pharmacologic treatments for coronavirus disease 2019 (COVID-19): a review. *JAMA.* 2020. doi: 10.1001/jama.2020.6019.

12. Han Y., Yang H. The transmission and diagnosis of 2019 novel coronavirus infection disease (COVID-19): a Chinese perspective. *J Med Virol.* 2020. doi: 10.1002/jmv.25749.

13. Tan W., Aboulhosn J. The cardiovascular burden of coronavirus disease 2019 (COVID-19) with a focus on congenital heart disease. *Int J Cardiol.* 2020. doi: 10.1016/j.ijcard.2020.03.063.

14. Bai Y., Yao L., Wei T. Presumed asymptomatic carrier transmission of COVID-19. *JAMA.* 2020; 21: 19-20.

15. Mizumoto K., Kagaya K., Zarebski A. Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama, Japan, 2020. *Eurosurveillance.* 2020; 25(10): 2000180. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.10.2000180.

16. Li Q., Guan X., Wu P., Zhou L., Tong Y., Ren R. et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med.* 2020; 382(13): 1199-1207. doi:10.1056/NEJMoa2001316.

17. Flahault A. Has China faced only a herald wave of SARS-CoV-2? *Lancet.* 2020; 395(10228): 947. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30521-3 49.

18. Coburn B.J., Wagner B.G., Blower S. Modeling influenza epidemics and pandemics: insights into the future of swine flu

(H1N1). *BMC Med.* 2009; 7(1): 30. doi:10.1186/1741-7015-7-30.

19. Menachery V.D., Yount B.L., Debbink K., Agnihothram S., Gralinski L.E., Plante J.A. et al. A SARS-like cluster of circulating bat coronaviruses shows potential for human emergence. *Nat. Med.* 2015; 21(12): 1508-1513. doi: 10.1038/nm.3985.

20. Wan Y., Shang J., Graham R., Baric R.S., Li F. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS. *J Virol.* 2020; 94(7): 1-9. doi: 10.1128/jvi.00127-20.

21. Jia H.P., Look D.C., Shi L., Hickey M., Pewe L., Netland J. et al. ACE2 receptor expression and severe acute respiratory syndrome coronavirus infection depend on differentiation of human airway epithelia. *J Virol.* 2005; 79(23): 14614-14621. doi: 10.1128/jvi.79.23.14614-14621.2005.

22. Sodhi C.P., Wohlford-Lenane C., Yamaguchi Y., Prindle T., Fulton W.B., Wang S. et al. Attenuation of pulmonary ACE2 activity impairs inactivation of des-Arg9 bradykinin/BKB1R axis and facilitates LPS-induced neutrophil infiltration. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2018; 314(1): 17-31. doi: 10.1152/ajplung.00498.2016.

23. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020; 395(10223): 507-513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.

24. Oudit G.Y., Kassiri Z., Jiang C., Liu P.P., Poutanen S.M., Penninger J.M. et al. SARS-coronavirus modulation of myocardial ACE2 expression and inflammation in patients with SARS. *Eur J Clin Invest.* 2009; 39(7): 618-625. doi: 10.1111/j.1365-2362.2009.02153.x.

25. Short K.R., Kroeze E.J.B.V., Fouchier R.A.M., Kuiken T. Pathogenesis of influenza-induced acute respiratory distress syndrome. *Lancet Infect Dis.* 2014; 14(1): 57-69. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70286-X.

26. Mora R., Arold S., Marzan Y., Suki B., Ingenito E.P. Determinants of surfactant function in acute lung injury and early recovery. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000; 279(2): 342-349. doi:10.1152/ajplung.2000.279.2.342.

27. Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y., Liang W.H., Ou C.Q., He J.X. et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020. doi: 10.1056/NEJMoa2002032.

28. Yang X., Yu Y., Xu J., Shu H., Xia J., Liu H. et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med.* 2020; 2600(20): 1-7. doi: [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30079-5](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30079-5).

29. Руководство по диагностике и лечению болезни системы кровообращения в контексте пандемии COVID-19 [Guidelines for the diagnosis and treatment of circulatory system diseases in the context of the COVID-19 pandemic.]. Available at: <https://urlid.ru/c30r> (accessed 18.04.2020) (In Russian).

30. Анестезиолого-реанимационное обеспечение пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19: ключевые положения. Версия 1 от 07 апреля 2020 года. Методические рекомендации [Anesthetics and resuscitation of patients with a new coronavirus infection COVID-19: key points. Version 1 of April 07, 2020. Guidelines]. Available at: <https://urlid.ru/c30q> (accessed 18.04.2020) (In Russian).

31. Li L.Q., Huang T., Wang Y.Q., Wang Z.P., Liang Y., Huang T.B. et al. COVID-19 patients' clinical characteristics, discharge rate and fatality rate of meta-analysis. *J Med Virol.* 2020. doi: 10.1002/jmv.25757.

32. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020; 395(10223): 497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
33. Wang D., Hu B., Hu C., Zhu F., Liu X., Zhang J. et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020. doi: 10.1001/jama.2020.1585.
34. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z. et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020; 395(10229): 1054-1062. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3.
35. Driggin E., Madhavan M.V., Bikdeli B., Chuich T., Laracy J., Bondi-Zoccai G. et al. Cardiovascular considerations for patients, health care workers, and health systems during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. *J Am Coll Cardiol*. 2020. doi: 10.1016/j.jacc.2020.03.031.
36. Li F., Li W., Farzan M., Harrison S.C. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science*. 2005; 309(5742): 1864-1868. doi:10.1126/science.1116480.
37. Lu R., Zhao X., Li J., Niu P., Yang B., Wu H. et al. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020; 395(10224): 565-574. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
38. Xu Z., Shi L., Wang Y., Zhang J., Huang L., Zhang C. et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med*. 2020; 8(4): 420-422. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
39. Lippi G., Lavie C.J., Sanchis-Gomar F. Cardiac troponin I in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): Evidence from a meta-analysis. *Prog Cardiovasc Dis*. 2020. doi: 10.1016/j.pcad.2020.03.001.
40. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W. et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020; 579(7798): 270-273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.
41. Thygesen K., Alpert J.S., Jaffe A.S., Chaitman B.R., Bax J.J., Morrow D.A. et al. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *J Am Coll Cardiol*. 2018; 72: 2231-2264. doi: 10.1016/j.jacc.2018.08.1038.
42. Buzon J., Roignot O., Lemoine S., Perez P., Kimmoun A., Levy B. et al. Takotsubo cardiomyopathy triggered by influenza A virus. *Intern Med*. 2015; 54(16): 2017-2019. doi: 10.2169/internalmedicine.54.3606.
43. Tang N., Li D., Wang X., Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*. 2020; 18(4): 844-847. doi: 10.1111/jth.14768.
44. Fan B.E., Chong V.C.L., Chan S.S.W., Lim G.H., Lim K.G.E., Tan G.B. et al. Hematologic parameters in patients with COVID-19 infection. *Am J Hematol*. 2020. doi: 10.1002/ajh.25774.
45. KALETRA(R) oral film coated tablets, oral solution, lopinavir ritonavir oral film coated tablets, oral solution. Product Insert. AbbVie Inc. (per FDA), North Chicago, IL, 2013. Available at: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/021251s046_021906s039lbl.pdf (accessed 13.04.2020)
46. DeCarolis D.D., Westanmo A.D., Chen Y.C., Boese A.L., Walquist M.A., Rector T.S. Evaluation of a potential interaction between new regimens to treat hepatitis C and warfarin. *Ann Pharmacother*. 2016; 50(11): 909-917. doi: 10.1177/1060028016660325.
47. Frost C.E., Byon W., Song Y., Wang J., Schuster A.E., Boyd R.A. et al. Effect of ketoconazole and diltiazem on the pharmacokinetics of apixaban, an oral direct factor Xa inhibitor. *Br J Clin Pharmacol*. 2015; 79(5): 838-846. doi: 10.1111/bcp.12541.
48. Mueck W., Kubitz D., Becka M. Co-administration of rivaroxaban with drugs that share its elimination pathways: pharmacokinetic effects in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol*. 2013; 76(3): 455-466. doi: 10.1111/bcp.12075.
49. Itkonen M.K., Tornio A., Lapatto-Reiniluoto O., Neuvonen M., Neuvonen P.J., Niemi M. et al. Clopidogrel increases dasabuvir exposure with or without ritonavir, and ritonavir inhibits the bioactivation of clopidogrel. *Clin Pharmacol Ther*. 2019; 105(1): 219-228. doi: 10.1002/cpt.1099.
50. Marsousi N., Daali Y., Fontana P., Reny J.L., Ancrenaz-Sirot V., Calmy A. et al. Impact of boosted antiretroviral therapy on the pharmacokinetics and efficacy of clopidogrel and prasugrel active metabolites. *Clin Pharmacokinet*. 2018; 57(10): 1347-1354. doi: 10.1007/s40262-018-0637-6.
51. Mulangu S., Dodd L.E., Davey R.T., Tshiani Mbaya O., Proschan M., Mukadi D. et al. A randomized, controlled trial of ebola virus disease therapeutics. *N Engl J Med*. 2019; 381(24): 2293-2303. doi: 10.1056/NEJMoa1910993.
52. Wrapp D., Wang N., Corbett K.S., Goldsmith J.A., Hsieh C.L., Abiona O. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*. 2020; 367(6483): 1260-1263. doi: 10.1126/science.abb2507.
53. Patel V.B., Zhong J.C., Grant M.B., Oudit G.Y. Role of the ACE2/angiotensin 1-7 axis of the renin-angiotensin system in heart failure. *Circ Res*. 2016; 118(8): 1313-1326. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.307708.

Для цитирования: Е.Д. Баздырев. Коронавирусная инфекция – актуальная проблема XXI века. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2020; 9 (2): 6-16. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-6-16

To cite: E.D. Bazdyrev. Coronavirus disease: a global problem of the 21st century. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2020; 9 (2): 6-16. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-6-16



УДК 616.12+616.98:578.834

DOI 10.17802/2306-1278-2020-9-2-17-28

НОВАЯ КОРОНАВИРУСНАЯ БОЛЕЗНЬ (COVID-19) И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

О.Л. Барбараш^{1,2}, В.Н. Каретникова^{1,2}, В.В. Кашталап^{1,2} ✉, Т.Н. Зверева^{1,2}, А.М. Кочергина^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Сосновый бульвар, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002; ²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Ворошилова, 22а, Кемерово, Российская Федерация, 650029

Основные положения

• COVID-19 и сердечно-сосудистые заболевания являются распространенной в условиях вирусной пандемии коморбидностью, которая повышает риск неблагоприятного исхода у пациентов как за счет действия вирусного агента, так и возможных лекарственных взаимодействий. Ведение таких пациентов требует от врачей знания особенностей вирусной инфекции, ее клинических проявлений при сочетании с сердечно-сосудистыми заболеваниями, а также мер индивидуальной и коллективной защиты. Безопасность медицинского персонала и хороший прогноз пациентов – высшие ценности современной системы здравоохранения.

Резюме

В обзоре представлены актуальные проблемы сочетания новой коронавирусной инфекции COVID-19 и сердечно-сосудистых заболеваний. Обсуждаются результаты немногочисленных клинических исследований и отдельных клинических случаев, иллюстрирующих сложности ведения пациентов с вирусной инфекцией и сопутствующей патологией. Обозначены данные по лекарственным взаимодействиям противовирусных и сердечно-сосудистых препаратов. Представлены возможные клинические картины наиболее типичных сочетаний распространенных сердечно-сосудистых заболеваний и COVID-19. Выделены пациенты группы риска с необходимостью оказания интенсивной лечебно-диагностической помощи во избежание неблагоприятного исхода коморбидности.

Ключевые слова

COVID-19 • Сердечно-сосудистые заболевания • Острый коронарный синдром • Сердечная недостаточность • Тропонин • Прогноз • Медикаментозная терапия

Поступила в редакцию: 16.04.2020; поступила после доработки: 24.04.2020; принята к печати: 01.05.2020

NEW CORONAVIRUS DISEASE (COVID-19) AND CARDIOVASCULAR DISEASE

O.L. Barbarash^{1,2}, V.N. Karetnikova^{1,2}, V.V. Kashtalap^{1,2} ✉, T.N. Zvereva^{1,2}, A.M. Kochergina^{1,2}

¹Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases", 6, Sosnoviy Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002; ²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Kemerovo State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation", 22a, Voroshilova St., Kemerovo, Russian Federation, 650029

Highlights

• Cardiovascular disease is a common comorbidity in COVID-19 pandemic that increases the risk of adverse outcomes in patients due to both, the action of the viral agent and possible drug interactions. The management of these patients requires healthcare professionals to have specific knowledge on the characteristics of the viral infection, its clinical signs and symptoms combined with cardiovascular diseases, as well as individual and collective prevention measures. The safety of healthcare professionals and favorable prognosis of patients are of the top priority for the modern healthcare system.

Abstract

The review discusses current challenges associated with the novel coronavirus disease COVID-19 and cardiovascular diseases. The results of few clinical trials and individual case reports have shown the presence of certain problems in treating patients with comorbidity and viral infection. The new data on the drug interactions

Для корреспонденции: Василий Васильевич Кашталап, v_kash@mail.ru; адрес: Сосновый бульвар, 6, Кемерово, Россия, 650002

Corresponding author: Vasily V. Kashtalap, v_kash@mail.ru; address: 6, Sosnoviy blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

are reported. Common patterns of typical cardiovascular diseases and COVID-19 are presented. The risk groups with the need for timely diagnosis and intensive cardiac care are identified to prevent adverse outcomes in patients with this comorbidity.

Keywords

COVID-19 • Cardiovascular diseases • Acute coronary syndrome • Heart failure • Troponin • Prognosis • Drug therapy

Received: 16.04.2020; received in revised form: 24.04.2020; accepted: 01.05.2020

Список сокращений

АПФ	– ангиотензин-превращающий фермент	ЧКВ	– чрескожные коронарные вмешательства
иАПФ	– ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента	XCH	– хроническая сердечная недостаточность
ИМ	– инфаркт миокарда	SARS-CoV-2	– коронавирус 2-го типа, вызывающий тяжелый острый респираторный синдром
ОКС	– острый коронарный синдром	COVID-19	– заболевание с развитием острого респираторного синдрома (инфекция), вызываемое коронавирусом SARS-CoV-2
РААС	– ренин-ангиотензин-альдостероновая система		
ССЗ	– сердечно-сосудистые заболевания		

Введение

Инфекционное заболевание COVID-19, вызванное коронавирусом 2-го типа с развитием острого респираторного синдрома (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2), продолжает распространяться, влияя на здоровье и судьбы миллионов людей по всему миру [1]. В связи с высокой клинической и социальной значимостью этого заболевания многие ведущие журналы, в том числе кардиологические, незамедлительно публикуют информацию о COVID-19, приводя данные об особенностях течения заболевания у пациентов с коморбидной патологией, сложностях диагностики и лечения, выборе алгоритмов помощи таким пациентам. Эта чрезвычайно важная для кардиологов информация, поскольку в России мы только начинаем сталкиваться с такими пациентами и опыт зарубежных коллег для нас бесценен.

К настоящему времени публикации, посвященные диагностике и лечению коморбидных состояний у пациентов с COVID-19, не являются результатом системного анализа. Скорее информация носит характер описания особенностей ведения отдельных пациентов, анализа небольших наблюдательных исследований, рассуждений о возможных механизмах патологического воздействия, перспектив лечения и профилактики [2]. Тем не менее ведущие профессиональные кардиологические сообщества, в том числе российское, выпустили руководства по лечению пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) в период пандемии [3].

В настоящей публикации мы обсуждаем наиболее актуальные вопросы ведения пациентов с COVID-19 и сопутствующей сердечно-сосудистой патологией.

Портрет пациента с COVID-19 с позиции коморбидности

Сердечно-сосудистые заболевания оказываются

одной из наиболее частых коморбидных патологий у пациентов с COVID-19 [4]. Метаанализ шести клинических исследований, включивший 1 527 случаев коронавирусной инфекции, продемонстрировал наличие артериальной гипертензии у 17,1% пациентов, ишемической болезни сердца и/или цереброваскулярной болезни – у 16,4%, сахарного диабета 2-го типа – у 9,7% пациентов [5]. При этом большинство наиболее тяжелых пациентов, поступавших в отделения интенсивной терапии, характеризовались наличием сопутствующей патологии. По данным китайского исследования (Ухань), коморбидная патология существенно повышала риск неблагоприятного исхода: отмечено значительное увеличение летальности среди пациентов с ССЗ до 10,5%, с сахарным диабетом 2-го типа – до 7,3%, с изолированной артериальной гипертензией – до 6,0%, при этом летальность в этой популяции в целом составила 2,3% [6]. Данные итальянских коллег подтверждают эти показатели [7]. Согласно китайскому протоколу WHO-China, смертность от COVID-19 на фоне ССЗ составила 13,2% (по сравнению с 1% среди лиц без коморбидной патологии), также отмечены более высокие доли сахарного диабета (9,2%) и артериальной гипертензии (8,4%) среди умерших пациентов [2, 8].

Рассматривая возможные механизмы столь высокой распространенности сочетания коронавирусной инфекции и ССЗ, следует указать на потенциально общие факторы риска этих заболеваний. Например, возраст, оказывая супрессивное влияние на иммунную систему, повышает восприимчивость к вирусной инфекции и обеспечивает ее более тяжелое течение. Ранее было отмечено снижение титра протективных антител примерно на 50% у лиц старше 65 лет после вакцинации против гриппа, у более молодых пациентов такой динамики не наблюдалось [9]. Другие факторы сердечно-сосудистого риска,

такие как сахарный диабет и дислипидемия, также вызывают нарушение иммунного ответа, повышая риск присоединения вирусной инфекции [10, 11]. Кроме того, ССЗ рассматривают в качестве маркера ускоренного иммунного старения с негативным влиянием на течение и прогноз при COVID-19 [4].

В настоящее время отсутствует точная информация об отдаленных результатах лечения, однако есть свидетельства развития кардиальных осложнений после купирования острой симптоматики COVID-19 и их возникновения даже после выздоровления пациентов [12]. Итальянские коллеги сообщают о случае фульминантного миокардита у реконвалесцента через неделю после разрешения всех респираторных симптомов [13]. Более поздние сердечно-сосудистые проявления крайне важны, так как они могут существенно влиять на долгосрочный прогноз. Так, предполагаются ассоциация SARS-CoV с нарушениями регуляции липидного и углеводного обмена, а также хроническое повреждающее действие этого вирусного агента на сердечно-сосудистую систему [14].

Еще одним вариантом распространенной коморбидности у пациентов с COVID-19 является онкологическая патология, при которой отмечен не только высокий риск инфицирования, но и более высокая частота летальных исходов [1, 15]. Данные небольшого проспективного исследования о пациентах с анамнезом рака, инфицированных SARS-CoV-2, свидетельствуют об их более старшем возрасте (63 года и 49 лет – без новообразований), большем числе курящих среди больных раком, более частом возникновении тахипноэ и выявлении патологических изменений легких по данным компьютерной томографии [15].

Коморбидная патология, представленная сердечно-сосудистыми и онкологическими заболеваниями, наиболее актуальна ввиду их высокой распространенности [16]. Влияние пандемии COVID-19 на этих больных может оказаться губительным. Пациенты со злокачественными опухолями традиционно находятся в группе высокого риска инфицирования по причине компрометации иммунной системы самим новообразованием, а также назначаемой противоопухолевой терапией, с развитием лейкопении, нарушением барьерной функции кожи и слизистых, а также тяжелыми изменениями микрофлоры кишечника [15].

По данным китайских исследователей, среди 1 590 человек с подтвержденным COVID-19, 1% имели в анамнезе рак (чаще всего легких), большая доля этих пациентов нуждалась в госпитализации в отделения интенсивной терапии и проведении искусственной вентиляции легких, а также характеризовалась почти 5-кратным увеличением риска летального исхода по сравнению с больными без новообразований [17].

Следует отметить, что практически все исследователи схожи во мнении об ограничениях имеющейся информации ввиду отсутствия данных о долгосрочном прогнозе COVID-19 и особенностях дальнейшего течения коморбидной патологии у этих больных.

COVID-19 и острый коронарный синдром

Сочетание COVID-19 с клиникой острого коронарного синдрома (ОКС) актуально с нескольких позиций. Во-первых, как и любое острое воспалительное заболевание, COVID-19 может явиться провоцирующим фактором дестабилизации атеросклеротической бляшки и реализации атеротромботического сценария ОКС. Кроме того, свойственные тяжелой интоксикации нарушения гемодинамики (тахикардия, гипо- или гипертония) способны выступать в качестве провоцирующего фактора развития инфаркта миокарда (ИМ) по 2-му типу. Не стоит забывать и о том, что кардиотоксичность на фоне инфекции или назначения противовирусной терапии, проявляющаяся соответствующими клиническими симптомами и повышением концентрации тропонинов, мозгового натрийуретического пептида, обуславливает необходимость тщательного дифференциального диагноза вирус-индуцированного повреждения миокарда с классическим ОКС на фоне атеротромбоза.

В условиях пандемии COVID-19 подходы, доказавшие эффективность в лечении пациентов с ОКС, прежде всего эндоваскулярная реваскуляризация, имеют значительные ограничения, поскольку рутинное направление пациента с ОКС и подозрением на COVID-19 в рентгеноперационную в установленные сроки до 120 минут от первого медицинского контакта вызовет значительное увеличение риска инфицирования врачебной бригады и всего коллектива инвазивного центра при несоблюдении противоэпидемических мероприятий. Наконец, у пациента с тяжелой симптоматикой COVID-19 может развиваться классический атеротромботический ОКС с последующим летальным исходом. У этой категории пациентов следует обсуждать и корректно определять причину смерти при формулировании основного заболевания в патологоанатомическом диагнозе.

Обращает на себя внимание публикация китайских коллег [18], в которой рассматривается феномен значительного повышения уровня тропонина T у пациентов с COVID-19 без установленного анамнеза ССЗ и клинических признаков ИМ. Авторы объясняют этот эффект так называемым феноменом вирус-индуцированного повреждения миокарда, который тесно ассоциируется с повышением С-реактивного белка (фактор системного воспаления), натрийуретических пептидов (маркеры миокардиального дистресса), развитием жизнеугрожающих аритмий

и острой сердечной недостаточности. Более того, вероятность летального исхода при высоких значениях тропонина Т была повышена как у пациентов с сердечно-сосудистой коморбидностью, так и без таковой. В этой связи вопросам корректной дифференциальной диагностики вирус-индуцированного повреждения миокарда и ИМ (1-го или 2-го типов) необходимо уделять пристальное внимание при ведении пациентов с COVID-19. Неточная постановка диагноза ИМ может повлечь необоснованное проведение коронарной ангиографии, увеличить риск инфицирования персонала, не улучшив при этом клиническую ситуацию и прогноз пациента, у которого нет истинного (атеротромботического) ИМ 1-го типа.

Иллюстрируя важные аспекты дифференциальной диагностики на разных этапах ведения пациента с COVID-19, заметим, что практически в экстренном порядке меняются алгоритмы работы патологоанатомических служб стран, в которых развивается пандемия COVID-19. Ведущие мировые медицинские журналы, вопреки устоявшейся практике, охотно принимают описательные случаи с морфологической картиной пациентов, умерших от COVID-19. Авторы тщательно анализируют посмертные макро- и микроскопические гистологические изменения в легких и миокарде, а также обращают внимание на наличие тромбоза коронарных артерий, состояние атеросклеротических бляшек, поскольку механизмы негативного влияния коронавирусной инфекции на течение ССЗ остаются предметом дискуссий [19].

В этом отношении современная медицинская наука только накапливает необходимый объем знаний. Немаловажным является эффективная защита персонала патологоанатомических бюро и учреждений судебной медицины от инфицирования коронавирусом, а также других структур, в которых появляются пациенты с COVID-19.

Значимым с точки зрения безопасности персонала является и аспект работы ангиографических лабораторий в условиях COVID-19. Согласно рекомендациям Американского колледжа кардиологов и Общества специалистов по ангиографии и эндоваскулярным вмешательствам в кардиологии, медицинским учреждениям следует воздержаться от плановых вмешательств. Если же принято решение о выполнении эндоваскулярных процедур, следует отказаться от вмешательств у пациентов с коморбидной патологией, срок пребывания которых в стационаре может превысить 1–2 дня [20].

В целом эксперты Российского кардиологического общества и зарубежных сообществ проявляют разумный консерватизм в выборе инвазивной стратегии ведения пациентов с ОКС. Это можно объяснить двумя факторами: во-первых, у пациентов с тяжелыми проявлениями инфекции ОКС,

вплоть до ИМ, может развиваться по сюжету ИМ 2-го типа на фоне непораженного коронарного русла. Второй причиной консерватизма являются сложности в обеспечении безопасности персонала. Большая часть рентгеноперационных не располагает системой вентиляции, предназначенной для оказания помощи инфекционным больным. Наконец, порядок маршрутизации пациентов с ОКС в условиях региона и конкретного учреждения должен подразумевать возможность проведения чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ) в «чистой» и изолированно инфицированной зоне.

Для пациентов с ОКС и подъемом сегмента ST сохраняется необходимость проведения ЧКВ с последующим тестированием на COVID-19 для определения места пребывания пациента («чистая» или изолированная зона). Для пациентов с COVID-19 проведение коронарографии и ЧКВ, а также последующее лечение следует проводить в изолированной зоне. У пациентов с ОКС низкого риска следует отдать предпочтение консервативной стратегии ведения. Для пациентов с положительным тестом на COVID-19 поводом для инвазивной стратегии может быть дестабилизация состояния, а у пациентов с отрицательным тестом – высокий риск дестабилизации состояния. Все эксперты единодушно заявляют о необходимости сокращения времени госпитализации, приветствуя раннюю выписку и использование средств телемедицины для контроля за состоянием пациента.

Итальянские авторы [21] приводят клинический случай ведения пациента с COVID-19 и ОКС, осложненным острой левожелудочковой недостаточностью. Описано развитие ОКС без подъема сегмента ST низкого риска (нестабильной стенокардии) у пациента 70 лет. По данным коронароангиографии выявлены признаки хронической окклюзии правой коронарной артерии и критического стеноза ствола левой коронарной артерии с переходом на передне-нисходящую и огибающую артерии. Учитывая стабильность состояния пациента, реваскуляризация предполагалась в течение последующих 48 ч. Однако через 24 ч после коронарографии у пациента появились лихорадка и респираторный дистресс-синдром. Компьютерная томография легких и лабораторные тесты подтвердили наличие у пациента COVID-19, что потребовало его изоляции. В последующие сутки на фоне гипертермии, нестабильных показателей гемодинамики (тахикардия, гипотония) у пациента рецидивировал болевой синдром в грудной клетке.

Коллегиально было принято решение о дальнейшей инвазивной стратегии лечения ОКС. Учитывая характер поражения коронарного русла и прогрессирование левожелудочковой недостаточности, в условиях рентгеноперационной с соблюдением всех мер защиты персонала проведено стентирование

бифуркации левой коронарной артерии с применением технологии double-stent bifurcation при сохранении окклюзии правой коронарной артерии. В связи с сохраняющимися признаками острой левожелудочковой недостаточности и ЧКВ высокого риска использована система левожелудочковой поддержки Impella CP (Abiomed Inc., США). Удовлетворительный результат ЧКВ, подтвержденный данными внутрисосудистого ультразвука, позволили после процедуры отойти от левожелудочковой поддержки.

Авторы публикации подробно описывают средства защиты, используемые медицинскими сотрудниками стационара и рентгенопарационной, поскольку эффективная защита медицинского персонала от инфекции COVID-19, помимо непосредственного позитивного клинического эффекта вмешательства, может говорить об обоснованности выбранной тактики лечения больного.

COVID-19 и хроническая сердечная недостаточность

Характеризуя пациентов с COVID-19, следует отметить схожесть респираторной и кардиальной симптоматики, часто проявляющейся одышкой, что может создавать существенные трудности как на этапе скрининга, так и постановки окончательного диагноза, особенно у больных с хронической сердечной недостаточностью (ХСН). Особо сложную категорию представляют пациенты, имеющие отягощенный анамнез по легочной и сердечно-сосудистой патологии [22]. По данным анализа заболевших в Ухани (Китай), ХСН присутствовала у 1/3 пациентов, госпитализированных с COVID-19, и выявлялась более чем у половины умерших от этого заболевания [23]. Как уже было сказано выше, вирусный агент SARS-CoV-2 способен вызывать прямое повреждение кардиомиоцитов, приводя к декомпенсации ХСН, шоку и внезапной смерти. Согласно результатам исследования G.Y. Oudit и соавт., проводившегося в Торонто (Канада) в период вспышки атипичной пневмонии в 2008 г., в 35% образцов аутопсийных материалов сердца, взятых на фоне поражения SARS-CoV, была обнаружена вирусная РНК возбудителя [24].

Если более подробно освещать тему ассоциированного с COVID-19 повреждения миокарда, то следует отметить полиэтиологичность этого феномена. В настоящее время в научном сообществе идут активные дискуссии о том, каким образом SARS-CoV-2 может оказывать кардиолитическое влияние с критическим повышением значения тропонинов, потому что зачастую это требует дифференциальной диагностики с ИМ.

В недавней обзорной статье французских авторов [25] высказывается предположение, что некроз кардиомиоцитов может развиваться как следствие

нескольких пусковых факторов: прямого повреждающего действия вирусного агента SARS-CoV-2 на кардиомиоциты, поскольку рецепторы ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) 2-го типа экспрессируются на этих клетках; гипоксического повреждения кардиомиоцитов на фоне цитокинового шторма, локального и системного ацидоза, лизиса митохондрий; микроциркуляторных нарушений на фоне гиперкоагуляции и гиперагрегации тромбоцитов, а также коронарораспазма. Кроме того, из-за гиперреактивности иммунной системы могут парадоксально запускаться сценарии неишемической гибели кардиомиоцитов (апоптоз). В итоге это приводит к снижению функциональных свойств миокарда и развитию острой сердечной недостаточности и других жизнеугрожающих состояний.

В то же время индуцированное COVID-19 поражение легких может приводить к значимым нарушениям газообмена, проявляющимся гипоксемией, дефицитом макроэргов, тяжелым ацидозом. Развивающийся внутриклеточный ацидоз и свободные радикалы разрушают фосфолипидный слой клеточных мембран, а вызванный гипоксией приток ионов кальция приводит к повреждению и апоптозу кардиомиоцитов [26]. Сочетание таких особенностей вирусной инвазии при COVID-19 и исходно тяжелого коморбидного статуса пациента с ХСН приводит к высокому риску быстрой декомпенсации сердечной недостаточности и развитию полиорганной дисфункции. Закономерно такие пациенты характеризуются высоким риском летального исхода на фоне COVID-19 [27].

Имеются данные о возможности малосимптомного течения вирусной инфекции у пациентов с ССЗ. Так, Национальная комиссия здравоохранения Китая сообщает, что некоторые пациенты впервые обратились к врачу из-за симптомов, связанных с ССЗ: с учащенным сердцебиением, болью и стеснением в груди, а вовсе не с лихорадкой и кашлем. Тем не менее после дообследования им поставлен диагноз COVID-19 [14].

Китайские коллеги описывают наблюдение за четырьмя пациентами с терминальной ХСН, которые были инфицированы SARS-CoV-2: двое из них имели легкое течение заболевания, другие – тяжелое течение. Стоит отметить, что выраженной лихорадки не наблюдалось ни у одного из пациентов с ХСН. В то же время у двух больных с тяжелым течением COVID-19 имело место значительное повышение уровней тропонинов, мозгового натрийуретического пептида и С-реактивного белка [28].

Вместе с пониманием кардиотропного действия непосредственно вируса SARS-CoV-2 не стоит игнорировать информацию о возможных повреждающих эффектах на сердце противовирусных препаратов у пациентов с ХСН и COVID-19. Так, в исследовании 138 пациентов с COVID-19 противовирусные

препараты были назначены 89,9% больным [27]. Известно, что противовирусные средства могут вызывать сердечную недостаточность, аритмию или другие сердечно-сосудистые нарушения. Поэтому при назначении противовирусных препаратов необходимо тщательно мониторировать развитие сердечно-сосудистых осложнений и по возможности избегать неблагоприятных лекарственных взаимодействий [29].

Таким образом, при лечении коморбидных по ССЗ пациентов с COVID-19, особенно с ХСН, необходимо учитывать многофакторный риск повреждения миокарда, эффекты этиотропной терапии, а также атипичные варианты течения вирусного заболевания.

Трансплантация сердца в период пандемии COVID-19

По данным М. Al Ghamdi [30] и D. Kumar [31] во время предыдущих эпидемий коронавируса (SARS и MERS) пациенты с трансплантированными органами, в том числе сердцем, имели схожие с общей популяцией заболевших клинические симптомы. Во время текущей пандемии описано течение COVID-19 у двух пациентов с трансплантированными сердцами из китайской провинции Хубэй. Клинические и инструментальные проявления заболевания были типичными: у одного пациента заболевание протекало в легкой форме, второму потребовалась длительная госпитализация с неинвазивной вентиляцией легких и отменой иммуносупрессивной терапии [32]. Пациенты принимали терапию антибиотиками и противовирусными препаратами, в обоих случаях исход заболевания благоприятный.

Опрос 87 реципиентов сердца в Ухане (Китай) не позволил сделать вывод о более высоком риске заражения COVID-19 при использовании пациентами стандартных профилактических мер [33], однако этот вопрос требует более масштабного анализа.

Продолжающаяся пандемия актуализировала и вопрос целесообразности в этих условиях трансплантации сердца в связи с высоким риском заражения COVID-19 во время госпитализации, а также проблемой лечения инфекции на фоне иммуносупрессии. Вместе с тем, согласно текущим рекомендациям международных сообществ по вопросам трансплантологии, возможно сохранение выполнения трансплантации сердца при условии, что реципиент не имеет положительного теста на SARS-CoV-2 и не имел контактов с инфицированными пациентами и/или симптомов COVID-19 в предыдущие две – четыре недели [34]. Необходимо исключить из работы трансплантологов вероятных доноров с известным или возможным COVID-19, их тесты (выполненные строго посредством метода полимеразной цепной реакции) должны быть отри-

цательными в течение по крайней мере 14 дней.

С учетом роста распространенности COVID-19, длительного инкубационного периода этой инфекции, растущего числа случаев с ложноотрицательными результатами лабораторных тестов следует с осторожностью подходить к решению вопроса о трансплантации сердца в период пандемии COVID-19 в каждом отдельно взятом регионе и клиническом центре [35].

Лечение сердечно-сосудистых заболеваний и коронавирусная болезнь

Стремительные темпы распространения коронавирусной инфекции SARS-CoV-2, а также тот факт, что коморбидность является значимым фактором неблагоприятного прогноза заболевших COVID-19, заставляют критично оценить влияние кардиологических препаратов как на риск инфицирования COVID-19 (более подробно рассмотрим ниже), так и течение самого заболевания (в отношении показателей гемодинамики у пациентов со средним и тяжелым течением COVID-19).

В первую очередь внимание привлекли препараты, влияющие на ренин-ангиотензин-альдостероновую систему (РААС): ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента (иАПФ) и сартаны. Это обусловлено ведущим механизмом инфицирования COVID-19 посредством проникновения в клетку-хозяина через экзопептидазу рецепторов АПФ 2-го типа, экспрессированных в легких, сердце и почках. Опубликованные лабораторные исследования показали, что вероятность инвазии SARS-CoV-2 и повреждающее действие вируса в отношении легочного эпителия связаны с рецепторами АПФ в легочной ткани. Поскольку прием иАПФ или сартанов является компонентом базисной терапии ишемической болезни сердца, гипертонической болезни и ХСН, то эти препараты используются у большинства больных с ССЗ, обеспечивая контроль показателей гемодинамики и органопroteкцию. Одновременная принадлежность таких пациентов к группе высокого риска неблагоприятного исхода COVID-19 (пожилой возраст, коморбидность) определяет высокую актуальность изучения механизмов влияния ингибирования РААС на течение коронавирусной инфекции.

Первично в эксперименте показано, что лечение иАПФ может значительно снизить легочное воспаление и высвобождение цитокинов, вызванное коронавирусной инфекцией. Одно из первых исследований [36], которое призвано выявить наличие связи терапии ингибиторами РААС с клиническим течением и исходами COVID-19, начато в Китае в январе 2020 года: анализ носит ретроспективный характер, и, к сожалению, результаты пока не опубликованы. Тем не менее в настоящий момент позиция в отношении приема иАПФ и сартанов

ведущих экспертных научно-медицинских сообществ такова: лица, получавшие указанные препараты ранее по известным показаниям, должны продолжить лечение в полном объеме. В случае развития у них коронавирусной инфекции и, как следствие, изменений гемодинамики терапия может быть скорректирована с учетом клинического состояния пациента. Для лиц, ранее не получавших иАПФ и сартаны, прием препаратов без показаний не оправдан [37].

В отношении терапии, применяемой для лечения COVID-19, по имеющимся данным, прием иАПФ и сартанов является относительно безопасным в отношении лекарственных взаимодействий. Так, для большинства из них не требуется отмена и/или коррекция дозы иАПФ/сартана. Лишь для валсартана в сочетании с лопинавиром-ритонавиром (калетрой) может потребоваться коррекция дозы [38].

Авторы ряда наблюдательных исследований предполагают, что терапия статинами может быть связана со снижением риска различных сердечно-сосудистых событий и, возможно, уменьшением риска смерти пациентов с гриппом и/или пневмонией. Важно отметить, что в этих исследованиях не выявлено токсического поражения органов на фоне приема статинов в сочетании с противовирусной терапией. В настоящее время не существует крупномасштабных наблюдений или рандомизированных исследований, подтверждающих или опровергающих гипотезу о дополнительной пользе противовоспалительного эффекта статинов у пациентов с COVID-19. Терапия статинами должна быть продолжена у пациентов с подозрением на COVID-19, так как ее отмена ассоциирована с повышением риска не только сердечно-сосудистых событий. С учетом вероятного наличия у статинов системного противовоспалительного и локального кардиопротективного эффектов их прием в условиях пандемии COVID-19 может уменьшить тяжесть вирус-индуцированного повреждения миокарда и интенсивность цитокинового шторма [39].

Однако в отношении возможных взаимодействий с противовирусной терапией статины являются группой препаратов, требующих наибольшей осторожности при лечении пациентов с COVID-19, так как имеют наибольшее количество описанных лекарственных взаимодействий. В частности, аторвастатин и розувастатин могут иметь потенциальное взаимодействие с комбинацией лопинавира-ритонавира (калетры), а также сочетанием дарунавира/кобицистата и, как следствие, требуют коррекции дозы [39].

В работе L. Wenzhong и L. Hualan [40] описано принципиально новое патологическое воздействие вируса – на эритроциты. Так, авторы высказывают предположение о том, что вирусные белки могут связывать порфилин и инактивировать гемоглобин

в крови, переводя его в неактивный метгемоглобин, вызывая развитие тяжелой гемической гипоксии. Предполагается, что это может быть одним из вариантов инициации полиорганной дисфункции при COVID-19. Более того, инактивация гемоглобина приводит к его усиленной мобилизации, перенапряжению красного ростка кроветворения, развитию эритроцитоза и полицитемической плеторы. Эти патологические изменения в условиях гипертермии, цитокинового шторма приводят к развитию гиперагрегации тромбоцитов и прокоагулянтного статуса свертывающей системы крови у пациентов с COVID-19. Склонность к тромбообразованию является характерной чертой любого инфекционного заболевания, сопровождающегося гипертермией, дегидратацией и органическим повреждением.

В настоящее время нет дополнительных сведений о необходимости назначения антитромботической терапии лицам с COVID-19. Тем не менее следует принять во внимание опыт зарубежных коллег, призывающих уделять внимание комплексной оценке состояния коагуляционного гемостаза при поступлении пациента с COVID-19 (определение фибриногена, протромбинового времени, уровня тромбоцитов и Д-димера) [41]. На основании полученных данных предлагается индивидуально решать вопрос о назначении антикоагулянтов пациентам с COVID-19. Китайские коллеги отметили, что при назначении низкомолекулярного гепарина были выявлены достоверные различия по частоте 28-суточной летальности у пациентов с повышенным уровнем Д-димера (32,8 против 52,4%, $p = 0,017$) или ≥ 4 баллами по шкале сепсис-индуцированной коагулопатии (Sepsis-induced coagulopathy, SIC) (40,0 против 64,2%, $p = 0,029$) по сравнению с группой пациентов, которым низкомолекулярные гепарины не назначались [42]. Практические аспекты выбора антикоагулянта и дозировок подробно представлены в открытом руководстве по профилактике тромбоза и лечению коагулопатии у пациентов с COVID-19 [43].

В отношении дезагрегантов подчеркивается, что пациенты с COVID-19, ранее получавшие аспирин, клопидогрел или тикагрелор, должны продолжить их прием, так как риск отмены этих препаратов может быть связан с увеличением риска сердечно-сосудистых событий [3].

В отношении сочетания антиагрегантов с противовирусной терапией необходимо указать, что клопидогрел и тикагрелор не следует использовать с комбинацией лопинавира-ритонавира (калетры), а также дарунавиром/кобицистатом [44] из-за высокого риска неблагоприятных лекарственных взаимодействий и осложнений. Опасность лекарственного взаимодействия связана с наличием общих для противовирусных и кардиологических препаратов метаболических путей печеночной ферментации.

В силу этого предсказать эффекты лекарственной кардиотропной терапии, принимаемой на фоне заблокированной метаболизмом противовирусных препаратов ферментной системы цитрохрома, невозможно.

Заключение

В условиях разрастающейся пандемии COVID-19 практикующему кардиологу необходимо владеть большим объемом информации, которая появляется практически ежедневно. Тем не менее следует помнить, что проблема пандемии COVID-19 является преходящей: медицинская наука рано или поздно решит ее путем создания современной специфичной вакцины. Широкая вакцинация населения всего мира позволит создать иммунную прослойку – устойчивую к вирусу популяцию. При этом ССЗ были и остаются основной причиной смерти во всех развитых странах. Ослабление внимания к эффективному управлению рисками сердечно-сосудистых событий у пациентов с острыми и хроническими ССЗ может привести к повышению сердечно-сосудистой и общей смертности. Пандемия с вынужденной социальной изоляцией, гиподинамией и депрессией в условиях карантинных противоэпидемических мероприятий может создавать для этого неблагоприятный фон.

Для национальных и региональных систем здравоохранения пандемия COVID-19 является идеальным штормом, испытанием в боевых условиях действующих подходов к диагностике, алгорит-

мов лечения, разработанных схем маршрутизации пациентов с социально значимыми сердечно-сосудистыми заболеваниями. В этой связи всесторонняя противоэпидемическая защита медицинского персонала, оказывающего помощь пациентам с сердечно-сосудистыми заболеваниями в условиях COVID-19, является стратегической задачей как организаторов здравоохранения, так и самих сотрудников. Нельзя допускать повторения ситуации в ряде стран, когда высококвалифицированные кардиологи, анестезиологи-реаниматологи и эндоваскулярные хирурги оказывались инфицированы и становились источником распространения пандемии из-за невыполнения мероприятий индивидуальной защиты или неиспользования защитных средств вследствие скептического отношения к угрозе COVID-19. Важно помнить, что любая болезнь не терпит незнания и невыполнения алгоритмов – будь то сердечно-сосудистое заболевание или COVID-19.

Конфликт интересов

О.Л. Барбараш, В.Н. Каретникова и В.В. Кашталап входят в редакционную коллегию журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний». Т.Н. Зверева и А.М. Кочергина заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Авторы заявляют об отсутствии финансирования исследования.

Информация об авторах

Барбараш Ольга Леонидовна, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; заведующая кафедрой кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4642-3610

Каретникова Виктория Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией патологии кровообращения отдела клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; профессор кафедры кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-9801-9839

Кашталап Василий Васильевич, доктор медицинских наук, доцент, заведующий отделом клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»,

Author Information Form

Barbarash Olga L., MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the RAS, Director of the Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; Head of the Department of Cardiology and Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kemerovo State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4642-3610

Karetnikova Victoria N., MD, PhD, Professor, Head of the Laboratory of Circulatory Pathology at the Department of Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; Professor at the Department of Cardiology and Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kemerovo State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-9801-9839

Kashtalap Vasily V., MD, PhD, Associate Professor, Head of the Department of Clinical Cardiology at the Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; Associate Professor at the Department of Cardiology and

Кемерово, Российская Федерация; доцент кафедры кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-3729-616X

Зверева Татьяна Николаевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории реабилитации отдела клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; доцент кафедры кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-2233-2095

Кочергина Анастасия Михайловна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории патологии кровообращения отдела клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; ассистент кафедры кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-3998-7028

Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kemerovo State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3729-616X

Zvereva Tatiana N., MD, PhD, research associate at the Rehabilitation Laboratory, Department of Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; Associate Professor at the Department of Cardiology and Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kemerovo State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-2233-2095

Kochergina Anastasia M., MD, PhD, researcher at the Laboratory of Circulatory Pathology, Department of Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; assistant lecturer at the Department of Cardiology and Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kemerovo State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3998-7028

Вклад авторов в статью

БОЛ – интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

КВН – интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

КВВ – интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ЗТН – интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

КАМ – интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Author Contribution Statement

BOL – data interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

KVN – data interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

KVV – data interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

ZTN – data interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

KAM – data interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y., Liang W., Ou Ch., He J. et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020; 2020 Feb 28. doi: 10.1056/NEJMoa2002032.
2. Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). 16-24 February 2020. Available at: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>. (accessed March 9, 2020).
3. Шляхто Е. В., Конради А. О., Арутюнов Г. П., Арутюнов А. Г., Баутин А. Е., Бойцов С. А., Виллевалде С. В., Григорьева Н. Ю., Дупляков Д. В., Звартау Н. Э., Козиолова Н. А., Лебедев Д. С., Мальчикова С. В., Медведева Е. А., Михайлов Е. Н., Моисеева О. М., Орлова Я. А., Павлова Т. В., Певзнер Д. В., Петрова М. М., Ребров А. П., Ситникова М. Ю., Соловьева А. Е., Тарловская Е. И., Трушкина М. А., Федотов П. А.,

Фомин И. В., Хрипун А. В., Чесникова А. И., Шапошник И. И., Явелов И. С., Яковлев А. Н. Руководство по диагностике и лечению болезней системы кровообращения в контексте пандемии COVID-19. *Российский кардиологический журнал.* 2020;25(3):3801. doi:10.15829/1560-4071-2020-3-3801.

4. Driggin E., Madhavan M.V., Bikdeli B., Chuich T., Laracy J., Bondi-Zoccai G. et al Cardiovascular Considerations for Patients, Health Care Workers, and Health Systems During the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pandemic. *J Am Coll Cardiol.* 2020 Mar 19. Epublised Doi:10.1016/j.jacc.2020.03.031.

5. Li B., Yang J., Zhao F., Zhi L., Wang X., Liu L., Bi Z., Zhao Yu. Prevalence and impact of cardiovascular metabolic diseases on COVID-19 in China. *Clin Res Cardiol.* 2020 Mar 11; 1-8 doi: 10.1007/s00392-020-01626-9

6. Wu Z., Mc Googan J.M. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020. Feb 24. doi: 10.1001/jama.2020.2648.
7. Porcheddu R., Serra C., Kelvin D., Kelvin N., Rubino S. Similarity in Case Fatality Rates (CFR) of COVID-19/SARS-COV-2 in Italy and China. *J Infect Dev Ctries*. 2020;14:125-128. doi: 10.3855/jidc.12600.
8. Chen N., Zhou N., Dong X., Qu J., Gong F., Ya. Han et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020;395:507-513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
9. Liu W.M., Vander Zeijst B.A., Boog C.J., Soethout E.C. Aging and impaired immunity to influenza viruses: implications for vaccine development. *Hum Vaccin*. 2011; 7 Suppl: 94-8.
10. Zidar D.A., Al-Kindi S.G., Liu Y., Krieger N.I., Perzynski A.T., Osnard M. et al. Association of Lymphopenia With Risk of Mortality Among Adults in the US General Population. *JAMA. Netw Open* 2019;2:e1916526 doi: 10.1001/jamanetworkopen.2019.16526.
11. Saltiel A.R., Olefsky J.M. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. *J Clin Invest*. 2017;127:1-4
12. Akhmerov A., Marban E. COVID-19 and the Heart. *Circulation*. 2020 Apr 11. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317055.
13. Inciardi R.M., Lupi L., Zaccone G., Italia L., Raffo M., Tomasoni D. et al. Cardiac involvement in a patient with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol*. 2020; DOI: 10.1001/jamacardio.2020.1096.
14. Zheng Y.-Y., Ma Y.-T., Zhang J.-Y., Xie X. COVID-19 and the cardiovascular system. *Nature Reviews Cardiology*. 2020. Mar 5. doi: 10.1038/s41569-020-0360-5.
15. Ganatra S., Hammond S.P., Nohria A. The Novel Coronavirus Disease (COVID-19) Threat for Patients with Cardiovascular Disease and Cancer *JACC: Cardio Oncology*. 2020. doi: 10.1016/j.jacc.2020.03.001.
16. Mortality G.B.D., Causes of Death C. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*. 2016;388:1459-1544.
17. Liang W., Guan W., Chen Retal. Cancer patients in SARS-CoV-2 infection: a nationwide analysis in China. *Lancet Oncol*. 2020;21:335-337.
18. Guo T., Fan Y., Chen M., Wu X., Zhang L., He T., Wang H., Wan J., Wang X., Lu Z. Cardiovascular Implications of Fatal Outcomes of Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol*. 2020 Mar 27. doi: 10.1001/jamacardio.2020.1017.
19. Sharon E. Fox, Aibek Akmatbekov, Jack L. Harbert, Guang Li, J. Quincy Brown, Richard S. VanderHeide. Pulmonary and Cardiac Pathology in Covid-19: The First Autopsy Series from New Orleans. medRxiv. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.06.20050575v1/doi:https://doi.org/10.1101/2020.04.06.20050575>.
20. Welt F.G.P., Shah P.B., Aronow H.D., Bortnick A.E., Henry T.D., Sherwood M.W., Young M.N., Davidson L.J., Kadavath S., Mahmud E., Kirtane A.J., American College of Cardiology's (ACC) Interventional Council and the Society of Cardiovascular Angiography and Intervention (SCAI), Catheterization Laboratory Considerations During the Coronavirus (COVID-19) Pandemic: From ACC's Interventional Council and SCAI. *J Am Coll Cardiol*. 2020 Mar 16; S0735-1097(20)34566-6. doi: 10.1016/j.jacc.2020.03.021..
21. Bettari L., Pero G., Maiandi C., Messina A., Saccocci M., Cirillo M., Troise G., Conti E., Cuccia C., Maffeo D. Exploring personal protection during high-risk PCI in a COVID-19 patient – Impella CP mechanical support during ULMCA bifurcation stenting. *JACC: Case Reports*. April 2020 DOI:10.1016/j.jaccas.2020.03.006.
22. Fried J.A., Ramasubbu K., Bhatt R., Topkara V.K., Clerkin K.J., Horn E. et al. The Variety of Cardiovascular Presentations of COVID-19. *Circulation*. 2020 Apr 3. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047164.
23. Juneman E. Leading the compassionate charge. *Circ Heart Fail*. 2020 Apr;13(4):e007085. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.120.007085.
24. Oudit G.Y., Kassiri Z., Jiang C., Liu P.P., Poutanen S.M., Penninger J.M., Butany J. SARS-coronavirus Modulation of Myocardial ACE2 Expression and Inflammation in Patients With SARS *Eur J Clin Invest*. 2009 Jul; 39(7):618-25. doi: 10.1111/j.1365-2362.2009.02153.x.
25. Haeck G., Ancion A., Marechal P., Oury C., Lancellotti P. COVID-19 and cardiovascular diseases. *Rev Med Liege*. 2020 Apr;75(4):226-232.
26. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y., Zhang L., Fan G., Xu J., Gu X. et al Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020 Feb 15;395(10223):497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
27. Wang D. , Hu B. , Hu C. , Zhu F. , Liu X. , Zhang J. , et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020 Feb 7. doi: 10.1001/jama.2020.1585.
28. Dong N., Cai J., Zhou Y., Liu J., Li F., End-stage Heart Failure with COVID-19: Strong Evidence of Myocardial Injury by 2019-nCoV, *JACC Heart Fail*. 2020 Apr 7. pii: S2213-1779(20)30200-6. doi: 10.1016/j.jchf.2020.04.001.
29. Sakabe M., Yoshioka R., Fujiki A. Sick sinus syndrome induced by interferon and ribavirin therapy in a patient with chronic hepatitis C. *J. Cardiol. Cases*. 2013 Oct 29;8(6):173-175. doi: 10.1016/j.jccase.2013.08.002.
30. Al Ghamdi M., Mushtaq F., Awn N., Shalhoub S. MERS CoV Infection in Two Renal Transplant Recipients: Case Report. *Am J Transplant*. 2015;15:1101-1104.
31. Kumar D., Tellier R., Draker R., Levy G., Humar A. Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) in a Liver Transplant Recipient and Guidelines for Donor SARS Screening. *Am J Transplant*. 2003;3:977-981.
32. Li F., Cai J., Dong N. First Cases of COVID-19 in Heart Transplantation From China. *J Heart Lung Transplant*. 2020. doi: 10.1016/j.healun.2020.03.006.
33. Ren Z.-Li, Hu R., Wang Z.-W., Zhang M., Ruan Y.-L., Wu Z.-Y. et al Epidemiological and Clinical Characteristics of Heart Transplant Recipients During the 2019 Coronavirus Outbreak in Wuhan, China: A Descriptive Survey Report. *J Heart Lung Transplant*. 2020. doi: 10.1016/j.healun.2020.03.008.
34. Guidance for Cardiothoracic Transplant and Mechanical Circulatory Support Centers regarding SARS CoV-2 infection and COVID-19: March 17, 2020. Available at: <https://community.ishlt.org/HigherLogic/System/DownloadDocumentFile.ashx?DocumentFileKey=afb06f06-5d63-13d4-c107-d152a9f6cd46>. (accessed 13.03.2020)
35. American Society of Transplantation. 2019-nCoV (Coronavirus): FAQs for Organ Transplantation. Updated Feb 29, 2020. Available at: <https://www.myast.org/sites/default/files/COVID19%20FAQ%20Tx%20Centers%20030220-1.pdf>. (accessed 13.03.2020)
36. Prognostic Factors in COVID-19 Patients Complicated With Hypertension (NCT04272710) Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04292964>. accessed (14.03.2020)
37. Kuster G.M., Pfister O., Burkard T., Zhou Q., Twerenbold R., Haaf Ph., Widmer A.F., Osswald S. SARS-CoV2: should inhibitors of the renin-angiotensin system be withdrawn in patients with COVID-19? *European Heart Journal*. 2020 doi:10.1093/eurheartj/ehaa235.
38. University of Liverpool. Interactions with Experimental COVID-19 Therapies. Available at: <https://www.Covid19-druginteractions.org> (accessed 13.04.2020)
39. Virani S.S. Is There a Role For Statin Therapy in Acute Viral Infections? Available at: <https://www.acc.org/latest-in-cardiology/articles/2020/03/18/15/09/is-there-a-role-for-statin-therapy-in-acute-viral-infections-covid-19>. (accessed 14.04.2020)
40. Liu W., Li H. COVID-19: Attacks the 1-Beta Chain of Hemoglobin and Captures the Porphyrin to Inhibit Human Heme Metabolism Available at: <https://chemrxiv.org> (accessed 14.04.2020)

41. Thachil J., Tang N., Gando S., Falanga A., Cattaneo M., Levi M., Clark C., Iba T. ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost.* 2020 25 March 25. doi:10.1111/JTH.14810.

42. Tang N., Bai H., Chen X., Gong J., Li D., Sun Z. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost.* 2020 Mar 27. doi: 10.1111/jth.14817.

43. Hunt B., Retter A., McClintock C. Practical guidance for the prevention of thrombosis and management

of coagulopathy and disseminated intravascular coagulation of patients infected with COVID-19. Available at: <https://thrombosisuk.org/downloads/T&H%20and%20COVID.pdf> (accessed 14.04.2020.)

44. COVID-19 Clinical Guidance For the Cardiovascular Care Team. ACC CLINICAL BULLETIN. <https://www.acc.org/latest-in-cardiology/features/~media/Non-Clinical/Files-PDFs-Excel-MS-Word-etc/2020/02/S20028-ACC-Clinical-Bulletin-Coronavirus.pdf>. (accessed 13.04.2020)

REFERENCES

1. Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y., Liang W., Ou Ch., He J. et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020; 2020 Feb 28. doi: 10.1056/NEJMoa2002032.

2. Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). 16-24 February 2020. Available at: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>. (accessed March 9, 2020).

3. Shlyakhto E. V., Konradi A. O., Arutyunov G. P., Arutyunov A. G., Bautin A. E., Boytsov S. A., Villevalde S. V., Grigoryeva N. Yu., Duplyakov D. V., Zvartau N. E., Koziolova N. A., Lebedev D. S., Malchikova S. V., Medvedeva E. A., Mikhailov E. N., Moiseeva O. M., OrlovaYa. A., Pavlova T. V., Pevsner D. V., Petrova M. M., Rebrov A. P., Sitnikova M. Yu., Solovyova A. E., Tarlovskaya E. I., Trukshina M. A., Fedotov P. A., Fomin I. V., Khripun A. V., Chesnikova A. I., Shaposhnik I. I., Yavelov I. S., Yakovlev A. N. Guidelines for the diagnosis and treatment of circulatory diseases in the context of the COVID-19 pandemic. *Russian Journal of Cardiology.* 2020;25(3):3801. (In Russian) doi:10.15829/1560-4071-2020-3-3801.

4. Driggin E., Madhavan M.V., Bikdeli B., Chuich T., Laracy J., Bondi-Zoccai G. et al Cardiovascular Considerations for Patients, Health Care Workers, and Health Systems During the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pandemic. *J Am Coll Cardiol.* 2020 Mar 19. Epublished Doi:10.1016/j.jacc.2020.03.031.

5. Li B., Yang J., Zhao F., Zhi L., Wang X., Liu L., Bi Z., Zhao Yu. Prevalence and impact of cardiovascular metabolic diseases on COVID-19 in China. *Clin Res Cardiol.* 2020 Mar 11; 1-8 doi: 10.1007/s00392-020-01626-9

6. Wu Z., McGoogan J.M. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA.* 2020. Feb 24. doi: 10.1001/jama.2020.2648.

7. Porcheddu R., Serra C., Kelvin D., Kelvin N., Rubino S. Similarity in Case Fatality Rates (CFR) of COVID-19/SARS-COV-2 in Italy and China. *J Infect Dev Ctries.* 2020;14:125-128. doi: 10.3855/jidc.12600.

8. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Ya. Han et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020;395:507-513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.

9. Liu W.M., Vander Zeijst B.A., Boog C.J., Soethout E.C. Aging and impaired immunity to influenza viruses: implications for vaccine development. *Hum Vaccin.* 2011; 7 Suppl: 94-8.

10. Zidar D.A., Al-Kindi S.G., Liu Y., Krieger N.I., Perzynski A.T., Osnard M. et al. Association of Lymphopenia With Risk of Mortality Among Adults in the US General Population. *JAMA. Netw Open* 2019;2:e1916526 doi: 10.1001/jamanetworkopen.2019.16526.

11. Saltiel A.R., Olefsky J.M. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. *J Clin Invest.* 2017;127:1-4

12. Akhmerov A., Marban E. COVID-19 and the Heart. *Circulation.* 2020 Apr 11. doi:10.1161/CIRCRESAHA.120.317055.

13. Inciardi R.M., Lupi L., Zacccone G., Italia L., Raffo M., Tomasoni D. et al. Cardiac involvement in a patient with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol.* 2020;

DOI: 10.1001/jamacardio.2020.1096.

14. ZhengY.-Y., MaY.-T., Zhang J.-Y., Xie X. COVID-19 and the cardiovascular system. *Nature Reviews Cardiology.* 2020. Mar 5. doi: 10.1038/s41569-020-0360-5.

15. Ganatra S., Hammond S.P., Nohria A. The Novel Coronavirus Disease (COVID-19) Threat for Patients with Cardiovascular Disease and Cancer JACC: Cardio Oncology. 2020. doi: 10.1016/j.jacc.2020.03.001.

16. Mortality G.B.D., Causes of Death C. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet.* 2016;388:1459-1544.

17. Liang W., Guan W., Chen Retal. Cancer patients in SARS-CoV-2 infection: a nationwide analysis in China. *Lancet Oncol.* 2020;21:335-337.

18. Guo T., FanY., Chen M., Wu X., Zhang L., He T., Wang H., Wan J., Wang X., Lu Z. Cardiovascular Implications of Fatal Outcomes of Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol.* 2020 Mar 27. doi: 10.1001/jamacardio.2020.1017.

19. Sharon E. Fox, Aibek Akmatbekov, Jack L. Harbert, Guang Li, J. Quincy Brown, Richard S. VanderHeide. Pulmonary and Cardiac Pathology in Covid-19: The First Autopsy Series from New Orleans. medRxiv. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.06.20050575v1/doi:https://doi.org/10.1101/2020.04.06.20050575>.

20. Welt F.G.P., Shah P.B., Aronow H.D., Bortnick A.E., Henry T.D., Sherwood M.W., Young M.N., Davidson L.J., Kadavath S., Mahmud E., Kirtane A.J., American College of Cardiology's (ACC) Interventional Council and the Society of Cardiovascular Angiography and Intervention (SCAI), Catheterization Laboratory Considerations During the Coronavirus (COVID-19) Pandemic: From ACC's Interventional Council and SCAI. *J Am Coll Cardiol.* 2020 Mar 16; S0735-1097(20)34566-6. doi: 10.1016/j.jacc.2020.03.021..

21. Bettari L., Pero G., Maiandi C., Messina A., Saccocci M., Cirillo M., Troise G., Conti E., Cuccia C., Maffeo D. Exploring personal protection during high-risk PCI in a COVID-19 patient – Impella CP mechanical support during ULMCA bifurcation stenting. *JACC: Case Reports.* April 2020 DOI:10.1016/j.jaccas.2020.03.006.

22. Fried J.A., Ramasubbu K., Bhatt R., Topkara V.K., Clerkin K.J., Horn E. et al. The Variety of Cardiovascular Presentations of COVID-19. *Circulation.* 2020 Apr 3. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047164.

23. Juneman E. Leading the compassionate charge. *Circ Heart Fail.* 2020 Apr;13(4):e007085. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.120.007085.

24. Oudit G.Y., Kassiri Z., Jiang C., Liu P.P., Poutanen S.M., Penninger J.M., Butany J. SARS-coronavirus Modulation of Myocardial ACE2 Expression and Inflammation in Patients With SARS Eur J Clin Invest. 2009 Jul; 39(7):618-25. doi: 10.1111/j.1365-2362.2009.02153.x.

25. Haecck G., Ancion A., Marechal P., Oury C., Lancellotti P. COVID-19 and cardiovascular diseases. *Rev Med Liege.* 2020 Apr;75(4):226-232.

26. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y., Zhang L., Fan G., Xu J., Gu X. et al Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020 Feb 15;395(10223):497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.

27. Wang D., Hu B., Hu C., Zhu F., Liu X., Zhang J., et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020 Feb 7. doi: 10.1001/jama.2020.1585.
28. Dong N., Cai J., Zhou Y., Liu J., Li F., End-stage Heart Failure with COVID-19: Strong Evidence of Myocardial Injury by 2019-nCoV, *JACC Heart Fail*. 2020 Apr 7. pii: S2213-1779(20)30200-6. doi: 10.1016/j.jchf.2020.04.001.
29. Sakabe M., Yoshioka R., Fujiki A. Sick sinus syndrome induced by interferon and ribavirin therapy in a patient with chronic hepatitis C. *J. Cardiol. Cases*. 2013 Oct 29;8(6):173-175. doi: 10.1016/j.jccase.2013.08.002.
30. Al Ghamdi M., Mushtaq F., Awn N., Shalhoub S. MERS CoV Infection in Two Renal Transplant Recipients: Case Report. *Am J Transplant*. 2015;15:1101-1104.
31. Kumar D., Tellier R., Draker R., Levy G., Humar A. Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) in a Liver Transplant Recipient and Guidelines for Donor SARS Screening. *Am J Transplant*. 2003;3:977-981.
32. Li F., Cai J., Dong N. First Cases of COVID-19 in Heart Transplantation From China. *J Heart Lung Transplant*. 2020. doi: 10.1016/j.healun.2020.03.006.
33. Ren Z.-Li, Hu R., Wang Z.-W., Zhang M., Ruan Y.-L., Wu Z.-Y. et al Epidemiological and Clinical Characteristics of Heart Transplant Recipients During the 2019 Coronavirus Outbreak in Wuhan, China: A Descriptive Survey Report. *J Heart Lung Transplant*. 2020. doi: 10.1016/j.healun.2020.03.008.
34. Guidance for Cardiothoracic Transplant and Mechanical Circulatory Support Centers regarding SARS CoV-2 infection and COVID-19: March 17, 2020. Available at: <https://community.isHLT.org/HigherLogic/System/DownloadDocumentFile.ashx?DocumentFileKey=afb06f06-5d63-13d4-c107-d152a9f6cd46>.(accessed 13.03.2020)
35. American Society of Transplantation. 2019-nCoV (Coronavirus): FAQs for Organ Transplantation. Updated Feb 29, 2020. Available at: <https://www.myast.org/sites/default/files/COVID19%20FAQ%20Tx%20Centers%20030220-1.pdf>.(accessed 13.03.2020)
36. Prognostic Factors in COVID-19 Patients Complicated With Hypertension (NCT04272710) Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04292964>. accessed (14.03.2020)
37. Kuster G.M., Pfister O., Burkard T., Zhou Q., Twerenbold R., Haaf Ph., Widmer A.F., Osswald S. SARS-CoV2: should inhibitors of the renin-angiotensin system be withdrawn in patients with COVID-19? *European Heart Journal*. 2020 doi:10.1093/eurheartj/ehaa235.
38. University of Liverpool. Interactions with Experimental COVID-19 Therapies. Available at: <https://www.Covid19-druginteractions.org> (accessed 13.04.2020)
39. Virani S.S. Is There a Role For Statin Therapy in Acute Viral Infections? Available at: <https://www.acc.org/latest-in-cardiology/articles/2020/03/18/15/09/is-there-a-role-for-statin-therapy-in-acute-viral-infections-covid-19>. (accessed 14.04.2020)
40. Liu W., Li H. COVID-19: Attacks the 1-Beta Chain of Hemoglobin and Captures the Porphyrin to Inhibit Human Heme Metabolism Available at: <https://chemrxiv.org> (accessed 14.04.2020)
41. Thachil J., Tang N., Gando S., Falanga A., Cattaneo M., Levi M., Clark C., Iba T. ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost*. 2020 25 March 25. doi:10.1111/JTH.14810.
42. Tang N., Bai H., Chen X., Gong J., Li D., Sun Z. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost*. 2020 Mar 27. doi: 10.1111/jth.14817.
43. Hunt B., Retter A., McClintock C. Practical guidance for the prevention of thrombosis and management of coagulopathy and disseminated intravascular coagulation of patients infected with COVID-19. Available at: <https://thrombosisuk.org/downloads/T&H%20and%20COVID.pdf> (accessed 14.04.2020.)
44. COVID-19 Clinical Guidance For the Cardiovascular Care Team. ACC CLINICAL BULLETIN. <https://www.acc.org/latest-in-cardiology/features/~media/Non-Clinical/Files-PDFs-Excel-MS-Word-etc/2020/02/S20028-ACC-Clinical-Bulletin-Coronavirus.pdf>. (accessed 13.04.2020)

Для цитирования: О.Л. Барбараш, В.Н. Каретникова, В.В. Кашталп, Т.Н. Зверева, А.М. Кочергина. Новая коронавирусная болезнь (COVID-19) и сердечно-сосудистые заболевания. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2020; 9 (2): 17-28. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-17-28

To cite: O.L. Barbarash, V.N. Karetnikova, V.V. Kashtalap, T.N. Zvereva, A.M. Kochergina. New coronavirus disease (COVID-19) and cardiovascular disease. Complex Issues of Cardiovascular Diseases. 2020; 9 (2): 17-28. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-17-28



УДК 6161.1

DOI 10.17802/2306-1278-2020-9-2-29-37

НОВОСТИ КОНГРЕССА АМЕРИКАНСКОГО КОЛЛЕДЖА КАРДИОЛОГОВ В 2020 ГОДУ

О.Л. Барбараш^{1,2}, В.Н. Каретникова^{1,2}, В.В. Кашталап^{1,2}✉, Т.Н. Зверева^{1,2},
А.М. Кочергина^{1,2}, Н.А. Кочергин¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Сосновый бульвар, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002; ²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Ворошилова, 22а, Кемерово, Российская Федерация, 650029

Основные положения

- Авторы представляют краткое изложение недавно завершившихся международных клинических исследований лекарственных препаратов и медицинских изделий, результаты которых представлены на 69-м конгрессе Американского колледжа кардиологов.
- Впервые за всю историю конгресса научный форум прошел дистанционно в связи с пандемией COVID-19.

Резюме

28–30 марта 2020 г. состоялся 69-й конгресс Американского колледжа кардиологов (American College of Cardiology, ACC) совместно со Всемирным конгрессом кардиологов. Впервые в истории ACC заседания прошли в формате онлайн в связи с пандемией коронавируса COVID-19. Однако это не помешало специалистам из 135 стран присоединиться к виртуальной встрече. Сотрудники НИИ КПССЗ и кафедры кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии КемГМУ участвовали в интернет-сессиях и представляют в данной статье наиболее важные результаты исследований, впервые озвученные в рамках 69-го конгресса ACC. Организаторы конгресса открыли бесплатный доступ к материалам конференции по десяти основным направлениям до июня 2020 г.

Ключевые слова

Клинические исследования • Антитромботическая терапия • Атеросклероз
Тромбоз • Реваскуляризация • Сердечная недостаточность • Фибрилляция
предсердий • Венозный тромбоэмболизм

Поступила в редакцию: 10.04.2020; принята к печати: 20.04.2020

THE CONGRESS OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY IN REVIEW

O.L. Barbarash^{1,2}, V.N. Karetnikova^{1,2}, V.V. Kashtalap^{1,2}✉, T.N. Zvereva^{1,2},
A.M. Kochergina^{1,2}, N.A. Kochergin¹

¹Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, 6, Sosnoviy Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002; ²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kemerovo State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation”, 22a, Voroshilova St., Kemerovo, Russian Federation, 650029

Highlights

- The review of the evidences obtained from the recently completed international clinical trials of drugs and medical devices presented at the 69th Congress of the American College of Cardiology is presented.
- The Congress meeting was held remotely for the first time due to the COVID-19 pandemic.

Abstract

The American College of Cardiology and the World Heart Federation jointly hosted the 69th Congress of the American College of Cardiology (ACC) that took place in March 28–30, 2020. It was the first remote annual meeting due to the COVID-19 pandemic. However, it didn't prevent healthcare professionals from 135 countries

Для корреспонденции: Василий Васильевич Кашталап, v_kash@mail.ru; адрес: Сосновый бульвар, 6, Кемерово, Россия, 650002

Corresponding author: Vasily V. Kashtalap, v_kash@mail.ru; address: 6, Sosnoviy blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

to participate in the virtual meeting. The employees of the Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases and the Department of Cardiology and Cardiovascular Surgery of the Kemerovo State Medical University took active part in the virtual live sessions and reports in this article novel evidences from recently completed international clinical trials that were presented at the 69th Congress. The Congress organizers opened a free access to the video, abstracts, slides and workshops in 10 main clinical learning pathways till June 2020.

Keywords

Clinical trials • Antithrombotic therapy • Atherosclerosis • Thrombosis • Revascularization • Heart failure • Atrial fibrillation • Venous thromboembolism

Received: 10.04.2020; accepted: 20.04.2020

Результаты исследования TWILIGHT-COMPLEX (Ticagrelor With Aspirin or Alone in High-Risk Patients After Coronary Intervention)

Докладчик: G.D. Dangas (Нью-Йорк, США)

Предпосылкой к исследованию явилось положение о том, что пациенты, нуждающиеся в двойной антитромбоцитарной терапии (ДАТ), в том числе больные после чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ), имеют высокий риск как ишемических, так и геморрагических осложнений. Риск ишемических событий увеличивается у пациентов с множественными гемодинамически значимыми поражениями коронарных артерий по мере усложнения вмешательства, а также утяжеления коморбидного фона. Гипотеза исследования заключалась в том, что трехмесячной ДАТ с последующим переходом на монотерапию ацетилсалициловой кислотой (АСК) достаточно для профилактики ишемических событий в течение 12 мес. после ЧКВ. Вместе с тем сокращение длительности двойной терапии до 3 мес. позволит снизить риск геморрагических событий.

Исследование TWILIGHT-COMPLEX явилось результатом post-hoc-анализа TWILIGHT и включало пациентов с высоким риском ишемических событий, подвергнутых сложной процедуре ЧКВ. Исследование являлось рандомизированным двойным-слепым плацебо-контролируемым с включением 187 центров из 11 стран. В подисследование вошли 2 620 пациентов, которые в течение 3 мес. после ЧКВ принимали ДАТ (АСК и тикагрелор по 90 мг 2 раза в день) и у них не развились ишемические и геморрагические события. Пациентов рандомизировали в группы тикагрелора и плацебо (монотерапия тикагрелором) или АСК и тикагрелора (продолжение ДАТ) для последующего лечения в течение оставшихся 9 мес.

В подисследование включались пациенты, имеющие высокий риск ишемических событий (возраст 65 лет и выше, тропонин-позитивный острый коронарный синдром (ОКС), ранее перенесенный инфаркт миокарда, документированный мультифокальный атеросклероз и ревазуляризация,

скорость клубочковой фильтрации менее 60 мл/мин/1,732). К ангиографическим критериям относились многососудистое поражение коронарного русла, суммарная длина имплантируемых стентов более 30 мм, тромботическое поражение сосуда, бифуркационное поражение, стеноз ствола левой коронарной артерии 50% и более или проксимального отдела передней нисходящей коронарной артерии (70% и более), кальцинированная бляшка. Критерии исключения: ЧКВ, ОКС с подъемом ST, необходимость приема оральных антикоагулянтов и этапной ревазуляризации.

Средний возраст пациентов составил 66±10,4 года, более чем у 60% пациентов основанием для ЧКВ стал ОКС; 21,3% больных были женского пола. Хроническая болезнь почек отмечена у 18,1% пациентов, предшествующий ОКС – у 28,7%, ранее перенесенное ЧКВ выявлено в 41,5% случаев, ранее перенесенное коронарное шунтирование – у 15,4% больных. Средняя общая длина стентов составила 59,6±29,4 мм, бифуркационное поражение коронарных артерий выявлено у 21,4% пациентов.

Пациенты в группе монотерапии тикагрелором продемонстрировали значимое снижение риска кровотечений: для кровотечений тяжестью 3 или 5 по шкале BARC отношение рисков (ОР) составило 0,41 (95%-й доверительный интервал, ДИ, 0,21–0,80), для малых и больших кровотечений по шкале TIMI ОР 0,54 (95%-й ДИ 0,38–0,76) по сравнению с группой ДАТ. При этом в группе монотерапии, в сравнении с ДАТ, отсутствовало увеличение риска ишемических событий: смерть, инфаркт миокарда и инсульт – ОР 0,77 (95%-й ДИ 0,52–1,15), смерть от всех причин – ОР 0,59 (95%-й ДИ 0,27–1,29), кардиоваскулярная смерть – ОР 0,53 (95%-й ДИ 0,24–1,20), инфаркт миокарда – ОР 0,83 (95%-й ДИ 0,52–1,32).

У пациентов, с высоким клиническим, ангиографическим и процедурным риском ишемических событий, подвергнутых ЧКВ, монотерапия тикагрелором (после начальной стратегии ДАТ в течение 3 мес.) ассоциируется со значительным снижением

клинически значимых кровотечений без увеличения риска ишемических событий по сравнению с больными, продолжающими ДАТ.

Источник:

Dangas G., Baber U., Sharma S., Giustino G., Mehta S., Cohen D., et al. Ticagrelor With Aspirin or Alone After Complex PCI: The TWILIGHT-COMPLEX Analysis. JACC. March 2020. doi: 10.1016/j.jacc.2020.03.011 [Epub ahead of print]

Результаты исследования CARAVAGGIO (Apixaban for the Treatment of Venous Thromboembolism Associated With Cancer)

Докладчик: С. Becattini (Перуджа, Италия)

Венозные тромбозы (ВТЭ) являются одной из наиболее частых причин осложнений, в том числе фатальных, у пациентов со злокачественными новообразованиями. Высокий риск рецидивирования ВТЭ, а также геморрагических осложнений определяют весь спектр сложностей, связанных с эффективной антикоагулянтной терапией у данной категории пациентов. Актуальные клинические рекомендации предписывают использование низкомолекулярных гепаринов, а в последнее время альтернативно двух препаратов из группы оральных ингибиторов Ха-фактора: эдоксабана или ривароксабана для профилактики ВТЭ, ассоциированных с онкологическими заболеваниями. Однако польза оральных антикоагулянтов как правило ограничена высоким риском кровотечений, главным образом из органов желудочно-кишечного тракта.

Указанные особенности явились предпосылками исследования CARAVAGGIO, цель которого заключалась в проверке гипотезы noninferiority в отношении апиксабана по сравнению с дальтепарином для лечения и вторичной профилактики проксимального венозного тромбоза (ПВТ) нижних конечностей и/или тромбоза легочной артерии (ТЭЛА) у пациентов с подтвержденным раком различной локализации.

В проспективный анализ вошли 1 170 пациентов. Больных включали в исследование не позднее 72 ч после подтверждения острого ПВТ нижних конечностей и/или ТЭЛА. Пациентов распределяли в группы с назначением апиксабана (20 мг/сут в два приема до 7-го дня, затем 10 мг/сут в течение 6 мес.) или дальтепарина (200 ЕД/кг/сут до 30-го дня, затем 150 ЕД/кг/сут подкожно до 6 мес.). Средний возраст участников исследования составил 67,2 года. Эффективность профилактики рецидива ВТЭ в течение 6 мес. в группе апиксабана составила 5,6 в сравнении с 7,9% в группе дальтепарина ($p < 0,001$ для noninferiority, $p = 0,08$ для superiority). При сравнении показателей рецидива ПВТ, ТЭЛА, в том числе фатальной, статистически значимых отличий между

группами не выявлено. Также обе линии терапии демонстрировали сопоставимую частоту больших кровотечений согласно ЕМА (3,8% на фоне приема апиксабана в сравнении с 4,0% в группе дальтепарина; $p = 0,6$), в том числе желудочно-кишечных.

Апиксабан и дальтепарин демонстрируют сопоставимую эффективность и безопасность во вторичной профилактике венозных тромбозов, ВТЭ, включая фатальную ТЭЛА, у пациентов с онкоассоциированными ВТЭ.

Возможно увеличение числа пациентов с онкоассоциированными ВТЭ и эмболиями, которым допустимо назначение прямых оральных антикоагулянтов, включая лиц со злокачественными новообразованиями органов желудочно-кишечного тракта.

Источник:

Agnelli G., Becattini C., Meyer G., Muñoz A., Huisman M.V., Connors J.M., et al. Apixaban for the treatment of venous thromboembolism associated with cancer. N Engl J Med. 2020 Mar 29. doi: 10.1056/NEJMoa1915103 [Epub ahead of print]

Продолжительность приема аспирина после острого коронарного синдрома и/или чрескожного коронарного вмешательства у пациентов с фибрилляцией предсердий: по следам исследования AUGUSTUS

Докладчик: J.H. Alexander (Дарем, Северная Каролина, США)

Дизайн исследования включал сравнение апиксабана с варфарином у пациентов с фибрилляцией предсердий (ФП), ОКС (острым коронарным синдромом) и/или ЧКВ (чрескожным коронарным вмешательством) на фоне антиагрегантной терапии. Показано значительное уменьшение числа кровотечений у больных, получавших ингибитор P2Y₁₂-рецепторов тромбоцитов и оральные антикоагулянты (апиксабан или варфарин), по сравнению с группой с тройной антитромботической терапией – с применением аспирина. Не выявлено существенных различий в частоте ишемических событий (случаев тромбоза стента, инфаркта миокарда, инсульта, потребности в экстренной повторной реваскуляризации миокарда), максимальный риск тромбоза стента приходился на первые 30 дней после имплантации.

Авторы провели post-hoc-анализ данных 4 614 пациентов с ФП, ОКС/ЧКВ – участников исследования AUGUSTUS. Средний возраст составил 71 (64–77) год, 29% были женского пола, 93% пациентов получали клопидогрел, 6% – тикагрелор, 1% – празугрел. Период наблюдения разделен на два этапа: 0–30 дней и 30 дней – 6 мес., неблагоприятные события (ишемические и геморрагические) распределили в три группы (общие, среднетяжелые и тяжелые).

Установлено, что на первом этапе (0–30 дней)

число общих кровотечений оказалось статистически значимо выше в группе тройной антитромботической терапии (7,5 против 4,0%; отношение шансов 3,42 (2,07; 4,76)) и не было существенных различий в частоте среднетяжелых и тяжелых геморрагических событий в зависимости от применения аспирина. По числу ишемических событий независимо от их тяжести группы оказались сопоставимы.

В период 30 дней – 6 мес. на фоне приема аспирина в составе тройной антитромботической терапии у пациентов отмечено увеличение абсолютного риска всех геморрагических осложнений в 4,88 раза и среднетяжелых в 2,47 раза по сравнению с группой пациентов, получавших ингибитор P2Y₁₂-рецепторов и антикоагулянт; значимых изменений числа тяжелых кровотечений не отмечено. При этом частота любых ишемических событий не различалась в группах сравнения.

У пациентов с ФП после ОКС и/или ЧКВ применение аспирина на фоне приема ингибитора P2Y₁₂-рецепторов и антикоагулянта (апиксабана или варфарина) оправдано (с позиции оптимального соотношения риска и пользы) в течение 30 дней, в дальнейшем отмечено существенное увеличение риска кровотечений без значимого снижения риска ишемических событий.

Следует информировать пациентов и ориентировать их на совместное с врачом принятие решения относительно оптимальной продолжительности терапии аспирином после ОКС/ ЧКВ на фоне ФП и лечения оральным антикоагулянтом.

Источник:

Alexander J.H., Wojdyla D., Vora A.N., Thomas L., Granger C.B., Goodman S.G., et al. The risk / benefit tradeoff of antithrombotic therapy in patients with atrial fibrillation early and late after acute coronary syndrome or percutaneous coronary intervention: insights from AUGUSTUS. 29 Mar 2020. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046534

Результаты исследования VOYAGER PAD (Vascular Outcomes Study of ASA Along with Rivaroxaban in Endovascular or Surgical Limb Revascularizations for Peripheral Artery Disease)

Докладчик: М.Р. Вонаса (Орора, Колорадо, США)

У пациентов с атеросклеротическим заболеванием периферических артерий (ЗПА) часто развивается симптоматика ишемии нижних конечностей, которая требует хирургической реваскуляризации. Однако осложнением реваскуляризации может стать острая ишемия нижних конечностей, которая ассоциируется с продолжительной госпитализацией и высокой частотой ампутации нижних конечностей, инвалидизации и смерти. Медикаментозная терапия для профилактики серьезных нежелатель-

ных сердечно-сосудистых событий (MACE) и событий, связанных с нижними конечностями (MALE), у этих пациентов не имеет класса доказательности рекомендаций I. Исследование COMPASS показало, что «сосудистая» доза ривароксабана и низкая доза ацетилсалициловой кислоты (АСК) значимо выше снижают MACE и MALE у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца (ИБС) и/или ЗПА по сравнению с монотерапией АСК.

В исследовании VOYAGER PAD оценивали, снижает ли ривароксабан в «сосудистой» дозировке первичную конечную точку (острая ишемия нижних конечностей, обширная ампутация по сосудистым показаниям, инфаркт миокарда, ишемический инсульт, сердечно-сосудистая смерть) по сравнению с плацебо. Безопасность применения ривароксабана анализировали с помощью шкалы тяжести кровотечений TIMI, учитывались большие кровотечения. В исследование включены 6 564 пациента в возрасте от 50 лет и старше с ЗПА, подвергшиеся экстренной реваскуляризации артерий нижних конечностей по поводу ишемии. Больных рандомизировали в группы приема ривароксабана в дозе 2,5 мг два раза в день (n = 3 286) или плацебо (n = 3 278) в дополнение к базовой терапии АСК в обеих группах. Период наблюдения составил 28 мес.

Частота первичной конечной точки эффективности в течение 3 лет наблюдения в группе ривароксабана составила 17,3%, в группе плацебо – 19,9% (отношение рисков, ОР, 0,85, 95%-й доверительный интервал, ДИ, 0,76–0,96, p = 0,0085).

Вторичные комбинированные конечные точки (совокупности единичных конечных точек: инфаркт миокарда, ишемический инсульт, выявление ишемической болезни сердца, острая ишемия нижних конечностей, ампутация, незапланированная реваскуляризация артерий нижних конечностей по поводу ишемии, госпитализация по поводу коронарных или периферических сосудистых событий, общая смертность) были достоверно ниже в группе ривароксабана по сравнению с группой плацебо. Смертность от венозного тромбоза не различалась в обеих группах.

Частота больших кровотечений по TIMI в течение 3 лет наблюдения составила 2,65% в группе ривароксабана и 1,87% в группе плацебо (ОР 1,43, 95%-й ДИ 0,97–2,10, p = 0,07). Не выявлено различий в частоте внутричерепных кровоизлияний и фатальных кровотечений.

Частота больших кровотечений по международной классификации ISTH в течение 3 лет составила 5,94 и 4,06% в группах ривароксабана и плацебо (ОР 1,42, 95%-й ДИ 1,10–1,84, p = 0,007). Частота кровотечений по классификации BARC тяжести 3b и выше не различалась в обеих группах.

Таким образом, у пациентов с ЗПА, подвергшихся реваскуляризации артерий нижних конечностей,

медикаментозная терапия ривароксабаном 2,5 мг два раза в день в сочетании с АСК по сравнению с плацебо и АСК значительно снижала риск первичной комбинированной конечной точки в составе острой ишемии нижних конечностей, обширной ампутации по сосудистым показаниям, ишемического инсульта, сердечно-сосудистой смерти ($p = 0,009$). Большие кровотечения по TIMI были в числовом выражении выше в группе ривароксабана, а большие кровотечения по ISTH были значимо выше в этой группе; различия в частоте внутричерепных и фатальных кровотечений отсутствовали в обеих группах.

Источник:

Bonaca M.P., Bauersachs R.M., Anand S.S., Debus E.S., Nehler M.R., Patel M.R., et al. Rivaroxaban in Peripheral Artery Disease after Revascularization. *N Engl J Med.* 2020 Mar 28. doi: 10.1056/NEJMoa2000052

Результаты субанализа исследования COMPASS (Cardiovascular Outcomes for People Using Anticoagulation Strategies)

Докладчик: D.L. Bhatt (Бостон, Массачусетс, США)

Пациенты с ишемической болезнью сердца (ИБС) и/или заболеванием периферических артерий (ЗПА) и сахарным диабетом характеризуются крайне высоким риском неблагоприятного исхода основного заболевания из-за сердечно-сосудистых событий. Одним из способов снижения сердечно-сосудистого риска у этих пациентов является двойная терапия антиагрегантами и антикоагулянтами для одновременного воздействия на тромбоцитарный и плазменный гемостаз.

Для оценки такого подхода проведен субанализ исследования COMPASS, посвященный изучению эффективности и безопасности комбинации антиагрегантов и антикоагулянтов у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и атеросклерозом. В анализ вошли 6 922 пациента с диабетом и 11 356 больных без диабета. Обе группы пациентов имели ИБС и/или ЗПА и им были случайным образом назначены ривароксабан в дозе 2,5 мг два раза в день + ацетилсалициловая кислота (АСК) в дозе 100 мг в день или плацебо + АСК. Первичная конечная точка исследования COMPASS включала сердечно-сосудистую смертность, инфаркт миокарда, ишемический инсульт. Вторичная конечная точка состояла из общей смертности и сочетания конечных точек в виде сердечно-сосудистой смертности, инфаркта миокарда, ишемического инсульта, больших событий, связанных с нижними конечностями (MALE), и обширной сосудистой ампутации. Первичной конечной точки безопасности считали развитие большого кровотечения, оцененного с помощью модифицированной шкалы ISTH. Предварительно определенная клиническая польза включала сердечно-сосудистую

смертность, инфаркт миокарда, ишемический инсульт, фатальное кровотечение и симптоматическое кровотечение в жизненно важный орган.

Частота первичной конечной точки эффективности была значительно ниже при использовании ривароксабана + АСК по сравнению с монотерапией АСК вне зависимости от наличия или отсутствия сахарного диабета: отношение рисков (ОР) 0,74, 95%-й доверительный интервал (ДИ) 0,61–0,9, $p = 0,002$, абсолютное снижение риска (АСР) 2,3% для пациентов с диабетом и ОР 0,77, 95%-й ДИ 0,64–0,93, $p = 0,005$, АСР 1,4% для пациентов без диабета. Значение p для взаимодействия двух подгрупп (с диабетом и без) составило 0,77, что означает большую эффективность сочетания ривароксабана и АСК в сравнении с монотерапией АСК в профилактике первичной конечной точки вне зависимости от диабета.

Выявлено, что частота вторичных конечных точек эффективности также была значительно ниже в группе ривароксабана + АСК при сравнении таковой в группе монотерапии АСК. Вне зависимости от сахарного диабета обнаружена тенденция к снижению общей смертности при приеме ривароксабана + АСК по сравнению с монотерапией АСК: ОР 0,84, 95%-й ДИ 0,68–1,03, $p = 0,09$, АСР 0,6% в подгруппе без диабета и ОР 0,81, 95%-й ДИ 0,65–1,00, $p = 0,05$, АСР 1,9%. Частота комбинации вторичных конечных точек была также ниже при применении ривароксабана + АСК в сравнении с монотерапией АСК вне зависимости от сахарного диабета: ОР 0,73, 95%-й ДИ 0,61–0,88, $p = 0,0007$, АСР 2,7% для подгруппы с диабетом; ОР 0,74, 95%-й ДИ 0,62–0,89, $p = 0,001$, АСР 1,7% для подгруппы без диабета; p для взаимодействия подгрупп составило 0,88.

Обнаружено значительное повышение числа больших кровотечений в группе ривароксабана + АСК по сравнению с группой монотерапии АСК как у пациентов с сахарным диабетом, так и без него: ОР 1,69, 95%-й ДИ 1,33–2,15, $p < 0,0001$ для подгруппы с диабетом и ОР 1,7, 95%-й ДИ 1,25–2,31, $p = 0,0006$ для пациентов без диабета; p для взаимодействия подгрупп – 0,97. Не выявлено значительных различий в группах лечения по частоте внутричерепных и фатальных кровотечений вне зависимости от сахарного диабета. В подгруппе сахарного диабета клиническая польза от использования антикоагулянта ривароксабана в сочетании с АСК была выше, чем у больных без диабета: ОР 0,78, 95%-й ДИ 0,65–0,94, $p = 0,02$, АСР 2,7% для подгруппы с диабетом и ОР 0,81, 95%-й ДИ 0,68–0,97, $p = 0,01$, АСР 1,0% для подгруппы без диабета.

Таким образом, низкие дозы ривароксабана (2,5 мг два раза в день) в сочетании с АСК более эффективны, чем монотерапия АСК в снижении первичной конечной точки у пациентов с ИБС и/или ЗПА вне зависимости от сахарного диабета. Абсолютное снижение риска было в числовом выражении выше у больных с сахарным диабетом. Значительное

повышение больших кровотечений на фоне комбинированной терапии также не зависело от диабета, однако не выявлено различий между группами пациентов по частоте внутримозговых и фатальных кровотечений вне зависимости от наличия или отсутствия диабета.

Источник:

Bhatt D.L., Eikelboom J.W., Connolly S.J., Steg P.G., Anand S.S., Verma S. The Role of Combination Antiplatelet and Anticoagulation Therapy in Diabetes and Cardiovascular Disease: Insights from the COMPASS Trial. *Circulation*. 2020 Mar 28. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046448

Двухлетние результаты исследования PARTNER 3 (Placement of Aortic Transcatheter Valves 3)

Докладчик: M.J. Mack (Плейно, Техас, США)

Исследования, посвященные сравнению результатов эндоваскулярного и хирургического лечения (SAVR) аортального стеноза, постепенно расширяют показания для транскатетерной имплантации аортального клапана (TAVI). Этому способствуют результаты многоцентрового рандомизированного исследования PARTNER 3, в которое вошли 1 000 пациентов с аортальным стенозом низкого хирургического риска.

Первичная конечная точка исследования, включавшая смерть от всех причин, инсульт и повторную госпитализацию (связанную с процедурой или сердечной недостаточностью) в течение года, зарегистрирована в 8,5% случаев в группе TAVI по сравнению с 15,1% в группе SAVR ($p < 0,001$ для noninferiority, $p = 0,001$ для superiority). За второй год наблюдения преимущество TAVI над SAVR по первичной конечной точке сохранилось (11,5 против 17,4% соответственно, $p = 0,007$), однако статистический рубеж для superiority не достигнут. TAVI ассоциировалось с более низкой частотой инсульта и фибрилляции предсердий, а также более короткой продолжительностью госпитализации по сравнению с SAVR. Кроме того, TAVI отличалась более значимым улучшением качества жизни по сравнению с SAVR. В 30-дневный период наблюдения в группе TAVI необходимость в постоянном водителе ритма составила 6,5 против 4,0% в группе SAVR, однако это различие не было статистически значимым.

Между первым и вторым годами наблюдения наблюдается тенденция увеличения числа инсультов и тромбозов клапанов в группе TAVI, несмотря на отсутствие значимых различий по первичной конечной точке в сравнении с SAVR. Необходимы дальнейшие наблюдения для подтверждения или опровержения этих данных.

Таким образом, транскатетерная имплантация аортального клапана демонстрирует сопоставимую

с «открытым» вмешательством эффективность у пациентов с низким хирургическим риском на протяжении двух лет наблюдения. Это исследование позволит расширить показания для TAVI при лечении аортального стеноза у пациентов низкого хирургического риска. На сегодняшний день есть две альтернативных метода лечения пациентов с аортальным стенозом, выбор которых остается за кардиокомандой.

Источники:

1. Mack M.J. Two-year clinical and echocardiographic outcomes from the PARTNER 3 low-risk randomized trial. Presented at: ACC 2020. March 29, 2020. Available from: <https://www.acc.org/latest-in-cardiology/clinical-trials/2019/03/15/18/29/partner-3>

2. Baron S.J., Magnuson E.A., Lu M., Wang K., Chinnakondapalli K., Mack M., et al. Health Status After Transcatheter vs. Surgical Aortic Valve Replacement in Low-Risk Patients With Aortic Stenosis. *J Am Coll Cardiol*. 2019;74(23):2833-42. doi: 10.1016/j.jacc.2019.09.007

Результаты исследования DAPA-HF (Dapagliflozin in Patients With Heart Failure and Reduced Ejection Fraction)

Докладчик: P. Ponikowski (Вроцлав, Польша)

Задачей рандомизированного плацебо-контролируемого исследования DAPA-HF была оценка эффективности дапаглифлозина по сравнению с плацебо у пациентов с сердечной недостаточностью (СН) со сниженной фракцией выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ).

Рандомизировано 4 744 пациента в возрасте от 22 до 94 лет (средний возраст $66,3 \pm 10,9$ года). Продолжительность наблюдения составила в среднем 18,2 мес. Критерии включения в исследование: симптомная СН, ФВ ЛЖ $\leq 40\%$, уровень натрийуретического пептида (N-tProBNP) ≥ 600 пг/мл (для лиц, госпитализированных по причине СН в течение года ≥ 400 пг/мл; для лиц с фибрилляцией – трепетанием предсердий ≥ 900 пг/мл). Независимо от наличия сахарного диабета (СД) 2-го типа пациенты были рандомизированы в группы приема дапаглифлозина в дозе 10 мг/сут или плацебо. Доля участников с сопутствующим СД 2-го типа составила 42%.

Частота сердечно-сосудистой смерти, госпитализации по причине СН или потребности во внеплановом посещении врача в связи с СН составила 16,3% в группе дапаглифлозина по сравнению с 21,2% в группе плацебо ($p < 0,001$).

В подгруппах в зависимости от наличия или отсутствия СД 2-го типа в разных возрастных категориях результат был аналогичным. Частота сердечно-сосудистой смерти составила 9,6% в группе дапаглифлозина против 11,5% в группе плацебо; частота госпитализаций по причине СН 9,7% в группе дапаглифлозина против 13,4% в группе плацебо.

Ухудшение функции почек выявлено у 1,2% пациентов при использовании дапаглифлозина против 1,6% в группе плацебо ($p = 0,17$). Использование дапаглифлозина в сравнении с плацебо было связано со снижением частоты сердечно-сосудистой смерти и декомпенсации по причине СН. Положительный результат приема дапаглифлозина наблюдался во всех возрастных группах независимо от наличия сопутствующего СД 2-го типа и предсуществующей терапии.

Таким образом, дапаглифлозин можно рассматривать как новый инструмент терапии СН у пациентов со сниженной ФВ ЛЖ. Исследование DAPA-HF показало, что добавление дапаглифлозина к другим рекомендованным методам лечения снижает риск смертности и госпитализации по поводу СН и улучшает симптомы у пациентов с сердечной недостаточностью и сниженной ФВ ЛЖ. Дапаглифлозин также продемонстрировал хорошую переносимость пациентами и низкую частоту нежелательных явлений.

Источники:

1. Martinez F.A., Serenelli M., Nicolau J.C., Petrie M.C., Chiang C.E., Tereshchenko S., et al. Efficacy and Safety of Dapagliflozin in Heart Failure With Reduced Ejection Fraction According to Age: Insights From DAPA-HF. *Circulation*. 2020;141(2):100-11. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.044133
2. Kosiborod M.N., Jhund P.S., Docherty K.F., Diez M., Petrie M.C., Verma S., et al. Effects of Dapagliflozin on Symptoms, Function and Quality of Life in Patients with Heart Failure and Reduced Ejection Fraction: Results from the DAPA-HF Trial. *Circulation*. 2020;141(2):90-9. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.044138
3. McMurray J.J., Solomon S.D., Inzucchi S.E., Køber L., Kosiborod M.N., Martinez F.A., et al. Dapagliflozin in Patients With Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. *N Engl J Med*. 2019;381(21):1995-2008. doi: 10.1056/NEJMoa1911303

Результаты исследования VICTORIA (Vericiguat Global Study In Subjects With Heart Failure With Reduced Ejection Fraction)

Докладчик: P.W. Armstrong (Эдмонтон, Канада)

Несмотря на соблюдение рекомендаций и получение полного объема основной терапии, пациенты с прогрессирующей хронической сердечной недостаточностью (ХСН) имеют высокий риск смерти и госпитализации по причине ее декомпенсации. При этом оксидативный стресс и эндотелиальная дисфункция у этих больных приводят к снижению уровня оксида азота (NO) и уменьшению активности растворимой гуанилатциклазы (pГЦ), что может потенциально приводить к дальнейшему снижению систолической функции сердца.

Применение инновационного стимулятора pГЦ

верицигуата в исследованиях II фазы показало положительный эффект у пациентов с ХСН. В исследовании VICTORIA изучалось влияние применения верицигуата на первичную конечную точку: совокупность сердечно-сосудистой смертности и первую госпитализацию по причине СН у пациентов с ХСН со сниженной фракцией выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) после недавней декомпенсации. Также изучалась безопасность назначения препарата. В исследование включали пациентов с ХСН и ФВ ЛЖ менее 45%, имевших анамнез ухудшения течения СН (госпитализация по причине декомпенсации ХСН в течение предшествующих 6 мес. или назначение внутривенных диуретиков в течение 3 предшествующих мес.). Всего рандомизировано 5 050 пациентов, которые были разделены на две группы: прием верицигуата или плацебо в дополнение к базовой терапии. Медиана наблюдений составила 10,8 мес.

Первичная конечная точка сердечно-сосудистой смерти и первой госпитализации по причине ХСН была ниже в группе верицигуата (отношение рисков, ОР, 0,90, 95%-й доверительный интервал, ДИ, 0,82–0,98, $p = 0,019$). В группе верицигуата наблюдалось снижение частоты госпитализаций по причине ХСН, как первой, так и последующих, по сравнению с группой плацебо (ОР 0,90, 95%-й ДИ 0,81–1,00, $p = 0,048$). Отдельно частота сердечно-сосудистой смерти не имела достоверных различий в группах верицигуата и плацебо.

Верицигуат (титрованный до 10 мг/сут) переносился пациентами хорошо и показал себя безопасным препаратом. Симптоматическая гипотензия и обмороки в группе верицигуата возникали несколько чаще по сравнению с группой плацебо (9,1 против 7,9%, $p = 0,12$).

В клиническом протоколе VICTORIA исследована популяция пациентов с ХСН со сниженной ФВ, высоким риском неблагоприятного исхода и недавним ухудшением течения заболевания, у которых доказана не рассматриваемая ранее возможность оптимизации терапии за счет назначения стимулятора pГЦ верицигуата. Исследование продемонстрировало, что на фоне назначения верицигуата происходило значимое снижение первичной конечной точки – совокупности сердечно-сосудистой смертности и первой госпитализации по причине ХСН – по сравнению с плацебо. В исследовании доказана новая цель лечения ХСН – увеличение продукции циклического гуанозинмонофосфата, что сопровождалось улучшением прогноза у пациентов.

Источник:

Armstrong P.W., Pieske B., Anstrom K.J., Ezekowitz J., Hernandez A.F., Butler J., et al. Vericiguat in Patients with Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. *N Engl J Med*. 2020 Mar 28. doi: 10.1056/NEJMoa1915928

Результаты исследования ISCHEMIA-CKD (International Study of Comparative Health Effectiveness With Medical and Invasive Approaches chronic kidney disease)

Докладчик: S. Bangalore (Нью-Йорк, США)

Основной целью исследования ISCHEMIA-CKD явилось сравнение эффективности рутинной инвазивной и консервативной тактик (оптимальной медикаментозной терапии, ОМТ) в снижении смертности/инфаркта миокарда при ведении пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца, сопутствующей хронической болезнью почек (ХБП) и признаками умеренной и тяжелой ишемии миокарда при неинвазивном стресс-тестировании.

В рандомизированное исследование включены 388 пациентов, которым назначена инвазивная стратегия, и 389 пациентов с оптимальной медикаментозной терапией. Инвазивная стратегия предполагала коронарную ангиографию, чрескожное коронарное вмешательство или коронарное шунтирование. В группе ОМТ пациенты подвергались коронарной ангиографии только при сохранении симптомов на фоне терапии. Продолжительность наблюдения составило 2,3 года; средний возраст пациентов – 63 года; 31% были женщины; более половины (57%) пациентов имели сахарный диабет 2-го типа. В течение всего периода наблюдения коронарная реваскуляризация выполнена у 50% больных инвазивной в сравнении с 12% в группе ОМТ.

В исследование не включали пациентов с острым коронарным синдромом, фракцией выброса левого желудочка <35%, III–IV функциональным классом хронической сердечной недостаточности по NYHA, выполненными в течение последнего года перед рандомизацией чрескожным коронарным вмешательством или коронарным шунтированием.

Первичная конечная точка в виде смерти и/или инфаркта миокарда (ИМ) развилась в 36,4% случаев в инвазивной группе и в 36,7% – в группе ОМТ ($p = 0,95$). Среди пациентов с тяжелой ишемией миокарда отношение рисков (ОР) инвазивной/медикаментозной терапии составило 0,70, 95%-й доверительный интервал (ДИ) 0,46–1,05; среди лиц с умеренной ишемией – ОР 1,30, 95%-й ДИ 0,94–1,79; p для взаимодействия = 0,02.

Вторичные конечные точки – смерть, ИМ, госпитализация по поводу нестабильной стенокар-

дии или сердечной недостаточности или остановка сердца – отмечены у 38,5% пациентов в инвазивной группе по сравнению с 39,7% в группе ОМТ ($p = 0,93$); смертность от всех причин: 27,8% случаев в инвазивной группе и 27,2% в группе ОМТ ($p = 0,91$); для перипроцедурного ИМ ОР при сравнении обеих групп составило 2,03, 95%-й ДИ 0,59–7,01, для спонтанного ИМ – ОР 0,72, 95%-й ДИ 0,47–1,09; для инсульта – ОР 3,76, 95%-й ДИ 1,52–9,32; для смерти или диализа – ОР 1,48, 95%-й ДИ 1,04–2,11.

Через 12 и 36 мес. не выявлено различий в суммарной оценке качества жизни пациентов по шкале SAQ для инвазивной и консервативной терапий.

Клинические результаты по всему спектру функции почек: первичная конечная точка и кровотечение развивались чаще у пациентов с прогрессирующим заболеванием почек ($p < 0,001$). Не выявлено различий в частоте первичной конечной точки при инвазивных и консервативных стратегиях в зависимости от стадии ХБП ($p = 0,47$) и скорости клубочковой фильтрации ($p = 0,69$).

Таким образом, у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца с умеренной и тяжелой ишемией миокарда при неинвазивном стресс-тестировании и наличием ХБП рутинная инвазивная стратегия не имеет преимуществ перед ОМТ в эффективности снижения частоты смерти или инфаркта миокарда, а также общей смертности.

Источники:

1. Bangalore S., Maron D.J., O'Brien S.M., Fleg J.L., Kretov E.I., Briguori C., et al. Management of Coronary Disease in Patients With Advanced Kidney Disease. *N Engl J Med.* 2020 Mar 30. doi: 10.1056/NEJMoa1915925 [Epub ahead of print]
2. Spertus J.A., Jones P.G., Maron D.J., Mark D.B., O'Brien S.M., Fleg J.L., et al. Health Status After Invasive or Conservative Care in Coronary and Advanced Kidney Disease. *N Engl J Med.* 2020 Mar 30. doi: 10.1056/NEJMoa1916374. [Epub ahead of print]

Конфликт интересов

О.Л. Барбараш, В.Н. Каретникова и В.В. Кашталап входят в редакционную коллегию журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний». Т.Н. Зверева, А.М. Кочергина и Н.А. Кочергин заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация об авторах

Барбараш Ольга Леонидовна, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; заведующая кафедрой кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения

Author Information Form

Barbarash Olga L., MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the RAS, Director of the Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases", Kemerovo, Russian Federation; Head of the Department of Cardiology and Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Kemerovo State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation", Kemerovo, Russian Federation; ORCID 0000-0002-4642-3610

Российской Федерации, Кемерово, Российская Федерация;
ORCID 0000-0002-4642-3610

Каретникова Виктория Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией патологии кровообращения отдела клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; профессор кафедры кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-9801-9839

Капиталов Василий Васильевич, доктор медицинских наук, доцент, заведующий отделом клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; доцент кафедры кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-3729-616X

Зверева Татьяна Николаевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории реабилитации отдела клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; доцент кафедры кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-2233-2095

Кочергина Анастасия Михайловна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории патологии кровообращения отдела клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; ассистент кафедры кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-3998-7028

Кочергин Никита Александрович, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории рентгенэндоваскулярной и реконструктивной хирургии сердца и сосудов отдела хирургии сердца и сосудов федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-1534-264X

Karetnikova Victoria N., MD, PhD, Professor, Head of the Laboratory of Circulatory Pathology at the Department of Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; Professor at the Department of Cardiology and Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kemerovo State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-9801-9839

Kashtalap Vasily V., MD, PhD, Associate Professor, Head of the Department of Clinical Cardiology at the Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; Associate Professor at the Department of Cardiology and Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kemerovo State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3729-616X

Zvereva Tatiana N., MD, PhD, research associate at the Rehabilitation Laboratory, Department of Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; Associate Professor at the Department of Cardiology and Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kemerovo State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-2233-2095

Kochergina Anastasia M., MD, PhD, researcher at the Laboratory of Circulatory Pathology, Department of Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; assistant lecturer at the Department of Cardiology and Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kemerovo State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3998-7028

Kochergin Nikita A., MD, PhD, researcher at the Laboratory of Interventional and Reconstructive Cardiac and Vascular Surgery, Department of Cardiac and Vascular Surgery, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-1534-264X

Для цитирования: О.Л. Барбараш, В.Н. Каретникова, В.В. Капиталов, Т.Н. Зверева, А.М. Кочергина, Н.А. Кочергин. Новости конгресса Американского колледжа кардиологов в 2020 году. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2020; 9 (2): 29-37. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-29-37

To cite: O.L. Barbarash, V.N. Karetnikova, V.V. Kashtalap, T.N. Zvereva, A.M. Kochergina, N.A. Kochergin. The Congress of the American College of Cardiology in review. Complex Issues of Cardiovascular Diseases. 2020; 9 (2): 29-37. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-29-37



УДК 616.153.922

DOI 10.17802/2306-1278-2020-9-2-38-44

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *APOA5* У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНОЙ ГИПЕРЛИПИДЕМИЕЙ

С.В. Михайлова¹, Д.Е. Иванощук¹, Н.С. Широкова², Е.В. Шахтшнейдер¹ ✉

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», пр. Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, Российская Федерация, 630090; ²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», ул. Пирогова, 2, Новосибирск, Российская Федерация, 630090

Основные положения

- Изучен полиморфизм гена *APOA5* у пациентов с семейной гиперхолестеринемией методом таргетного секвенирования.
- Выявлено восемь замен в гене *APOA5*: rs2075291, rs3135506, rs2072560, rs2266788, rs3135507, rs34089864, rs619054, rs651821, для которых ранее показана ассоциация с дислипидемией.
- Найдена ранее не описанная замена Ala169Asp, которая может менять заряд сайта связывания белка с липидными каплями в гепатоцитах.
- Генетические варианты *APOA5*, распространенные у пациентов с семейной гиперхолестеринемией, могут участвовать в формировании патологического фенотипа дислипидемии.

Цель	Анализ генетического полиморфизма гена <i>APOA5</i> среди пациентов европеоидного происхождения с семейной гиперхолестеринемией.
Материалы и методы	Выборка из 43 неродственных пациентов европеоидного происхождения с семейной гиперхолестеринемией (СГХС) сформирована с использованием диагностического критерия Dutch Lipid Clinic Network. Таргетное секвенирование геномной ДНК выполнено с помощью набора NimbleGen SeqCap EZ Choice kit на пиросеквенаторе Roche Junior GS (Roche, Швейцария).
Результаты	У пациентов с СГХС выявлены восемь замен в гене <i>APOA5</i> – rs2075291, rs3135506, rs2072560, rs2266788, rs3135507, rs34089864, rs619054, rs651821, – для которых ранее показана ассоциация с дислипидемией, а также одна ранее не описанная замена Ala169Asp, которая может менять заряд сайта связывания белка с липидными каплями в гепатоцитах. Не выявлено различий в частоте внутригенного гаплотипа ApoA5*2, для которого ранее показана ассоциация с повышенным уровнем триглицеридов, между пациентами с СГХС и популяцией.
Заключение	Генетические варианты <i>APOA5</i> , распространенные у пациентов с СГХС, могут участвовать в формировании патологического фенотипа дислипидемии, однако для более точной оценки их вклада целесообразно проводить дифференциацию пациентов с СГХС по уровню триглицеридов.
Ключевые слова	Гиперлипидемия • Триглицериды • Липопротеины • Ген <i>APOA5</i> • Генетический полиморфизм • Гаплотипы

Поступила в редакцию: 01.04.2020; поступила после доработки: 19.04.2020; принята к печати: 01.05.2020

POLYMORPHISM OF THE *APOA5* GENE IN PATIENTS WITH PRIMARY HYPERLIPIDEMIA

S.V. Mikhailova¹, D.E. Ivanoshchuk¹, N.S. Shirokova², E.V. Shakhtshneider¹ ✉

¹Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, 10, Ac. Lavrentieva ave., Novosibirsk, Russian Federation, 630090; ²Novosibirsk State University, 2, Pirogova St., Novosibirsk, Russian Federation, 630090

Highlights

- The *APOA5* gene polymorphism was studied in patients with familial hypercholesterolemia using targeted sequencing.

Для корреспонденции: Елена Владимировна Шахтшнейдер, 2117409@mail.ru; адрес: пр. Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, Россия, 630090

Corresponding author: Elena V. Shakhtshneider, 2117409@mail.ru; address: 10, Ac. Lavrentieva ave., Novosibirsk, Russian Federation, 630090

- Eight substitutions in the *APOA5* gene (rs2075291, rs3135506, rs2072560, rs2266788, rs3135507, rs34089864, rs619054, rs651821) were identified. They have been previously reported to be associated with dyslipidemia.
- A previously undescribed substitution, Ala169Asp, have been determined. It is responsible for altering the charge of the protein binding site to lipid drops in hepatocytes.
- Genetic variants of *APOA5*, common in patients with familial hypercholesterolemia, may be involved in the formation of the pathological phenotype of dyslipidemia.

Aim	To study <i>APOA5</i> genetic polymorphism in Caucasoid patients with familial hypercholesterolemia.
Methods	Sample of patient with familial hypercholesterolemia (43 unrelated Caucasoid persons) was formed using Dutch Lipid Clinic Network Criteria. Targeted sequencing of genome DNA was performed by NimbleGen SeqCap EZ Choice kit on pyrosequencer Roche Junior GS (Roche, Switzerland).
Results	In patients with familial hypercholesterolemia, 8 substitutions were identified in the <i>APOA5</i> gene: rs2075291, rs3135506, rs2072560, rs2266788, rs3135507, rs34089864, rs619054, and rs651821, that are known to be associated with dyslipidemia. One novel substitution Ala169Asp was found. It is responsible for changing the charge of a domain for lipid droplets binding in the <i>APOA5</i> protein. There were no differences in the frequencies of the ApoA5*2 intragenic haplotype, which has been recently reported to be associated with an increased triglyceride levels in patients with familial hypercholesterolemia and the population.
Conclusion	Genetic variants of <i>APOA5</i> , common in patients with familial hypercholesterolemia, may be involved in the formation of the pathological phenotype of dyslipidemia. However, a more accurate assessment of their contribution is required to differentiate patients with familial hypercholesterolemia according to their triglycerides level.
Keywords	Hyperlipidemia • Triglycerides • Lipoproteins • <i>APOA5</i> gene • Genetic polymorphism • Haplotypes

Received: 01.04.2020; received in revised form: 19.04.2020; accepted: 01.05.2020

Список сокращений

ЛОВП – липопротеины очень высокой плотности	СГХС – семейная гиперхолестеринемия
ОНП – однонуклеотидный полиморфизм	<i>APOA5</i> – аполипопротеин А5
ТГ – триглицериды	

Введение

Первичная гиперлипидемия – одно из самых распространенных нарушений метаболизма у человека, выражаемое повышенным уровнем липидов и/или липопротеинов в плазме крови. Распространенность повышенного общего холестерина сыворотки, по данным ВОЗ, составляет 54% среди представителей мужского и женского пола европеоидной расы (https://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/cholesterol_text/en/). Часто это нарушение сопровождается повышенным уровнем (более 1,70 ммоль/л) триглицеридов (ТГ). Высокий уровень холестерина – один из основных факторов риска атеросклероза, который в свою очередь ведет к развитию ишемической болезни сердца, стабильно находящейся на первом месте среди причин смерти в мире (www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death). Высокий уровень ТГ (более 20 ммоль/л) является

фактором риска острого панкреатита, а умеренно повышенный – ожирения, атеросклероза, сахарного диабета 2-го типа, метаболического синдрома и сердечно-сосудистых заболеваний [1–3].

Разновидность первичной гиперлипидемии, семейная гиперхолестеринемия (СГХС), – моногенное заболевание, при котором нарушение метаболизма холестерина в ряде случаев сопровождается повышением уровня ТГ и обусловлено гомо- или гетерозиготной перестройкой в одном из генов. Каскадный генетический скрининг признан наиболее эффективным методом выявления случаев СГХС, в том числе до клинических проявлений заболевания [4]. Молекулярно-генетическая диагностика СГХС позволяет своевременно назначать пациентам адекватную терапию, предотвращающую развитие осложнений основного заболевания. Гены метаболизма холестерина, мутации в которых

обуславливают большую часть случаев СГХС (*LDLR*, *LDLRAP1*, *APOB*, и *PCSK9*), относительно хорошо изучены, и их генетический анализ широко используется в диагностике [2]. Еще несколько генов – *CYP7A1*, *LIPA*, *ABCG5*, *ABCG8*, *PNPLA5* – включены в анализ предрасположенности к СГХС недавно [5]. Однако для 30% пациентов с СГХС не удается выявить генетическую причину развития заболевания [6].

Данная работа направлена на поиск ранее не известных генетических вариантов, вызывающих развитие фенотипа СГХС и других форм дислипидемии. Мы проанализировали генетический полиморфизм гена *APOA5*, который кодирует ключевой регулятор концентрации ТГ в плазме крови у европеоидных пациентов с семейной гиперхолестеринемией.

Ген *APOA5* расположен на хромосоме 11 в локусе 11q23.3 вблизи кластера генов аполипопротеинов *APOA4/APOC3/APOA1* на расстоянии 27 тыс. нуклеотидных пар от 3'-конца гена *APOA4*, состоит из четырех экзонов, первый из которых не кодирующий [7]. Синтезируемый полипептид АРОА5 состоит из 366 аминокислот, первые 23 из которых являются лидерным пептидом. После его отрезания получается высокогидрофобный белок, содержащий 343 аминокислоты: 1–146 ответственны за связывание с липопротеинами высокой и очень высокой плотности (ЛОВП), 161–181 – за связывание с поверхностью жировых капель в гепатоцитах; 186–222 – за связывание с гепарином, 192–238 – за связывание с липидами и активацию липопротеин липазы, С-концевой домен 293–343 также отвечает за связывание с липидами [3].

АРОА5 синтезируется в печени, где связывается с поверхностью жировых капель в процессе формирования из них ЛОВП, а затем вместе с ними выходит в кровоток [8]. Одна молекула АРОА5 приходится в среднем на 24 частицы ЛОВП, что подразумевает в большей степени регуляторную, чем структурную функцию этого белка [9]. Помимо ЛОВП в плазме крови АРОА5 связывается с хиломикронами и липопротеинами высокой плотности [3]. Низкий уровень экспрессии АРОА5 показан в энтероцитах [10], белок может интернализироваться адипоцитами, в которых он также находится в связи с жировыми каплями [3].

Предполагается, что АРОА5 может участвовать в регуляции концентрации ТГ на нескольких этапах метаболизма липопротеинов: секреции ЛОВП в печени, активации липопротеин липазы на внутренней поверхности кровеносных сосудов, захвате липопротеинов рецепторами гепатоцитов, депонировании ТГ в адипоцитах и синтезе хиломикронов в энтероцитах [11]. В разных этнических группах выявлены различающиеся наборы однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) гена *APOA5*, ассоциированных с гиперлипидемией, гиперхолестеринемией, ожирением, инфарктом миокарда и другими заболеваниями [11].

Различия между европеоидными, азиатскими и африканскими популяциями как по частоте встречаемости, так и ассоциации с гипертриглицеридемией, сахарным диабетом 2-го типа, метаболическим синдромом показаны для rs662799 и rs3135506 [3, 12, 13], что говорит о неполной пенетрантности этих однонуклеотидных полиморфизмов.

Для *APOA5* показано наличие внутригенных гаплотипов (обозначаемых ApoA5*1–5) по полиморфизмам rs662799, rs2266788, rs3135506, s2072560 [7, 13, 14], гаплотип ApoA5*2, представленный в европеоидных популяциях с частотой около 8%, ассоциирован со сниженной экспрессией АРОА5 и повышенным уровнем ТГ по сравнению с четырьмя другими вариантами [13]. Показано, что характеризующий его вариант rs2266788С в 3'-некодирующей области гена создает потенциальный сайт связывания для экспрессирующейся в печени микроРНК miR-485-5p, что приводит к посттранскрипционной даун-регуляции мРНК *APOA5* [15]. Предполагается, что именно этот ОНП определяет характерный для носителей данного гаплотипа сниженный уровень белка АРОА5.

Материалы и методы

Протокол исследования одобрен этическим комитетом Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск, Россия). Письменное информированное согласие на обследование и участие в исследовании получено от каждого пациента. Для лиц моложе 18 лет информированное согласие подписано одним из родителей или законным опекуном.

Набор материала проводился в Научно-клиническом центре липидологии НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН. Обследованы 43 неродственных пациента в возрасте от 6 до 48 лет с диагнозом «определенная семейная гиперхолестеринемия» согласно критерию Dutch Lipid Clinic Network [16].

Геномная ДНК для секвенирования нового поколения выделена из лейкоцитов венозной крови путем экстракции фенол-хлороформом [17]. В дизайн таргетной панели включены кодирующие фрагменты и прилегающие сайты сплайсинга генов липидного обмена, в том числе АРОА5. Для приготовления библиотек использован набор NimbleGen SeqCap EZ Choice kit (Roche, Швейцария). Качество анализируемой ДНК и приготовленных библиотек оценено с помощью системы капиллярного электрофореза Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, США). Анализ готовой библиотеки выполнен на пиросеквенаторе Roche Junior GS (Roche, Швейцария).

Биоинформационный анализ данных секвенирования проведен в системе NGSWizard на платформе Genomenal (ru.genomenal.com) и включал:

картирование данных на геном человека (версия GRCh38), контроль качества, удаление дубликатов, выявление однонуклеотидных вариантов и инсерций/делеций в гене *APOA5*. Аннотация полученных вариантов производилась с использованием баз данных gnomAD (gnomad.broadinstitute.org), ClinVar (www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar), HGMD (www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php) и данных литературы. При анализе новой замены учитывались данные тестирования *in silico* с помощью программ SIFT (provean.jcvi.org/index.php), PolyPhen-2 (genetics.bwh.harvard.edu/pph2), Mutation Taster (www.mutationtaster.org) и LIST (list.msl.ubc.ca).

Результаты

Обнаруженные у пациентов с СГХС генетические варианты гена *APOA5* представлены в *таблице*.

Вариантов гена *APOA5*, для которых ранее показана ассоциация с тяжелыми формами гипертриглицеридемии [11, 14], в исследованной выборке не найдено. Четыре из обнаруженных однонуклеотидных варианта предсказаны в ClinVar как доброкачественные. Для восьми ранее найденных ОНП в разных этнических группах показана ассоциация с гипертриглицеридемией или гиперхолестеринемией, при этом оцененные нами частоты этих полиморфизмов в исследованной выборке не показали достоверных отличий от популяционных. Вероятнее всего, это связано с тем, что в выборку были

включены пациенты с СГХС без учета наличия или отсутствия у них гипертриглицеридемии.

Мы также оценили в исследуемой выборке частоту внутригенного гаплотипа ApoA5*2, определяемого по наличию вариантов rs2266788G и rs2072560T: выявлены шесть гетерозиготных носителей этого варианта (7%), что соответствует его частоте в европейской популяции [13].

У одного пациента найдена ранее не описанная замена Ala169Asp в экзоне 4 гена *APOA5*. Неполярный аланин, находящийся в домене белка, отвечающем за связь с липидными каплями, заменен при этом на отрицательно заряженную аспарагиновую кислоту. Тестирование *in silico* замены Ala169Asp показало индекс патогенности по программе Mutation Taster 126 баллов, по PolyPhen-2 – 0,956 балла, по LIST – 0,703407 балла, что указывает на вероятную патогенность этого варианта; программа Provean (2,119 балла) определила замену как нейтральную. Для однозначной оценки ее функциональной значимости требуются дополнительные исследования.

Обсуждение

Гипертриглицеридемии с умеренно повышенным уровнем ТГ, как правило, имеют полигенное наследование и распространены существенно шире моногенных тяжелых форм этого заболевания [11, 14]. Гиперхолестеринемии, в том числе СГХС, могут сопровождаться гипертриглицеридемиями,

Таблица. Нуклеотидные варианты гена *APOA5*, идентифицированные в группе пациентов с семейной гиперхолестеринемией. Частота редкого аллеля представлена согласно базе данных gnomAD

Table. Nucleotide variants in *APOA5* gene, identified in patients with familial hypercholesterolemia. Minor allele frequency is given according to gnomAD database

Однонуклеотидные варианты / SNV	Локализация / Localization	Частота редкого аллеля / Minor allele frequency	Ассоциированный фенотип, ClinVar, ссылки / Phenotype, ClinVar, References
rs2075291	Gly185Ser экзон 4 / экон 4	0,0062	Гипертриглицеридемия / Hypertriglyceridemia [17, 19]
rs3135506	Ser19Trp экзон 3 / экон 3	0,0675	Гипертриглицеридемия / Hypertriglyceridemia [20]
Новая / New	Ala169Asp экзон 4 / экон 4	нд / на	–
rs2072560	Инtron 3 / Intron 3	0,1	Гипертриглицеридемия, гиперхолестеринемия (ЛЮВП) / Hypertriglyceridemia, hypercholesterolemia (VLDL) [21]
rs45596738	3' UTR	0,0565	Доброкачественная / Benign
rs12287066	Ile44Ile экзон 3 / экон 3	0,0791	
rs2266788	3' UTR	0,0677	Гипертриглицеридемия / Hypertriglyceridemia [7, 15]
rs3135507	Val153Met экзон 4 / экон 4	0,0508	Гиперхолестеринемия / Hypercholesterolemia [22]
rs33984246	3' UTR	0,0565	Доброкачественная / Benign
rs34089864		0,0387	Гиперхолестеринемия / Hypercholesterolemia [23]
rs619054		0,1896	Гиперхолестеринемия в одном гаплотипе с rs34089864 / Hypercholesterolemia in association with rs34089864 [23]
rs651821	5' UTR	0,1195	Гипертриглицеридемия / Hypertriglyceridemia [19]
rs143292359	Ala315Val экзон 4 / экон 4	0,0006	Доброкачественная / Benign [13, 24]

Примечание: ЛЮВП – липопротеины очень высокой плотности; НД – нет данных; UTR – нетранслируемая область.
Note: NA – not available; SNV – single nucleotide variations; UTR – untranslated region, VLDL – very-low-density lipoprotein.

при этом патогенные мутации в некоторых генах метаболизма холестерина всегда вызывают подъем уровня ТГ (*LIPA*, *ABCG5* и *ABCG8*), что не характерно для других генов. Для ряда генов показано, что мутации в них, не способные сами по себе приводить к СГХС, могут модифицировать фенотип этого заболевания, усугубив тяжесть клинических проявлений [5]. Это может приводить к тому, что среди пациентов с СГХС будут встречаться те, чей фенотип обусловлен мутациями в более чем одном гене. Большое количество полиморфизмов гена *APOA5*, ассоциированных с повышенным уровнем ТГ и имеющих частоты 5–10% в европеоидных популяциях, подразумевает существенную роль генетического фона, создаваемого этим геном, в проявлении патологического фенотипа семейной гиперхолестеринемии.

Помимо этого показано, что в определении уровня триглицеридов плазмы крови существенны взаимодействия гена *APOA5* с ненаследственными факторами: наличием ожирения, пищевыми привычками и потреблением алкоголя [25]. В результате анализа спектра генетических вариантов *APOA5* мы выявили у пациентов с СГХС восемь полиморфных сайтов, для которых ранее показана ассоциация с гиперлипидемией, и одну ранее не описанную потенциально патогенную мутацию в экзоне 4 этого гена. При этом частоты выявленных нами вариантов не отличались от популяционных. Это говорит о том, что распространенные полиморфизмы гена *APOA5* не влияют на предрасположенность к СГХС, однако редкие варианты этого гена требуют дополнительного внимания.

Для оценки вклада обнаруженных вариантов в фенотип заболевания требуются расширение выборки и дифференциация пациентов по уровню триглицеридов.

Информация об авторах

Михайлова Светлана Владимировна, кандидат биологических наук, научный сотрудник, исполняющая обязанности заведующей лабораторией молекулярной генетики человека федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0897-5473

Иванощук Динара Евгеньевна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0403-545X

Широкова Нина Сергеевна, студент Института медицины и психологии В. Зельмана федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8828-0259

Шахтшнейдер Елена Владимировна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, заведующая

Заключение

У пациентов с СГХС выявлены восемь ОНП, для которых ранее в разных этнических группах показана ассоциация с дислипидемией, и одна ранее не описанная потенциально патогенная замена Ala169Asp в экзоне 4 гена *APOA5*, приводящая к смене неполярной аминокислоты в сайте связывания с липидными каплями на отрицательно заряженную. Для проверки ее функциональной значимости требуются дальнейшие исследования. Частота внутригенного гаплотипа ApoA5*2, предрасполагающего к развитию дислипидемии, у пациентов с СГХС не отличалась от популяционной. Таким образом, генетические варианты гена *APOA5* могут вносить вклад в формирование патологического фенотипа СГХС в российской популяции, но для более точной оценки их вклада требуется дифференциация пациентов по уровню триглицеридов.

Конфликт интересов

С.В. Михайлова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Д.Е. Иванощук заявляет об отсутствии конфликта интересов. Н.С. Широкова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.В. Шахтшнейдер заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа по формированию выборки и молекулярно-генетический анализ выполнены при финансовой поддержке РФФИ (научный проект № 19-015-00458), биоинформационный анализ выполнен в рамках государственного задания № АА-АА-А17-117072710029-7.

Author Information Form

Mikhailova Svetlana V., PhD, Head of the Laboratory of Human Molecular Genetics, Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0897-5473

Ivanoshchuk Dinara E., junior researcher at the Laboratory of Human Molecular Genetics, Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0403-545X

Shirokova Nina S., student at the V. Zelman Institute for Medicine and Psychology, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8828-0259

Shakhtshneider Elena V., PhD, MD, leading researcher, Head of the Division of Monogenic Forms of Human Common

сектором изучения моногенных форм распространенных заболеваний человека федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Российская Федерация; ORCID 0000-0001-6108-1025

Disease, Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation; ORCID 0000-0001-6108-1025

Вклад авторов в статью

МСВ – вклад в дизайн исследования, анализ данных, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ИДЕ – вклад в дизайн исследования, анализ данных, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ШНС – вклад в дизайн исследования, анализ данных, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ШЕВ – вклад в дизайн исследования, анализ данных, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Author Contribution Statement

MSV – contribution to the design of the study, data analysis, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

IDE – contribution to the design of the study, data analysis, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

ShNS – contribution to the design of the study, data analysis, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

ShEV – contribution to the design of the study, data analysis, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Do R., Stitzel N.O., Won H.H., Jørgensen A.B., Duga S., Merlini A.P., et al. Exome sequencing identifies rare LDLR and APOA5 alleles conferring risk for myocardial infarction. *Nature*. 2015; 518:102-106. doi: 10.1038/nature13917
- Ramasamy I. Update on the laboratory investigation of dyslipidemias. *Clin Chim Acta*. 2018; 479:103-125. doi: 10.1016/j.cca.2018.01.015.
- Su X., Kong Y., Peng D.Q. New insights into apolipoprotein A5 in controlling lipoprotein metabolism in obesity and the metabolic syndrome patients. *Lipids Health Dis*. 2018; 17(1):174. doi: 10.1186/s12944-018-0833-2.
- Шахтштейнер Е.В., Иванощук Д.Е., Макаренкова К.В., Орлов П.С., Тимошенко О.В., Бажан С.С., Никитин Ю.П., Воевода М.И. Каскадный генетический скрининг в диагностике гетерозиготной формы семейной гиперхолестеринемии: клинический случай. *Российский кардиологический журнал*. 2017; (6):178-179. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2017-6-178-179>.
- Mikhailova S., Ivanoshchuk D., Timoshchenko O., Shakhtshneider E. Genes Potentially Associated with Familial Hypercholesterolemia. *Biomolecules*. 2019; 9(12). pii: E807. doi: 10.3390/biom9120807.
- Печерина Т.Б., Хорлампенко А.А., Горбунова Е.В., Строкольская И.Л., Кашталап В.В. Клиническое наблюдение пациента с семейной гетерозиготной гиперхолестеринемией. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2017;6(4):155-168. DOI:10.17802/2306-1278-2017-6-4-ISS-168.
- Pennacchio L.A., Olivier M., Hubacek J.A., Cohen J.C., Cox D.R., Fruchart J.C., et al. An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing. *Science*. 2001; 294(5540):169-173. DOI: 10.1126/science.1064852
- Shu X., Nelbach L., Ryan R.O., Forte T.M. Apolipoprotein A-V associates with intrahepatic lipid droplets and influences triglyceride accumulation. *Biochim Biophys Acta*. 2010; 1801:605–608. doi: 10.1016/j.bbali.2010.02.004.
- Merkel M., Heeren J. Give me A5 for lipoprotein hydrolysis! *J Clin Invest*. 2005; 115(10):2694-2696. DOI: 10.1172/JCI26712.
- Guardiola M., Alvaro A., Vallve J.C., Rosales R., Sola R., Girona J., et al. APOA5 gene expression in the human intestinal tissue and its response to in vitro exposure to fatty acid and fibrate. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2012; 22:756–762. doi: 10.1016/j.numecd.2010.12.003.
- Guardiola M., Ribalta J. Update on APOA5 Genetics: Toward a Better Understanding of Its Physiological Impact. *Curr Atheroscler Rep*. 2017; 19(7):30. doi: 10.1007/s11883-017-0665-y.
- Hubacek J.A. Apolipoprotein A5 fifteen years anniversary: Lessons from genetic epidemiology. *Gene*. 2016; 592(1):193-199. doi: 10.1016/j.gene.2016.07.070.
- Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA, Krauss RM, Rubin EM, Cohen JC. Two independent apolipoprotein A5 haplotypes influence human plasma triglyceride levels. *Hum Mol Genet*. 2002; 11(24):3031-3038. DOI: 10.1093/hmg/11.24.3031.
- Melegh B.I., Duga B., Sümegi K., Kisfali P., Maász A., Komlósi K., et al. Mutations of the apolipoprotein A5 gene with inherited hypertriglyceridaemia: Review of the current literature. *Curr Med Chem*. 2012; 19(36):6163-6170. DOI: 10.2174/092986712804485719.
- Caussy C., Charrière S., Marçais C., Di Filippo M., Sassolas A., Delay M., et al. An APOA5 3' UTR variant associated with plasma triglycerides triggers APOA5 downregulation by creating a functional miR-485-5p binding site. *Am J Hum Genet*. 2014; 94(1):129-134. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.12.001.
- Defesche J.C., Lansberg P.J., Umans-Eckenhausen M.A., Kastelein J.J. Advanced method for the identification of patients with inherited hypercholesterolemia. *Semin Vasc Med*. 2004; 4:59–65.
- Sambrook J., Russell D.W. Purification of nucleic acids by extraction with phenol:chloroform. *CSH Protoc*. 2006; 2006(1). pii: pdb.prot4455. doi: 10.1101/pdb.prot4455.
- Qian X., Li Y., Liu X., Li L., Yang K., Liu R., et al. The "T" allele of apolipoprotein A5 rs2075291 is significantly associated with higher total cholesterol and triglyceride and lower high-density lipoprotein cholesterol levels in Asians: a meta-analysis. *Nutr Res*. 2018; 56:11-22. doi: 10.1016/j.nutres.2018.03.018.
- You Y., Wu Y.-H., Zhang Y., Zhang L., Song Y., Bai W., et al. Effects of polymorphisms in APOA5 on the plasma levels of triglycerides and risk of coronary heart disease in Jilin, northeast China: a case-control study. *BMJ Open*. 2018; 8(6): e020016. doi: 10.1136/bmjopen-2017-020016.
- Vrablik M., Hubacek J.A., Dlouha D., Satny M., Adamkova V., Ceska R. Strong association between APOA5 gene polymorphisms and hypertriglyceridaemic episodes. *Folia Biol (Praha)*. 2019; 65(4):188-194.
- Jasim A.A., Al-Bustan S.A., Al-Kandari W, Al-Serri A., Al-Askar H. Sequence analysis of APOA5 among the Kuwaiti population identifies association of rs2072560, rs2266788, and rs662799 with TG and VLDL levels. *Front Genet*. 2018; 9:112. doi: 10.3389/fgene.2018.00112.
- Fahrioglu U., Ergoren M.Ç. The association between APOA5 gene polymorphisms and plasma lipids in the Turkish Cypriot population: a possible biomarker for preventing

cardiovascular diseases. *Biochem Genet.* 2018; 56(3):176-187. doi: 10.1007/s10528-017-9836-3.

23. Salehi S., Emadi-Baygi M., Rezaei M., Kelishadi R., Nikpour P. Lack of evidence of the role of APOA5 3'UTR polymorphisms in Iranian children and adolescents with metabolic syndrome. *Diabetes Metab J.* 2018;42(1):74-81. doi: 10.4093/dmj.2018.42.1.74.

24. Hubacek J.A., Skodová Z., Adámková V., Lánská V., Pitha J. APOA5 variant Ser19Trp influences a decrease of the total cholesterol in a male 8 year cohort. *Clin Biochem.* 2006;39(2):133-136. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2005.11.012

25. Williams P.T. Gene-environment interactions due to quantile-specific heritability of triglyceride and VLDL concentrations. *Sci Rep.* 2020;10(1):4486. doi: 10.1038/s41598-020-60965-9.

REFERENCES

1. Do R., Stitzel N.O., Won H.H., Jørgensen A.B., Duga S., Merlini A.P., et al. Exome sequencing identifies rare LDLR and APOA5 alleles conferring risk for myocardial infarction. *Nature.* 2015; 518:102-106. doi: 10.1038/nature13917

2. Ramasamy I. Update on the laboratory investigation of dyslipidemias. *Clin Chim Acta.* 2018; 479:103-125. doi: 10.1016/j.cca.2018.01.015.

3. Su X., Kong Y., Peng D.Q. New insights into apolipoprotein A5 in controlling lipoprotein metabolism in obesity and the metabolic syndrome patients. *Lipids Health Dis.* 2018; 17(1):174. doi: 10.1186/s12944-018-0833-2.

4. Shakhtshneider E.V., Ivanoshchuk D.E., Makarenkova K.V., Orlov P.S., Timoshchenko O.V., Bazhan S.S., Nikitin Yu.P., Voevoda M.I. Cascade genetic screening in diagnostics of heterozygous familial hypercholesterolemia: clinical case. *Russ J Cardiol.* 2017; 6 (146): 178–179. (In Russian). <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2017-6-178-179>.

5. Mikhailova S., Ivanoshchuk D., Timoshchenko O., Shakhtshneider E. Genes Potentially Associated with Familial Hypercholesterolemia. *Biomolecules.* 2019; 9(12). pii: E807. doi: 10.3390/biom9120807.

6. Pecherina T.B., Khorlampenko A.A., Gorbunova E.V., Strokolskaya I.L., Kashtalov V.V. Clinical case of a patient with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2017;6(4):155-168. (In Russian). DOI:10.17802/2306-1278-2017-6-4-155-168.

7. Pennacchio L.A., Olivier M., Hubacek J.A., Cohen J.C., Cox D.R., Fruchart J.C., et al. An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing. *Science.* 2001; 294(5540):169-173. DOI: 10.1126/science.1064852

8. Shu X., Nelbach L., Ryan R.O., Forte T.M. Apolipoprotein A-V associates with intrahepatic lipid droplets and influences triglyceride accumulation. *Biochim Biophys Acta.* 2010; 1801:605–608. doi: 10.1016/j.bbali.2010.02.004.

9. Merkel M., Heeren J. Give me A5 for lipoprotein hydrolysis! *J Clin Invest.* 2005; 115(10):2694-2696. DOI: 10.1172/JCI26712.

10. Guardiola M., Alvaro A., Vallve J.C., Rosales R., Sola R., Girona J., et al. APOA5 gene expression in the human intestinal tissue and its response to in vitro exposure to fatty acid and fibrate. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2012; 22:756–762. doi: 10.1016/j.numecd.2010.12.003.

11. Guardiola M., Ribalta J. Update on APOA5 Genetics: Toward a Better Understanding of Its Physiological Impact. *Curr Atheroscler Rep.* 2017; 19(7):30. doi: 10.1007/s11883-017-0665-y.

12. Hubacek J.A. Apolipoprotein A5 fifteen years anniversary: Lessons from genetic epidemiology. *Gene.* 2016; 592(1):193-199. doi: 10.1016/j.gene.2016.07.070.

13. Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA, Krauss RM, Rubin EM, Cohen JC. Two independent apolipoprotein A5 haplotypes influence human plasma triglyceride levels. *Hum Mol Genet.* 2002; 11(24):3031-3038. DOI: 10.1093/hmg/11.24.3031.

14. Melegh B.I., Duga B., Sümegi K., Kisfali P., Maász A., Komlósi K., et al. Mutations of the apolipoprotein A5 gene with inherited hypertriglyceridaemia: Review of the current literature. *Curr Med Chem.* 2012; 19(36):6163-6170. DOI: 10.2174/092986712804485719.

15. Caussy C., Charrière S., Marçais C., Di Filippo M., Sassolas A., Delay M., et al. An APOA5 3' UTR variant associated with plasma triglycerides triggers APOA5 downregulation by creating a functional miR-485-5p binding site. *Am J Hum Genet.* 2014; 94(1):129-134. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.12.001.

16. Defesche J.C., Lansberg P.J., Umans-Eckenhausen M.A., Kastelein J.J. Advanced method for the identification of patients with inherited hypercholesterolemia. *Semin Vasc Med.* 2004; 4:59–65.

17. Sambrook J., Russell D.W. Purification of nucleic acids by extraction with phenol:chloroform. *CSH Protoc.* 2006; 2006(1). pii: pdb.prot4455. doi: 10.1101/pdb.prot4455.

17. Qian X., Li Y., Liu X., Li L., Yang K., Liu R., et al. The "T" allele of apolipoprotein A5 rs2075291 is significantly associated with higher total cholesterol and triglyceride and lower high-density lipoprotein cholesterol levels in Asians: a meta-analysis. *Nutr Res.* 2018; 56:11-22. doi: 10.1016/j.nutres.2018.03.018.

19. You Y., Wu Y.-H., Zhang Y., Zhang L., Song Y., Bai W., et al. Effects of polymorphisms in APOA5 on the plasma levels of triglycerides and risk of coronary heart disease in Jilin, northeast China: a case-control study. *BMJ Open.* 2018; 8(6): e020016. doi: 10.1136/bmjopen-2017-020016.

20. Vrablik M., Hubacek J.A., Dlouha D., Satny M., Adamkova V., Ceska R. Strong association between APOA5 gene polymorphisms and hypertriglyceridaemic episodes. *Folia Biol (Praha).* 2019; 65(4):188-194.

21. Jasim A.A., Al-Bustan S.A., Al-Kandari W, Al-Serri A., Al-Askar H. Sequence analysis of APOA5 among the Kuwaiti population identifies association of rs2072560, rs2266788, and rs662799 with TG and VLDL levels. *Front Genet.* 2018; 9:112. doi: 10.3389/fgene.2018.00112.

22. Fahrioglu U., Ergoren M.Ç. The association between APOA5 gene polymorphisms and plasma lipids in the Turkish Cypriot population: a possible biomarker for preventing cardiovascular diseases. *Biochem Genet.* 2018; 56(3):176-187. doi: 10.1007/s10528-017-9836-3.

23. Salehi S., Emadi-Baygi M., Rezaei M., Kelishadi R., Nikpour P. Lack of evidence of the role of APOA5 3'UTR polymorphisms in Iranian children and adolescents with metabolic syndrome. *Diabetes Metab J.* 2018;42(1):74-81. doi: 10.4093/dmj.2018.42.1.74.

24. Hubacek J.A., Skodová Z., Adámková V., Lánská V., Pitha J. APOA5 variant Ser19Trp influences a decrease of the total cholesterol in a male 8 year cohort. *Clin Biochem.* 2006;39(2):133-136. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2005.11.012

25. Williams P.T. Gene-environment interactions due to quantile-specific heritability of triglyceride and VLDL concentrations. *Sci Rep.* 2020;10(1):4486. doi: 10.1038/s41598-020-60965-9.

Для цитирования: С.В. Михайлова, Д.Е. Иванощук, Н.С. Широкова, Е.В. Шахтшнейдер. Полиморфизм гена *APOA5* у пациентов с первичной гиперлипидемией. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2020; 9 (2): 38-44. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-38-44

To cite: S.V. Mikhailova, D.E. Ivanoshchuk, N.S. Shirokova, E.V. Shakhtshneider. Polymorphism of the *APOA5* gene in patients with primary hyperlipidemia. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2020; 9 (2): 38-44. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-38-44

УДК 616-002.2, 57.088.1

DOI 10.17802/2306-1278-2020-9-2-45-52

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ В КЛИНИКЕ МОНОМЕРА С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА

М.Д. Зверева ✉, О.С. Сабурова, И.С. Мельников, С.Г. Козлов, З.А. Габбасов

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. 3-я Черепковская, 15а, Москва, Российская Федерация, 121552

Основные положения

- Разработана уникальная мультиплексная тест-система, позволяющая определять уровни как нативной, так и мономерной форм С-реактивного белка в крови пациентов.
- Мономерная форма С-реактивного белка может играть не менее важную роль, чем нативная, в диагностике и течении сердечно-сосудистых патологий.

Цель

Разработка метода регистрации циркулирующего в крови мономера С-реактивного белка (СРБ), а также изучение уровней изоформ СРБ – нативного пентамера С-реактивного белка (нСРБ) и мономера С-реактивного белка (мСРБ) – в крови пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца (ИБС) и острым инфарктом миокарда.

Материалы и методы

Исследовали образцы плазмы крови, полученные от 14 пациентов с острым инфарктом миокарда на вторые – третьи сутки, 22 пациентов со стабильной ИБС и 11 здоровых добровольцев. Исследование проводили при помощи проточного цитофлуориметра FACS CantoII и набора функциональных частиц Cytometric Bead Array (BD Biosciences, США). Использовали моноклональные антитела к СРБ (клоны МОН328 и МОН372 «ИМТЕК», Россия; клон 8С8, (Sigma-Aldrich, США), поликлональные антитела к СРБ GAN-FITC («ИМТЕК»), нативный СРБ («ИМТЕК») и рекомбинантный мономерный СРБ (получен в дар от доктора L. Potempa).

Результаты

Разработана тест-система, позволившая определить уровень мономера СРБ в крови пациентов. У всех пациентов с ИБС зафиксирован повышенный уровень СРБ в плазме крови, в то время как в контрольной группе показатель был ниже определяемого порога. У пациентов со стабильной ИБС концентрация мСРБ составила 2,34 (1,42; 3,27) мкг/л, тогда как наиболее высокий уровень мСРБ отмечен у лиц с острым инфарктом миокарда – 16,76 (3,65; 54,83) мкг/л ($p = 0,0002$, критерий Краскела – Уоллиса ANOVA). Корреляции уровней мСРБ и показателей нСРБ, высокочувствительного С-реактивного белка и интерлейкина-6 не обнаружено.

Заключение

Новая тест-система, позволяющая определять уровень мономера С-реактивного белка в крови, делает возможным исследование роли мСРБ в патогенезе и течении ИБС. Полученные результаты позволяют утверждать, что мономер С-реактивного белка может играть не меньшую роль, чем его нативная форма, в диагностике и течении кардиологических патологий, а также иных, связанных с воспалительными процессами в организме, заболеваний.

Ключевые слова

Ишемическая болезнь сердца • С-реактивный белок • Мономерный С-реактивный белок • Острый инфаркт миокарда

Поступила в редакцию: 03.04.2020; поступила после доработки: 21.04.2020; принята к печати: 04.05.2020

MONOMERIC C-REACTIVE PROTEIN IN CORONARY ARTERY DISEASE

M.D. Zvereva ✉, O.S. Saburova, I.S. Melnikov, S.G. Kozlov, Z.A. Gabbasov

National Medical Research Centre of Cardiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 15a, 3d Cherepkovskaya St., Moscow, Russian Federation, 121552

Highlights

- A unique laboratory kit for measuring native and monomeric C-reactive protein in blood levels has been developed.

Для корреспонденции: Мария Дмитриевна Зверева, zverevamd23@gmail.com; адрес: ул. 3-я Черепковская, 15а, Москва, Россия, 121552

Corresponding author: Maria D. Zvereva, zverevamd23@gmail.com; address: 15a, 3d Cherepkovskaya St., Moscow, Russian Federation, 121552

- Obtained data suggest that monomeric C-reactive protein can play no less important role than native C-reactive protein in the diagnosis and progress of cardiovascular diseases.

Aim	To develop a method for measuring circulating monomeric C-reactive protein and to determine the levels of C-reactive protein isoforms (native pentameric C-reactive protein and monomeric C-reactive protein) in patients with stable coronary artery diseases and acute myocardial infarction.
Methods	Plasma and blood serum samples were collected from 22 patients with stable coronary artery disease (CAD), 14 patients with acute myocardial infarction at days 2-3, and 11 healthy volunteers. The analysis was performed using flow cytometry FACS CantoII and a set of functional particles Cytometric Bead Array (BD Biosciences, USA). Antibodies for CRP (clones 328 and 372 from ImTek, Russia, and clone 8C8 from Sigma-Aldrich, USA), rCRP-GAH (with antibodies for CRP), native CRP (ImTek, Russia) and recombinant monomeric CRP (received as a gift from Dr. L. Potempa) were used in the analysis.
Results	A novel laboratory kit for measuring blood levels of monomeric CRP has been developed. Patients with CAD demonstrated elevated plasma levels of CRP, whereas healthy subjects reported the levels below the lower cut-off. Patients with stable CAD had mCRP concentration of 2.34 (1.42; 3.27) $\mu\text{g/L}$, whereas patients with acute MI had the highest level of 16.76 (3.65; 54.83) $\mu\text{g/L}$ ($p = 0.0002$, Kruskal–Wallis One Way Anova). There were no any correlations between mCRP levels and nCRP, hs-CRP and IL-6.
Conclusion	The novel laboratory kit allows measuring monomeric C-reactive protein and provides novel data on the role of mCRP in the development and progress of CAD. Obtained data suggest that monomeric C-reactive protein can play no less important role than native C-reactive protein in the diagnosis and progress of cardiovascular diseases as well as other diseases associated with the inflammatory process.
Keywords	Coronary artery disease • C-reactive protein • mCRP • Acute myocardial infarction

Received: 03.04.2020; received in revised form: 21.04.2020; accepted: 04.05.2020

Список сокращений

ИБС – ишемическая болезнь сердца	нСРБ – нативный пентамер С-реактивного белка
ИМ – инфаркт миокарда	мСРБ – мономер С-реактивного белка
СРБ – С-реактивный белок	

Введение

С-реактивный белок (СРБ) является филогенетически высококонсервативным белком плазмы с гомологами у позвоночных и многих беспозвоночных, который участвует в системном ответе на воспаление. В настоящее время представлено значительное количество данных о связи СРБ с сердечно-сосудистыми заболеваниями, такими как артериальная гипертензия и ишемическая болезнь сердца (ИБС), а также нарушениями метаболизма глюкозы и липидов [1]. Длительное время велись дискуссии о том, является ли СРБ только биомаркером развития сердечно-сосудистых осложнений, не принимающим непосредственного участия в инициации и поддержании воспалительного процесса, или он вовлечен в патогенез воспаления.

Данные многочисленных исследований, накопленные за десятилетия изучения СРБ, были противоречивыми [2]. Тем не менее к настоящему моменту достаточно доказательств того, что проти-

воречия в результатах ранее проведенных исследований, вероятно, связаны с тем, что СРБ имеет две изоформы. Одна из них, наиболее изученная, – нативная – состоит из пяти нековалентно связанных идентичных субъединиц с молекулярным весом около 23 кДа. Относится к семейству пентраксинов и синтезируется в печени в условиях воспалительной активации интерлейкином-6. Другая изоформа – мономерная – образуется в зоне воспаления в результате диссоциации нативной изоформы.

Показано, что нативный С-реактивный белок (нСРБ) может необратимо диссоциировать в местах воспаления и инфекции на пять отдельных мономеров СРБ (мСРБ). Быстрая диссоциация СРБ в мономер происходит на поверхности активированных тромбоцитов, микрочастиц клеточного происхождения и при связывании с мембранами поврежденных или апоптотических клеток. Также есть вероятность, что некоторые клетки крови способны самостоятельно продуцировать мономерную

форму СРБ [3]. Ввиду структурных особенностей данные формы СРБ могут по-разному влиять как на скорость, так и пути активации воспалительных процессов в организме.

Накопленные данные позволяют утверждать, что в то время как нативная изоформа, определяемая антителами к высокочувствительному СРБ, не участвует в воспалительном процессе, мономерная изоформа С-реактивного белка может играть непосредственную роль в развитии острого и поддержании хронического воспалительного ответа. Например, имеются данные о том, что мСРБ, в отличие от нСРБ, может активировать нейтрофилы, моноциты и тромбоциты, что способствует стимуляции их провоспалительной активности [4].

Нативный СРБ находит все большее применение как значимый биомаркер риска неблагоприятных сердечно-сосудистых событий при атеросклерозе, сопоставимый по эффективности с холестерином и его фракциями. На основании полученных данных Центр контроля и профилактики заболеваний Американской ассоциации сердца отнес нСРБ к независимым биомаркерам сердечно-сосудистого риска [5]. При этом данных о роли мСРБ в патогенезе ишемической болезни сердца немного. Кроме того, отсутствуют унифицированные методы определения и доступные тест-системы определения в крови уровня мСРБ.

В связи с этим целями настоящего исследования были разработка метода регистрации циркулирующего в крови мономера СРБ, а также изучение уровней изоформ СРБ (нСРБ и мСРБ) в крови пациентов со стабильной ИБС и инфарктом миокарда.

Материалы и методы

Пациенты

В исследование включены 22 пациента мужского и женского пола в возрасте от 45 до 75 (в среднем 62,5±11,7) лет с хронической ИБС и 14 пациентов с инфарктом миокарда (ИМ) в возрасте 60±14 лет. Критериями исключения являлись возраст (>75 лет); нестабильная стенокардия; инфаркт миокарда, перенесенный в течение 60 дней до включения пациента в исследование; коронарное шунтирование, баллонная ангиопластика или стентирование коронарных артерий в анамнезе; сердечная недостаточность со снижением фракции выброса менее 40%; уровень креатинина в сыворотке крови более 150 мкмоль/л; тяжелая коморбидность. Пациенты получали 100 мг ацетилсалициловой кислоты и 75 мг клопидогрела в сутки. Всем пациентам, как с острой, так и хронической ИБС, назначалась липидоснижающая терапия статинами. Антиангинальные и гипотензивные препараты применялись по решению лечащего врача.

Кровь больных с ИМ собирали на 2–3-е сут. после развития ИМ. Больные получали в качестве ан-

титромбоцитарной терапии аспирин (1-е сут. – 300 мг, затем – 100 мг/сут.) и клопидогрел (1-е сут. – 600 мг, затем – 75 мг/сут.).

Группу контроля составили 11 практически здоровых добровольцев в возрасте от 30 до 55 лет.

Информация и соблюдение этических норм при проведении исследования

Исследование соответствует стандартам надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципам Хельсинкской декларации, одобрено локальным этическим комитетом учреждения. Все пациенты ознакомлены с целями и основными положениями исследования, подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Подготовка образцов крови

Кровь получена у пациентов со стабильной ИБС и больных, имеющих в анамнезе острый инфаркт миокарда до третьих суток. Также кровь забиралась у людей без системных воспалительных заболеваний для создания контрольной группы. Забор крови выполнен в утренние часы в пробирки S-Monovette (Sarstedt, Германия) с 3,2% цитратом натрия при соотношении крови к антикоагулянту 1:9. Кровь центрифугировали на скорости 10 000 об./мин (2000 g) в течение 20 минут. Полученный супернатант отбирали в отдельные пробирки типа «Эппендорф» и хранили при –40 °С.

Создание мультиплексной системы анализа

Измерительная система для определения в крови уровней нСРБ и мСРБ создана на основе набора функциональных частиц Cytometric Bead Array (BD Biosciences, США). В основе этого набора лежит методика ковалентного связывания водорастворимых антител к целевым белкам с поверхностью цветных функциональных шариков. Связь между шариком и антителами формируется с использованием sulfo-SMCC (Sigma-Aldrich, США). После того как функциональные шарики добавляют в исследуемый образец плазмы крови, антитела на их поверхности связывают свой белок-лиганд. Затем в образец помещают вторые (проявляющие) антитела к этому целевому белку, которые мечены флуорохромом, флуоресценция которого отличается от флуоресценции функциональных частиц. Интенсивность флуоресценции конъюгированных с шариками вторых антител используется для определения уровня связывания целевого белка с шариками и определения его концентрации в образце крови.

Мы конъюгировали с различными антителами к СРБ функциональные шарики А5, С4 и Е5 из набора Cytometric Bead Array, которые были одного размера, но разной интенсивности флуоресценции по флуорохрому APC-Cy7. Частицы конъюгированы с различными мышинными моноклональными

антителами к СРБ: А5 – с антителами клона МОН328 («ИМТЕК», Россия), Е5 – с антителами клона МОН372 («ИМТЕК», Россия) и С4 – с антителами клона 8С8 (Sigma-Aldrich, США). Для выявления уровня связывания растворимого анализита с функциональными частицами в качестве проявляющих антител использовали FITC-конъюгированные поликлональные козьи антитела к СРБ – GAN-FITC («ИМТЕК», Россия).

Статистический анализ

Значения нормального распределения выражены как среднее \pm стандартное отклонение (Mean \pm SD), значения с асимметричным распределением – через медиану (верхний и нижний квартили). Для проверки гипотез, связанных с видом распределения, применен критерий Шапиро – Уилка. Сравнение данных двух групп проводилось непараметрическим крите-

рием Манна – Уитни, трех и более групп – критерием Краскела – Уоллиса ANOVA. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистический анализ выполнен с помощью программного пакета SPSS Statistics версии 23.0 (SPSS Inc., США).

Результаты

Измерение массовой концентрации мСРБ в образцах плазмы крови

Разработана оригинальная мультиплексная система иммуноанализа уровней мономерной и пентамерной изоформ СРБ в образцах крови с помощью функциональных шариков Cytometric Bead Array (BD Biosciences). Конъюгаты функциональных шариков (А5, Е5, С4) с различными антителами к СРБ человека (МОН372, МОН328, «ИМТЕК»; 8С8, Sigma-Aldrich) получали по методике конъюгирования с использованием Functional Bead Conjugation Buffer Set (BD Biosciences).

Для выявления пентамерной (нативной) или мономерной изоформ СРБ человека проводили инкубирование полученных конъюгатов с белковыми образцами нСРБ (Sigma-Aldrich) и мСРБ (получен в дар от доктора L. Potempa) в концентрации 0,25 мкг/мл в течение часа при комнатной температуре. В качестве вторых антител, которые выявляют уровень связывания растворимого СРБ с функциональными шариками, использовали FITC-меченые поликлональные антитела козьи к СРБ человека GAN-FITC («ИМТЕК»).

На рис. 1А в виде диаграммы приведена интенсивность флуоресценции функциональных шариков А5, С4 и Е5 по каналу APC-Cy7. На рис. 1Б представлена гистограмма интенсивности флуоресценции функциональных шариков А5, С4 и Е5 по каналу FITC в присутствии проявляющих поликлональных антител к СРБ. В отсутствие СРБ образцы шариков обладают невысокой интенсивностью флуоресценции (MFI, Mean Fluorescence Intensity), равной 157, 112 и 82 RU для А5, С4 и Е5 соответственно.

На рис. 2 приведены результаты измерения на проточном цитофлуориметре FACS CantoII (BD Biosciences) интенсивностей флуоресценции функциональных шариков А5, С4 и Е5 в присутствии в исследуемой пробе нативного и рекомбинантного мономерного СРБ в концентрации 0,25 мг/л и FITC-конъюгированных GAN-FITC поликлональных антител к СРБ человека. Результаты измерения показывают, что функциональные шарики А5 (гейт P1) одинаково интенсивно связываются с обеими (нативной и мономерной) изоформами СРБ, в то время как шарики С4 (гейт P2)

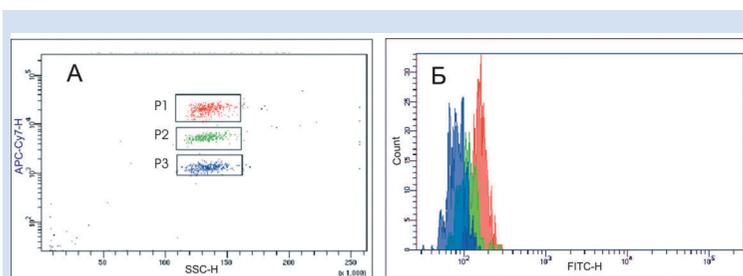


Рисунок 1. Интенсивность флуоресценции функциональных шариков А5, С4 и Е5 в каналах APC-Cy7 (А) и FITC в присутствии поликлональных FITC-меченых антител к С-реактивному белку (GAN-CRP-FITC) и отсутствие в анализируемом образце данного белка (Б)

Примечание: гейт P1 – флуоресценция шариков А5; гейт P2 – шариков С4; гейт P3 – шариков Е5.

Figure 1. Fluorescence intensity of the functional beads А5, С4 and Е5 in APC-Cy7 channel (А) and FITC channel in presence of polyclonal FITC-labeled antibody to CRP (GAN-FITC) and absence of CRP in the solution (Б)
Note: Gate P1 – the fluorescence of А5 beads; Gate P2 – С4 beads; Gate P3 – Е5 beads.

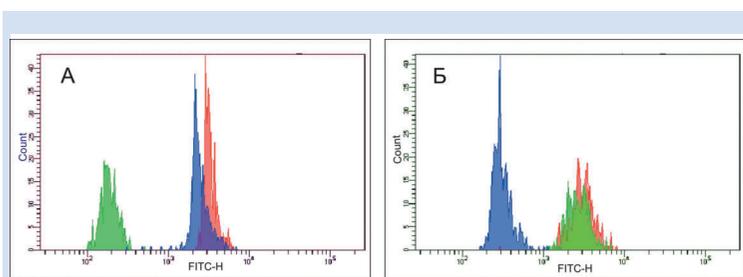


Рисунок 2. Гистограммы интенсивности флуоресценции функциональных шариков А5, С4 и Е5, конъюгированных с различными моноклональными антителами к С-реактивному белку (СРБ), в присутствии рекомбинантного мономерного (А) и нативного (Б) СРБ в концентрации 0,25 мг/л и FITC-меченых поликлональных антител GAN-FITC

Примечание: гейт P1 – шарики А5, конъюгированные с клоном антител МОН328, «ИМТЕК»; гейт P2 – шарики С4, конъюгированные с клоном антител 8С8, Sigma-Aldrich; гейт P3 – шарики Е5, конъюгированные с антителами МОН372, «ИМТЕК».

Figure 2. Fluorescence intensity histograms of А5, С4 and Е5 beads, conjugated with different monoclonal antibodies to CRP, in presence of native (А) or recombinant monomeric (Б) CRP and FITC-labeled polyclonal antibody GAN-FITC in the solution

Note: Gate P1 – А5 beads, conjugated with mAb clone МОН328, ImTek; Gate P2 – С4 beads, conjugated with mAb clone 8С8, Sygma; Gate P3 – Е5 beads, conjugated with mAb clone МОН372, ImTek. А) The fluorescence of functional beads in presence of 0.25 mg/l native CRP in the solution. Б) The fluorescence of functional beads in presence of 0.25 mg/l in the solution.

связываются в основном с мономерной, а E5 (гейт P3) – с нативной формой СРБ. MFI функциональных шариков A5 по каналу FITC составила 3261 и 3127 RU для нативной и мономерной изоформ СРБ соответственно. В то же время MFI для функциональных шариков C4 равнялась 188 и 2766 RU, а для E5 – 2486 и 313 RU соответственно. Таким образом, разработанная нами мультиплексная система позволяет одновременно определять общий уровень двух СРБ и в отдельности мономерной и пентамерной (нативной) изоформ в одном образце крови пациента.

На рис. 3 показан график определения концентрации мСРБ. Концентрация мСРБ оценивалась при помощи проточного цитофлуориметра FACS CantoII (BD Biosciences) по каналу FITC. Как видно, в этом канале шарики типа C4 дают интенсивное свечение. Данный график был построен при помощи метода последовательных разведений и калибровки. Рекombинантный мономерный СРБ известной концентрации, измеренной до этого в матричном растворе в мг/мл, последовательно разводился. Данная серия последовательных разведений помогла нам построить график зависимости C4-шариков, связывающих мСРБ, с интенсивностью флуоресценции FITC. Исходя из этого, мы можем говорить о том, что наблюдается рост концентрации мономерной формы, в то время как концентрация пентамерной нативной формы практически стабильно равна нулю.

Уровень мСРБ в образцах плазмы крови пациентов с ИБС

Разработанный нами мультиплексный метод измерения в плазме крови концентрации различных

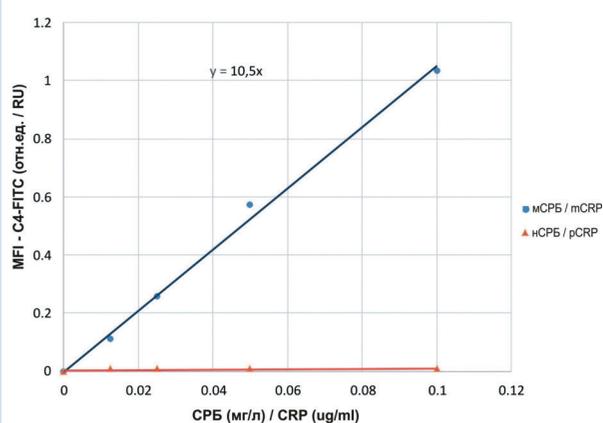


Рисунок 3. График зависимости интенсивности флуоресценции по каналу FITC шариков C4 от концентрации в растворе рекомбинантного мономерного (мСРБ) и нативного С-реактивного белка (нСРБ)

Примечание: MFI – средняя интенсивность флуоресценции в канале FITC из шариков C4.

Figure 3. Dependence of the fluorescence intensity of C4 beads in the FITC channel with the concentration of recombinant mCRP and native CRP

Note: MFI – mean fluorescence intensity of C4 beads in the FITC channel.

изоформ СРБ использовался для изучения уровней СРБ в крови у пациентов с острым инфарктом миокарда ($n = 14$), со стабильной ИБС ($n = 22$) и здоровых добровольцев ($n = 11$). У всех здоровых добровольцев уровень мСРБ был ниже порога обнаружения, который в нашем исследовании составил 1,1 мкг/л. У пациентов со стабильной ИБС концентрация мСРБ составила 2,34 (1,42; 3,27) мкг/л, тогда как наиболее высокий уровень мСРБ отмечен у пациентов с острым инфарктом миокарда – 16,76 (3,65; 54,83) мкг/л ($p = 0,0002$, критерий Краскела – Уоллиса ANOVA) (рис. 4). Корреляция Спирмена между уровнями мСРБ, измеренного представленным в исследовании методом, и высокочувствительного СРБ, оцененного стандартным лабораторным методом у пациентов с ИБС, составила 0,16 ($p > 0,05$). Корреляции между уровнями мСРБ и показателями нСРБ и интерлейкина-6 также не обнаружено.

Обсуждение

Для определения концентрации мономера С-реактивного белка нами разработана оригинальная система на основе иммуноферментного анализа – широко известного лабораторного метода, построенного на принципе специфической реакции «антиген – антитело» и позволяющего определять различные низкомолекулярные соединения. Данный метод был усовершенствован и теперь может применяться для исследований на проточном цитофлуориметре. Разработанная система включает специальные шарики из набора BD Biosciences для измерения в проточном цитофлуориметре и FITC-метки, работающие по принципу «антиген – антитело». При использовании нового метода производится поштучная регистрация компонентов

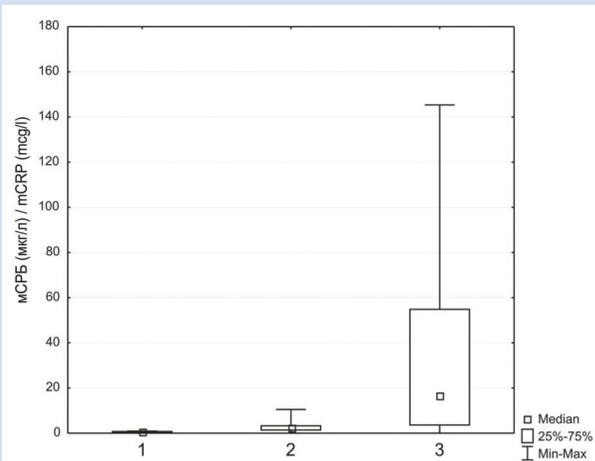


Рисунок 4. Уровни мономера С-реактивного белка (мСРБ) в крови здоровых добровольцев (1), пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца (2) и пациентов с инфарктом миокарда (3)

Примечание: $p = 0,0002$, критерий Краскела – Уоллиса ANOVA.

Figure 4. mCRB blood levels in healthy volunteers (1), patients with stable CAD (2) and patients with MI (3).

Note: mCRB amounts are given in $\mu\text{g/l}$, $p = 0.0002$, Kruskal-Wallis One Way Anova.

анализируемой дисперсной среды по флуоресценции. Система имеет множество преимуществ в сравнении с классическим методом иммуноферментного анализа: более высокая скорость и точность, простота в исследовании при анализе и подсчете полученных данных, возможность исследования больших массивов данных и объективное измерение интенсивности флуоресценции.

Данная система имеет огромное значение для дальнейшего изучения мономера С-реактивного белка, так как мСРБ играет важную роль в развитии множества заболеваний. Отложение и локализация провоспалительных изоформ СРБ усиливают воспаление и повреждение тканей в широком спектре клинических состояний, включая ишемическую болезнь сердца, болезнь Альцгеймера, возрастную дегенерацию желтого пятна и иммунную тромбоцитопению [6]. Также сообщалось о большом разнообразии мономерных конформаций СРБ *in vitro* и *ex vivo*: от денатурированного мСРБ *in vitro*, продуцируемого высокими концентрациями мочевины [7], до восстановленного, связанного с мембраной мСРБ [8], и гибридного мСРБ с почти нативной структурой [9]. Высказано предположение, что связывание с микровезикулами приводит к структурным изменениям нСРБ, которые позволяют связывать С1q и, следовательно, активировать комплемент [10]. Таким образом, разработанный нами метод определения мСРБ может быть применен для дальнейшего исследования подобных вопросов.

Кроме того, все большее количество экспериментальных данных в литературе свидетельствует о провоспалительной роли мСРБ [11] и наличии связи между уровнями мСРБ и прогрессированием некоторых аутовоспалительных заболеваний в организме.

Ранее в литературе уже давались описания того, как мСРБ проявляет способность стимулировать выработку цитокинов и активировать выработку молекул адгезии, индуцировать образование и рост тромба, а также изменять свойства фибрина и экспрессию тканевого фактора. Считается, что циркулирующие микрочастицы, образующиеся из липидных мембран, могут не только вызывать диссоциацию нСРБ, но и действовать как элементы транспортировки мСРБ к участкам усиленного воспаления [12]. Также подчеркивалось, что стандартные клинические тесты определения СРБ, исполь-

зуемые в значительной части медицинских лабораторий, не способны обнаружить мСРБ, который связан с циркулирующими микрочастицами [13]. Такое разнообразие структурных свойств и особенностей мономера СРБ наглядно демонстрирует, насколько важно изучение данного типа белка.

Несмотря на то что в настоящее время указанный мономер считается преимущественно тканевой формой СРБ, мы можем определять его концентрацию и в циркулирующей крови. мСРБ может диссоциировать и затем распространяться в кровотоке в циркулирующих микрочастицах, что объясняет присутствие преимущественно мСРБ, связанного с тканями, в циркулирующей крови [14].

Ограничения

К ограничениям проведенного исследования относятся небольшой объем выборки исследуемых, а также отсутствие результатов проспективного наблюдения за пациентами со стабильной ИБС.

Заключение

Новая тест-система, позволяющая определять уровень мономера С-реактивного белка в крови, делает возможным исследование роли мСРБ в патогенезе и течении ИБС. Согласно результатам нашего исследования, мономер С-реактивного белка может играть не меньшую роль, чем его нативная форма, в развитии и последующем течении кардиологических патологий. Хотя первоначально мСРБ рассматривался как активатор комплемента и циркулирующий опсонин, все больше результатов исследований *in vivo* и *in vitro* свидетельствуют о том, что он играет более сложную роль в местных воспалительных ответах организма.

Конфликт интересов

М.Д. Зверева заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.С. Сабурова заявляет об отсутствии конфликта интересов. И.С. Мельников заявляет об отсутствии конфликта интересов. С.Г. Козлов заявляет об отсутствии конфликта интересов. З.А. Габбасов заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Авторы заявляют об отсутствии финансирования исследования.

Информация об авторах

Зверева Мария Дмитриевна, лаборант-исследователь федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация

Сабурова Ольга Стояновна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии»

Author Information Form

Zvereva Maria D., laboratory assistant at the National Medical Research Centre of Cardiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation;

Saburova Olga S., PhD, leading researcher at the National Medical Research Centre of Cardiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-5702-9037

Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-5702-9037

Мельников Иван Сергеевич, младший научный сотрудник федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-5241-3091

Козлов Сергей Геннадьевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-8800-1670

Габбасов Zufar Ахнафович, доктор биологических наук, главный научный сотрудник федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-3878-2573

Melnikov Ivan S., research assistant at the National Medical Research Centre of Cardiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-5241-3091

Kozlov Sergey G., PhD, leading researcher at the National Medical Research Centre of Cardiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-8800-1670

Gabbasov Zufar A., PhD, chief researcher at the National Medical Research Centre of Cardiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3878-2573

Вклад авторов в статью

ЗМД – получение и анализ данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

СОС – существенный вклад в концепцию и дизайн исследования, получение, анализ и интерпретация данных исследования, внесение корректив в статью, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

МИС – интерпретация данных исследования, внесение корректив в статью, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

КСГ – интерпретация данных исследования, внесение корректив в статью, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ГЗА – существенный вклад в концепцию и дизайн исследования, внесение корректив в статью, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Author Contribution Statement

ZMD – data collection and analysis, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

SOS – significant contribution to the concept and design of the study, data collection, analysis and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

MIS – data interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

KSG – data interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

GZA – significant contribution to the concept and design of the study, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Титов В.Н., Ошечкова Е.В., Дмитриев В.А. С-реактивный белок, микроальбуминурия, эндогенное воспаление и артериальная гипертония. М.: ППП «Типография «Наука», 2009.
2. Сумарков А. Б., Наумов В. Г., Масенко В. П. С-реактивный белок и сердечно-сосудистая патология. Тверь: Триада, 2006.
3. Melnikov I.S., Kozlov S.G., Saburova O.S., Avtaeva Y.N., Prokofieva L.V., Gabbasov Z.A. Current Position on the Role of Monomeric C-reactive Protein in Vascular Pathology and Atherothrombosis. *Curr Pharm Des.* 2020; 26(1): 37-43. doi: 10.2174/1381612825666191216144055.
4. Slevin M., Matou-Nasri S., Turu M., Luque A., Rovira N., Badimon L., et al. Modified C-reactive protein is expressed by stroke neovessels and is a potent activator of angiogenesis in vitro. *Brain Pathology.* 2010;20(1):151–165. doi: 0.1111/j.1750-3639.2008.00256.x.
5. Pearson T.A., Mensah G.A., Alexander R.W., Anderson J.L., Cannon R.O., Criqui M., et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107:499-511. doi: 10.1161/01.cir.0000052939.59093.45.
6. McFadyen J.D., Zeller J., Potempa L.A., Pietersz G.A., Eisenhardt S.U., Peter K. (2020) C-Reactive Protein and Its Structural Isoforms: An Evolutionary Conserved Marker and Central Player in Inflammatory Diseases and Beyond. In: *Vertebrate and Invertebrate Respiratory Proteins, Lipoproteins and other Body Fluid Proteins* eds. Hoeger U., Harris J. Springer Nature, 2020. p. 499-520. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-030-41769-7_20
7. Potempa L.A., Maldonado B.A., Laurent P., Zemel E.S., Gewurz H. Antigenic, electrophoretic and binding alterations of human C-reactive protein modified selectively in the absence of calcium. *Mol Immunol.* 1983; 20(11):1165-75. doi: 10.1016/0161-5890(83)90140-2
8. Wang M.Y., Ji S.R., Bai C.J., El Kebir D., Li H.Y., Shi J.M., Zhu W., Costantino S., Zhou H.H., Potempa L.A., Zhao J., Filep J.G., Wu Y. A redox switch in C-reactive protein modulates activation of endothelial cells. *FASEB J.* 2011; 25(9): 3186-96. doi: 10.1096/fj.11-182741
9. Lv J.M., Wang M.Y. In vitro generation and bioactivity evaluation of C-reactive protein intermediate. *PLoS One.* 2018; 13(5): e0198375. doi: 10.1371/journal.pone.0198375.
10. Braig D., Nero T.L., Koch H.G., Kaiser B., Wang X.,

Thiele J.R., Morton C.J., Zeller J., Kiefer J., Potempa L.A., Mellett N.A., Miles L.A., Du X.J., Meikle P.J., Huber-Lang M., Stark G.B., Parker M.W., Peter K., Eisenhardt S.U. Transitional changes in the CRP structure lead to the exposure of proinflammatory binding sites. *Nat Commun.* 2017; 8:14188. doi: 10.1038/ncomms14188

11. Thiele J.R., Habersberger J., Braig D., Schmidt Y., Goerendt K., Maurer V., Bannasch H., Scheichl A., Woollard K.J., von Dobschütz E., Kolodgie F., Virmani R., Stark G.B., Peter K., Eisenhardt S.U. Dissociation of pentameric to monomeric C-reactive protein localizes and aggravates inflammation: in vivo proof of a powerful proinflammatory mechanism and a new anti-inflammatory strategy. *Circulation.* 2014; 130(1): 35-50. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.007124.

12. Habersberger J., Strang F., Scheichl A., Htun N., Bassler N., Merivirta R.M., Diehl P., Krippner G., Meikle P., Eisenhardt

S.U., Meredith I., Peter K. Circulating microparticles generate and transport monomeric C-reactive protein in patients with myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 2012; 96(1): 64-72. doi: 10.1093/cvr/cvs237.

13. Williams R.D., Moran J.A., Fryer A.A., Littlejohn J.R., Williams H.M., Greenhough T.J., Shrive A.K. Monomeric C-Reactive Protein in Serum With Markedly Elevated CRP Levels Shares Common Calcium-Dependent Ligand Binding Properties With an in vitro Dissociated Form of C-Reactive Protein. *Front. Immunol.* 2020; 11: 115. doi: 10.3389/fimmu.2020.00115.

14. Habersberger J., Strang F., Scheichl A., Htun N., Bassler N., Merivirta R.M. et al. Circulating microparticles generate and transport monomeric C-reactive protein in patients with myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2012; 96(1): 64-72. doi: 10.1093/cvr/cvs237.

REFERENCES

1. Titov V.N., Oshchepkova E.V., Dmitriev V.A. S-реактивный белок, микроалбуминурия, эндогенное воспаление и артериальная гипертония. Moscow, 2009. (In Russian)

2. Sumarkov A. B., Naumov V. G., Masenko V. P. S-реактивный белок и сердечно-сосудистая патология. Tver', 2006. (In Russian)

3. Melnikov I.S., Kozlov S.G., Saburova O.S., Avtaeva Y.N., Prokofieva L.V., Gabbasov Z.A. Current Position on the Role of Monomeric C-reactive Protein in Vascular Pathology and Atherothrombosis. *Curr Pharm Des.* 2020; 26(1): 37-43. doi: 10.2174/1381612825666191216144055.

4. Slevin M., Matou-Nasri S., Turu M., Luque A., Rovira N., Badimon L., et al. Modified C-reactive protein is expressed by stroke neovessels and is a potent activator of angiogenesis in vitro. *Brain Pathology.* 2010;20(1):151-165. doi: 0.1111/j.1750-3639.2008.00256.x.

5. Pearson T.A., Mensah G.A., Alexander R.W., Anderson J.L., Cannon R.O., Criqui M., et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107:499-511. doi: 10.1161/01.cir.0000052939.59093.45.

6. McFadyen J.D., Zeller J., Potempa L.A., Pietersz G.A., Eisenhardt S.U., Peter K. (2020) C-Reactive Protein and Its Structural Isoforms: An Evolutionary Conserved Marker and Central Player in Inflammatory Diseases and Beyond. In: Vertebrate and Invertebrate Respiratory Proteins, Lipoproteins and other Body Fluid Proteins eds. Hoeger U., Harris J. Springer Nature, 2020. p. 499-520. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-030-41769-7_20

7. Potempa L.A., Maldonado B.A., Laurent P., Zemel E.S., Gewurz H. Antigenic, electrophoretic and binding alterations of human C-reactive protein modified selectively in the absence of calcium. *Mol Immunol.* 1983; 20(11):1165-75. doi: 10.1016/0161-5890(83)90140-2

8. Wang M.Y., Ji S.R., Bai C.J., El Kebir D., Li H.Y., Shi J.M., Zhu W., Costantino S., Zhou H.H., Potempa L.A., Zhao J., Filep J.G., Wu Y. A redox switch in C-reactive protein modulates

activation of endothelial cells. *FASEB J.* 2011; 25(9): 3186-96. doi: 10.1096/fj.11-182741

9. Lv J.M., Wang M.Y. In vitro generation and bioactivity evaluation of C-reactive protein intermediate. *PLoS One.* 2018; 13(5): e0198375. doi: 10.1371/journal.pone.0198375.

10. Braig D., Nero T.L., Koch H.G., Kaiser B., Wang X., Thiele J.R., Morton C.J., Zeller J., Kiefer J., Potempa L.A., Mellett N.A., Miles L.A., Du X.J., Meikle P.J., Huber-Lang M., Stark G.B., Parker M.W., Peter K., Eisenhardt S.U. Transitional changes in the CRP structure lead to the exposure of proinflammatory binding sites. *Nat Commun.* 2017; 8:14188. doi: 10.1038/ncomms14188

11. Thiele J.R., Habersberger J., Braig D., Schmidt Y., Goerendt K., Maurer V., Bannasch H., Scheichl A., Woollard K.J., von Dobschütz E., Kolodgie F., Virmani R., Stark G.B., Peter K., Eisenhardt S.U. Dissociation of pentameric to monomeric C-reactive protein localizes and aggravates inflammation: in vivo proof of a powerful proinflammatory mechanism and a new anti-inflammatory strategy. *Circulation.* 2014; 130(1): 35-50. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.007124.

12. Habersberger J., Strang F., Scheichl A., Htun N., Bassler N., Merivirta R.M., Diehl P., Krippner G., Meikle P., Eisenhardt S.U., Meredith I., Peter K. Circulating microparticles generate and transport monomeric C-reactive protein in patients with myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 2012; 96(1): 64-72. doi: 10.1093/cvr/cvs237.

13. Williams R.D., Moran J.A., Fryer A.A., Littlejohn J.R., Williams H.M., Greenhough T.J., Shrive A.K. Monomeric C-Reactive Protein in Serum With Markedly Elevated CRP Levels Shares Common Calcium-Dependent Ligand Binding Properties With an in vitro Dissociated Form of C-Reactive Protein. *Front. Immunol.* 2020; 11: 115. doi: 10.3389/fimmu.2020.00115.

14. Habersberger J., Strang F., Scheichl A., Htun N., Bassler N., Merivirta R.M. et al. Circulating microparticles generate and transport monomeric C-reactive protein in patients with myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2012; 96(1): 64-72. doi: 10.1093/cvr/cvs237.

Для цитирования: М.Д. Зверева, О.С. Сабурова, И.С. Мельников, С.Г. Козлов, З.А. Габбасов. Современные возможности определения и применения в клинике мономера С-реактивного белка. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2020; 9 (2): 45-52. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-45-52

To cite: M.D. Zvereva, O.S. Saburova, I.S. Melnikov, S.G. Kozlov, Z.A. Gabbasov. Monomeric C-reactive protein in coronary artery disease. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2020; 9 (2): 45-52. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-45-52

УДК 616.1, 612.111.6

DOI 10.17802/2306-1278-2020-9-2-53-63

МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КРОВИ И КАПИЛЛЯРНЫЙ КРОВОТОК ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ И САХАРНОМ ДИАБЕТЕ ВТОРОГО ТИПА: ИССЛЕДОВАНИЕ ОПТИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ *IN VITRO* И *IN VIVO*

А.И. Масляницyna ✉, И.М. Каданова, А.И. Незнанов, П.Б. Ермолинский,
Ю.И. Гурфинкель, А.А. Пигуренко, Л.И. Дячук, А.Е. Луговцов, А.В. Приезжев

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Ленинские горы, 1, Москва, Российская Федерация, 119991

Основные положения

- Проведен анализ параметров агрегации эритроцитов и капиллярного кровотока у пациентов с артериальной гипертензией, в том числе при наличии сахарного диабета 2-го типа. Для измерений использованы оптические методы.
- Показано увеличение агрегации эритроцитов по сравнению с нормой и согласованность результатов, полученных методами *in vitro* и *in vivo*.

Цель	Анализ агрегационных свойств эритроцитов и параметров капиллярного кровотока, измеренных различными оптическими методами, у пациентов с артериальной гипертензией (АГ) и сахарным диабетом второго типа (СД2).
Материалы и методы	Измерения агрегационных свойств проводились <i>in vitro</i> методами лазерной агрегометрии и оптического захвата. Анализ кровотока в капиллярах ногтевого ложа испытуемых выполнен <i>in vivo</i> с использованием цифровой капилляроскопии.
Результаты	Агрегация эритроцитов у пациентов с АГ повышена по сравнению со здоровыми испытуемыми: характерное время агрегации уменьшено на $29 \pm 9\%$. Эта же тенденция к усилению агрегации видна в группе пациентов с АГ и СД2. Сопоставление результатов, полученных с использованием различных методов измерения, показало, что в группе пациентов с АГ с повышенной скоростью кровотока, измеренной <i>in vivo</i> , индекс агрегации, измеренный <i>in vitro</i> , снижен на $14 \pm 4\%$ по сравнению с группой с пониженной скоростью.
Заключение	Сравнение значений микрореологических параметров крови, характерных для групп пациентов с АГ, в том числе при наличии СД2, и здоровых доноров, показывает статистически значимые отличия: у пациентов с АГ агрегация эритроцитов повышена. Эти отличия выражены сильнее у пациентов с АГ и СД2. Кроме того, результаты, полученные различными оптическими методами <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> , согласуются между собой.
Ключевые слова	Реология крови • Агрегация эритроцитов • Лазерный пинцет • Лазерная агрегометрия • Цифровая капилляроскопия • Артериальная гипертензия • Сахарный диабет

Поступила в редакцию: 13.04.2020; поступила после доработки: 29.04.2020; принята к печати: 13.05.2020

MICRORHEOLOGIC PROPERTIES OF BLOOD AND CAPILLARY BLOOD FLOW IN CASE OF ARTERIAL HYPERTENSION AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS: *IN VITRO* AND *IN VIVO* OPTICAL ASSESSMENT

A.I. Maslianitsyna ✉, I.M. Kadanova, A.I. Neznanov, P.B. Ermolinskiy,
Yu.I. Gurfinkel, A.A. Pigurenko, L.I. Dyachuk, A.E. Lugovtsov, A.V. Priezzhev

Lomonosov Moscow State University, 1, Leninskie Gory, Moscow, Russian Federation, 119991

Highlights

- Parameters of red blood cell (RBCs) aggregation and capillary blood flow in patients suffering from arterial hypertension and type 2 diabetes mellitus (DM2) have been examined using optical methods.

Для корреспонденции: Анастасия Игоревна Масляницyna, stasyazavr2000@biomedphotonics.ru; адрес: Ленинские горы, 1, Москва, Россия, 119991

Corresponding author: Anastasia I. Maslianitsyna, maslianitsyna.ai16@physics.msu.ru; address: 1, Leninskie Gory, Moscow, Russian Federation, 119991

An increase in RBCs aggregation compared to the reference value have been determined.

- The consistency of *in vivo* and *in vitro* results has been demonstrated.

Aim	To study microrheological properties of RBCs and capillary blood flow parameters using optical methods in patients with arterial hypertension (AH) and type 2 diabetes mellitus (DM2).
Methods	RBCs aggregation properties were evaluated <i>in vitro</i> using laser aggregometry and optical trapping. Capillary nail refill was evaluated <i>in vivo</i> using nailfold digital capillaroscopy.
Results	The aggregation of RBCs in patients suffering from AH was higher compared to healthy subjects who demonstrated a decrease in the aggregation time by 29±9%. A similar trend was observed in patients with AH and DM2. The comparison of the results obtained by different methods showed that patients with AH with a high capillary blood flow velocity measured <i>in vivo</i> reported a decrease in the aggregation index by 14±4% compared to patients with low velocity.
Conclusion	The comparison of microrheological blood properties in patients with AH and AH+DM2 versus the control group showed statistically significant differences in the aggregation index that was higher in AH patients. These differences were more pronounced in patients with AH and DM2. The results obtained by <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> methods were consistent.
Keywords	Blood rheology • Red blood cells aggregation • Laser tweezers • Laser aggregometry • Digital capillaroscopy • Arterial hypertension • Diabetes mellitus

Received: 13.04.2020; received in revised form: 29.04.2020; accepted: 13.05.2020

Список сокращений

АГ – артериальная гипертензия	СКК – скорость капиллярного кровотока
ЛА – лазерная агрегометрия	АИ – индекс агрегации
ЛП – лазерный пинцет	T _{agg} – время агрегации
СА – сила агрегации	T _{1/2} – среднее время агрегации
СД2 – сахарный диабет 2-го типа	

Введение

Важная роль в прогрессировании сердечно-сосудистых заболеваний и развитии осложнений принадлежит нарушениям реологических свойств крови. В среднем в организме взрослого человека содержится более 10¹¹ кровеносных сосудов. Свыше 99% из них относятся к системе микроциркуляции [1]. Различные механизмы направлены на адаптацию системы микроциркуляции к воздействию внешних факторов. Одним из них является изменение микрореологических свойств крови, главным образом, способности эритроцитов к обратимой спонтанной агрегации и деформации под действием сдвиговых напряжений в потоке крови. Своевременное выявление нарушений микроциркуляторных и микрореологических параметров дает возможность диагностики ранних проявлений артериальной гипертензии (АГ) [2] и, соответственно, адекватного контроля эффективности применения антиагрегантов, что представляется особенно актуальным у пациентов с аортокоронарным шунтированием и стентированием, получившими широкое распространение за последние десятилетия.

Механизмы регуляции реологических свойств крови и микроциркуляции подвергаются серьезным нарушениям при ряде заболеваний, среди которых на первом месте сахарный диабет 2-го типа (СД2) [3]. Пациенты с СД2 имеют более высокий риск сердечно-сосудистых заболеваний из-за неспособности микрососудистого русла обеспечивать ткани и органы в соответствии с их метаболической потребностью. Сахарный диабет и связанное с ним ухудшение транспорта газов и питательных веществ через сосудистую стенку приводят не только к морфологическим изменениям, прежде всего извитости микрососудов, но и нарушениям реологических свойств крови [4].

Целью работы является сравнение изменений агрегационных параметров эритроцитов и капиллярного кровотока, измеренных различными оптическими методами, у пациентов с АГ и СД2. Кроме того, ставится задача сопоставления результатов, полученных с использованием методов измерений *in vitro* и *in vivo*, и анализа их взаимного дополнения.

Материалы и методы

Пациенты

Дизайн эксперимента, проводившегося с августа 2017 г. по ноябрь 2019 г., предусматривал включение 68 пациентов с АГ (от 24 до 83 лет; средний возраст 58,4 года), поступивших в кардиологическое отделение МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова. Первая стадия АГ выявлена у 7 (11,86%) пациентов, вторая стадия – у 18 (30,51%), третья стадия – у 34 (57,63%). Стадию АГ устанавливали согласно критериям Всероссийского научного общества кардиологов 2010 г. Также учитывались рекомендации Европейского общества кардиологов (2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension).

Критерии исключения из исследования: ишемическая болезнь сердца, хроническая сердечная недостаточность, нарушения ритма сердца и проводимости, почечная и печеночная недостаточности, сахарный диабет первого типа; сосудистая или какая-либо другая патология головного мозга, онкологические заболевания в анамнезе.

Пациенты разделены на две группы: в первую вошли пациенты с АГ (n = 59), во вторую – с АГ и СД2 (n = 9). Группу контроля составили 15 здоровых некурящих и не принимающих каких-либо медицинских препаратов добровольцев (средний возраст 22,5 года). Клиническая характеристика пациентов представлена в табл. 1. Измерение артериального давления и частоты сердечных сокращений проводилось в утренние часы, в интервале 8:00–8:30, до приема медикаментозных препаратов на следующий день после госпитализации в кардиологическое отделение.

Всем пациентам проведены лабораторные и ин-

струментальные исследования, соответствующие российским и международным стандартам, включая трансэхокардиальную эхокардиографию, суточное мониторирование артериального давления, тредмил-тест, ультразвуковое исследование почек и надпочечников, а также брахицефальных артерий.

Дополнительно к общепринятым рутинным исследованиям пациентам выполнены неинвазивное исследование параметров микроциркуляции в тканях ногтевого ложа методом цифровой капилляроскопии, а также забор венозной крови для измерения ее агрегационных свойств методами лазерной агрегометрии (ЛА) и лазерного пинцета (ЛП). Также проведено исследование агрегационных свойств крови методами ЛА и ЛП в контрольной группе.

Дизайн исследования одобрен локальным этическим комитетом Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова. Пациенты и здоровые добровольцы были поставлены в известность о цели исследования, подписав информированное согласие на участие в нем.

Метод лазерной агрегометрии

Для измерения агрегационных параметров эритроцитов в цельной крови использовался метод ЛА, основанный на диффузном рассеянии лазерного излучения кровью и реализованный в лазерном агрегометре эритроцитов RheoScan (RheoMedTech, Республика Корея) [5]. Для этого в кювету с плоским резервуаром помещен образец цельной крови объемом 8 мкл. Образец освещен лазерным пучком малой мощности (длина волны 633 нм). Падающее излучение рассеивается на эритроцитах и их агрегатах преимущественно вперед.

Таблица 1. Клинические данные пациентов
Table 1. Comparison of the clinical characteristics of patients

Параметр / Parameter	Пациенты с АГ / Patients with AH (n = 59)	Пациенты с АГ и СД2 / Patients with AH and DM2 (n = 9)	p-критерий значимости различий по Стьюдент-тесту или по тесту Фишера* / A p-value for the Student or Fisher's* test
Число (%) мужчин / Number (percentage) of males	26 (44,1)	6 (66,7)	0,131*
Средний возраст (диапазон), лет / Mean age (range), years	57,2 (24–83)	66,2 (49–71)	0,006
Индекс массы тела, кг/м ² / Body mass index, kg/m ²	30±5	36±5	0,017
Число (%) курящих / Number (percentage) of smokers	12 (20,3)	4 (44,4)	0,096*
Систолическое давление, мм рт. ст. / Systolic blood pressure, mm Hg	144±2	149±16	0,373
Диастолическое давление, мм рт. ст. / Diastolic blood pressure, mm Hg	86±12	90±14	0,519
Частота сердечных сокращений, уд/мин / Heart rate, bpm	71±13	76±11	0,317
Фракция выброса / Ejection fraction, %	61±6	56±6	0,066
Число (%) пациентов, принимавших антиагреганты / Number (percentage) of patients taking antiplatelets	17 (28,8)	5 (55,6)	0,087*
Число (%) пациентов, принимавших диуретики / Number (percentage) of patients taking diuretics	32 (54,2)	7 (77,8)	0,127*

Примечание: * – p-критерий, рассчитанный с использованием точного теста Фишера; АГ – артериальная гипертензия; СД2 – сахарный диабет второго типа.

Note: * – p-value calculated using Fisher's exact test; AH – arterial hypertension; DM2 – type 2 diabetes mellitus.

Чем больше размер рассеивающей частицы, тем больше света рассеивается вперед [6]. Поэтому вначале, в состоянии максимальной агрегации эритроцитов из-за отсутствия сдвиговых напряжений, образец рассеивает падающее на него излучение так, что интенсивность этого излучения, измеренная в направлении падающего пучка, максимальна (рис. 1).

Далее встроенный в кювету тонкий металлический стержень под действием внешнего магнитного поля приводится во вращательное движение, создавая при этом сдвиговые напряжения в потоке крови внутри кюветы и разрушая тем самым образовавшиеся агрегаты до состояния полной дезагрегации. Заметим, что сами эритроциты остаются при этом интактными и их мембрана не претерпевает необратимых изменений. После остановки перемешивания

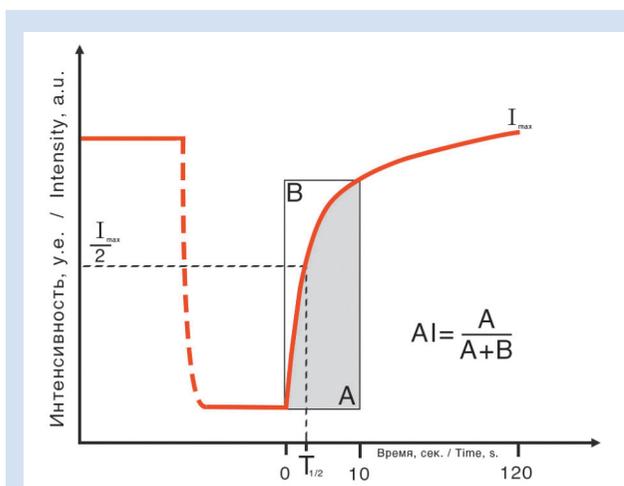


Рисунок 1. Кинетика спонтанной агрегации эритроцитов

Примечание: I_0 – интенсивность света, рассеянного вперед от слоя цельной крови, при максимальной агрегации эритроцитов; $T_{1/2}$ – условный параметр, определяющий в агрегометре RheoScan характерное время образования агрегатов в исследуемом образце крови.

Figure 1. Kinetics of spontaneous aggregation of red blood cells
Note: I_0 is the intensity of light scattered forward from the whole blood layer at maximum aggregation of RBCs; $T_{1/2}$ is an arbitrary parameter calculated by RheoScan aggregometer to determine the time of aggregate formation in the blood sample.

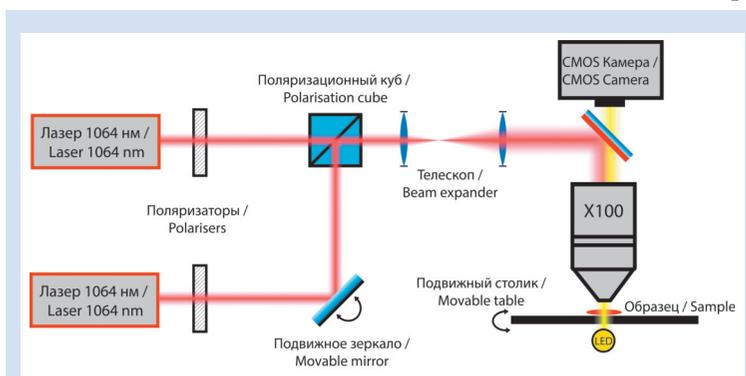


Рисунок 2. Схема двухканального лазерного пинцета [7]

Figure 2. Scheme of double-channel laser tweezers [7]

[Ermolinskiy, P., Lugovtsov, A., Maslyanitsina, A., Semenov, A., Dyachuk, L., & Priezzhev, A. (2018). Interaction of erythrocytes in the process of pair aggregation in blood samples from patients with arterial hypertension and healthy donors: measurements with laser tweezers. *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*, 4(3), 030303. doi:http://dx.doi.org/10.18287/JBPE18.04.030303. This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)].

(момент времени $t = 0$ на рис. 1) начинается процесс спонтанной агрегации эритроцитов, в течение которого измеряется зависимость интенсивности рассеянного вперед лазерного излучения от времени – агрегационная кинетика. Со временем интенсивность прошедшего вперед света увеличивается, так как за счет образования агрегатов увеличивается средний размер рассеивающих центров. Процесс спонтанной агрегации эритроцитов занимает примерно 2 минуты, после чего интенсивность рассеянного света достигает максимального значения. Это указывает на то, что в образце практически все эритроциты проагрегировали.

По агрегационной кинетике определяется характерное время образования агрегатов $T_{1/2}$ как время, за которое интенсивность света, рассеянного вперед, достигает половинного значения интенсивности, измеренной при максимальной агрегации клеток в образце. Уменьшение времени $T_{1/2}$ означает ускоренную агрегацию. Также определяется индекс агрегации (AI), характеризующий количество клеток, проагрегировавших за 10 секунд в процентах. Данная величина вычисляется как отношение площади под кривой, описывающей агрегационную кинетику, к суммарной площади над и под кривой за первые 10 секунд процесса спонтанной агрегации.

Лазерный пинцет или метод оптического захвата

Для измерения силы взаимодействия двух одиночных эритроцитов, а также времени, в течение которого происходит спонтанная агрегация двух клеток, использовался двухканальный ЛП [7]. Схема экспериментальной установки приведена на рис. 2.

В качестве источников излучения применены два Nd:YAG-лазера с длиной волны 1064 нм и мощностью 200 мВт каждый. На выходе пучка из системы линз установлено дихроичное зеркало, с помощью которого пучок подается на заднюю входную апертуру объектива Olympus (x100, NA = 1,00; водная иммерсия), а также частично пропускается на фотодетектор для измерения мощности. Один пучок всегда неподвижен,

на пути второго пучка установлено зеркало, вращение которого позволяет перемещать область фокусировки пучка. Таким образом, используются 2 области захвата (2 ловушки): одна неподвижная, другая – перемещаемая в кювете с образцом.

Измерения проводились в стеклянной микрокювете толщиной 100 мкм, в которую помещалась сильно разбавленная суспензия эритроцитов в аутологичной плазме, обедненной тромбоцитами.

Перед измерениями силы оптического захвата выполнена калибровка установки, необходимая для определения однозначной связи между значениями этой силы в пиконьютонах и мощности лазерного пучка ловушки в милливаттах. Процедура калибровки ЛП более подробно описана ранее [8].

Измерение силы агрегации (СА) и времени агрегации состоит из трех последовательных операций. Сначала два эритроцита захватывают с помощью ЛП и ориентируют параллельно друг другу. Один из эритроцитов захватывают неподвижной ловушкой, второй — подвижной. Затем клетки с помощью подвижной ловушки приводят в контакт таким образом, чтобы площадь начального взаимодействия составила порядка 40% площади поверхности каждой клетки. После этого мощность подвижного лазерного пучка уменьшается до тех пор, пока удерживающей силы со стороны ловушки станет недостаточно для препятствия спонтанной агрегации эритроцитов. В этот момент фиксируют значение мощности пучка, вычисляют значение силы оптического захвата, которое приравнивается к силе агрегации.

Для измерения времени спонтанной агрегации (T_{agg}) пары эритроцитов клетки сводят до точечного контакта мембранами и оба лазерных пучка лазера одновременно выключают. Уменьшение этого времени означает ускоренную агрегацию.

Метод цифровой капилляроскопии

Метод цифровой капилляроскопии использовался для оценки параметров кровотока *in vivo*. С помощью прибора «Капилляроскан-1» («Новые энергетические технологии», Россия) проведена количественная оценка характеристик потока крови в капиллярах ногтевого ложа, а также оценка присутствия агрегатов в кровотоке. Более подробно этот метод описан ранее [9]. Средняя скорость капиллярного кровотока (СКК), измеренная с помощью покадровой обработки серии видеоизображений нескольких капилляров у каждого пациента, означает среднюю скорость эритроцитов в капилляре. Также проводилась визуальная оценка наличия или отсутствия агрегатов в капилляре. Важными критериями определения является то, что агрегаты отделены друг от друга плазмой и обычно замедляют поток, в котором они находятся.

Подготовка образцов крови к измерениям

Все измерения *in vitro* выполнены на образцах цельной человеческой крови в случае агрегометрии и на суспензии эритроцитов при использовании лазерного пинцета. При проведении исследований учитывались последние рекомендации для гемореологических лабораторий, разработанные

международной экспертной группой для стандартизации гемореологических методов [10]. Измерения проводились при температуре 37 °С в течение первых 3 часов после забора крови из локтевой вены пациентов или здоровых доноров натощак. При этом все образцы стабилизированы антикоагулянтом ЭДТА К2 (2-замещенная калиевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты).

Статистический анализ

Для каждой взятой пробы крови микрореологические параметры, полученные на RheoScan (AI , $T_{1/2}$), усреднялись по 5 различным измерениям. Измерения силы и времени агрегации (CA , T_{agg}) на ЛП для каждого образца проводились не менее чем на 15 парах различных эритроцитов и затем усреднялись. На рис. 3–7 представлены средние значения и стандартные отклонения величин от среднего значения. Статистическая значимость различий между двумя выборками оценивалась по двустороннему Стьюдент-тесту с неравными дисперсиями. Отличия выборок считали статистически значимыми, если p -критерий значимости различий по Стьюдент-тесту был менее 0,05.

Результаты

Результаты статистической обработки показателей агрегации эритроцитов (AI , $T_{1/2}$, T_{agg} и CA), измеренных *in vitro*, у пациентов с АГ, АГ + СД2 и здоровых доноров представлены на рис. 3.

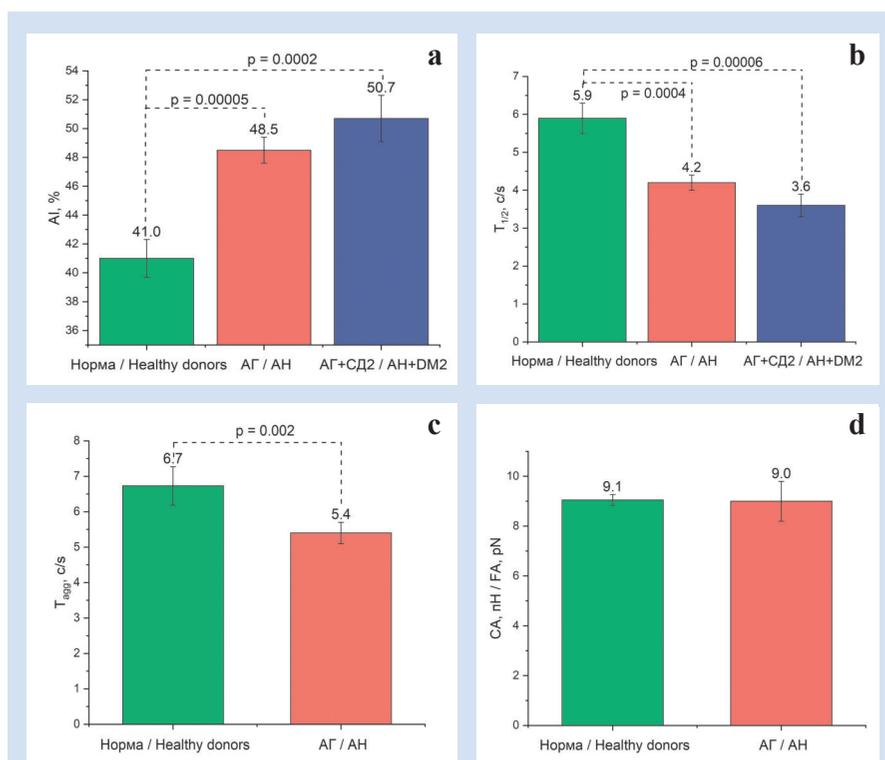


Рисунок 3. Значения индекса агрегации (AI) – а, среднего времени агрегации ($T_{1/2}$) – б, времени парной агрегации (T_{agg}) – с, силы агрегации (CA) – д – для контрольной группы и групп пациентов с АГ и АГ + СД2

Примечание: АГ – артериальная гипертензия; СД2 – сахарный диабет второго типа.

Figure 3. Aggregation index AI (a), average aggregation time $T_{1/2}$ (b), time of cell-cell aggregation T_{agg} (c) and force aggregation FA (d) in the control group and the group of patients with AH (a–d) and hypertensive patients with DM2 (a–b).

Note: AH – arterial hypertension; AI – aggregation index; DM2 – type 2 diabetes mellitus; FA – force aggregation.

Значения всех измеренных параметров кроме СА групп пациентов с АГ и АГ + СД2 статистически значимо отличались от контрольной группы. В первой группе агрегация повышена: в среднем АІ увеличен на $18 \pm 7\%$ относительно нормы ($p = 0,00005$), $T_{1/2}$ уменьшено на $29 \pm 9\%$ ($p = 0,0004$), T_{agg} уменьшено на $18 \pm 12\%$ ($p = 0,002$). У пациентов с АГ и СД2 различия более выражены: АІ увеличен на $24 \pm 6\%$ относительно нормы ($p = 0,0002$), $T_{1/2}$ уменьшено на $39 \pm 7\%$ ($p = 0,00006$).

Для того чтобы сопоставить результаты, полученные методами измерения *in vitro* и *in vivo*, данные пациентов с АГ и АГ + СД2 разбиты на подгруппы по параметрам капилляроскопии – наличию и отсутствию агрегатов в капиллярах – и по значению СКК – менее и более 800 мкм/с . Данные с количеством пациентов (образцов крови) в каждой группе представлены в табл. 2, а соответствующие диаграммы – на рис. 4–7.

На рис. 4 показаны значения АІ, измеренного с

помощью ЛА. В первой группе пациентов отсутствие агрегатов в капилляре соответствовало пониженному значению АІ и, наоборот, присутствие агрегатов – повышенному. Однако статистически значимых различий АІ в подгруппах не обнаружено. У пациентов второй группы наблюдалась обратная тенденция к понижению АІ с появлением агрегатов в капиллярах, однако статистически значимых различий не выявлено. Более высокая статистическая значимость характерна для разбиения по СКК: у пациентов первой группы с высокой СКК АІ достоверно ниже на $14 \pm 4\%$ ($p = 0,00002$) в сравнении с пациентами с низкой СКК, во второй группе отмечено статистически значимое снижение АІ на $12 \pm 4\%$ ($p = 0,039$).

На рис. 5 показаны значения $T_{1/2}$, измеренного с помощью ЛА. Отсутствие агрегатов в капиллярах у пациентов первой группы статистически значимо ($p = 0,03$) соответствовало повышению $T_{1/2}$ на $19 \pm 6\%$; у второй группы пациентов различия выявлены,

но они статистически незначимы. Для двух групп пациентов с разными значениями СКК значения $T_{1/2}$ статистически значимо отличались: при низкой СКК параметр уменьшен на $31 \pm 6\%$ в первой группе ($p = 0,0001$) и на $29 \pm 5\%$ – во второй ($p = 0,04$).

На рис. 6 показаны значения T_{agg} , измеренного с помощью ЛП у первой группы пациентов. У пациентов с наличием агрегатов в капиллярах парные агрегаты образовывались статистически значимо быстрее на $23 \pm 11\%$ ($p = 0,035$). Для СКК видна только тенденция: у пациентов с повышенной СКК значение T_{agg} ниже, однако это различие статистически незначимо ($p = 0,4$).

Таблица 2. Количество образцов в каждой подгруппе
Table 2. Number of samples in each subgroup

Параметры капилляроскопии / Capillaroscopy parameters	Число (%) пациентов с АГ / Number (percentage) of patients with АН (n = 59)	Число (%) пациентов с АГ + СД 2 / Number (percentage) of patients with АН + DM2 (n = 9)
Агрегаты / Aggregates		
есть (1) / presence	18 (30,5)	4 (44,4)
нет (0) / absence	41 (69,5)	5 (55,6)
СКК, мкм/с / CBV, $\mu\text{m/s}$		
более / higher than 800	26 (44,1)	5 (55,6)
менее / lower than 800	33 (55,9)	4 (44,4)

Примечание: АГ – артериальная гипертензия; СД2 – сахарный диабет второго типа; СКК – скорость капиллярного кровотока.
Note: АН – arterial hypertension; CBV – capillary blood flow velocity; DM2 – type 2 diabetes mellitus.

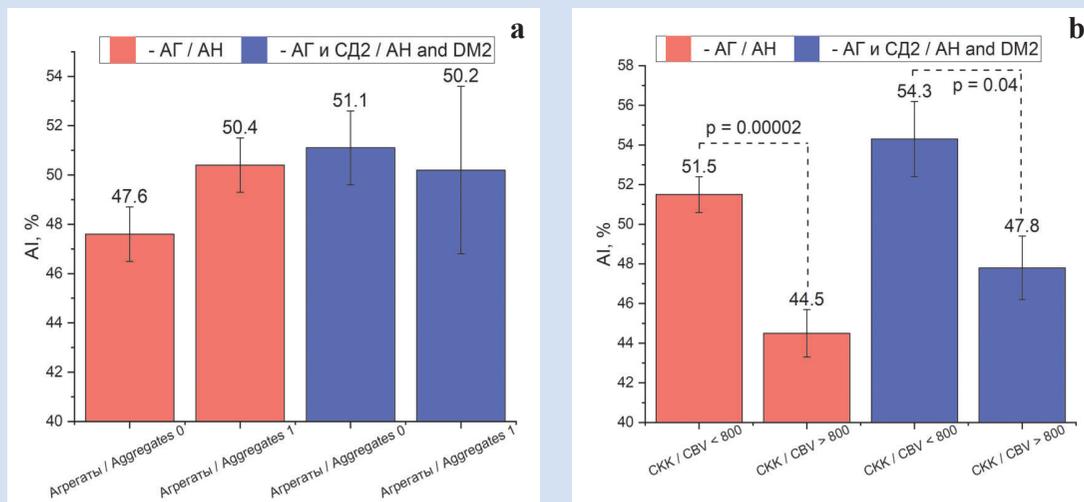


Рисунок 4. Значения индекса агрегации (АІ) у пациентов с АГ и АГ + СД2 при отсутствии (0) и наличии (1) агрегатов в капиллярах (а) и скорости капиллярного кровотока менее и более 800 мкм/с (б)

Примечание: АГ – артериальная гипертензия; СД2 – сахарный диабет второго типа; СКК – скорость капиллярного кровотока.
Figure 4. Aggregation index AI in patients with АН and hypertensive patients with DM2 when the aggregates are present or absent in capillaries (a) and when CBV is lower or higher than 800 мкм/с (b)

Note: АН – arterial hypertension; АІ – aggregation index; CBV – capillary blood flow velocity; DM2 – type 2 diabetes mellitus.

На рис. 7 показаны значения СА эритроцитов, измеренной с помощью ЛП. В этом случае наличие или отсутствие агрегатов в капиллярах и различные СКК не показали статистически значимых отличий между группами.

Обсуждение

Исследование агрегационных свойств эритроцитов *in vitro* и параметров капиллярного кровотока *in vivo* у пациентов с артериальной гипертензией и сахарным диабетом второго типа показало статистически значимые различия в агрегации эритроцитов между этими пациентами и здоровыми людьми контрольной группы. В частности, индекс агрегации эритроцитов, измеренный *in vitro*, у пациентов

только с артериальной гипертензией увеличивался на $18 \pm 7\%$. У пациентов с артериальной гипертензией и сахарным диабетом второго типа наблюдалась тенденция к повышению индекса агрегации по сравнению с группой пациентов без диабета. Также отмечены согласованные изменения некоторых параметров агрегации эритроцитов, измеренных *in vitro* и *in vivo*. Так, индекс агрегации, измеренный *in vitro*, статистически значимо увеличивался при снижении скорости капиллярного кровотока, измеренной *in vivo*. Также в группе пациентов с артериальной гипертензией выявлено снижение значений времени агрегации эритроцитов, измеренных *in vitro* как методом лазерной агрегометрии (на $16 \pm 6\%$), так и лазерного пинцета (на $19 \pm 11\%$), с появлением агрегатов

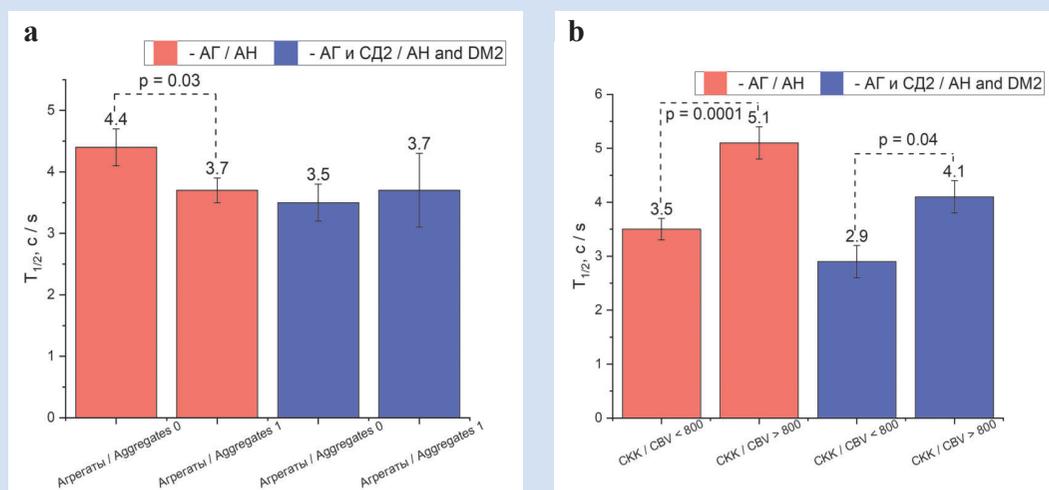


Рисунок 5. Значения среднего времени агрегации ($T_{1/2}$) у пациентов с АГ и АГ + СД2 при отсутствии (0) и наличии (1) агрегатов в капиллярах (а) и значений скорости капиллярного кровотока менее и более 800 мкм/с (б)

Примечание: АГ – артериальная гипертензия; СД2 – сахарный диабет второго типа; СКК – скорость капиллярного кровотока.

Figure 5. Average aggregation time $T_{1/2}$ in patients with AH and hypertensive patients with DM2 when the aggregates are present or absent in capillaries (a) and when CBV is lower or higher than 800 $\mu\text{m/s}$ (b)

Note: AH – arterial hypertension; CBV – capillary blood flow velocity; DM2 – type 2 diabetes mellitus.

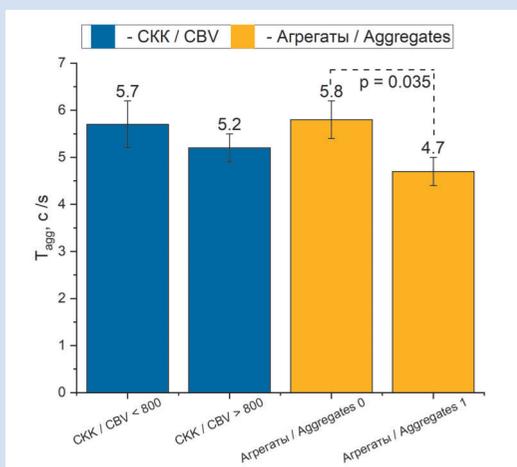


Рисунок 6. Значения времени парной агрегации (T_{agg}) у пациентов только с АГ при отсутствии (0) и наличии (1) агрегатов в капиллярах и скорости капиллярного кровотока менее и более 800 мкм/с

Примечание: СКК – скорость капиллярного кровотока.

Figure 6. Time of cell-cell aggregation T_{agg} in patients with AH when the aggregates are absent (0) or present (1) in capillaries and when CBV is lower or higher than 800 $\mu\text{m/s}$

Note: CBV – capillary blood flow velocity.

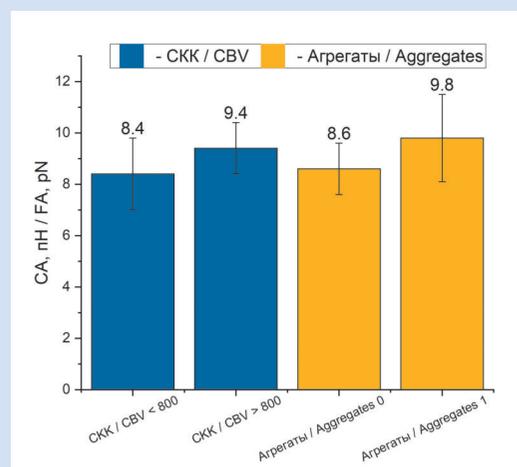


Рисунок 7. Значения силы парной агрегации (СА) эритроцитов у пациентов только с АГ при отсутствии (0) и наличии (1) агрегатов в капиллярах и скорости капиллярного кровотока менее и более 800 мкм/с

Примечание: СКК – скорость капиллярного кровотока.

Figure 7. Aggregation force in patients with only AH when the aggregates are absent (0) or present (1) in capillaries and when CBV is lower or higher than 800 $\mu\text{m/s}$

Note: CBV – capillary blood flow velocity.

в капилляре по данным цифровой капилляроскопии. В силе агрегации, измеренной с помощью лазерного пинцета, статистически значимых различий не обнаружено.

Предыдущие исследования [7, 11] агрегации эритроцитов у пациентов с артериальной гипертензией проведены с использованием только методов *in vitro* на меньшем количестве исследуемых и с меньшим числом подгрупп. Новизна представленной работы заключается в комплексном анализе *in vitro* и *in vivo* результатов измерений на пациентах двух групп: с артериальной гипертензией и артериальной гипертензией и диабетом второго типа. Результаты исследований, выполненных альтернативными методами, в которых также показано усиление агрегации эритроцитов у пациентов с артериальной гипертензией (в том числе с различными осложнениями) по сравнению со здоровыми донорами, не противоречат нашим выводам [12–17].

Так, в работе И.Н. Медведева и соавт. [12] проведен масштабный анализ (380 пациентов с артериальной гипертензией и дислипидемией), в котором с помощью светового микроскопа в камере Горяева получено статистически значимое повышение параметров агрегации на 64% по сравнению с нормой. В работах N. Lebensohn и соавт., M. Delannoy и соавт. [13, 14] методом оптической микроскопии показано, что фактор формы агрегатов у пациентов с артериальной гипертензией выше, чем в контрольной группе, то есть размеры образующихся агрегатов в среднем больше. Также в статье N. Lebensohn и соавт. [13] продемонстрировано, что дзета-потенциал мембраны эритроцита у больных ниже, что, по-видимому, обусловлено различиями в биохимическом составе мембран эритроцитов больных и здоровых людей. По данным L. Bogar и соавт., A.F. Guedes и др. [15, 16], артериальная гипертензия в большинстве случаев сопровождается повышенным содержанием фибриногена и усиленной агрегацией эритроцитов.

Одним из ограничений проведенного исследования является относительно небольшое количество пациентов с артериальной гипертензией и сахарным диабетом второго типа; в дальнейшем мы планируем увеличить количество пациентов этой группы. Кроме того, в данной группе не проводились измерения методом лазерного пинцета. Мы

также планируем увеличить количество рассматриваемых групп: в частности, выделить группу пациентов с метаболическим синдромом, учитывая повышенную агрегацию эритроцитов у пациентов с этой патологией [17].

Важно отметить, что течение крови зависит не только от свойств эритроцитов, но и от свойств других ее компонентов и процессов, связанных с ними. Например, активация и агрегация тромбоцитов повышают вязкость крови, а также косвенно влияют на агрегацию эритроцитов, но эти процессы никак не учитывались в данной работе.

Заключение

Между микрореологическими параметрами крови (AI, $T_{1/2}$ и T_{agg}) пациентов с артериальной гипертензией, артериальной гипертензией и сахарным диабетом 2-го типа и здоровых доноров имеются статистически значимые отличия. У пациентов с артериальной гипертензией выявлено статистически значимое усиление агрегации эритроцитов. Эти отличия выражены сильнее у пациентов с артериальной гипертензией и сахарным диабетом 2-го типа. Результаты, полученные различными оптическими методами *in vitro* и *in vivo*, согласуются между собой. Так, у подгруппы пациентов с пониженной средней скоростью капиллярного кровотока отмечены повышенный индекс агрегации и пониженное время агрегации эритроцитов.

Конфликт интересов

А.И. Масляницына заявляет об отсутствии конфликта интересов. И.М. Каданова заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.И. Незнанов заявляет об отсутствии конфликта интересов. П.Б. Ермолинский заявляет об отсутствии конфликта интересов. Ю.И. Гурфинкель заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.А. Пигуренко заявляет об отсутствии конфликта интересов. Л.И. Дячук заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Е. Луговцов заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.В. Приезжев заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 18-15-00422.

Информация об авторах

Масляницына Анастасия Игоревна, студентка 4-го курса физического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Российская Федерация; ORCID 0000-0003-3910-0335

Каданова Ирина Михайловна, студентка 4-го курса физического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Российская Федерация

Author Information Form

Maslianitsyna Anastasia I., a 4-year student of the Physics Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation; ORCID 0000-0003-3910-0335

Kadanova Irina M., a 4-year student of the Physics Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Незнанов Антон Игоревич, студент 4-го курса физического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Российская Федерация

Ермолинский Петр Борисович, студент 1-го курса магистратуры физического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Российская Федерация

Гурфинкель Юрий Ильич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией микроциркуляции крови отдела внутренних болезней Медицинского научно-образовательного центра федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-1882-4329

Пигуренко Александра Алексеевна, студентка 4-го курса факультета фундаментальной медицины федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Российская Федерация

Дячук Лариса Ивановна, кандидат медицинских наук, заведующая кардиологическим отделением Медицинского научно-образовательного центра федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Российская Федерация

Луговцов Андрей Егорович, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник Международного учебно-научного лазерного центра и физического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-5222-8267

Приезжев Александр Васильевич, кандидат физико-математических наук, доцент и руководитель лаборатории биомедицинской фотоники физического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-4216-7653

Neznanov Anton I., a 4-year student of the Physics Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Ermolinskiy Petr B., a 1-year master's student of the Physics Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Gurfinkel Yuri I., PhD, leading researcher, Head of the Blood Microcirculation Laboratory, Department of Internal Diseases of the Medical Research and Educational Center, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-1882-4329

Pigurenko Alexandra A., a 4-year student of the Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Dyachuk Larisa I., PhD, Head of the Cardiology Department at the Medical Research and Educational Center, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Lugovtsov Andrei E., PhD, senior researcher at the International Educational and Scientific Laser Center and the Physics Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-5222-8267

Priezzhev Alexander V., PhD, Associate Professor, Head of the Biomedical Photonics Laboratory at the International Educational and Scientific Laser Center and the Physics Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-4216-7653

Вклад авторов в статью

МАИ – получение, анализ и интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

КИМ – получение и анализ данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

НАИ – получение данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ЕПБ – получение и анализ данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ГЮИ – получение данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Author Contribution Statement

MAI – data collection, analysis and interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

KIM – data collection and analysis, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

NAI – data collection, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

EPB – data collection and analysis, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

GYU – data collection, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

ПАА – анализ данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ДЛИ – получение данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ЛАЕ – интерпретация данных, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ПАВ – интерпретация данных, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

PAА – data analysis, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

DLI – data collection, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

LAЕ – data interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

PAV – data interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tibiriçá E., Lorenzo A., Oliveira G.M.M. Microcirculation and Cardiovascular Diseases. *Arq Bras Cardiol.* 2018; 111(2):120–121. doi:10.5935/abc.20180149
2. Gurfinkel Yu.I., Sasonko M.L., Priezzhev A.V. Digital capillaroscopy as important tool for early diagnostics of arterial hypertension. *Proc. SPIE.* 2014; 9448:117. doi:10.1117/12.2180259
3. Сайт Международной организации по диабету. Режим доступа: www.idf.org/diabetesatlas (дата обращения 12.04.2020).
4. Frisbee J.C. Obesity, insulin resistance, and microvessel density. *Microcirculation.* 2007; 14(4-5):289-98.
5. Shin S., Yang Y., Suh J.S. Measurement of erythrocyte aggregation in a microchip stirring system by light transmission. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2009; 41(3):197–207. doi:10.3233/CH-2009-1172.
6. Лопатин В.Н., Приезжев А.В., Апонасенко А.Д., Шепелевич Н.В., Лопатин В.В., Пожиленкова П.В., Простакова И.В. Методы светорассеяния в анализе дисперсных биологических сред. М.: Физматлит; 2004. 384 с.
7. Ermolinskiy P.B., Lugovtsov A.E., Maslyanitsina A.I., Semenov A.N., Dyachuk L.I., Priezzhev A.V. Interaction of erythrocytes in the process of pair aggregation in blood samples from patients with arterial hypertension and healthy donors: measurements with laser tweezers. *J. of Biomedical Photonics & Eng.* 2018; 4(3):030303.
8. Ли Кисун. Взаимодействие эритроцитов в средах, индуцирующих их агрегацию: исследование с помощью лазерных пинцетов. дисс. ... канд. физ.-мат. наук. М.; 2016.
9. Gurfinkel Yu.I., Priezzhev A.V., Sasonko M.L., Kuznetsov M.I. Importance of image processing in digital optical capillaroscopy for early diagnostics of arterial hypertension. In: *BioPhotonics, 2015 International Conference Proceedings. Florence (Italy) 20–22, p.1–4.*
10. Baskurt O.K., Boynard M., Cokel G.C., Connes P., Cooke B.M., Forconi S. et al. New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *International Expert Panel for Standardization of Hemorheological Methods.* 2009; 42(2):75–97. doi: 10.3233/CH-2009-1202.
11. Ермолинский П.Б., Луговцов А.Е., Масляницына А.И., Семенов А.Н., Дячук Л.И., Приезжев А.В. Оценка микрореологических свойств эритроцитов *in vitro* в норме и патологии с помощью оптических методов. *Series on Biomechanics.* 2018; 32(3):20–25. 12. Медведев И.Н., Скорятин И.А., Завалишина С.Ю. Сосудистый контроль над агрегацией форменных элементов крови у больных артериальной гипертензией с дислипидемией. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2016; 15(1):4–9. doi:10.15829/1728-8800-2016-1-4-9
13. Lebensohn N., Re A., Carrera L., Barberena L., D'Arrigo M., Foresto P. Serum sialic acid, cellular anionic charge and erythrocyte aggregation in diabetic and hypertensive patients. *Medicina (B Aires).* 2009; 69(3):331–334.
14. Delannoy M., Fontana A., D'Arrigo M., Riquelmea B. Influence of Hypertension and Type 2 Diabetes Mellitus on erythrocyte aggregation using image digital analysis. *Series on Biomechanics.* 2015; 29(1):1–6.
15. Bogar L. Hemorheology and hypertension: not "chicken or egg" but two chickens from similar eggs. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2002; 26(2):81–83.
16. Guedes A.F., Carvalho F.A., Moreira C., Nogueira J.B., Santos N.C. Essential arterial hypertension patients present higher cell adhesion forces, contributing for fibrinogen-dependent cardiovascular risk. *Nanoscale,* 2017; 9(39):14897–14906. doi: 10.1039/C7NR03891G.
17. Сидельникова Н.С., Якусевич В. В., Петроченко А. С., Тихомирова И. А., Петроченко Е. П. Особенности реологических и микроциркуляторных показателей у пациентов с метаболическим синдромом. *Ярославский педагогический вестник.* 2012; 2:91–97.

REFERENCES

1. Tibiriçá E., Lorenzo A., Oliveira G.M.M. Microcirculation and cardiovascular diseases. *Arq Bras Cardiol.* 2018; 111(2):120–121. doi:10.5935/abc.20180149
2. Gurfinkel Yu.I., Sasonko M.L., Priezzhev A.V. Digital capillaroscopy as important tool for early diagnostics of arterial hypertension. *Proc. SPIE.* 2014; 9448:117. doi:10.1117/12.2180259
3. The link on the International Diabetes Federation website. Available at: www.idf.org/diabetesatlas (accessed 12.04.2020).
4. Frisbee J.C., Obesity, insulin resistance, and microvessel density. *Microcirculation.* 2007 Jun-Jul;14(4-5):289-98.
5. Shin S., Yang Y., Suh J.S. Measurement of erythrocyte aggregation in a microchip stirring system by light transmission. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2009; 41(3):197–207. doi:10.3233/CH-2009-1172.
6. Lopatin V.N., Priezzhev A.V., Aponasenko A.D., Shepelevich N.V., Lopatin V.V., Pozhilenkova P.V., Prostakova I.V. *Metody svetorassejaniya v analize dispersnyh biologicheskikh sred.* Moscow: Fizmatlit, 2004. 384 p. (In Russian)
7. Ermolinskiy P.B., Lugovtsov A.E., Maslyanitsina A.I., Semenov A.N., Dyachuk L.I., Priezzhev A.V. Interaction of erythrocytes in the process of pair aggregation in blood samples from patients with arterial hypertension and healthy donors: measurements with laser tweezers. *J. of Biomedical Photonics & Eng.* 2018; 4(3):030303.
8. Lee Kisung. *Vzaimodejstvie eritrocitov v sredah, inducirujushchih ih agregaciju: issledovanie s pomoshchju lazernyh pincetov.* [dissertation] Moscow; 2016. (In Russian)

8. Lee Kisung. Vzaimodejstvie eritrocitov v sredah, inducirujushchih ih agregaciju: issledovanie s pomoshchju lazernyh pincetov. [dissertation] Moscow; 2016. (In Russian)
9. Gurfinkel Yu.I., Priezzhev A.V., Sasonko M.L., Kuznetsov M.I. Importance of image processing in digital optical capillaroscopy for early diagnostics of arterial hypertension. In: BioPhotonics, 2015 International Conference Proceeding. Florence (Italy) 20–22, p.1–4.
10. Baskurt O.K., Boynard M., Cokelet G.C., Connes P., Cooke B.M., Forconi S. et al. New guidelines for hemorheological laboratory techniques. International Expert Panel for Standardization of Hemorheological Methods. 2009; 42(2):75–97. doi: 10.3233/CH-2009-1202.
11. Ermolinskiy P.B., Lugovtsov A.E., Maslyanitsina A.I., Semenov A.N., Dyachuk L.I., Priezzhev A.V. In vitro assessment of microrheological properties of erythrocytes in norm and pathology with optical methods. Ser. Biomech. 2018; 32(3):20–25.
12. Medvedev I.N., Skorjatina I.A., Zavalishina S.Y. Vascular control over blood cells aggregation in patients with arterial hypertension with dyslipidemia. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2016;15(1):4-9. (In Russian) doi: 10.15829/1728-8800-2016-1-4-9
13. Lebensohn N., Re A., Carrera L., Barberena L., D'Arrigo M., Foresto P. Serum sialic acid, cellular anionic charge and erythrocyte aggregation in diabetic and hypertensive patients. Medicina (B Aires). 2009; 69(3):331–4.
14. Delannoya M., Fontanaa A., D'Arrigob M., Riquelmea B. Influence of Hypertension and Type 2 Diabetes Mellitus on erythrocyte aggregation using image digital analysis. Series on Biomechanics. 2015; 29(1):1–6.
15. Bogar L. Hemorheology and hypertension: not "chicken or egg" but two chickens from similar eggs. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2002; 26(2):81–83.
16. Guedes A.F., Carvalho F.A., Moreira C., Nogueira J.B., Santos N.C. Essential arterial hypertension patients present higher cell adhesion forces, contributing for fibrinogen-dependent cardiovascular risk. Nanoscale, 2017; 9(39):14897–14906. doi: 10.1039/C7NR03891G.
17. Sidelnikova N.S., Jakusevich V. V., Petrochenko A. S., Tihomirova I. A., Petrochenko E.P. Osobennosti reologicheskikh i mikrocirkuljatornyh pokazatelej u pacientov s metabolicheskim sindromom. (In Russ.) Jaroslavskij pedagogicheskij vestnik. 2012; 2: 91–97.

Для цитирования: А.И. Масляницына, И.М. Каданова, А.И. Незнанов, П.Б. Ермолинский, Ю.И. Гурфинкель, А.А. Пигуренко, Л.И. Дячук, А.Е. Луговцов, А.В. Приезжев. Микрореологические свойства крови и капиллярный кровоток при артериальной гипертензии и сахарном диабете второго типа: исследование оптическими методами *in vitro* и *in vivo*. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2020; 9 (2): 53-63. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-53-63

To cite: A.I. Maslyanitsyna, I.M. Kadanova, A.I. Neznanov, P.B. Ermolinskiy, Yu.I. Gurfinkel, A.A. Pigurenko, L.I. Dyachuk, A.E. Lugovtsov, A.V. Priezzhev. Microrheologic properties of blood and capillary blood flow in case of arterial hypertension and type 2 diabetes mellitus: *in vitro* and *in vivo* optical assessment. Complex Issues of Cardiovascular Diseases. 2020; 9 (2): 53-63. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-53-63



УДК 616.12-009.72

DOI 10.17802/2306-1278-2020-9-2-64-73

ХАРАКТЕРИСТИКА ФАКТОРОВ РИСКА У МОЛОДЫХ ЛЮДЕЙ С РАННЕЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА НА ФОНЕ АБДОМИНАЛЬНОГО ОЖИРЕНИЯ

Ю.И. Рагино, Н.А. Кузьминых, В.И. Облаухова ✉, В.С. Шрамко, Д.В. Денисова, Л.В. Щербакова

Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», ул. Бориса Богаткова, 175/1, Новосибирск, Российская Федерация, 630089

Основные положения

- Определены статистически значимые факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний у молодых лиц, проживающих в Новосибирске, с ранней ишемической болезнью сердца, развившейся на фоне абдоминального ожирения.

Цель	Изучить характеристику факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний у людей 25–44 лет, проживающих в Новосибирске, с ранней ишемической болезнью сердца (ИБС), определенной по стандартизованным эпидемиологическим критериям, на фоне абдоминального ожирения (АО).
Материалы и методы	Проведен одномоментный популяционный скрининг случайной выборки населения Новосибирска в возрасте 25–44 лет. Обследовано 1 457 человек: 653 мужчины и 804 женщины. Эпидемиологический диагноз «ишемическая болезнь сердца» установлен согласно валидизированным эпидемиологическим (кардиологический опросник Роуза) и клинико-функциональным (запись электрокардиографии с расшифровкой по Миннесотскому коду) критериям. Ранняя ИБС выявлена у 49 человек. Сформированы четыре подгруппы обследованных: 1-я – лица с ИБС на фоне АО (n = 24), 2-я – лица с ИБС без АО (n = 25), 3-я – контрольные по возрасту и полу лица без ИБС с АО (n = 44), 4-я – контрольные по возрасту и полу лица без ИБС и АО (n = 30). Оценены факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний: курение, повышенный индекс массы тела (ИМТ), наличие артериальной гипертензии (АГ), увеличенная окружность талии, сниженная физическая активность, повышенные уровни в крови холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛНП-ХС), холестерина, не связанного с липопротеинами высокой плотности (не-ЛВП-ХС), триглицеридов (ТГ).
Результаты	У лиц с ИБС на фоне АО показатели ИМТ, ЛНП-ХС и не-ЛВП-ХС выше в 1,3 раза, а показатель ТГ – в 1,9 раза в сравнении с лицами с ИБС без АО. У мужчин с ИБС на фоне АО показатели ИМТ, не-ЛВП-ХС и ТГ выше в 1,3, 1,5 и 2,6 раза соответственно в сравнении с мужчинами с ИБС без АО. У лиц с ИБС на фоне АО распространенность повышенных ИМТ, уровней ЛНП-ХС, не-ЛВП-ХС и наличия АГ выше в 5,2, 1,6, 1,6 и 4,7 раза соответственно в сравнении с лицами с ИБС без АО. У мужчин с ИБС на фоне АО распространенность повышенного ИМТ и наличия АГ выше в 4,4 и 6,2 раза соответственно в сравнении с мужчинами с ИБС без АО. У обследованных лиц выявлена независимая прямая ассоциация относительного риска развития ИБС с наличием АГ (отношение шансов, ОШ, 3,368; 95% доверительный интервал, ДИ, 1,057–10,728; p = 0,040), а у мужчин – с повышенными уровнями в крови ЛНП-ХС (ОШ 1,019; ДИ 1,000–1,039; p = 0,049) и не-ЛВП-ХС (ОШ 1,019; ДИ 1,000–1,038; p = 0,049).
Заключение	У лиц с ранней ИБС (в возрасте до 45 лет), преимущественно у мужчин, развившейся в том числе на фоне абдоминального ожирения, значимыми факторами риска являются АГ и повышенные уровни в крови ЛНП-ХС, не-ЛВП-ХС, ТГ.
Ключевые слова	Ишемическая болезнь сердца • Абдоминальное ожирение • Лица 25–44 лет • Факторы риска

Поступила в редакцию: 01.04.2020; поступила после доработки: 27.04.2020; принята к печати: 10.05.2020

Для корреспонденции: Вероника Игоревна Облаухова, nikamedicine@mail.ru; адрес: ул. Бориса Богаткова, 175/1, Новосибирск, Россия, 630089

Corresponding author: Veronika I. Oblaukhova, nikamedicine@mail.ru, address: 175/1, B. Bogatkova St., Novosibirsk, Russian Federation, 630089

RISK FACTOR PROFILE IN YOUNG ADULTS WITH EARLY CORONARY ARTERY DISEASE AND ABDOMINAL OBESITY

Yu.I. Ragino, N.A. Kuzminykh, V.I. Oblaukhova , V.S. Shramko, D.V. Denisova, L.V. Shcherbakova

Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (IIPM – Branch of IC&GSB RAS), 175/1, B. Bogatkova St., Novosibirsk, Russian Federation, 630089

Highlights

- Significant cardiovascular risk factors in young adults with early coronary artery disease developed due to abdominal obesity (AO) in Novosibirsk have been determined.

Aim	To assess the prevalence of cardiovascular risk factors in young adults aged 25–44 years with early coronary artery disease (CAD) and abdominal obesity (AO) in Novosibirsk.
Methods	A random sample of subjects aged 25–44 years residing Novosibirsk underwent population screening. 1,457 people were examined (653 men and 804 women). The epidemiological diagnosis of CAD was established based on the validated epidemiological (according to the Rose Angina Questionnaire) and clinical (ECG decoded according to the Minnesota code) criteria. Early CAD was detected in 49 people who then were assigned into 4 subgroups: 1) obese subjects with CAD – 24 people, 2) non-obese subjects with CAD – 25 people, 3) age- and sex-matched obese controls without CAD – 44 people, 4) age- and sex-matched non-obese controls without CAD – 30 people. The prevalence of the following CVD risk factors was assessed: smoking, increased body mass index (BMI), increased waist circumference (WC), the presence of arterial hypertension (AH), physical inactivity, elevated levels of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), non-high density lipoprotein cholesterol (non-HDL-C), triglycerides (TG) in blood.
Results	BMI, LDL-C and non-HDL-C increase 1.3-fold in obese subjects with CAD along with 1.9-fold increase in TG levels as compared to non-obese subjects with CAD. Obese men with CAD had BMI, non-HDL-C, and TG levels 1.3, 1.5, and 2.6 times higher respectively, compared with non-obese men with CAD. BMI, LDL-C levels, non-HDL-C levels and the presence of AH increased 5.2-, 1.6-, 1.6-, and 4.7-fold, respectively, in obese subjects with CAD compared with non-obese subjects with CAD. Obese men with CAD reported a 4.4- and 6.2-fold increase in the prevalence of increased BMI and the presence of AH, respectively, than non-obese men with CAD. The examined individuals revealed an independent direct association of the relative risk of CAD as a comorbidity of AH (OR = 3.368, CI 1.057–10.728, p = 0.040). In addition, men demonstrated an association with elevated levels of LDL-C (OR = 1.019, CI 1.000–1.039, p = 0.049) and non-HDL-C (OR = 1.019, CI 1.000–1.038, p = 0.049) in blood.
Conclusion	AH, elevated levels of LDL-C, non-HDL-C and TG are considered as significant risk factors in obese people under 45 years of age (mainly in men) with early CAD.
Keywords	Early coronary artery disease • Abdominal obesity • Young adults • 25–44 years old • Risk factors

Received: 01.04.2020; received in revised form: 27.04.2020; accepted: 10.05.2020

Список сокращений

АГ	– артериальная гипертензия	МК	– Миннесотский код
АО	– абдоминальное ожирение	не-ЛВП-ХС	– холестерин, не связанный с липопротеинами высокой плотности
ДИ	– доверительный интервал	ОШ	– отношение шансов
ИБС	– ишемическая болезнь сердца	ССЗ	– сердечно-сосудистые заболевания
ИМТ	– индекс массы тела	ТГ	– триглицериды
ЛНП-ХС	– холестерин липопротеинов низкой плотности	ЭКГ	– электрокардиография

Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения, ишемическая болезнь сердца (ИБС) продолжает оставаться ведущей причиной заболеваемости и смертности в экономически развитых и развивающихся странах, обуславливая около $\frac{1}{3}$ всех смертей среди лиц старше 35 лет [1, 2].

Ранней, или преждевременной, считается ИБС, возникшая в возрасте до 55 лет у мужчин и до 65 лет у женщин [3]. Однако в некоторых исследованиях широко используют и другие понятия (ИБС «в молодом возрасте», «в очень молодом возрасте», «преждевременное развитие ИБС»), а возрастной предел обследованных колеблется от 35 до 65 лет, что затрудняет сопоставление полученных результатов [4–7].

В последние годы распространенность ИБС среди лиц молодого возраста увеличивается, что представляет собой значимую социально-экономическую проблему вследствие преждевременной утраты трудоспособности и ранней смертности. Лица, у которых ИБС проявилась в молодом возрасте, отличаются от пожилых структурой факторов риска, клиническим проявлением и прогнозом заболевания. Практически все лица молодого возраста с ИБС имеют как минимум один традиционный фактор риска [8, 9].

Исследование проведено с целью изучения характеристики факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) у людей 25–44 лет, проживающих в Новосибирске, с ранней ИБС, определенной согласно стандартизованным эпидемиологическим критериям, на фоне абдоминального ожирения (АО).

Материал и методы

В 2014–2015 гг. проведен одномоментный популяционный скрининг случайной выборки населения одного из районов Новосибирска. Исследование одобрено локальным этическим комитетом учреждения. Для построения выборки использована база Территориального фонда обязательного медицинского страхования Новосибирска, в которой с помощью генератора случайных чисел отобраны 2 500 человек мужского и женского пола в возрасте 25–44 лет. В скрининговом центре НИИТГПМ – филиале ИЦиГ СО РАН обследованы 1 457 человек: 653 мужчины и 804 женщины. Все лица подписали информированное согласие на обследование и обработку персональных данных.

Исследование проводила бригада врачей, обученных стандартизованным эпидемиологическим методам скрининг-обследований. В программу входили демографические и социальные данные, опрос о курении и употреблении алкоголя, социально-экономический опрос, диетологи-

ческий опрос, история хронических заболеваний и употребления лекарственных средств, кардиологический опрос по Роуз, антропометрия, трехкратное измерение артериального давления, спирометрия, запись электрокардиографии (ЭКГ) с расшифровкой по Миннесотскому коду (МК) и другие данные.

Артериальное давление измеряли трижды с интервалом в две минуты на правой руке в положении сидя после 5-минутного отдыха с помощью автоматического тонометра с регистрацией среднего значения трех измерений. Индекс массы тела (ИМТ) рассчитывали по формуле: масса тела (кг), деленная на квадрат роста (m^2). Курящими считались лица, выкуривающие хотя бы одну сигарету в сутки.

Однократный забор крови из локтевой вены проводили утром натощак через 12 ч после приема пищи. Показатели липидов крови измеряли энзиматическим методом с использованием стандартных реактивов ThermoFisher на автоматическом биохимическом анализаторе KoneLab 30i (ThermoFisher Scientific, США).

Оценивали следующие факторы риска ИБС [10]: курение; ИМТ >25 kg/m^2 ; окружность талии у мужчин ≥ 94 см, у женщин ≥ 80 см (абдоминальное ожирение, АО); наличие артериальной гипертензии (АГ) (артериальное давление ≥ 140 / ≥ 90 мм рт. ст.); физическая активность $<3,5$ ч/нед.; уровни в крови холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛНП-ХС) ≥ 116 мг/дл, или ≥ 3 ммоль/л, холестерина, несвязанного с липопротеинами невысокой плотности (не-ЛВП-ХС), ≥ 130 мг/дл, или $\geq 3,4$ ммоль/л, триглицеридов (ТГ) ≥ 150 мг/дл, или $\geq 1,7$ ммоль/л.

Эпидемиологический диагноз «ишемическая болезнь сердца» определяли согласно валидизированным эпидемиологическим (кардиологический опросник Роуза) и клинико-функциональным (запись ЭКГ с расшифровкой по МК) критериям. Диагноз «определенная ИБС» устанавливали по следующим критериям: перенесенный крупноочаговый инфаркт миокарда (ЭКГ с МК), стенокардия напряжения (опросник Роуза), ишемические изменения по данным ЭКГ без гипертрофии левого желудочка (ЭКГ с МК), нарушения ритма и проводимости (ЭКГ с МК).

Ранняя ИБС выявлена у 49 человек. На основании выявленной ранней ИБС сформированы четыре подгруппы лиц, включенных в исследование ($n = 123$): 1-я – лица с ИБС и АО, $n = 24$ (8 мужчин и 16 женщин); 2-я – лица с ИБС без АО, $n = 25$ (10 мужчин, 15 женщин); 3-я – контрольные по возрасту и полу лица без ИБС с АО, $n = 44$ (20 мужчин, 24 женщины); 4-я – контрольные по возрасту и полу лица без ИБС и АО, $n = 30$ (12 мужчин и 18 женщин).

Дизайн исследования приведен на *рисунке*.

Статистический анализ

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы SPSS Statistics for Windows (версия 17.0) с оценкой для каждой переменной медианы, нижнего и верхнего квартилей (распределение всех изученных признаков имело ненормальный характер). Использованы методы сравнения выборок: U-критерий Манна – Уитни при сравнении медиан, критерий Уилкоксона, тест Краскелла – Уоллеса для множественного межгруппового сравнения, расчет отношения шансов по таблицам сопряженности, расчет отношения шансов в логистической регрессионной модели, критерий χ^2 , t-критерий. Принят 95% уровень статистической значимости.

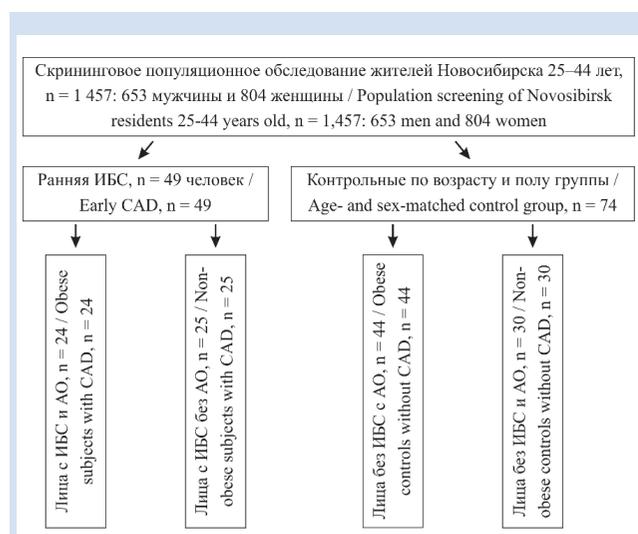


Рисунок. Схема исследования, отражающая набор пациентов
Примечание: АО – абдоминальное ожирение; ИБС – ишемическая болезнь сердца.

Figure. Study design pattern reflecting patient enrollment in the study

Note: АО – abdominal obesity; CAD – coronary artery disease.

Результаты

На первом этапе исследования проведен сравнительный анализ факторов риска у лиц с ИБС ($n = 49$) и без ИБС ($n = 74$). Статистически значимых различий в количественных показателях и распространенности исследованных факторов риска ССЗ между группами не выявлено (табл. 1). Также не отмечено значимых различий в данных показателях среди мужчин с ИБС ($n = 18$) и без ИБС ($n = 32$) и женщин с ИБС ($n = 31$) и без ИБС ($n = 42$).

На втором этапе исследования мы провели сравнительный анализ количественных показателей факторов риска между четырьмя подгруппами лиц. У лиц с ИБС на фоне АО ($n = 24$) показатели ИМТ, ЛНП-ХС и не-ЛВП-ХС были выше в 1,3 раза, а показатель ТГ – в 1,9 раза в сравнении с лицами с ИБС без АО ($n = 25$) (табл. 2).

У мужчин с ИБС на фоне АО ($n = 8$) показатели ИМТ, не-ЛВП-ХС и ТГ выше в 1,3, 1,5 и 2,6 раза соответственно в сравнении с мужчинами с ИБС без АО ($n = 10$).

У женщин с ИБС на фоне АО ($n = 16$) показатели ИМТ, ЛНП-ХС и не-ЛВП-ХС также оказались выше: в 1,4, 1,2 и 1,2 раза соответственно в сравнении с женщинами с ИБС без АО ($n = 15$).

На третьем этапе исследования мы провели сравнительный однофакторный анализ распространенности выявленных факторов риска ССЗ у лиц с ИБС в зависимости от наличия или отсутствия АО. У обследованных с ИБС на фоне АО повышенные ИМТ, уровни ЛНП-ХС, не-ЛВП-ХС и наличие АГ встречались чаще в 5,2, 1,6, 1,6 и 4,7 раза соответственно в сравнении с лицами с ИБС без АО (табл. 3).

У обследованных мужчин с ИБС на фоне АО распространенность повышенного ИМТ и наличия АГ была значимо выше, в 4,4 и 6,2 раза соответственно, в сравнении с мужчинами с ИБС без АО (табл. 4).

Таблица 1. Количественные показатели факторов риска у лиц с ИБС и без нее

Table 1. Prevalence of risk factors in subjects with and without CAD

Показатель / Parameter	ИБС / CAD, n = 49	Нет ИБС / Without CAD, n = 74	P
	Me (25%; 75%)	Me (25%; 75%)	
Возраст, лет / Age, years	39,0 (32,2; 43,2)	37,3 (31,5; 42,0)	0,393
ИМТ, кг/м ² / BMI, kg/m ²	25,0 (22,2; 28,4)	26,1 (23,0; 29,5)	0,217
ОТ, см / WC, cm	84,0 (75,2; 95,0)	88,5 (78,7; 99,2)	0,104
САД, мм рт. ст. / SBP, mm Hg	119,5 (105,7; 133,7)	117,7 (112,4; 130,0)	0,668
ДАД, мм рт. ст. / DBP, mm Hg	78,0 (70,0; 85,7)	78,7 (72,0; 85,2)	0,670
Физическая активность, ч/нед. / Physical activity, hours / week	1,0 (0; 2,0)	0 (0; 2,1)	0,219
ЛНП-ХС, мг/дл / LDL-C, mg / dL	124,0 (107,2; 140,2)	117,7 (98,0; 133,3)	0,143
Не-ЛВП-ХС, мг/дл / Non-HDL-C, mg / dL	144,0 (120,0; 172,0)	139,5 (116,0; 155,7)	0,410
ТГ, мг/дл / TG, mg / dL	74,0 (54,0; 112,0)	90,0 (67,2; 135,7)	0,065

Примечание: ДАД – диастолическое артериальное давление; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИМТ – индекс массы тела; ЛНП-ХС – холестерин липопротеинов низкой плотности; не-ЛВП-ХС – холестерин, не связанный с липопротеинами высокой плотности; ОТ – окружность талии; САД – систолическое артериальное давление; ТГ – триглицериды; Me – медиана.

Note: BMI – body mass index; CAD – coronary artery disease; DBP – diastolic blood pressure; LDL-C – low-density lipoprotein cholesterol; Non-HDL-C – non-high-density lipoprotein cholesterol; SBP – systolic blood pressure; TG – triglycerides; WC – waist circumference.

Таблица 2. Количественные показатели факторов риска ИБС в обследованных подгруппах лиц
Table 2. Prevalence of CAD risk factors in the examined subgroups

Показатель / Parameter	Подгруппа 1 (ИБС и АО) / Subgroup 1 (CAD and AO), n = 24	Подгруппа 2 (ИБС без АО) / Subgroup 2 (CAD without AO), n = 25	P	Подгруппа 3 (без ИБС с АО) / Subgroup 3 (without CAD and with AO), n = 44	Подгруппа 4 (без ИБС и АО) / Subgroup 4 (without CAD and AO), n = 30	P
	Me (25%; 75%)	Me (25%; 75%)		Me (25%; 75%)	Me (25%; 75%)	
Возраст, лет / Age, years	40,9 (35,7; 45,5)	34,8 (31,6; 41,2)	0,042	38,0 (31,3; 42,1)	36,1 (31,5; 41,8)	0,590
ИМТ, кг/м ² / BMI, kg/m ²	28,4 (26,0; 32,7)	22,5 (20,1; 24,5)	0,0001	28,9 (25,6; 33,1)	22,9 (20,0; 25,0)	0,0001
ОТ, см / WC, cm	95,0 (84,4; 99,0)	78,0 (67,1; 81,9)	0,0001	96,9 (88,2; 101,9)	76,0 (72,1; 80,5)	0,0001
САД, мм рт. ст. / SBP, mm Hg	121,0 (107,7; 143,6)	115,5 (103,7; 129,5)	0,190	118,2 (112,1; 130)	117,7 (112,4; 126,7)	0,758
ДАД, мм рт. ст. / DBP, mm Hg	78,0 (72,0; 93,7)	78,5 (66,7; 82,2)	0,250	80,0 (71,6; 87,5)	78,5 (72,0; 82,1)	0,352
Физическая активность, ч/нед. / Physical activity, hours/week	1,0 (0; 2,0)	2,0 (0; 4,0)	0,284	0 (0; 2,0)	0,5 (0; 3,0)	0,301
ЛНП-ХС, мг/дл / LDL-C, mg/dL	128,2 (120,0; 163,1)	113,6 (96,8; 130,8)	0,013	117,2 (99,8; 134,6)	118,2 (96,3; 128,3)	0,765
Не-ЛВП-ХС, мг/дл / Non- HDL-C, mg/dL	155,5 (142,5; 187,7)	131,0 (106,0; 150,5)	0,004	144,0 (120,0; 161,0)	127,0 (111,0; 148,5)	0,086
ТГ, мг/дл / TG, mg/dL	89,0 (58,5; 162,0)	68,0 (47,0; 85,5)	0,034	100,0 (81,0; 148,0)	69,0 (49,5; 107,0)	0,001

Примечание: АО – абдоминальное ожирение; ДАД – диастолическое артериальное давление; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИМТ – индекс массы тела; ЛНП-ХС – холестерин липопротеинов низкой плотности; не-ЛВП-ХС – холестерин, не связанный с липопротеинами высокой плотности; ОТ – окружность талии; САД – систолическое артериальное давление; ТГ – триглицериды; Me – медиана.

Note: AO – abdominal obesity; BMI – body mass index; CAD – coronary artery disease; DBP – diastolic blood pressure; LDL-C – low-density lipoprotein cholesterol; non-HDL-C – non-high-density lipoprotein cholesterol; SBP – systolic blood pressure; TG – triglycerides; WC – waist circumference.

Таблица 3. Распространенность факторов риска у лиц с определенной ИБС в зависимости от наличия или отсутствия АО
Table 3. The presence of risk factors in individuals with defined CAD depending on the presence of AO

Показатель / Parameter	АО / AO, n = 24	Нет АО / No AO, n = 25	p
Курение / Smoking, %	20,8	20,0	0,610
ИМТ >25 кг/м ² / BMI >25 kg/m ² , %	83,3	16,0	0,0001
АГ (АД ≥140 / ≥90 мм рт. ст.) / АН (BP ≥140 / ≥90 mm Hg), %	37,5	8,0	0,013
Физическая активность <3,5 ч/нед. / Physical activity, <3,5 hours/week, %	91,7	72,0	0,076
ЛНП-ХС ≥116 мг/дл / LDL-C ≥116 mg/dL, %	77,3	48,0	0,039
Не-ЛВП-ХС ≥130 мг/дл / Non-HDL-C ≥130 mg/dL, %	81,8	52,0	0,031
ТГ ≥150 мг/дл / TG ≥150 mg/dL, %	27,3	0	–

Примечание: АГ – артериальная гипертензия; АД – артериальное давление; АО – абдоминальное ожирение; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИМТ – индекс массы тела; ЛНП-ХС – холестерин липопротеинов низкой плотности; не-ЛВП-ХС – холестерин, не связанный с липопротеинами высокой плотности; ТГ – триглицериды.

Note: AO – abdominal obesity; AH – arterial hypertension; BMI – body mass index; BP – blood pressure; CAD – coronary artery disease; LDL-C – low-density lipoprotein cholesterol; Non-HDL-C – non-high-density lipoprotein cholesterol; TG – triglycerides.

Таблица 4. Распространенность факторов риска у мужчин с определенной ИБС в зависимости от наличия или отсутствия АО
Table 4. The presence of risk factors in men with defined CAD depending on the presence of AO

Показатель / Parameter	АО / AO, n = 8	Нет АО / No AO, n = 10	p
Курение / Smoking, %	37,5	20,0	0,382
ИМТ >25 кг/м ² / BMI >25 kg/m ² , %	87,5	20,0	0,008
АГ (АД ≥140 / ≥90 мм рт. ст.) / АН (BP ≥140 / ≥90 mm Hg), %	62,5	10,0	0,032
Физическая активность <3,5 ч/нед. / Physical activity <3,5 hours/week, %	75,0	60,0	0,437
ЛНП-ХС ≥116 мг/дл / LDL-C ≥116 mg/dL, %	75,0	50,0	0,278
Не-ЛВП-ХС ≥130 мг/дл / Non-HDL-C ≥130 mg/dL, %	87,5	50,0	0,120
ТГ ≥150 мг/дл / TG ≥150 mg/dL, %	50,0	0	–

Примечание: АГ – артериальная гипертензия; АД – артериальное давление; АО – абдоминальное ожирение; ИМТ – индекс массы тела; ЛНП-ХС – холестерин липопротеинов низкой плотности; не-ЛВП-ХС – холестерин, не связанный с липопротеинами высокой плотности; ТГ – триглицериды.

Note: AO – abdominal obesity; AH – arterial hypertension; BMI – body mass index; BP – blood pressure; LDL-C – low density lipoprotein cholesterol; Non-HDL-C – non-high-density lipoprotein cholesterol; TG – triglycerides.

У обследованных женщин с ИБС на фоне АО распространенность повышенного ИМТ также была значимо выше, в 6,1 раза, в сравнении с женщинами с ИБС без АО (табл. 5).

На четвертом этапе исследования мы провели многофакторный логистический регрессионный анализ относительного развития ранней ИБС у лиц 25–44 лет, включенных в исследование (табл. 6). Выявлена независимая от возраста, пола и других изученных факторов риска прямая ассоциация относительного риска развития определенной ИБС с наличием АГ (отношение шансов, ОШ, 3,368; доверительный интервал, ДИ, 1,057–10,728; $p = 0,040$), а также тенденция к прямой ассоциации относительного риска определенной ИБС с повышенным уровнем в крови не-ЛВП-ХС (ОШ 1,011; ДИ 0,999–1,023; $p = 0,073$). У женщин значимых ассоциаций и тенденций не отмечено. У мужчин выявлена независимая от возраста и других изученных факторов риска прямая ассоциация относительного риска определенной ИБС с повышенными уровнями в крови ЛНП-ХС (ОШ 1,019; ДИ 1,000–1,039; $p = 0,049$) и не-ЛВП-ХС (ОШ 1,019; ДИ 1,000–1,038; $p = 0,049$).

Обсуждение

У лиц с метаболическим синдромом риск развития ИБС и ее осложненный значительно выше в сравнении с лицами без синдрома [11]. Во многих исследованиях показано, что каждый компонент метаболического синдрома также является независимым фактором риска ССЗ [12–14]. АО является основным компонентом метаболического синдрома, поэтому в настоящем исследовании мы изучили характеристики факторов риска ССЗ у людей 25–44 лет (работоспособного и детородного возраста) с ранней ИБС на фоне АО

или без него для выявления особенностей развития заболевания в молодом возрасте.

Известно, что более половины людей в возрасте от 18 до 24 лет имеют как минимум один фактор риска ИБС [15]. На первом этапе исследования (до учета ассоциации ИБС с АО) мы не выявили значимых различий в количественных показателях факторов риска ССЗ между лицами с ИБС и без ИБС. Важно отметить, что в немногочисленных исследованиях ИБС у молодых лиц известным фактором развития ранней ИБС является наследственность.

На втором этапе данного исследования (с учетом ассоциации ИБС с АО) выявлено, что у лиц с ранней ИБС (до 45 лет), преимущественно мужского пола, развившейся в том числе на фоне абдоминального ожирения, значимыми факторами риска

Таблица 6. Относительный риск развития определенной ИБС, связанный с факторами риска, у всех обследованных лиц

Table 6. The relative risk of developing of defined CAD associated with cardiovascular risk factors for CAD in all examined individuals

Показатель / Parameter	Отношение шансов / Odds ratio	95% доверительный интервал / 95% confidence interval		P
		Нижняя / Low	Верхняя / Upper	
Возраст / Age	1,025	0,953	1,101	0,508
Пол / Sex	1,498	0,637	3,521	0,354
Курение / Smoking	0,635	0,226	1,787	0,390
ИМТ, кг/м ² / BMI, kg/m ²	0,996	0,989	1,003	0,232
ОТ, см / WC, cm	0,970	0,937	1,003	0,076
АГ / АН	3,368	1,057	10,728	0,040
Физическая активность / Physical activity	0,590	0,183	1,908	0,378
ЛНП-ХС, мг/дл / LDL-C, mg/dL	1,108	0,459	2,671	0,820
Не-ЛВП-ХС, мг/дл / Non-HDL-C, mg/dL	1,011	0,999	1,023	0,073
ТГ, мг/дл / TG, mg/dL	0,821	0,219	3,085	0,771

Примечание: АГ – артериальная гипертензия; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИМТ – индекс массы тела; ЛНП-ХС – холестерин липопротеинов низкой плотности; не-ЛВП-ХС – холестерин, не связанный с липопротеинами высокой плотности; ТГ – триглицериды.

Note: АН – arterial hypertension; BMI – body mass index; LDL-C – low density lipoprotein cholesterol; Non-HDL-C – non-high-density lipoprotein cholesterol; TG – triglycerides; WC – waist circumference.

Таблица 5. Распространенность факторов риска у женщин с определенной ИБС в зависимости от наличия или отсутствия АО

Показатель / Parameter	АО / AO, n = 16	Нет АО / No AO, n = 15	p
Курение / Smoking, %	12,5	20,0	0,468
ИМТ >25, кг/м ² / BMI >25 kg/m ² , %	81,3	13,3	0,0001
АГ (АД ≥140 / ≥90 мм рт. ст.) / АН (BP ≥140 / ≥90 mm Hg), %	25,0	6,7	0,186
Физическая активность <3,5 ч/нед. / Physical activity <3,5 hours/week, %	100,0	80,0	0,101
ЛНП-ХС ≥116 мг/дл / LDL-C ≥116 mg/dL, %	78,6	46,7	0,082
Не-ЛВП-ХС ≥130 мг/дл / Non-HDL-C ≥130 mg/dL, %	78,6	53,3	0,150
ТГ ≥150 мг/дл / TG ≥150 mg/dL, %	14,3	0	–

Примечание: АГ – артериальная гипертензия; АД – артериальное давление; АО – абдоминальное ожирение; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИМТ – индекс массы тела; ЛНП-ХС – холестерин липопротеинов низкой плотности; не-ЛВП-ХС – холестерин, не связанный с липопротеинами высокой плотности; ТГ – триглицериды.

Note: АО – abdominal obesity; АН – arterial hypertension; BMI – body mass index; BP – blood pressure; CAD – coronary artery disease; LDL-C – low-density lipoprotein cholesterol; Non-HDL-C – non-high-density lipoprotein cholesterol; TG – triglycerides.

являются АГ, повышенные уровни в крови ЛНП-ХС, не-ЛВП-ХС и ТГ.

Важно отметить, что практически все полученные результаты не противоречат данным мировой литературы. Так, ожирение (повышенный ИМТ) чаще встречается у больных с ранней ИБС и является независимым фактором риска атеросклероза коронарных артерий в молодом возрасте. Например, в недавнем исследовании клинических характеристик мультифокального атеросклероза показано, что лица с ИБС в молодом и среднем возрасте имели большую частоту ожирения, повышенных значений ЛНП и ТГ, а также ранний дебют АГ [16]. Взаимосвязь ожирения и атеросклероза в молодом возрасте продемонстрирована и при исследовании аутопсий 3 тыс. человек в возрасте 15–34 лет, умерших от некардиологических причин [17]. Кроме того, по данным Фрамингемского исследования, ожирение может быть фактором риска ИБС у 23% мужчин и 15% женщин среднего возраста [18]. Ожирение приводит к значительным нейрогормональным изменениям и адаптациям в сердечно-сосудистой системе: активации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, изменению уровней адипоцитокинов и провоспалительных цитокинов [19–22].

Известно, что в висцеральных адипоцитах запускаются патологические процессы, приводящие к избыточному поступлению в портальную венозную систему и периферический кровоток большого количества свободных жирных кислот, что, в свою очередь, способствует развитию гипертриглицеридемии и атерогенной дислипидемии – повышенному уровню в крови частиц липопротеинов очень низкой, промежуточной и низкой плотности, содержащих ТГ и холестерин, который наглядно отражают повышенные показатели ЛНП-ХС и не-ЛВП-ХС [23, 24].

Наши результаты не согласуются только с мировыми данными по курению, которые свидетельствуют о весьма значимой роли курения в развитии ИБС и ее осложнений. Считается, что курение – наиболее распространенный фактор риска, связанный с ранним развитием ИБС. По данным J.H. Cole с коллегами, число курящих среди больных ИБС

до 45 лет составляет 60–90%, пациентов старше 45 лет – 24–56% [25]. В нашем исследовании при всех видах проведенного анализа не выявлено значимой связи ранней ИБС с курением, что, вероятно, связано с небольшим количеством обследованных, обусловленным малым числом молодых лиц с ранней ИБС (всего 49 человек из общей популяционной выборки жителей Новосибирска 25–44 лет).

Заключение

У лиц 25–44 лет с ранней ИБС (преимущественно у мужчин), развившейся в том числе на фоне абдоминального ожирения, значимыми факторами риска являются АГ и повышенные уровни в крови ЛНП-ХС, не-ЛВП-ХС, ТГ. Выявление ранней ИБС, развивающейся в возрасте до 45 лет, и факторов риска имеет крайне важное значение для первичной и вторичной профилактики заболевания. У людей 25–44 лет с высоким уровнем профессиональной занятости недостаточно самостоятельных усилий по оценке здоровья, риска и профилактики ИБС. Крайне важно мотивировать молодых людей своевременно проходить скрининговые обследования для предотвращения развития ССЗ и определения факторов риска.

Конфликт интересов

Ю.И. Рагино заявляет об отсутствии конфликта интересов. Н.А. Кузьминых заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.И. Облаухова заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.С. Шрамко заявляет об отсутствии конфликта интересов. Д.В. Денисова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Л.В. Щербакова заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена в рамках бюджетной темы по государственному заданию № ААА-А-17-117112850280-2 и при финансовой поддержке гранта Президента РФ для ведущих научных школ № НШ-2595.2020.7.

Информация об авторах

Рагино Юлия Игоревна, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, руководитель Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4936-8362

Кузьминых Наталья Александровна, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований

Author Information Form

Ragino Yuliya I., a corresponding member of the RAS, PhD, Professor, leading researcher at the Laboratory of Clinical Biochemical and Hormonal Studies of Therapeutic Diseases, director at the Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (IPM – Branch of IC&GSB RAS), Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4936-8362

Kuzminykh Natalia A., PhD, research assistant at the Laboratory of Clinical Biochemical and Hormonal Research of Therapeutic Diseases, Research Institute of Therapy and

терапевтических заболеваний Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-8649-1979

Облаухова Вероника Игоревна, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории клинико-популяционных и профилактических исследований терапевтических и эндокринных заболеваний Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-5893-7726

Шрамко Виктория Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0436-2549

Денисова Диана Вахтанговна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактической медицины Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-2470-2133

Щербакова Лилия Валерьевна, старший научный сотрудник лаборатории клинико-популяционных и профилактических исследований терапевтических и эндокринных заболеваний Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-9270-9188

Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (IIPM – Branch of IC&GSB RAS), Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-8649-1979

Oblaukhova Veronika I., PhD student, research assistant at the Laboratory of Clinical-Population and Preventive Studies of Therapeutic and Endocrine Diseases, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (IIPM – Branch of IC&GSB RAS), Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-5893-7726

Shramko Viktoriya S., research assistant at the Laboratory of Clinical Biochemical and Hormonal Research of Therapeutic Diseases, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (IIPM – Branch of IC&GSB RAS), Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0436-2549

Denisova Diana V., PhD, leading researcher at the Laboratory of Preventive Medicine, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (IIPM – Branch of IC&GSB RAS), Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-2470-2133

Shcherbakova Lilia V., senior researcher in the Laboratory of Clinical, Population and Preventive Studies of Therapeutic and Endocrine Diseases, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (IIPM – Branch of IC&GSB RAS), Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-9270-9188

Вклад авторов в статью

РЮИ – вклад в концепцию и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных исследования, внесение корректив в статью, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

КНА – вклад в концепцию и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных исследования, внесение корректив в статью, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ОВИ – вклад в концепцию и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных исследования, внесение корректив в статью, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ШВС – вклад в концепцию и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных исследования, внесение корректив в статью, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ДДВ – вклад в концепцию и дизайн исследования, анализ и

Author Contribution Statement

RYul – contribution to the concept and design of the study, data analysis and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

KNA – contribution to the concept and design of the study, data analysis and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

OVI – contribution to the concept and design of the study, data analysis and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

ShVS – contribution to the concept and design of the study, data analysis and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

DDV – contribution to the concept and design of the study,

интерпретация данных исследования, внесение корректив в статью, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ЩЛВ – вклад в концепцию и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных исследования, внесение корректив в статью, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

data analysis and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

SchLV – contribution to the concept and design of the study, data analysis and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Organization WH. WHO Mortality Database. WHO. Available at: http://www.who.int/healthinfo/mortality_data/en/. (accessed 25.03.2020)
2. Townsend N., Wilson L., Bhatnagar P., Wickramasinghe K., Rayner M., Nichols M. Cardiovascular disease in Europe: Epidemiological update 2016. *Eur Heart J.* 2016; 37(42):3232–3245. doi:10.1093/eurheartj/ehw334
3. Piepoli M.F., Hoes A.W., Agewall S., Albus C., Brotons C., Catapano A.L., Cooney M.T., Corrà U., Cosyns B., Deaton C., Graham I., Hall M.S., Hobbs F.D.R., Løchen M.L., Löllgen H., Marques-Vidal P., Perk J., Prescott E., Redon J., Richter D.J., Sattar N., Smulders Y., Tiberi M., van der Worp H.B., van Dis I., Verschuren W.M.M., Binnos S., ESC Scientific Document Group. 2016 European Guidelines on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J.* 2016; 37:2315–2381. doi:10.1093/eurheartj/ehw106
4. Carr J.J., Jacobs D.R. Jr., Terry J.G., Shay C.M., Sidney S., Liu K., Schreiner P.J., Lewis C.E., Shikany J.M., Reis J.P., Goff D.C. Jr. Association of coronary artery calcium in adults aged 32 to 46 years with incident coronary heart disease and death. *JAMA Cardiol.* 2017; 2(4):391–399. doi:10.1001/jamacardio.2016.5493
5. Christus T., Shukkur A.M., Rashdan I., Koshy T., Alanbaei M., Zubaid M., Hayat N., Alsayegh A. Coronary Artery Disease in Patients Aged 35 or less – A Different Beast? *Heart Views.* 2011; 12(1):7–11. doi:10.4103/1995-705X.81550
6. Wilmot K.A., O'Flaherty M., Capewell S., Ford E.S., Vaccarino V. Coronary heart disease mortality declines in the United States from 1979 through 2011: Evidence for stagnation in young adults, especially women. *Circulation.* 2015;132(11):997–1002. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.115.015293
7. Otaki Y., Gransar H., Berman D.S., Cheng V.Y., Dey D., Lin F.Y., Achenbach S., Al-Mallah M., Budoff M., Cademartiri F., Callister T.Q., Chang H.J., Chinnaiyan K., Chow B.J., Delago A., Hadamitzky M., Hausleiter J., Kaufmann P., Maffei E., Raff G., Shaw L.J., Villines T.C., Dunning A., Min J.K. Impact of family history of coronary artery disease in young individuals (from the CONFIRM registry). *Am J Cardiol.* 2013;111(8):1081–1086. doi:10.1016/j.amjcard.2012.12.042
8. Khot U.N., Khot M.B., Bajzer C.T., Sapp S.K., Ohman E.M., Brener S.J., Ellis S.G., Lincoff A.M., Topol E.J. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA.* 2003;290(7):898–904. doi:10.1001/jama.290.7.898
9. Celik T., Iyisoy A. Premature coronary artery disease in young patients: An uncommon but growing entity. *Int J Cardiol.* 2010;144(1):131–132. doi:10.1016/j.ijcard.2008.12.150
10. Authors/Task Force Members, ESC Committee for Practice Guidelines (CPG), ESC National Cardiac Societies. 2019 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Atherosclerosis.* 2019; 290: 140–205. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.08.014.
11. Tune J.D., Goodwill A.J., Sasso D.J., Mather K.J. Cardiovascular Consequences of Metabolic Syndrome. *Transl Res.* 2017; 183: 57–70. doi: 10.1016/j.trsl.2017.01.001
12. Sperling L.S., Mechanick J.I., Neeland I.J., Herrick C.J., Després J.P., Ndumele C.E., Vijayaraghavan K., Handelsman Y., Puckrein G.A., Araneta M.R., Blum Q.K., Collins K.K., Cook S., Dhurandhar N.V., Dixon D.L., Egan B.M., Ferdinand D.P., Herman L.M., Hessen S.E., Jacobson T.A., Pate R.R., Ratner R.E., Brinton E.A., Forker A.D., Ritzenthaler L.L., Grundy S.M. The CardioMetabolic Health Alliance: Working Toward a New Care Model for the Metabolic Syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 2015; 66(9):1050–67. doi:10.1016/j.jacc.2015.06.1328.
13. O'Neill S., O'Driscoll L. Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. *Obes Rev.* 2015; 16(1):1–12. doi: 10.1111/obr.12229
14. Berwick Z.C., Dick G.M., Tune J.D. Heart of the matter: coronary dysfunction in metabolic syndrome. *J Mol Cell Cardiol.* 2012; 52(4):848–56. doi: 10.1016/j.yjmcc.2011.06.025
15. Arts J., Fernandez M.L., Lofgren I.E. Coronary heart disease risk factors in college students. *Adv Nutr.* 2014;5(2):177–87. doi: 10.3945/an.113.005447.
16. Яхонтов Д.А., Останина Ю.О., Пахарукова М.Ю., Мордвинов В.А. Клиническая характеристика и проявления мультифокального атеросклероза у больных ИБС различных возрастных групп. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2017;6(4):36–43. doi:10.17802/2306-1278-2017-6-4-36-43
17. McGill H. C., McMahan C. A., Herderick E. E., Zieske A. W., Malcom G.T., Tracy R.E., Strong J.P. and for the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. Obesity accelerates the progression of coronary atherosclerosis in young men. *Circulation.* 2002;105(23):2712–2718. doi:10.1161/01.CIR.0000018121.67607.CE
18. Turpie A. G. G., Bauer K. A., Eriksson B. I., Lassen M. R. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: The Framingham experience. *Arch Intern Med.* 2002;162(16):1867–1872. doi:10.1001/archinte.162.16.1867
19. Bastien M., Poirier P., Lemieux I., Despres J.P. Overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease. *Prog Cardiovasc Dis.* 2014;56(4):369–81. doi: 10.1016/j.pcad.2013.10.016.
20. Whaley-Connell A., Pavey B.S., Chaudhary K., Saab G., Sowers J.R. Renin-angiotensin-aldosterone system intervention in the cardiometabolic syndrome and cardio-renal protection. *Ther Adv Cardiovasc Dis.* 2007;1(1):27–35. doi: 10.1177/1753944707082697.
21. Knudson J.D., Dick G.M., Tune J.D. Adipokines and coronary vasomotor dysfunction. *Exp Biol Med (Maywood).* 2007;232(6):727–36.
22. Stapleton P.A., James M.E., Goodwill A.G., Frisbee J.C. Obesity and vascular dysfunction. *Pathophysiology.* 2008;15(2):79–89. doi: 10.1016/j.pathophys.2008.04.007
23. Ference B.A., Yoo W., Alesh I., Mahajan N., Mirowska K.K., Mewada A., Kahn J., Afonso L., Williams K.A., Flack J.M. Effect of long-term exposure to lower low density lipoprotein cholesterol beginning early in life on the risk of coronary heart disease: a Mendelian randomization analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2012; 60(25): 2631–2639. doi: 10.1016/j.jacc.2012.09.017.
24. Ference B.A., Ginsberg H.N., Graham I., Ray K.K., Packard C.J., Bruckert E., Hegele R.A., Krauss R.M., Raal F.J., Schunkert H., Watts G.F., Boren J., Fazio S., Horton J.D., Masana L., Nicholls S.J., Nordestgaard B.G., van de Sluis B., Taskiran M.R., Tokgozoglu L., Landmesser U., Laufs U., Wiklund O., Stock J.K., Chapman M.J., Catapano A.L. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J.* 2017; 38(32) 2459–2472. doi: 10.1093/eurheartj/ehx144.
25. Cole J. H., Miller J. I., Sperling L. S., Weintraub W. S. Long-term follow-up of coronary artery disease presenting in young adults. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41(4):521–528. doi:10.1016/S0735-1097(02)02862-0

REFERENCES

1. Organization WH. WHO Mortality Database. WHO. Available at: http://www.who.int/healthinfo/mortality_data/en/. (accessed 25.03.2020)
2. Townsend N., Wilson L., Bhatnagar P., Wickramasinghe K., Rayner M., Nichols M. Cardiovascular disease in Europe: Epidemiological update 2016. *Eur Heart J.* 2016; 37(42):3232–3245. doi:10.1093/eurheartj/ehw334
3. Piepoli M.F., Hoes A.W., Agewall S., Albus C., Brotons C., Catapano A.L., Cooney M.T., Corrà U., Cosyns B., Deaton C., Graham I., Hall M.S., Hobbs F.D.R., Løchen M.L., Löllgen H., Marques-Vidal P., Perk J., Prescott E., Redon J., Richter D.J., Sattar N., Smulders Y., Tiberi M., van der Worp H.B., van Dis I., Verschuren W.M.M., Binno S., ESC Scientific Document Group. 2016 European Guidelines on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J.* 2016; 37:2315–2381. doi:10.1093/eurheartj/ehw106
4. Carr J.J., Jacobs D.R. Jr., Terry J.G., Shay C.M., Sidney S., Liu K., Schreiner P.J., Lewis C.E., Shikany J.M., Reis J.P., Goff D.C. Jr. Association of coronary artery calcium in adults aged 32 to 46 years with incident coronary heart disease and death. *JAMA Cardiol.* 2017; 2(4):391–399. doi:10.1001/jamacardio.2016.5493
5. Christus T., Shukkur A.M., Rashdan I., Koshy T., Alanbaei M., Zubaid M., Hayat N., Alsayegh A. Coronary Artery Disease in Patients Aged 35 or less – A Different Beast? *Heart Views.* 2011; 12(1):7–11. doi:10.4103/1995-705X.81550
6. Wilmut K.A., O'Flaherty M., Capewell S., Ford E.S., Vaccarino V. Coronary heart disease mortality declines in the United States from 1979 through 2011: Evidence for stagnation in young adults, especially women. *Circulation.* 2015;132(11):997–1002. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.115.015293
7. Otaki Y., Gransar H., Berman D.S., Cheng V.Y., Dey D., Lin F.Y., Achenbach S., Al-Mallah M., Budoff M., Cademartiri F., Callister T.Q., Chang H.J., Chinnaiyan K., Chow B.J., Delago A., Hadamitzky M., Hausleiter J., Kaufmann P., Maffei E., Raff G., Shaw L.J., Villines T.C., Dunning A., Min J.K. Impact of family history of coronary artery disease in young individuals (from the CONFIRM registry). *Am J Cardiol.* 2013;111(8):1081–1086. doi:10.1016/j.amjcard.2012.12.042
8. Khot U.N., Khot M.B., Bajzer C.T., Sapp S.K., Ohman E.M., Brener S.J., Ellis S.G., Lincoff A.M., Topol E.J. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA.* 2003;290(7):898–904. doi:10.1001/jama.290.7.898
9. Celik T., Iyisoy A. Premature coronary artery disease in young patients: An uncommon but growing entity. *Int J Cardiol.* 2010;144(1):131–132. doi:10.1016/j.ijcard.2008.12.150
10. Authors/Task Force Members, ESC Committee for Practice Guidelines (CPG), ESC National Cardiac Societies. 2019 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Atherosclerosis.* 2019; 290: 140-205. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.08.014.
11. Tune J.D., Goodwill A.J., Sasso D.J., Mather K.J. Cardiovascular Consequences of Metabolic Syndrome. *Transl Res.* 2017; 183: 57–70. doi: 10.1016/j.trsl.2017.01.001
12. Sperling L.S., Mechanick J.I., Neeland I.J., Herrick C.J., Després J.P., Ndumele C.E., Vijayaraghavan K., Handelsman Y., Puckrein G.A., Araneta M.R., Blum Q.K., Collins K.K., Cook S., Dhurandhar N.V., Dixon D.L., Egan B.M., Ferdinand D.P., Herman L.M., Hessen S.E., Jacobson T.A., Pate R.R., Ratner R.E., Brinton E.A., Forker A.D., Ritzenthaler L.L., Grundy S.M. The CardioMetabolic Health Alliance: Working Toward a New Care Model for the Metabolic Syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 2015; 66(9):1050–67. doi:10.1016/j.jacc.2015.06.1328.
13. O'Neill S., O'Driscoll L. Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. *Obes Rev.* 2015; 16(1):1–12. doi: 10.1111/obr.12229
14. Berwick Z.C., Dick G.M., Tune J.D. Heart of the matter: coronary dysfunction in metabolic syndrome. *J Mol Cell Cardiol.* 2012; 52(4):848–56. doi: 10.1016/j.yjmcc.2011.06.025
15. Arts J., Fernandez M.L., Lofgren I.E. Coronary heart disease risk factors in college students. *Adv Nutr.* 2014;5(2):177–87. doi: 10.3945/an.113.005447.
16. Yahontov D.A., Ostanina J.O., Pakharukova M.Y., Mordvinov V.A. Clinical signs and symptoms of polyvascular disease in coronary artery disease patients of different age groups. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2017;6(4):36-43. (In Russian) doi:10.17802/2306-1278-2017-6-4-36-43
17. McGill H. C., McMahan C. A., Herderick E. E., Zieske A. W., Malcom G.T., Tracy R.E., Strong J.P. and for the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. Obesity accelerates the progression of coronary atherosclerosis in young men. *Circulation.* 2002;105(23):2712–2718. doi:10.1161/01.CIR.0000018121.67607.CE
18. Turpie A. G. G., Bauer K. A., Eriksson B. I., Lassen M. R. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: The Framingham experience. *Arch Intern Med.* 2002;162(16):1867–1872. doi:10.1001/archinte.162.16.1867
19. Bastien M., Poirier P., Lemieux I., Despres J.P. Overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease. *Prog Cardiovasc Dis.* 2014;56(4):369–81. doi: 10.1016/j.pcad.2013.10.016.
20. Whaley-Connell A., Pavey B.S., Chaudhary K., Saab G., Sowers J.R. Renin-angiotensin-aldosterone system intervention in the cardiometabolic syndrome and cardio-renal protection. *Ther Adv Cardiovasc Dis.* 2007;1(1):27–35. doi: 10.1177/1753944707082697.
21. Knudson J.D., Dick G.M., Tune J.D. Adipokines and coronary vasomotor dysfunction. *Exp Biol Med (Maywood).* 2007;232(6):727–36.
22. Stapleton P.A., James M.E., Goodwill A.G., Frisbee J.C. Obesity and vascular dysfunction. *Pathophysiology.* 2008;15(2):79–89. doi: 10.1016/j.pathophys.2008.04.007
23. Ference B.A., Yoo W., Alesh I., Mahajan N., Mirowska K.K., Mewada A., Kahn J., Afonso L., Williams K.A., Flack J.M. Effect of long-term exposure to lower low density lipoprotein cholesterol beginning early in life on the risk of coronary heart disease: a Mendelian randomization analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2012; 60(25): 2631–2639. doi: 10.1016/j.jacc.2012.09.017.
24. Ference B.A., Ginsberg H.N., Graham I., Ray K.K., Packard C.J., Bruckert E., Hegele R.A., Krauss R.M., Raal F.J., Schunkert H., Watts G.F., Boren J., Fazio S., Horton J.D., Masana L., Nicholls S.J., Nordestgaard B.G., van de Sluis B., Taskiran M.R., Tokgozoglu L., Landmesser U., Laufs U., Wiklund O., Stock J.K., Chapman M.J., Catapano A.L. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur. Heart J.* 2017; 38(32): 2459–2472. doi: 10.1093/eurheartj/ehx144.
25. Cole J. H., Miller J. I., Sperling L. S., Weintraub W. S. Long-term follow-up of coronary artery disease presenting in young adults. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41(4):521–528. doi:10.1016/S0735-1097(02)02862-0

Для цитирования: Ю.И. Рагино, Н.А. Кузьминых, В.И. Облаухова, В.С. Шрамко, Д.В. Денисова, Л.В. Щербакова. Характеристика факторов риска у молодых людей с ранней ишемической болезнью сердца на фоне абдоминального ожирения. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2020; 9(2): 64-73. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-64-73

To cite: Yu.I. Ragino, N.A. Kuzminykh, V.I. Oblaukhova, V.S. Shramko, D.V. Denisova, L.V. Shcherbakova. Risk factor profile in young adults with early coronary artery disease and abdominal obesity. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2020; 9(2): 64-73. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-64-73



УДК 577.21: 611.018.74:576.535.2

DOI 10.17802/2306-1278-2020-9-2-74-81

СРАВНЕНИЕ ПРОФИЛЯ ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ КОЛОНИЕФОРМИРУЮЩИХ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ИЗ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА И ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ

Е.А. Великанова¹ ✉, А.Г. Кутихин¹, В.Г. Матвеева¹, А.Е. Тупикин², М.Р. Кабилов², Л.В. Антонова¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Сосновский бульвар, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002; ²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, пр. академика Лаврентьева, 8, Новосибирск, Российская Федерация, 630090

Основные положения

- Колониеформирующие эндотелиальные клетки (КФЭК) рассматриваются как перспективная клеточная популяция для предварительной эндотелизации тканеинженерных медицинских изделий. При этом остается неясной степень сходства или различия между КФЭК и зрелыми сосудистыми эндотелиальными клетками, в том числе в отношении генной экспрессии. В то же время эта информация необходима для понимания перспективности длительного функционирования тканеинженерных изделий, заселенных КФЭК.
- Данная работа является первой попыткой масштабного сравнения профиля генной экспрессии КФЭК и культуры эндотелиальных клеток коронарной артерии человека, выбранных как пример зрелых эндотелиальных клеток.

Цель	Сравнительный анализ профиля генной экспрессии колониеформирующих эндотелиальных клеток и эндотелиальных клеток коронарной артерии человека на основе результатов полнотранскриптомного секвенирования.
Материалы и методы	Культура колониеформирующих эндотелиальных клеток получена из периферической крови пациентов, перенесших чрескожное коронарное вмешательство. Первичные эндотелиальные клетки коронарной артерии были приобретены у Cell Applications (300K-05a, США). Клетки лизированы тризолом с последующим выделением тотальной РНК и сопутствующей обработкой ДНК-Казой. Проводилась деплеция рРНК с дальнейшим конструированием ДНК-библиотек. Концентрация ДНК-библиотек определялась с помощью количественной полимеразной цепной реакции с детекцией результата в реальном времени на амплификаторе CFX96 Touch (Bio-Rad, США). Далее ДНК-библиотеки смешивались эквимолярно и секвенировались на платформе HiSeq 2000 (Illumina, США) с длиной парно-концевых прочтений 2 × 125 нуклеотидов.
Результаты	Полнотранскриптомное секвенирование продемонстрировало, что колониеформирующие эндотелиальные клетки были схожи с первичными эндотелиальными клетками коронарной артерии в отношении их профиля генной экспрессии, при этом гиперэкспрессировали специфичные маркеры всех направлений эндотелиальной дифференцировки (NRP2, NOTCH4, LYVE1), в особенности лимфатической (LYVE1), и обладали повышенной экспрессией генов компонентов внеклеточного матрикса и базальной мембраны (COL1A1, COL1A2, COL4A1, COL4A2).
Заключение	Базовый профиль генной экспрессии колониеформирующих эндотелиальных клеток близок к таковому у эндотелиальных клеток коронарной артерии, что свидетельствует о применимости колониеформирующих эндотелиальных клеток для заселения трубчатых полимерных каркасов перед имплантацией для улучшения их кратко- и долгосрочной проходимости.
Ключевые слова	Колониеформирующие эндотелиальные клетки • Мононуклеарная фракция периферической крови • Эндотелиальные клетки коронарной артерии • Генная экспрессия • Полнотранскриптомное секвенирование • Транскриптомное профилирование • Транскриптомные сигнатуры

Поступила в редакцию: 26.02.2020; поступила после доработки: 13.03.2020; принята к печати: 22.03.2020

Для корреспонденции: Елена Анатольевна Великанова, velikanova_ea@mail.ru; адрес: Сосновский бульвар, 6, Кемерово, Россия, 650002

Corresponding author: Elena A. Velikanova, velikanova_ea@mail.ru; address: 6, Sosnoviy blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

COMPARISON OF GENE EXPRESSION PROFILES OF HUMAN PERIPHERAL BLOOD DERIVED ENDOTHELIAL COLONY-FORMING CELLS AND CORONARY ARTERY ENDOTHELIAL CELLS

E.A. Velikanova¹ ✉, A.G. Kutikhin¹, V.G. Matveeva¹, A.E. Tupikin², M.R. Kabilov², L.V. Antonova¹

¹Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases", 6, Sosonoviy Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002; ²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 8, Lavrentiev Avenue, Novosibirsk, Russian Federation, 630090

Highlights

- Colony-forming endothelial cells (CFEC) are considered to be a promising cell population for preliminary endothelization of tissue-engineered medical devices. However, the degree of similarity/difference between CFEC and mature vascular endothelial cells, including relation to gene expression, remains unclear. At the same time, this information is necessary to understand the prospects for long-term functioning of tissue engineered products populated by CFEC.
- This study is the first attempt at a large-scale comparison of gene expression profiles of CFEC and endothelial cells culture of human coronary artery, selected as an example of mature endothelial cells.

Aim	To compare gene expression profiles of CFEC to human coronary artery endothelial cells, based on the results of whole transcriptome analysis.
Methods	CFEC were isolated from peripheral blood of patients during percutaneous coronary intervention. Human coronary artery endothelial cells were purchased from Cell Applications (300K-05a, USA). Cells were lysed with TRIzol with the following total RNA isolation and DNase treatment. Then rRNA depletion was performed, followed by DNA library preparation. DNA libraries were then quantified by qPCR (CFX96 Touch, Bio-Rad, USA), pooled in equimolar amounts and sequenced (HiSeq 2000, Illumina) using 2 × 125 bp chemistry.
Results	RNA-seq demonstrated that CFEC were generally similar to human coronary artery endothelial cells, regarding their global gene expression profile. However, CFEC overexpressed specific markers of all endothelial lineages (NRP2, NOTCH4, LYVE1), in particular, lymphatic EC (LYVE1) and had upregulated extracellular matrix and basement membrane genes (COL1A1, COL1A2, COL4A1, COL4A2).
Conclusion	Baseline gene expression in CFEC is close to that of human coronary artery endothelial cells, testifying about their utility for the seeding of tubular scaffolds before the implantation to improve their short- and long-term performance.
Keywords	Colony-forming endothelial cells • Peripheral blood mononuclear cells • Coronary artery endothelial cells • Gene expression • RNA-seq • Transcriptome profiling • Transcriptomic signatures

Received: 26.02.2020; received in revised form: 13.03.2020; accepted: 22.03.2020

Список сокращений

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота	РНК – рибонуклеиновая кислота
ДЭГ – дифференциально экспрессированные гены	ЭК – эндотелиальные клетки
КФЭК – колониеформирующие эндотелиальные клетки	НСАЕС – эндотелиальные клетки коронарной артерии
	RIN – индекс целостности РНК

Введение

Ограниченный выбор аутологичных сосудов, которые могут быть использованы при аортокоронарном шунтировании, определяет потребность в искусственных протезах сосудов малого диаметра. Наиболее перспективными представляются разработки тканеинже-

нерных кровеносных сосудов на основе биodeградируемого полимерного каркаса, которые предполагают постепенное замещение материала графта тканями образующегося на его месте сосуда [1].

Поскольку основной проблемой имеющихся на сегодняшний день разработок протезов сосудов

малого диаметра является тромбоз, чрезвычайно важное значение приобретает ранняя эндотелизация поверхности протеза [2–5], в том числе заселение поверхности эндотелиальными клетками (ЭК) в условиях *in vitro*.

Среди большого количества потенциальных источников клеток для заселения графтов привлекают внимание колониеформирующие эндотелиальные клетки (КФЭК), которые обладают высоким ангиогенным и пролиферативным потенциалом [6] и могут быть выделены из мононуклеарной фракции крови [7, 8]. В целом вопрос наиболее подходящего для использования в тканевой инженерии типа эндотелиальных клеток является дискуссионным. Артериальные, венозные и лимфатические ЭК имеют существенные различия в их транскриптомном, и степень гетерогенности ЭК является предметом активного изучения [9, 10]. Поскольку адекватное функционирование сосудистого протеза напрямую зависит от функционирования эндотелиального монослоя, обеспечивающего контроль тонуса сосудов и паракринную регуляцию гомеостаза [11, 12], важно соответствие выбранной культуры эндотелиальному фенотипу и профилю генной экспрессии, характерному для зрелых ЭК.

Для оценки применимости КФЭК для эндотелизации сосудистых графтов *in vitro* впервые изучен профиль генной экспрессии дифференцированных из мононуклеарной фракции периферической крови человека КФЭК в сравнении с первичными ЭК коронарной артерии (НСАЕС) методом полнотранскриптомного секвенирования.

Материалы и методы

Культивирование клеток

Дизайн исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБНУ «НИИ КПССЗ», пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Периферическая кровь (20 мл) получена у 8 пациентов, перенесших чрескожное коронарное вмешательство в ФГБНУ «НИИ КПССЗ» (Кемерово, Россия). Выделение и обогащение КФЭК проводилось по модифицированному протоколу M. Kolbe с соавт. [13]. КФЭК выделяли с использованием градиента фикола (Histopaque 1077, 10771, Sigma-Aldrich, США). Затем клетки ресуспендировали в культуральной среде EGM-2MV (CC-3202, Lonza, Швейцария), содержащей 5% фетальной бычьей сыворотки (SH3007103, NuClone, GE Healthcare, США) и высевали в покрытые коллагеном культуральные флаконы (356484, Corning, США). После недели культивирования клетки пересеивали в покрытые фибронектином планшеты (354402, Corning). Клетки снимали с поверхности раствором аккутазы (Sigma-Aldrich), дальнейший пересев производился по достижении 70–80% конfluence. Иммунофенотипирова-

ние и функциональный анализ полученной культуры КФЭК проводили на 19–22-е дни культивирования.

Первичные ЭК коронарной артерии человека приобретены у Cell Applications (300K-05a, США) и культивировались в соответствии с инструкцией производителя.

Полнотранскриптомное секвенирование

Для полнотранскриптомного секвенирования (RNA-seq) использовали КФЭК и НСАЕС в количестве приблизительно 10 млн клеток для каждой культуры. Клетки были лизированы тризолом (15596018, Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, США) с последующим выделением тотальной рибонуклеиновой кислоты (РНК) при помощи набора Purelink RNA Micro Scale Kit (12183016, Invitrogen) с сопутствующей обработкой ДНКазой (DNASE70, Sigma-Aldrich). Качество РНК контролировалось с помощью набора RNA 6000 Pico Kit (5067–1513, Agilent, США) на приборе Bioanalyzer 2100 (Agilent) по индексу целостности РНК (RNA integrity number, RIN). Оценка количества выделенной РНК проводилась на спектрофотометре NanoDrop 2000 (Thermo Scientific) и флуорометре Qubit 4 (Invitrogen). Для 1 мкг выделенной РНК проводилась деплеция рРНК посредством набора RiboCop rRNA Depletion Kit V1.2 (037.96, Lexogen, США) с дальнейшим конструированием ДНК-библиотек (дезоксирибонуклеиновой кислоты) при помощи набора SENSE Total RNA-Seq Library Prep Kit (042.96, Lexogen). Для каждого образца РНК использовался определенный баркод. Качество полученных ДНК-библиотек анализировалось с помощью набора High Sensitivity DNA Kit (5067–4626, Agilent) на приборе Bioanalyzer 2100 (Agilent). Концентрация ДНК-библиотек определялась с помощью количественной полимеразной цепной реакции с детекцией результата в реальном времени на амплификаторе CFX96 Touch (Bio-Rad, США). Далее ДНК-библиотеки смешивались эквимолярно и секвенировались на платформе HiSeq 2000 (Illumina, США) с длиной парно-концевых прочтений 2 × 125 нуклеотидов.

Полученные прочтения фильтровались по качеству (QV >20), длине (>20), также удалялись адаптерности с помощью программы TrimGalore v.0.4.4 (Babraham Bioinformatics, Babraham Institute, Великобритания). После фильтрации среднее количество ридов превышало 10 млн. Их картирование на геном человека (hg38) с аннотацией Ensembl (v.38.93) проводилось с использованием программы CLC GW 11.0 (Qiagen) со следующими параметрами: Similarity fraction = 0.8, Length fraction = 0.8, Mismatch cost = 2, Insertion cost = 3, Deletion cost = 3; в итоге получены файлы в формате .bam. Для оценки дифференциальной экспрессии генов (ДЭГ) использовался мультифакторный статистический анализ в программе CLC GW 11.0, основанный на отрицательной биномиальной модели.

Значение индекса целостности РНК (RIN), выделенной из вышеуказанных клеточных популяций, во всех случаях было не менее 8 (табл. 1), что свидетельствовало о ее высоком качестве и возможности использования для RNA-seq (рекомендуемое RIN ≥ 7). Количество полученной тотальной РНК во всех образцах составляло не менее 29 мкг, что было более чем достаточным для проведения деплеции рРНК (рекомендуется ≥ 1 мкг). В результате секвенирования ДНК-библиотек получены парные прочтения длиной 125 нуклеотидов, общий объем которых варьировал в диапазоне 1–4 млрд пар оснований, а покрытие составляло 9,5–42,7 млн ридов. После фильтрации прочтений по качеству и длине, а также удаления адаптеров их количество практически не изменилось. Картирование прочтений библиотек на геном человека показало, что не менее 97,2% ридов во всех образцах соответствовали геному человека. При этом большая часть (70,3–93,2%) прочтений приходилась на экзоны, т. е. белок-кодирующую часть генов.

Статистический анализ

Статистический анализ проведен в программе GraphPad Prism 8 (GraphPad Software). Группы сравнивались по U-критерию Манна – Уитни. Значения $p < 0,05$ признавались статистически значимыми.

При анализе различий между клеточными культурами статистически значимые ДЭГ определялись по кратности изменения ≥ 2 и скорректированному с учетом средней доли ложных отклонений гипотез (False discovery rate, FDR) значению $p < 0,05$. Анализ обогащения набора генов на основе «Генной онтологии» (Gene Ontology) проводился в категориях молекулярных функций, биологических процессов и клеточных компонентов с использованием Gene Set Test в CLC GW. При сравнении групп клеток в рассмотрении принимались категории с поддерж-

кой $p < 0,05$ (FDR) и отношением ДЭГ к общему количеству генов более 50%.

Результаты

Как показано нами ранее, полученная из периферической крови культура КФЭК обладала фенотипом эндотелиальных клеток, демонстрировала характерные функциональные особенности (образование микротубулярных структур, поглощение ацетилированных липопротеинов низкой плотности и связывание лектина) и выраженный пролиферативный потенциал [14].

Следующим этапом работы стал сравнительный анализ базового профиля генной экспрессии КФЭК и НСАЕС. Классификационный анализ полученных данных с использованием базы данных «Генной онтологии» в отношении функции кодируемых генами молекул выявил статистически значимые различия в профиле генной экспрессии лишь в отношении повышенной экспрессии генов, кодирующих рецепторы к VEGF (4 ДЭГ из 6 относящихся к данной категории) между КФЭК и НСАЕС (табл. 2). Статистически значимых различий между КФЭК и НСАЕС в отношении функции кодируемых генами составляющих клеточные компоненты белков и регулируемых генами биологических процессов не выявлено.

Анализ ДЭГ в отношении их функции в эндотелии показал, что КФЭК в сравнении с НСАЕС обладали более высокой базовой экспрессией генов, кодирующих панэндотелиальные маркеры KDR (в 2,2 раза) и VWF (в 3,9 раза) (кодируют VEGFR2 и фактор фон Виллебранда соответственно), характеристичный маркер эндотелиальных прогениторных клеток CD34 (в 23,9 раза), маркеры венозного эндотелия (ген *NRP2*, в 7,9 раза) и лимфатического эндотелия (гены *FLT4* и *LYVE1*, в 11,6 и 45,7 раза соответственно), а также субъединицы основного белка базальной мембраны эндотелия коллагена IV типа

Таблица 1. Контроль качества РНК, ДНК-библиотек и результатов секвенирования
Table 1. Quality control of RNA, DNA libraries, and RNA-seq results

Образец / Sample ID	РНК, мкг / RNA, μg	RIN	ДНК-библиотеки, нуклеотидов / DNA library average length, nucleotides	Покрытие, млн ридов / Coverage, million reads	Процент прочтений (hg38) / Percent of reads mapped to hg38	Процент прочтений (экзоны) / Percent of reads mapped to exons
<i>КФЭК / CFEC</i>						
P1	48,8	9,7	356	15,7	98,2	84,9
P2	34,0	9,2	354	14,5	98,4	84,5
P3	37,2	9,0	389	42,7	98,2	82,2
P4	31,8	9,4	360	9,5	98,2	84,1
<i>НСАЕС</i>						
K1	41,4	9,4	392	25,7	98,3	93,2
K2	32,4	9,5	359	18,5	98,4	88,7
K3	37,8	9,0	360	18,7	98,1	82,5
K4	31,2	9,4	396	10,6	97,2	86,3

Примечание: ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота; КФЭК – колониеформирующие эндотелиальные клетки; РНК – рибонуклеиновая кислота; НСАЕС – эндотелиальные клетки коронарной артерии; RIN – индекс целостности РНК.

Note: DNA – deoxyribonucleic acid; CFEC – colony-forming endothelial cells; HCAEC – human coronary artery endothelial cells; RIN – RNA integrity number; RNA – ribonucleic acid.

(*COL4A1* и *COL4A2*, в 2,5 и 3 раза соответственно) и субъединицы основного коллагена экстрацеллюлярного матрикса (*COL1A1* и *COL1A2*, в 926 и 43,5 раза соответственно). В свою очередь, НСАЕС характеризовались повышенной экспрессией гена транскрипционного фактора Notch-пути *HEY2* (в 523 раза), а также гена эндотелиальной нитрооксидсинтазы *NOS3* (в 4,9 раза) и гена *FLT1* (кодирует VEGFR1, в 3,9 раза).

Сравнение профиля генной экспрессии КФЭК и НСАЕС по мануально аннотированным категориям показало, что КФЭК гиперэкспрессируют гены, кодирующие белки, обеспечивающие развитие кровеносных сосудов (5 ДЭГ против 0 гиперэкспрессированных у НСАЕС), однако НСАЕС характеризуются большим количеством ДЭГ, кодирующих белки, ответственные за целостность эндотелиального барьера (15 против 8 гиперэкспрессированных у КФЭК); по остальным категориям значимых различий не выявлено.

Исходя из базового профиля дифференциально экспрессированных между двумя изученными популяциями эндотелиальных клеток генов можно предположить, что КФЭК характеризуются усиленным синтезом белков базальной мембраны (коллагена IV типа) и экстрацеллюлярного матрикса (коллагена I типа), а также экспрессируют маркеры всех трех направлений эндотелиальной дифференцировки (артериальной, венозной и лимфатической).

Обсуждение

КФЭК представляют собой клеточную популяцию, которая может быть получена из различных источников: периферической и пуповинной крови, плаценты [15–17], костного мозга [18], белой жировой ткани [19], периферической легочной ткани [20], индуцированных плюрипотентных стволовых или эмбриональных стволовых клеток [21]. Эта культура

характеризуется эндотелиальным иммунофенотипом ($CD31^+$, vWF^+ , KDR^+ , $CD146^+$, $CD45^-$), способностью к интернализации ацетилированных липопротеинов низкой плотности и связыванию агглютинаина *Ulex Europaeus*, а также выраженной васкулогенной и пролиферативной активностью [6, 22]. Сочетание эндотелиального фенотипа с высоким пролиферативным и неоваскуляризационным потенциалом позволяет рассматривать КФЭК как эффективный инструмент регенеративной медицины, в том числе предварительной эндотелизации и васкуляризации [23] тканеинженерных прототипов медицинских изделий. В то же время применимость КФЭК для вышеуказанных задач в значительной степени зависит от их сходства со зрелыми сосудистыми ЭК, к примеру НСАЕС, что особенно важно при заселении внутренней поверхности сосудистых графтов малого диаметра.

КФЭК ожидаемо были схожими с НСАЕС (470 ДЭГ). Анализ по категориям «Генной онтологии» не выявил значимых различий; в то же время мануальное аннотирование ДЭГ показало, что КФЭК гиперэкспрессируют маркеры всех трех направлений эндотелиальной дифференцировки (KDR , vWF , $CD34$, $NRP2$, $FLT4$ и $LYVE1$) в сравнении с НСАЕС. Такой тип экспрессии подразумевает, что КФЭК могут быть дифференцированы в артериальный, венозный или лимфатический эндотелий и ближе к последнему, чем к НСАЕС вследствие более высокой экспрессии маркера лимфатического эндотелия $LYVE1$. Более того, КФЭК гиперэкспрессировали маркер венозного эндотелия $NRP2$ в сравнении со НСАЕС, предполагая их промежуточную иерархию между артериальными и венозными ЭК. Это подтверждается повышенной экспрессией генов *COL1A1*, *COL1A2*, *COL4A1* и *COL4A2* в КФЭК по сравнению с НСАЕС, что свидетельствует о повышенном синтезе КФЭК компонентов эндотелиальной базальной мембраны.

Таблица 2. Анализ обогащения набора генов на основе «Генной онтологии» для ДЭГ между КФЭК и НСАЕС (соотношение ДЭГ к общему количеству генов в термине более 50%)

Table 2. Functional enrichment analysis of DEGs between CFEC and HCAEC according to the GO categories (only categories with the proportion of DEGs within the GO term to the total number of genes within the GO term > 50% showed)

Термин GO / GO term	Количество ДЭГ внутри термина / Number of differentially expressed genes within the GO term	Общее количество генов внутри термина / Total number of genes within the GO term	Доля ДЭГ внутри термина от общего количества генов в термине / Proportion of DEGs within the GO term to the total number of genes within the GO term
<i>Классификация генов в отношении функции кодируемых ими молекул / GO Molecular function</i>			
Активность VEGF-активируемых рецепторов / Vascular endothelial growth factor-activated receptor activity	4	6	66,7%
<i>Классификация генов в отношении функции регулируемых ими биологических процессов / GO Biological process</i>			
Регуляция пролиферации мезангиальных клеток клубочков / Regulation of glomerular mesangial cell proliferation	3	5	60%

Примечание: ДЭГ – дифференциально экспрессированные гены; КФЭК – колониеформирующие эндотелиальные клетки; НСАЕС – эндотелиальные клетки коронарной артерии.

Note: DEGs – differentially expressed genes; CFEC – colony-forming endothelial cells; GO – Gene Ontology; HCAEC – human coronary artery endothelial cells.

Заключение

Базовый профиль генной экспрессии колониеформирующих эндотелиальных клеток близок к таковому у эндотелиальных клеток коронарной артерии и связан с проявлением эндотелиального фенотипа. Показана повышенная способность КФЭК к организации эндотелиальной базальной мембраны. Следовательно, колониеформирующие эндотелиальные клетки могут быть подходящей клеточной популяцией для эндотелизации биодеградируемых сосудистых графтов *in vitro*.

Конфликт интересов

Е.А. Великанова заявляет об отсутствии конфликта

интересов. А.Г. Кутихин заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.Г. Матвеева заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Е. Тупикин заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.Р. Кабилов заявляет об отсутствии конфликта интересов. Л.В. Антонова заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование проведено в рамках гранта РФФИ № 17-75-20004 «Разработка физиологически обоснованной технологии изготовления персонифицированного тканеинженерного сосудистого импланта малого диаметра *in vitro* в условиях имитации естественного кровотока с использованием клеточных технологий».

Информация об авторах

Великанова Елена Анатольевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной и клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-1079-1956

Кутихин Антон Геннадьевич, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией фундаментальных аспектов атеросклероза отдела экспериментальной и клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-8679-4857

Матвеева Вера Геннадьевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной и клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4146-3373

Тупикин Алексей Евгеньевич, младший научный сотрудник Центра коллективного пользования «Геномика» федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8194-0322

Кабилев Марсель Расимович, кандидат биологических наук, руководитель Центра коллективного пользования «Геномика» федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-2777-0833

Антонова Лариса Валерьевна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клеточных технологий отдела экспериментальной и клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8874-0788

Вклад авторов в статью

BEA – вклад в дизайн исследования, получение данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Author Information Form

Velikanova Elena A., PhD, researcher at the Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental and Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-1079-1956

Kutikhin Anton G., PhD, Head of the Laboratory of Fundamental Aspects of Atherosclerosis, Department of Experimental and Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-8679-4857

Matveeva Vera G., PhD, senior researcher at the Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental and Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4146-3373

Tupikin Alexey E., research assistant at the Center for Collective Use “Genomics”, Federal State Budgetary Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8194-0322

Kabilov Marcel R., PhD, Head of the Center for Collective Use “Genomics”, Federal State Budgetary Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-2777-0833

Antonova Larisa V., PhD, Head of the Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental and Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8874-0788

Author Contribution Statement

VEA – contribution to the design of the study, data collection, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content;

КАГ – вклад в дизайн исследования, анализ и интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

МВГ – получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ТАЕ – получение и анализ данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

КМР – вклад в дизайн исследования, анализ данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

АЛВ – анализ и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

KAG – contribution to the design of the study, data analysis and interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content;

MVG – data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content;

TAE – data collection and analysis, editing, approval of the final version, fully responsible for the content;

KMR – contribution to the design of the study, data analysis, editing, approval of the final version, fully responsible for the content;

ALV – data analysis and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Song H.G., Rumma R.T., Ozaki C.K., Edelman E.R., Chen C.S. Vascular Tissue Engineering: Progress, Challenges, and Clinical Promise. *Cell Stem Cell*. 2018;22(3):340-354. doi: 10.1016/j.stem.2018.02.009.
2. Antonova L.V., Sevostyanova V.V., Mironov A.V., Krivkina E.O., Velikanova E.A., Matveeva V.G., Glushkova T.V., Elgudin Y.L., Barbarash L.S. In situ vascular tissue remodeling using biodegradable tubular scaffolds with incorporated growth factors and chemoattractant molecules. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2018;7(2):25-36.
3. Tara S., Rocco K.A., Hibino N., Sugiura T., Kurobe H., Breuer C.K., Shinoka T. Vessel bioengineering. *Circ J*. 2014;78(1):12-9. doi: 10.1253/circj.CJ-13-1440.
4. Dimitrievska S., Niklason L.E. Historical Perspective and Future Direction of Blood Vessel Developments. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018;8(2): pii: a025742. doi: 10.1101/cshperspect.a025742.
5. Radke D., Jia W., Sharma D., Fena K., Wang G., Goldman J., Zhao F. Tissue Engineering at the Blood-Contacting Surface: A Review of Challenges and Strategies in Vascular Graft Development. *Adv Healthc Mater*. 2018;7(15):e1701461. doi: 10.1002/adhm.201701461.
6. Joo H.J., Song S., Seo H.R., Shin J.H., Choi S.C., Park J.H., Yu C.W., Hong S.J., Lim D.S. Human endothelial colony forming cells from adult peripheral blood have enhanced sprouting angiogenic potential through up-regulating VEGFR2 signaling. *Int J Cardiol*. 2015;197:33-43. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.06.013.
7. Ren X., Feng Y., Guo J., Wang H., Li Q., Yang J., Hao X., Lv J., Ma N., Li W. Surface modification and endothelialization of biomaterials as potential scaffolds for vascular tissue engineering applications. *Chem Soc Rev*. 2015;44(15):5680-742. doi: 10.1039/c4cs00483c.
8. Mead L.E., Prater D., Yoder M.C., Ingram D.A. Isolation and characterization of endothelial progenitor cells from human blood. *Curr Protoc Stem Cell Biol*. 2008;Chapter 2:Unit 2C.1. doi: 10.1002/9780470151808.sc02c01s6.
9. Yoder M.C., Mead L.E., Prater D., Krier T.R., Mroueh K.N., Li F., Krasich R., Temm C.J., Prchal J.T., Ingram D.A. Redefining endothelial progenitor cells via clonal analysis and hematopoietic stem/progenitor cell principals. *Blood*. 2007;109(5):1801-9. doi: 10.1182/blood-2006-08-043471.
10. Hauser S., Jung F., Pietzsch J. Human Endothelial Cell Models in Biomaterial Research. *Trends Biotechnol*. 2017;35(3):265-277. doi: 10.1016/j.tibtech.2016.09.007.
11. Dejana E., Hirschi K.K., Simons M. The molecular basis of endothelial cell plasticity. *Nat Commun*. 2017;8:14361. doi: 10.1038/ncomms14361.
12. Campagnolo P., Tsai T.N., Hong X., Kirton J.P., So P.W., Margariti A., Di Bernardini E., Wong M.M., Hu Y., Stevens M.M., Xu Q. c-Kit+ progenitors generate vascular cells for tissue-engineered grafts through modulation of the Wnt/Klf4 pathway. *Biomaterials*. 2015;60:53-61. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.04.055.
13. Kolbe M., Dohle E., Katerla D., Kirkpatrick C.J., Fuchs S. Enrichment of outgrowth endothelial cells in high and low colony-forming cultures from peripheral blood progenitors. *Tissue Eng Part C Methods*. 2010;16(5):877-86. doi: 10.1089/ten.TEC.2009.0492.
14. Matveeva V.G., Ханова М.Ю., Великанова Е.А., Антонова Л.В., Сардин Е.С., Крутицкий С.С., Барбараш О.Л. Возможность получения и характеристика колониеформирующих эндотелиальных клеток из периферической крови пациентов с ишемической болезнью сердца. *Цитология* 2018; 60(8): 598-608
15. Denecke B., Horsch L.D., Radtke S., Fischer J.C., Horn P.A., Giebel B. Human endothelial colony-forming cells expanded with an improved protocol are a useful endothelial cell source for scaffold-based tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med*. 2015;9(11):E84-97. doi: 10.1002/term.1673.
16. Rapp B.M., Saadatzedeh M.R., Ofstein R.H., Bhavsar J.R., Tempel Z.S., Moreno O., Morone P., Booth D.A., Traktuev D.O., Dalsing M.C., Ingram D.A., Yoder M.C., March K.L., Murphy M.P. Resident Endothelial Progenitor Cells From Human Placenta Have Greater Vasculogenic Potential Than Circulating Endothelial Progenitor Cells From Umbilical Cord Blood. *Cell Med*. 2011;2(3):85-96. doi: 10.3727/215517911X617888.
17. Patel J., Seppanen E., Chong M.S., Yeo J.S., Teo E.Y., Chan J.K., Fisk N.M., Khosrotehrani K. Prospective surface marker-based isolation and expansion of fetal endothelial colony-forming cells from human term placenta. *Stem Cells Transl Med*. 2013;2(11):839-47. doi: 10.5966/sctm.2013-0092.
18. Solomon I., O'Reilly M., Ionescu L., Alphonse R.S., Rajabali S., Zhong S., Vadivel A., Shelley W.C., Yoder M.C., Thébaud B. Functional Differences Between Placental Micro- and Macrovascular Endothelial Colony-Forming Cells. *Stem Cells Transl Med*. 2016;5(3):291-300. doi: 10.5966/sctm.2014-0162.
19. Yu S., Li Z., Zhang W., Du Z., Liu K., Yang D., Gong S. Isolation and characterization of endothelial colony-forming cells from mononuclear cells of rat bone marrow. *Exp Cell Res*. 2018;370(1):116-126. doi: 10.1016/j.yexcr.2018.06.013.
20. Lin R.Z., Moreno-Luna R., Muñoz-Hernandez R., Li D., Jaminet S.C., Greene A.K., Melero-Martin J.M. Human white adipose tissue vasculature contains endothelial colony-forming cells with robust in vivo vasculogenic potential. *Angiogenesis*. 2013;16(4):735-44. doi: 10.1007/s10456-013-9350-0.
21. Alphonse R.S., Vadivel A., Zhong S., Mc Conaghy S., Ohls R., Yoder M.C., Thébaud B. The isolation and culture of endothelial colony-forming cells from human and rat lungs. *Nat Protoc*. 2015;10(11):1697-708. doi: 10.1038/nprot.2015.107.
22. Prasain N., Lee M.R., Vemula S., Meador J.L., Yoshimoto M., Ferkowicz M.J., Fett A., Gupta M., Rapp B.M., Saadatzedeh M.R., Ginsberg M., Elemento O., Lee Y., Voytik-Harbin S.L., Chung H.M., Hong K.S., Reid E., O'Neill C.L., Medina R.J., Stitt A.W., Murphy M.P., Rafii S., Broxmeyer H.E., Yoder M.C. Differentiation of human pluripotent stem cells to cells similar to cord-blood endothelial colony-forming cells. *Nat Biotechnol*. 2014;32(11):1151-1157. doi: 10.1038/nbt.3048.
23. Jaffe E.A., Nachman R.L., Becker C.G., Minick C.R. Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria. *J Clin Invest*. 1973;52(11):2745-56. doi: 10.1172/JC1107470.

REFERENCES

- Song H.G., Rumma R.T., Ozaki C.K., Edelman E.R., Chen C.S. Vascular Tissue Engineering: Progress, Challenges, and Clinical Promise. *Cell Stem Cell*. 2018;22(3):340-354. doi: 10.1016/j.stem.2018.02.009.
- Antonova L.V., Sevostyanova V.V., Mironov A.V., Krivkina E.O., Velikanova E.A., Matveeva V.G., Glushkova T.V., Elgudin Y.L., Barbarash L.S. In situ vascular tissue remodeling using biodegradable tubular scaffolds with incorporated growth factors and chemoattractant molecules. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2018;7(2):25-36.
- Tara S., Rocco K.A., Hibino N., Sugiura T., Kurobe H., Breuer C.K., Shinoka T. Vessel bioengineering. *Circ J*. 2014;78(1):12-9. doi: 10.1253/circj.CJ-13-1440.
- Dimitrievska S., Niklason L.E. Historical Perspective and Future Direction of Blood Vessel Developments. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018;8(2): pii: a025742. doi: 10.1101/cshperspect.a025742.
- Radke D., Jia W., Sharma D., Fena K., Wang G., Goldman J., Zhao F. Tissue Engineering at the Blood-Contacting Surface: A Review of Challenges and Strategies in Vascular Graft Development. *Adv Healthc Mater*. 2018;7(15):e1701461. doi: 10.1002/adhm.201701461.
- Joo H.J., Song S., Seo H.R., Shin J.H., Choi S.C., Park J.H., Yu C.W., Hong S.J., Lim D.S. Human endothelial colony forming cells from adult peripheral blood have enhanced sprouting angiogenic potential through up-regulating VEGFR2 signaling. *Int J Cardiol*. 2015;197:33-43. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.06.013.
- Ren X., Feng Y., Guo J., Wang H., Li Q., Yang J., Hao X., Lv J., Ma N., Li W. Surface modification and endothelialization of biomaterials as potential scaffolds for vascular tissue engineering applications. *Chem Soc Rev*. 2015;44(15):5680-742. doi: 10.1039/c4cs00483c.
- Mead L.E., Prater D., Yoder M.C., Ingram D.A. Isolation and characterization of endothelial progenitor cells from human blood. *Curr Protoc Stem Cell Biol*. 2008;Chapter 2:Unit 2C.1. doi: 10.1002/9780470151808.sc02c01s6.
- Yoder M.C., Mead L.E., Prater D., Krier T.R., Mroueh K.N., Li F., Krasich R., Temm C.J., Prchal J.T., Ingram D.A. Redefining endothelial progenitor cells via clonal analysis and hematopoietic stem/progenitor cell principals. *Blood*. 2007;109(5):1801-9. doi: 10.1182/blood-2006-08-043471.
- Hauser S., Jung F., Pietzsch J. Human Endothelial Cell Models in Biomaterial Research. *Trends Biotechnol*. 2017;35(3):265-277. doi: 10.1016/j.tibtech.2016.09.007.
- Dejana E., Hirschi K.K., Simons M. The molecular basis of endothelial cell plasticity. *Nat Commun*. 2017;8:14361. doi: 10.1038/ncomms14361.
- Campagnolo P., Tsai T.N., Hong X., Kirton J.P., So P.W., Margariti A., Di Bernardini E., Wong MM, Hu Y, Stevens MM, Xu Q. c-Kit⁺ progenitors generate vascular cells for tissue-engineered grafts through modulation of the Wnt/Klf4 pathway. *Biomaterials*. 2015;60:53-61. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.04.055.
- Kolbe M., Dohle E., Katerla D., Kirkpatrick C.J., Fuchs S. Enrichment of outgrowth endothelial cells in high and low colony-forming cultures from peripheral blood progenitors. *Tissue Eng Part C Methods*. 2010;16(5):877-86. doi: 10.1089/ten.TEC.2009.0492.
- Matveeva V.G., Khanova M. Yu., Velikanova E.A., Antonova L.V., Sardin E.S., Krutitsky S.S., Barbarash O.L. Isolation and characteristics of colony-forming endothelial cells from peripheral blood in patients with ischemic heart disease. *Tsitologiya*. 2018; 60(8): 598-608 (In Russian)
- Denecke B., Horsch L.D., Radtke S., Fischer J.C., Horn P.A., Giebel B. Human endothelial colony-forming cells expanded with an improved protocol are a useful endothelial cell source for scaffold-based tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med*. 2015;9(11):E84-97. doi: 10.1002/term.1673.
- Rapp B.M., Saadatzedeh M.R., Ofstein R.H., Bhavsar J.R., Tempel Z.S., Moreno O., Morone P., Booth D.A., Traktuev D.O., Dalsing M.C., Ingram D.A., Yoder M.C., March K.L., Murphy M.P. Resident Endothelial Progenitor Cells From Human Placenta Have Greater Vasculogenic Potential Than Circulating Endothelial Progenitor Cells From Umbilical Cord Blood. *Cell Med*. 2011;2(3):85-96. doi: 10.3727/215517911X617888.
- Patel J., Seppanen E., Chong M.S., Yeo J.S., Teo E.Y., Chan J.K., Fisk N.M., Khosrotehrani K. Prospective surface marker-based isolation and expansion of fetal endothelial colony-forming cells from human term placenta. *Stem Cells Transl Med*. 2013;2(11):839-47. doi: 10.5966/sctm.2013-0092.
- Solomon I., O'Reilly M., Ionescu L., Alphonse R.S., Rajabali S., Zhong S., Vadivel A., Shelley W.C., Yoder M.C., Thébaud B. Functional Differences Between Placental Micro- and Macrovascular Endothelial Colony-Forming Cells. *Stem Cells Transl Med*. 2016;5(3):291-300. doi: 10.5966/sctm.2014-0162.
- Yu S., Li Z., Zhang W., Du Z., Liu K., Yang D., Gong S. Isolation and characterization of endothelial colony-forming cells from mononuclear cells of rat bone marrow. *Exp Cell Res*. 2018;370(1):116-126. doi: 10.1016/j.yexcr.2018.06.013.
- Lin R.Z., Moreno-Luna R., Muñoz-Hernandez R., Li D., Jaminet S.C., Greene A.K., Melero-Martin J.M. Human white adipose tissue vasculature contains endothelial colony-forming cells with robust in vivo vasculogenic potential. *Angiogenesis*. 2013;16(4):735-44. doi: 10.1007/s10456-013-9350-0.
- Alphonse R.S., Vadivel A., Zhong S., Mc Conaghy S., Ohls R., Yoder M.C., Thébaud B. The isolation and culture of endothelial colony-forming cells from human and rat lungs. *Nat Protoc*. 2015;10(11):1697-708. doi: 10.1038/nprot.2015.107.
- Prasain N., Lee M.R., Vemula S., Meador J.L., Yoshimoto M., Ferkowicz M.J., Fett A., Gupta M., Rapp B.M., Saadatzedeh M.R., Ginsberg M., Elemento O., Lee Y., Voytk-Harbin S.L., Chung H.M., Hong K.S., Reid E., O'Neill C.L., Medina R.J., Stitt A.W., Murphy M.P., Rafii S., Broxmeyer H.E., Yoder M.C. Differentiation of human pluripotent stem cells to cells similar to cord-blood endothelial colony-forming cells. *Nat Biotechnol*. 2014;32(11):1151-1157. doi: 10.1038/nbt.3048.
- Jaffe E.A., Nachman R.L., Becker C.G., Minick C.R. Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria. *J Clin Invest*. 1973;52(11):2745-56. doi: 10.1172/JC1107470.

Для цитирования: Е.А. Великанова, А.Г. Кутихин, В.Г. Матвеева, А.Е. Тупикин, М.Р. Кабилов, Л.В. Антонова. Сравнение профиля генной экспрессии колониеформирующих эндотелиальных клеток из периферической крови человека и эндотелиальных клеток коронарной артерии. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2020; 9 (2): 74-81. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-74-81

To cite: E.A. Velikanova, A.G. Kutikhin, V.G. Matveeva, A.E. Tupikin, M.R. Kabilov, L.V. Antonova. Comparison of gene expression profiles of human peripheral blood derived endothelial colony-forming cells and coronary artery endothelial cells. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2020; 9 (2): 74-81. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-74-81



УДК 616-092.19:571.27

DOI 10.17802/2306-1278-2020-9-2-82-90

РОЛЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-КЛЕТОК В СИСТЕМНОМ ВОСПАЛИТЕЛЬНОМ ОТВЕТЕ

М.Ю. Ханова ✉, В.Г. Матвеева, Л.В. Антонова, Е.В. Григорьев

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Сосновский бульвар, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Основные положения

- В статье проанализированы данные литературы о роли регуляторных Т-клеток в патогенезе системного воспалительного ответа, в частности в формировании индуцированной иммуносупрессии. Регуляторные Т-клетки оцениваются как предиктор и диагностический маркер.

Резюме

Системный воспалительный ответ – сложный мультисиндромный, фазоспецифичный патологический процесс, развивающийся при системном повреждении. Исход во многом зависит от баланса разнонаправленных последовательных стадий: гипертвспалительной реакции и компенсаторного противовоспалительного механизма. Регуляторные Т-клетки (Tregs) способны ограничивать адаптивные и врожденные иммунные реакции и вносить свой вклад в различные этапы системного воспалительного ответа. На начальной гипертвспалительной стадии Tregs способны ограничивать аутогенное повреждение. Однако в последующем Tregs способствуют развитию компенсаторного противовоспалительного механизма и формированию индуцированной иммуносупрессии, которая предрасполагает к высокой восприимчивости к нозокомиальным и оппортунистическим инфекциям с последующим переходом в полиорганную недостаточность. Регуляторные Т-клетки и их функциональные изменения рассматриваются как диагностические и прогностические маркеры осложнений системного воспалительного ответа.

Ключевые слова Системный воспалительный ответ • Регуляторные Т-клетки • Иммуносупрессия

Поступила в редакцию: 29.01.2020; поступила после доработки: 16.02.2020; принята к печати: 30.02.2020

ROLE OF REGULATORY T-CELLS IN THE SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE SYNDROME

M.Yu. Khanova ✉, V.G. Matveeva, L.V. Antonova, E.V. Grigoriev

Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, 6, Sosnoviy Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

Highlights

- The article presents a literature review of the recent data on the role of regulatory T-cells in the pathogenesis of systemic inflammatory response syndrome and induced immunosuppression. Tregs are considered as a predictor and diagnostic marker.

Abstract

Systemic inflammatory response syndrome is a complex multisyndromic, phase-specific pathological process that develops with systemic damage. Outcomes largely depend on the balance of multidirectional sequential stages: hyper-inflammatory reaction and compensatory anti-inflammatory response syndrome (CARS). Regulatory T-cells (Tregs) are able to regulate adaptive and innate immune responses and contribute to the various stages of the systemic inflammatory response syndrome. At the initial hyperinflammatory stage, Tregs are able to limit self-inflicted damage. At the same time, Tregs contribute to CARS and the formation of induced immunosuppression, predisposing to a high susceptibility

Для корреспонденции: Ханова Марьям Юрисовна, khanovam@gmail.com; адрес: Сосновский бульвар, 6, Кемерово, Россия, 650002

Corresponding author: Mariam Yu. Khanova, khanovam@gmail.com; address: 6, Sosnoviy blvd., Kemerovo, 650002, Russian Federation

to nosocomial and opportunistic infections, with subsequent transition to multiple organ dysfunction syndrome. Regulatory T-cells and their functional changes are considered as predictors and prognostic markers of critical illness.

Keywords

Systemic inflammatory response syndrome • Regulatory T-cells • Immunosuppression

Received: 29.01.2020; received in revised form: 16.02.2020; accepted: 30.02.2020

Список сокращений

АТФ	– аденозинтрифосфата	PAMPs	– патоген-ассоциированные паттерны
цАМФ	– циклический аденозинмонофосфат	PD-1	– запрограммированная смерть клетки-1
APC	– антигенпрезентирующая клетка	SIRS	– системный воспалительный ответ
CARS	– компенсаторный противовоспалительный механизм	Teff	– эффекторная Т-клетка
CD	– кластер дифференцировки	TGF- β	– трансформирующий фактор роста- β
DAMPs	– паттерны, ассоциированные с повреждением	Treg	– регуляторная Т-клетка
DAMPs	– паттерны, ассоциированные с повреждением	tTregs	– тимические регуляторные Т-клетки
DC	– дендритная клетка	pTregs	– периферические регуляторные Т-клетки
IL	– интерлейкин	TLR	– toll-подобные рецепторы
NK	– натуральный киллер		

Введение

Системный воспалительный ответ (Systemic inflammatory response syndrom, SIRS) – неспецифическая, генерализованная реакция организма на тяжелую травму, инфекционный процесс, искусственное кровообращение и прочие состояния.

Начальная гиперовоспалительная стадия, называемая «цитокинным штормом», сопровождается значительным выбросом провоспалительных цитокинов и вследствие своей избыточности вызывает побочное клеточно-опосредованное повреждение тканей. Параллельно с гиперовоспалительной реакцией и в целях ограничения аутогенного повреждения включается компенсаторный противовоспалительный механизм (Compensatory antiinflammatory response syndrome, CARS) отрицательной обратной связи, который стремится восстановить гомеостаз [1]. Противовоспалительный ответ в случае чрезмерной выраженности и пролонгированного течения вызывает развитие глубокой иммуносупрессии, которая предрасполагает к высокой восприимчивости к нозокомиальным и оппортунистическим инфекциям с последующим переходом в полиорганную недостаточность.

Регуляторные Т-клетки (Regulatory T cells, Tregs) благодаря супрессорным свойствам способны ограничивать воспаление и контролировать иммунный гомеостаз, однако при SIRS они становятся важными участниками в развитии и поддержании индуцированной иммуносупрессии.

Биологические характеристики Tregs

Tregs – это субпопуляция CD4⁺ (cluster of differentiation, кластер дифференцировки) Т-лимфо-

цитов, основной функцией которой является регуляция иммунных реакций на патогены, аллергены и аутоантигены [2]. Популяция Tregs активно изучается биологами, фундаменталистами и клиническими иммунологами, поэтому для формирования более четких критериев были разработаны номенклатурные рекомендации [3]. Согласно рекомендациям, среди популяций Tregs выделяют два основных типа клеток, отличающихся онтогенезом: тимические регуляторные Т-клетки (Thymus-derived Tregs, tTregs) и периферические регуляторные Т-клетки (Peripherally derived tregs, pTregs), которые физиологически продуцируются нормальным тимусом и являются высокоспециализированной популяцией клеток-супрессоров [4]. Кроме того, встречается описание еще одной популяции, которая генерируется *in vitro* и получила соответствующее название индуцированных *in vitro* регуляторных Т-клеток (*in vitro* induced Tregs).

tTregs дифференцируются и созревают в тимусе, их фенотип характеризуется как CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺. Далее tTregs мигрируют во вторичные лимфоидные ткани, где выполняют свою задачу по формированию периферической аутоотолерантности путем элиминации аутореактивных клонов лимфоцитов в циркулирующем пуле лимфоцитов [5].

pTregs активируются антигеном во вторичных лимфоидных органах и тканях из наивных Т-клеток. При иммунном ответе pTregs дифференцируются под влиянием трех типов стимулов: TCR-сигнала (T-cell receptor, Т-клеточный рецептор), сигнала ко-стимулирующей молекулы и действия цитокинов (TGF- β и IL-2). Основная функция pTregs – поддержание иммунного гомеостаза на локальном уровне в различных тканях.

В конце 1960-х г. впервые предложена концепция обратной отрицательной регуляции иммунных ответов и идентифицированы CD8⁺ Т-клетки, обладающие супрессорной активностью [6]. Позднее в 1995 г. S Sakaguchi и соавт. обнаружили субпопуляцию CD4⁺ Т-клеток, предотвращающую аутоиммунные заболевания. Фенотип данных клеток был описан как CD4⁺ CD25⁺, и они получили название «Т-регуляторные клетки». Молекула CD25, α-цепь рецептора интерлейкина-2 (Interleukin-2 receptor subunit alpha, IL-2Rα), предложена в качестве одного из первых маркеров для детекции Tregs [7]. Однако у человека Tregs определяются высокой экспрессией CD25, тогда как средние уровни экспрессии характеризуют активированные Т-клетки [7, 8]. Однозначная связь с супрессорной активностью CD4⁺ CD25⁺ Tregs доказана только для транскрипционного фактора FOXP3 (Forkhead transcription factor), который является критическим регулятором дифференцировки и функциональной активности Tregs [9].

Таким образом, фенотип Tregs характеризуется постоянной экспрессией на мембране клетки CD25 и внутриклеточной экспрессией белка гена *Foxp3* [10]. Внутриклеточная локализация ключевого маркера Tregs *Foxp3* усложняет его идентификацию. Поиск специфических маркеров для Tregs показал, что поверхностный рецептор CD127 (α-цепь рецептора IL-7) является хорошей альтернативной *Foxp3* [11, 12] и позволяет идентифицировать Tregs с помощью комбинации CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻. Отсутствие экспрессии CD127 (α-цепь рецептора IL-7) на Tregs помогает отличить их от эффекторных Т-клеток (Effector T cells, Teffs) [13]. Тем не менее в зависимости от поставленных исследователем целей и задач для типирования Tregs используют различные сочетания маркеров и стратегии гейтирования (CD4⁺ CD25⁺; CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺; CD4⁺ FOXP3⁺ и т. д.).

Для детализации функциональных характеристик и локализации популяций Tregs дополнительно исследуют ряд функциональных молекул: ко-стимулирующие CTLA-4, GITR и PD-1, эндонуклеазы CD39 и CD73, маркер пролиферации ядерный белок Ki67, CD147 и CD156 активационные маркеры, ряд Toll-подобных рецепторов (Toll-like receptor, TLR), CD103 (E-интегрин) и CD62L (L-селектин), который является «рецептором хоминга» для лимфоцитов, проникающих в лимфоидные ткани.

Механизмы супрессии Tregs

Активированные Tregs способны подавлять активность различных типов иммунных клеток, включая субпопуляции Т-клеток CD4⁺ и CD8⁺, В-клетки, НК-клетки (Natural killer cells), NKT-клетки (Natural killer T cells), макрофаги, моноциты и дендритные клетки (Dendritic cells, DCs) [14, 15]. Tregs, как высокоспециализированные иммунные супрессоры,

способны регулировать иммунные ответы с помощью различных механизмов.

Так, Tregs способны продуцировать противовоспалительные цитокины: трансформирующий фактор роста-β (Transforming growth factor beta, TGF-β), IL-10, IL-35. Неоспоримая роль этих цитокинов в иммуносупрессии подтверждается в экспериментальных моделях воспалительных заболеваний. IL-35 является недавно идентифицированным членом семейства IL-12, который способен ингибировать пролиферацию Т-клеток. Исследования на мышцах показывают, что отсутствие синтеза IL-35 Tregs снижает их супрессорную функцию в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [16]. TGF-β ингибирует активность гена *IL-2* Т-клеток, поэтому действует как антипролиферативный фактор для Т-лимфоцитов [18]. TGF-β активирует апоптоз лимфоцитов благодаря индукции экспрессии проапоптического белка *Bim*. Снижение пролиферации и стимуляция апоптоза лимфоцитов способствуют подавлению иммунной реакции организма. В эксперименте показано, что у TGF-β-дефицитных мышей развивается спонтанное мультифокальное воспалительное заболевание [17]. IL-10 является цитокином с множественными pleiotropic эффектами при иммунорегуляции и воспалении. IL-10 способен ингибировать активацию и эффекторную функцию Т-клеток, антигенпрезентирующую способность моноцитов и макрофагов, а также синтез провоспалительных цитокинов, продуцируемых клетками, такими как макрофаги и Th1. IL-10 играет ключевую роль в дифференцировке Tregs [19]. В случае дефицита IL-10 развивается хроническое воспаление [20]. Tregs индуцируют регуляторный потенциал Т-клеток, стимулируя синтез IL-10 [36]. Показано, что основным источником продукции IL-10 являлись CD4⁺ Т-клетки, а не CD8⁺ Т-клетки, макрофаги, дендритные клетки, В-клетки или гранулоциты.

Tregs могут модулировать иммунный ответ через DCs, ингибируя их антигенпрезентирующую способность или способствуя секреции противовоспалительных факторов. Так, в эксперименте *in vitro*, Tregs человека способствовали повышенной секреции IL-10 и снижению экспрессии CD80 и HLA-DR на DCs [21].

Tregs через путь CTLA-4-CD80 / CD86 индуцируют в DCs высвобождение индоламина 2,3-диоксигеназы (Indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO), которая является мощной регуляторной молекулой, ингибирующей активацию Teffs. Чем выше уровень экспрессии CTLA-4 на Tregs, тем выше индукция IDO [22].

Еще один поверхностный антиген, который может играть роль в Treg-подавлении функции антигенпрезентирующих клеток (Antigen-presenting cells, APCs), является лимфоцитарный активационный ген-3 (Lymphocyte activation gen 3, LAG-3),

CD4-гомолог, который связывает молекулы комплекса гистосовместимости II на APCs с высоким сродством подавляет созревание и иммуностимулирующую функцию DCs [23].

Основным механизмом подавления функции Teffs регуляторными Т-клетками является CTLA-4-зависимое блокирование костимуляции через молекулу CD28 [24]. В основе этого механизма лежат конкуренция Tregs и Teffs за взаимодействие с APCs. CTLA-4 связывается со своим лигандом (CD80 / CD86) с большим сродством, чем CD28. Далее CTLA-4 удаляет CD80 / CD86 с поверхности DCs посредством трансэндоцитоза с последующей внутриклеточной деградацией, предотвращая ко-стимуляцию Teffs [25].

Tregs способны контролировать иммунные реакции различных популяций клеток: CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, моноцитов, DCs [26, 27], NKs и NKT-клеток, гранулоцитов [29]. Цитотоксичность обеспечивается гранзимом, который секретируется Tregs вместе с перфорирующим белком перфорином, чтобы обеспечить апоптоз в клетках-мишенях. tTregs экспрессируют гранзим А и небольшое количество гранзима В, тогда как pTregs – в основном гранзим В.

Способность Tregs генерировать и накапливать высокие уровни циклического АМФ (цАМФ) позволяет транспортировать его в клетки-мишени через щелевые соединения, формируемые белками-коннексами. цАМФ способен снижать экспрессию ко-стимулирующих молекул на DCs и ингибировать пролиферацию и секрецию цитокинов Т-клетками [29, 30]. Пуринергический механизм индуцирования апоптоза Teffs основывается на конвертации регуляторными Т-клетками аденозинтрифосфата (АТФ) и аденозиндифосфата в аденозин с помощью эктоэнзима CD39 / CD73 [31]. Распознавание аденозина активирует в Teffs цАМФ, который индуцирует апоптоз. Внеклеточный АТФ высвобождается из апоптических и некротических клеток, является провоспалительной молекулой и относится к паттернам, ассоциированным с повреждением (Damage-associated molecular patterns, DAMPs) [32, 33]. Аденозин в свою очередь является противовоспалительным агентом [31], соответственно, трансформация внеклеточного АТФ в аденозин обуславливает противовоспалительную способность Tregs. Примечательно, что внеклеточный АТФ, активируя пуринергические рецепторы P2, оказывает противоположный эффект на активированные Т-клетки по сравнению с Tregs. Так, высокие концентрации АТФ ингибируют активацию Т-клеток за счет усиления апоптоза, уменьшения пролиферации, клеточной адгезии и высвобождения критических провоспалительных цитокинов. Тогда как Tregs под влиянием высоких концентраций АТФ активно пролиферируют, мигрируют, по-

вышается их способность к адгезии к различным типам клеток и супрессорная активность [34].

Еще один супрессорный механизм Tregs основан на конкуренции с Teffs за связывание IL-2 – главного цитокина, необходимого для активации и пролиферации лимфоцитов. В условиях депривации цитокина индуцируется апоптоз. Конкуренция обусловлена конститутивно высоким уровнем экспрессии CD25 – рецептора к IL-2 [35].

Механизм подавления эффекторных Т-клеток также опосредуется рецептором запрограммированной смерти клетки-1 (Programmed cell death 1, PD-1). PD-1 является отрицательной ко-ингибирующей молекулой, которая экспрессируется на поверхности активированных лимфоцитов, миелоидных клеток и DCs. PD-1 (CD279) относится к семейству CD28 / CTLA-4 и взаимодействует с двумя лигандами PD-L1 и PD-L2, при этом индуцирует апоптоз Т-клеток антиген-специфическим образом. PD-L1 представлен на Т- и В-лимфоцитах, DCs, макрофагах, также активированных Tregs.

PD-1 на Т-клетках является ингибирующей молекулой, тогда как PD-1 обеспечивает PD-L1-сигнал на Tregs, который регулирует развитие и функциональную активность Tregs. PD-L1 действительно высоко экспрессируется на Tregs. В эксперименте *in vitro* продемонстрирована критическая роль PD-L1 в регуляции индукции CD4⁺ Foxp3⁺ Tregs из наивных Т-клеток. PD-L1 индуцирует экспрессию Foxp3, усиливает супрессорную активность Tregs *in vitro*. PD-L1 повышает эффективность Tregs опосредованной супрессии Teffs. Также *in vivo* продемонстрировано, что дефицит PD-L1 приводит к нарушению развития популяции pTregs *de novo*, что приводит к развитию фатального воспалительного заболевания [37].

Плотность рецепторов PD-1 на Tregs выше, чем на CD4⁺ Т-клетках, однако PD-1 не регулирует их фенотип и не требуется для развития tTregs. PD-1 положительно регулирует дифференцировку pTregs, но не регулирует опосредуемую Tregs супрессию пролиферации Т-клеток *in vitro* или *in vivo* [38].

Роль Tregs в критических состояниях и их клиническая ценность

В модели течения критических состояний, предложенной R.C. Bone, выживаемость зависит от баланса между разнонаправленными провоспалительными и противовоспалительными иммунными ответами. Превалирование SIRS над CARS способно вызывать раннюю летальность у пациентов палат интенсивной терапии, в более отсроченный период преобладание CARS вызывает индуцированную иммуносупрессию с высоковероятной последующей полиорганной недостаточностью [1].

Устойчивая иммуносупрессия проявляется как продолжительная неспособность формировать

полноценный иммунный ответ. Большое количество исследований SIRS и индуцированной иммуносупрессии выполнено на септических моделях или описано у пациентов с сепсисом, тогда как механизмы стерильного SIRS и его осложнений изучены недостаточно. Тем не менее известно, что в патогенезе иммуносупрессии, индуцированной инфекционным и стерильным SIRS, важная роль отводится Tregs.

Роль Tregs различается в зависимости от периода течения SIRS. Так, положительное влияние Tregs заключается в ограничении на раннем этапе воспалительных иммунных реакций и сопутствующего повреждения тканей, тем самым они регулируют иммунный гомеостаз и способствуют противовоспалительным компенсаторным механизмам. Tregs вносят свой вклад в CARs через подавление Teffs и продукцию ингибирующих цитокинов.

Негативное влияние Tregs связано с усугублением иммуносупрессии при дальнейшем развитии CARs. Treg-опосредованный противовоспалительный ответ способствует ослаблению антимикробного (антиинфекционного) иммунитета и, как следствие, формирует низкую резистентность критических пациентов к оппортунистическим инфекциям.

SIRS индуцируется различными критическими состояниями, включая стерильный SIRS, сепсис, ишемию/реперфузию, тяжелое ожоговое повреждение, тяжелую травму. При SIRS на ранних этапах основным активирующим агентом выступают DAMPs, при сепсисе роль активаторов выполняют как PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns, патоген-ассоциированные паттерны), так и DAMPs. При попадании во внеклеточную среду PAMPs или DAMPs идентифицируются посредством паттерн-распознающих рецепторов различными клетками врожденного иммунитета, включая PMN-гранулоциты, NK-клетки, макрофаги и DCs. PAMPs и DAMPs могут связываться различными паттерн-распознающими рецепторами, включая внутриклеточные NOD-подобные рецепторы, мембранные TLRs, мембранные scavenger-рецепторы (рецепторы-мусорщики). В качестве PAMPs выступают консервативные структуры микроорганизмов, не имеющие строгой видоспецифичности. DAMPs – это молекулы эндогенного происхождения, которые являются маркерами тканевого повреждения, сигнализирующими о наличии продуктов тканевой деградации, белков теплового шока, белка S100A, некоторых ядерных белков, фрагментов РНК и ДНК (в том числе митохондриальных ДНК), мембранных фосфолипидов, мочевой кислоты, тканевых факторов и ряда других продуктов повреждения клеток и межклеточного матрикса.

Tregs способны активироваться как антигеном через APCs, так и напрямую, неспецифически распознавая PAMPs и DAMPs. На своей поверхности

Tregs экспрессируют ряд TLRs (TLR-2, TLR-4, TLR-5, TLR-7, TLR-8, которые экспрессируются селективно) [39], что позволяет неспецифически распознавать паттерны (PAMPs и DAMPs) и ускоряет процесс подключения к регуляции иммунного ответа.

Показано *in vitro*, что стимуляция LPS через молекулу рецептора TLR4 увеличивает экспрессию поверхностных маркеров активации Tregs (CD69, CD80, CD44, CD38), индуцирует пролиферацию и активирует супрессорную функцию. Способность напрямую активировать Tregs бактериальным продуктом свидетельствует о поликлональной активации этих клеток во время инфекции. Более того, Tregs-активированные LPS эффективно подавляют воспаление при переносе мышам дефицитным Т-клетками [40]. Также T.J. Murphy и коллеги показали способность Tregs регулировать индуцированный микробным агентом воспалительный ответ врожденной иммунной системы после ожоговой травмы [41].

Исследование M. Hanschen и др. позволяет предположить, что Tregs могут специфически реагировать на травму. Показано, что ожоговая травма способна индуцировать раннюю TCR-сигнализацию Tregs у мышей, которая, по-видимому, опосредуется исключительно с помощью CD4⁺ Tregs [42]. N.N. Choileain и соавт. показали, что Tregs мышей после ожоговой травмы могут более эффективно блокировать пролиферацию CD4⁺ Т-клеток, чем Tregs мышей группы контроля [43]. Также обнаружено, что Tregs способны активно подавлять активность Th1 (Т helper type 1 cells) [43, 44]. На лабораторных животных продемонстрировано, что ожоговая травма может усилить супрессорную функцию Tregs, приводя к подавлению иммунного ответа Th1-типа, который возникает после тяжелой травмы [43].

О функциональной роли Tregs в клинически значимой модели сепсиса не сложилось единого мнения. На модели полимикробного сепсиса описано повышение выживаемости животных после введения Tregs [45]. Этому противоречат результаты исследования F. Hein и коллег, которые, моделируя септический шок у мышей, не наблюдали влияния Tregs на выживаемость и продукцию цитокинов [46].

Количественные изменения Tregs на различных этапах течения SIRS

Описаны общие тенденции увеличения относительного количества CD4⁺ Tregs у пациентов сразу после наступления септического шока, в то время как их абсолютное число оставалось ниже, чем у здоровых добровольцев [47, 48]. Примечательно, что у септических пациентов относительный уровень Tregs был выше, чем у пациентов с SIRS [46, 49]. При SIRS относительное количество Tregs увеличивается по сравнению со здоровыми донорами,

хотя достоверных различий не обнаружено [50, 51]. Эту тенденцию попытались объяснить F. Venet и коллеги, наблюдавшие сразу после септического шока относительное увеличение Tregs за счет уменьшения количества CD4⁺ CD25⁻ Т-клеток, предположив, что Tregs обладают устойчивостью к апоптозу, возникающему во время септического шока [48].

Увеличение количества Tregs осуществляется несколькими способами. Во-первых, активацией из наивных CD4⁺ Т-клеток, во-вторых, за счет потенциальной дифференцировки из Th17 в Tregs во время бактериальных инфекций [52]. Также значительное увеличение Tregs может быть обусловлено экспансией Tregs или возможной миграцией этих клеток из иммунологически активных участков, находящихся под влиянием травмы [51].

На более поздних этапах описывают повышение относительного содержания Tregs у септических пациентов и у пациентов с SIRS [46, 51]. При этом относительное содержание Tregs обратно коррелировало с тяжестью шока. Независимо от этиологии шока отмечена общая динамика относительного количества Tregs [46]. Сразу после септического шока относительное содержание Tregs было схожим у выживших и погибших пациентов. К 7-м сут. в группе летальности наблюдалось значительное увеличение Tregs по сравнению с группой выживаемости, разница была статистически значимой. Уровни содержания Tregs на 7-й день и разница между 7-м и 1-м днями (Δ Tregs) показали их значение как ценных биомаркеров у пациентов с сепсисом [53]. G. Monperet и коллеги в своем исследовании продемонстрировали, что у септических пациентов в группе летальности наблюдалось более высокое содержание CTLA4⁺ Tregs [47].

В плазме пациентов в группе сепсиса и SIRS обнаружено значительное увеличение уровня растворимого CD25 относительно контрольной группы. Выявлена положительная корреляция между уровнем растворимого CD25 и относительным содержанием Tregs [50].

Показано, что уровень экспрессии CD39 на Tregs позволяет выделить субпопуляцию CD39⁺ Tregs, обладающую наиболее мощной функцией подавления иммунного ответа [54]. Другая исследовательская группа определила, что уровень экспрессии CD39⁺ на Tregs у пациентов с сепсисом был выше, чем у пациентов с SIRS, и положительно коррелировал с тяжестью заболевания (по шкале SOFA). В процессе выздоровления у пациентов с сепсисом наблюдалось значительное снижение уровней CD39⁺ Tregs. Экспрессия CD39⁺ на Tregs является предиктором летальности септических пациентов [49].

Treg-опосредованное изменение цитокинового профиля на различных этапах течения SIRS

На раннем этапе сепсиса и SIRS преобладает

уровень защитного иммунитета Th1-типа, что характеризуется значительным повышением уровня IFN γ (Interferon gamma) и IL-4 в плазме пациентов по сравнению с относительно здоровыми донорами. Существенной разницы в уровне содержания IFN γ и IL-4 у пациентов с сепсисом и SIRS не обнаружено [50].

У пациентов на поздней стадии SIRS наблюдается смещение цитокинового профиля в сторону противовоспалительной популяции Th2 (Th1 \rightarrow Th2). Провоспалительные Th1 характеризуются продукцией таких цитокинов, как IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF α , IFN- γ и др., тогда как Th2 синтезируют набор противовоспалительных цитокинов IL-1ra, IL-4, IL-10, IL-11, IL-13. Tregs проявляют выраженный противовоспалительный эффект за счет непосредственного ингибирования других иммунных клеток и высокого уровня продуцирования IL-10.

М.Р. MacConnara и др. показали, что ожоговая травма вызывает значительные изменения профиля цитокинового синтеза Т-клетками, в частности Tregs вырабатывают более высокие уровни цитокинов Th2-типа (IL-4, IL-5, IL-10) и приобретают повышенную способность подавлять синтез IFN γ CD4⁺ Т-клетками. Ожоговая травма индуцирует Treg-опосредованное ингибирование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, которое значительно увеличилось с 1-го по 7-й день у пациентов после травмы [51].

Заключение

SIRS является сложным патологическим процессом, который продолжают активно изучать, тем не менее остается множество спорных вопросов. Один из таких вопросов связан со значением и особенностями индуцирования иммуносупрессии при SIRS стерильной и инфекционной этиологии, а также влияния иммуносупрессии на течение SIRS и формирование осложнений. Регуляторные Т-клетки являются высокоспециализированными иммунными супрессорами, способными ограничивать адаптивные и врожденные иммунные реакции, что предполагает их важную роль в формировании индуцированной иммуносупрессии. Дальнейшие исследования этого вопроса позволят определить значение Tregs в патогенезе иммуносупрессии и формировании тяжелых осложнений не только при сепсисе, но и стерильном SIRS, что создаст базу для диагностики, мониторинга и предсказания возможных инфекционных осложнений при SIRS, а также поможет сформировать тактику ведения данной категории пациентов палат интенсивной терапии.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы

НИИ КПССЗ № 0546-2015-0011 «Патогенетическое обоснование разработки имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».

Информация об авторах

Ханова Марьям Юрисовна, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8826-9244

Матвеева Вера Геннадьевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4146-3373

Антонова Лариса Валерьевна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клеточных технологий федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8874-0788

Григорьев Евгений Валерьевич, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной и лечебной работе, ведущий научный сотрудник федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-8370-3083

Вклад авторов в статью

ХМЮ – интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

МВГ – интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

АЛВ – существенный вклад в концепцию и дизайн статьи, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ГЕВ – интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Конфликт интересов

М.Ю. Ханова заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.Г. Матвеева заявляет об отсутствии конфликта интересов. Л.В. Антонова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.В. Григорьев входит в редакционную коллегию журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний».

Author Information Form

Khanova Mariam Yu., research assistant at the Laboratory of Cell Technologies, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8826-9244

Matveeva Vera G., PhD, senior researcher at the Laboratory of Cell Technologies, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4146-3373

Antonova Larisa V., PhD, Head of the Laboratory of Cell Technologies, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8874-0788

Grigoriev Evgeny V., PhD, Professor of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director for Scientific and Medical Issues, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-8370-3083

Author Contribution Statement

KhMYu – data interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

MVG – data interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

ALV – significant contribution to the concept and design of the study, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

GEV – data interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Bone R.C. Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS). *Ann Intern Med.* 1996; 125 (8): 680–687. doi: 10.7326/0003-4819-125-8-199610150-00009
2. Sakaguchi S., Sakaguchi N., Shimizu J., Yamazaki S., Sakihama T., Itoh M., Kuniyasu Y., Nomura T., Toda M., Takahashi T. Immunologic tolerance maintained by CD25+ CD4+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunol Rev.* 2001; 182 (1): 18–32. doi:10.1034/j.1600-065X.2001.1820102.x
3. Abbas A.K., Benoist C., Bluestone J.A., Campbell D.J., Ghosh S., Hori S., Jiang S., Kuchroo V.K., Mathis D., Roncarolo M.G., Rudensky A., Sakaguchi S., Shevach E.M., Vignali D.A., Ziegler S.F. Regulatory T cells: recommendations to simplify the nomenclature. *Nat Immunol.* 2013; 14 (4): 307–308. doi:10.1038/ni.2554. DOI: 10.1038/ni.2554
4. Fehervari Z., Sakaguchi S. CD4(+) Tregs and immune control. *Clin. Invest.* 2004; 114 (9): 1209–1217. doi:10.1172/JCI200423395
5. Sakaguchi S. Naturally arising CD4+ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of

- immune responses. *Annu Rev Immunol.* 2004; 22: 531–562. doi:10.1146/annurev.immunol.21.120601.141122
6. Gershon R.K., Kondo K. Infectious immunological tolerance. *Immunology.* 1971; 21 (6): 903–914.
 7. Sakaguchi S., Sakaguchi N., Asano M., Itoh M., Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α -chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. Immunol.* 1995; 155: 1151–1164.
 8. Baecher-Allan C., Brown J.A., Freeman G.J., Hafler D.A. CD4+CD25high regulatory cells in human peripheral blood. *J. Immunol.* 2001; 167 (3): 1245–1253. doi:10.4049/jimmunol.167.3.1245
 9. Yagi H., Nomura T., Nakamura K., Yamazaki S., Kitawaki T., Hori S., Maeda M., Onodera M., Uchiyama T., Fujii S., Sakaguchi S. Crucial role of FOXP3 in the development and function of human CD4+CD25+ regulatory T cells. *Int. Immunol.* 2004; 16 (11): 1643–1656. doi:10.1093/intimm/dxh165
 10. Jiang S., Lechler R.I., He X.S., Huang J.F. Regulatory T cells and transplantation tolerance. *Hum. Immunol.* 2006; 67 (10): 765–776. doi:10.1016/j.humimm.2006.07.013
 11. Liu W., Putnam A.L., Xu, Yu Z., Szot G.L., Lee M.R., Zhu S., Gottlieb P.A., Kapranov P., Gingeras T.R., Fazekas de St Groth B., Clayberger C., Soper D.M., Ziegler S.F., Bluestone J.A. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4+ T reg cells. *J. Exp. Med.* 2006; 203 (7): 1701–1711. doi:10.1084/jem.20060772
 12. Shen L.S., Wang J., Shen D.F., Yuan X.L., Dong P., Li M.X., Xue J., Zhang F.M., Ge H.L., Xu D. CD4+CD25+CD127low/- regulatory T cells express Foxp3 and suppress effector T cell proliferation and contribute to gastric cancers progression. *Clin Immunol.* 2009; 131 (1): 109–118. doi:10.1016/j.clim.2008.11.010
 13. Banham A.H. Cell-surface IL-7 receptor expression facilitates the purification of FOXP3(+) regulatory T cells. *Trends Immunol.* 2006; 27 (12): 541–544. doi:10.1016/j.it.2006.10.002
 14. Taams L.S., Van Amelsfort J.M., Tiemessen M.M., Jacobs K.M., de Jong E.C., Akbar A.N., Bijlsma J.W., Lafeber F.P. Modulation of monocyte/macrophage function by human CD4+CD25+ regulatory T cells. *Hum Immunol.* 2005; 66 (3): 222–230. doi:10.1016/j.humimm.2004.12.006
 15. Piccirillo C.A., Shevach E.M. Cutting edge: control of CD8+ T cell activation by CD4+CD25+ immunoregulatory cells. *J. Immunol.* 2001; 167 (3): 1137–1140. doi:10.4049/jimmunol.167.3.1137
 16. Collison L.W., Workman C.J., Kuo T.T., Boyd K., Wang Y., Vignali K.M., Cross R., Sehy D., Blumberg R.S., Vignali D.A. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature.* 2007; 450 (7169): 566–569. doi:10.1038/nature06306
 17. Shull M.M., Ormsby I., Kier A.B., Pawlowski S., Diebold R.J., Yin M., Allen R., Sidman C., Proetzel G., Calvin D., Annunziata N., Doetschman T. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor- β 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature.* 1992; 359 (6397): 693–699. doi:10.1038/359693a0
 18. Brabletz T., Pfeuffer I., Schorr E., Siebelt F., Wirth T., Serfling E. Transforming growth factor β and cyclosporin A inhibit the inducible activity of the interleukin-2 gene in T cells through a noncanonical octamer-binding site. *Mol Cell Biol.* 1993; 13 (2): 1155–1162. doi:10.1128/MCB.13.2.1155
 19. Moore K.W., de Waal Malefyt R., Coffman R.L., O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol.* 2001; 19: 683–765. doi:10.1146/annurev.immunol.19.1.683
 20. Kühn R., Löhler J., Rennick D., Rajewsky K., Müller W. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell.* 1993; 75 (2): 263–274. doi:10.1016/0092-8674(93)80068-P
 21. Misra N., Bayry J., Lacroix-Desmazes S., Kazatchkine M.D., Kaveri S.V. Cutting edge: human CD4+CD25+ T cells restrain the maturation and antigen-presenting function of dendritic cells. *J. Immunol.* 2004; 172 (8): 4676–4680. doi:10.4049/jimmunol.172.8.4676
 22. Grohmann U., Orabona C., Fallarino F., Vacca C., Calcinaro F., Falorni A., Candeloro P., Belladonna M.L., Bianchi R., Fioretti M.C., Puccetti P. CTLA-4-Ig regulates tryptophan catabolism in vivo. *Nature Immunology.* 2002; 3 (11): 1097–1101. doi:10.1038/ni846
 23. Liang B., Workman C., Lee J., Chew C., Dale B.M., Colonna L., Flores M., Li N., Schweighoffer E., Greenberg S., Tybulewicz V., Vignali D., Clynes R. Regulatory T cells inhibit dendritic cells by lymphocyte activation gene-3 engagement of MHC class II. *J. Immunol.* 2008; 180 (9): 5916–5926. doi:10.4049/jimmunol.180.9.5916
 24. Walker L.S. K., Sansom D.M. The emerging role of CTLA4 as a cell-extrinsic regulator of T cell responses. *Nature Reviews Immunology.* 2011; 11: 852–863. doi:10.1038/nri3108
 25. Qureshi O.S., Zheng Y., Nakamura K., Attridge K., Manzotti C., Schmidt E.M., Baker J., Jeffery L.E., Kaur S., Briggs Z., Hou T.Z., Futter C.E., Anderson G., Walker L.S.K., Sansom D.M. Trans-endocytosis of CD80 and CD86: a molecular basis for the cell extrinsic function of CTLA-4. *Science.* 2011; 332 (6029): 600–603. doi:10.1126/science.1202947
 26. Gondek D.C., Lu L.F., Quezada S.A., Sakaguchi S., Noelle R.J. Cutting Edge: contact-mediated suppression by CD4+CD25+ regulatory cells involves a granzyme B-dependent, perforin-independent mechanism. *J. Immunol.* 2005; 174 (4): 1783–1786. doi:10.4049/jimmunol.174.4.1783
 27. Grossman W.J., Verbsky J.W., Barchet W., Collona M., Atkinson J.P., Ley T.J. Human T regulatory cells can use the perforin pathway to cause autologous target cell death. *Immunity.* 2004; 21 (4): 589–601. doi:10.1016/j.immuni.2004.09.002
 28. Trzonkowski P., Szmit E., Mysliwska J., Dobyszek A., Mysliwski A. CD4+CD25+ T regulatory cells inhibit cytotoxic activity of T CD8+ and NK lymphocytes in the direct cell-to-cell interaction. *Clin Immunol.* 2004; 112 (3): 258–267. doi:10.1016/j.clim.2004.04.003
 29. Rueda C.M., Jackson C.M., Choungnet C.A. Regulatory T-cell-mediated suppression of conventional T-cells and dendritic cells by different cAMP intracellular pathways. *Front Immunol.* 2016; 7: 216. doi:10.3389/fimmu.2016.00216
 30. Kobie J.J., Shah P.R., Yang L., Rebhahn J.A., Fowell D.J., Mosmann T.R. T regulatory and primed uncommitted CD4 T cells express CD73, which suppresses effector CD4 T cells by converting 5'-adenosine monophosphate to adenosine. *J. Immunol.* 2006; 177 (10): 6780–6786. doi:10.4049/jimmunol.177.10.6780
 31. Takenaka M.C., Robson S., Quintana F.J. Regulation of the T cell response by CD39. *Trends Immunol.* 2016; 37 (7): 427–439. doi:10.1016/j.it.2016.04.009
 32. Chen G.Y., Nuñez G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nat Rev Immunol.* 2010; 10 (12): 826–837. doi:10.1038/nri2873
 33. Cauwels A., Rogge E., Vandendriessche B., Shiva S., Brouckaert P. Extracellular ATP drives systemic inflammation, tissue damage and mortality. *Cell Death Dis.* 2014; 5: e1102. doi:10.1038/cddis.2014.70
 34. TrabANELLI S., Očadlíková D., Gulinelli S., Curti A., Salvestrini V., Vieira R.P., Idzko M., Di Virgilio F., Ferrari D., Lemoli R.M. Extracellular ATP exerts opposite effects on activated and regulatory CD4+ T cells via purinergic P2 receptor activation. *J. Immunol.* 2012; 189 (3): 1303–1310. doi:10.4049/jimmunol.1103800
 35. Pandiyan P., Zheng L., Ishihara S., Reed J., Lenardo M.J. CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells induce cytokine deprivation-mediated apoptosis of effector CD4+ T cells. *Nature Immunology.* 2007; 8, 1353–1362. doi:10.1038/ni1536
 36. Kearley J., Barker J.E., Robinson D.S., Lloyd C.M. Resolution of airway inflammation and hyperreactivity after in vivo transfer of CD4+ CD25+ regulatory T cells is interleukin 10 dependent. *J. Exp. Med.* 2005; 202 (11): 1539–1547. doi:10.1084/jem.20051166

37. Francisco L.M., Salinas V.H., Brown K.E., Vanguri V.K., Freeman G.J., Kuchroo V.K., Sharpe A.H. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. *J Exp Med*. 2009; 206 (13): 3015–3029. doi:10.1084/jem.20090847
38. Chen X., Fosco D., Kline D.E., Meng L., Nishi S., Savage P.A., Kline J. PD-1 regulates extrathymic regulatory T-cell differentiation. *Eur J Immunol*. 2014; 44 (9): 2603–2616. doi:10.1002/eji.201344423
39. Sakaguchi S. Control of immune responses by naturally arising CD4+ regulatory T cells that express toll-like receptors. *J Exp Med*. 2003; 197 (4): 397–401. doi:10.1084/jem.20030012
40. Caramalho I., Lopes-Carvalho T., Ostler D., Zelenay S., Haury M., Demengeot J. Regulatory T cells selectively express toll-like receptors and are activated by lipopolysaccharide. *J Exp Med*. 2003; 197 (4): 403–411. doi:10.1084/jem.20021633
41. Murphy T.J., Ni Choileain N., Zang Y., Mannick J.A., Lederer J.A. CD4+CD25+ regulatory T cells control innate immune reactivity after injury. *Immunol*. 2005; 174 (5): 2957–2963. doi:10.4049/jimmunol.174.5.2957
42. Hanschen M., Tajima G., O'Leary F., Ikeda K., Lederer J.A. Injury induces early activation of T-cell receptor signaling pathways in CD4+ regulatory T cells. *Shock* 2011; 35 (3): 252–257. doi:10.1097/SHK.0b013e3181f489c5
43. Choileain N.N., MacConmara M., Zang Y., Murphy T.J., Mannick J.A., Lederer J.A. Enhanced regulatory T cell activity is an element of the host response to injury. *J Immunol*. 2006; 176 (1): 225–236. doi:10.4049/jimmunol.176.1.225
44. MacConmara M.P., Tajima G., O'Leary F., Delisle A.J., McKenna A.M., Stallwood C.G., Mannick J.A., Lederer J.A. Regulatory T cells suppress antigen-driven CD4 T cell reactivity following injury. *J Leukoc Biol*. 2011; 89 (1): 137–147. doi:10.1189/jlb.0210082
45. Heuer J.G., Zhang T., Zhao J., Ding C., Cramer M., Justen K.L., Vonderfecht S.L., Na S. Adoptive transfer of in vitro-stimulated CD4+CD25+ regulatory T cells increases bacterial clearance and improves survival in polymicrobial sepsis. *J Immunol*. 2005; 174 (11): 7141–7146. doi:10.4049/jimmunol.174.11.714
46. Hein F., Massin F., Cravoisy-Popovic A., Barraud D., Levy B., Bollaert P.E., Gibot S. The relationship between CD4+CD25+CD127- regulatory T cells and inflammatory response and outcome during shock states. *Crit Care*. 2010; 14 (1): R19. doi:10.1186/cc8876
47. Monneret G., Debard A.L., Venet F., Bohe J., Hequet O., Biennu J., Lepape A. Marked elevation of human circulating CD4+CD25+ regulatory T cells in sepsis-induced immunoparalysis. *Crit Care Med*. 2003; 31 (7): 2068–2071. doi:10.1097/01.CCM.0000069345.78884.0F
48. Venet F., Pachot A., Debard A.L., Bohe J., Biennu J., Lepape A., Monneret G. Increased percentage of CD4+CD25+ regulatory T cells during septic shock is due to the decrease of CD4+CD25- lymphocytes. *Crit Care Med*. 2004; 32 (11): 2329–2331. doi:10.1097/01.CCM.0000145999.42971.4B
49. Huang H., Xu R., Lin F., Bao C., Wang S., Ji C., Li K., Jin L., Mu J., Wang Y., Li L., Sun L., Xu B., Zhang Z., Wang F.S. High circulating CD39+ regulatory T cells predict poor survival for sepsis patients. *Int J Infect Dis*. 2015; 30: 57–63. doi:10.1016/j.ijid.2014.11.006
50. Leng F.Y., Liu J.L., Liu Z.J., Yin J.Y., Qu H.P. Increased proportion of CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells during early-stage sepsis in ICU patients. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2013; 46 (5): 338–344. doi:10.1016/j.jmii.2012.06.012
51. MacConmara M.P., Maung A.A., Fujimi S., MacConmara M.P., Maung A.A., Fujimi S., McKenna A.M., Delisle A., Lapchak P.H., Rogers S., Lederer J.A., Mannick J.A. Increased CD4+ CD25+ T regulatory cell activity in trauma patients depresses protective Th1 immunity. *Ann Surg*. 2006; 244 (4): 514–523. doi:10.1097/01.sla.0000239031.06906.1f
52. Köhlhorn F., Rath M., Schmoekel K., Cziupka K., Nguyen H.H., Hildebrandt P., Hünig T., Sparwasser T., Huehn J., Pötschke C., Bröker B.M. Foxp3+ regulatory T cells are required for recovery from severe sepsis. *PLoS One*. 2013; 8 (5): e65109. doi:10.1371/journal.pone.0065109
53. Deaglio S., Dwyer K.M., Gao W., Friedman D., Usheva A., Erat A., Chen J.F., Enjyoji K., Linden J., Oukka M., Kuchroo V.K., Strom T.B., Robson S.C. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. *J Exp Med*. 2007; 204 (6): 1257–1265. doi:10.1084/jem.20062512
54. Chen K., Zhou Q.X., Shan H.W., Li W.F., Lin Z.F. Prognostic value of CD4+ CD25+ Tregs as a valuable biomarker for patients with sepsis in ICU. *World J Emerg Med*. 2015; 6 (1): 40–43. doi:10.5847/wjem.j.1920-8642.2015.01.007

Для цитирования: М.Ю. Ханова, В.Г. Матвеева, Л.В. Антонова, Е.В. Григорьев. Роль регуляторных Т-клеток в системном воспалительном ответе. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2020; 9 (2): 82-90. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-82-90

To cite: M.Yu. Khanova, V.G. Matveeva, L.V. Antonova, E.V. Grigoriev. Role of regulatory T-cells in the systemic inflammatory response syndrome. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2020; 9 (2): 82-90. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-82-90

УДК 616.13.002.2-004.6

DOI 10.17802/2306-1278-2020-9-2-91-101

МЕТАБОЛИЗМ ХОЛЕСТЕРИНА В МАКРОФАГАХ

В.А. Хотина¹ ✉, В.Н. Сухоруков³, Д.А. Каширских¹, И.А. Собенин², А.Н. Орехов^{1,3}

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», ул. Балтийская 8, Москва, Российская Федерация, 125315; ²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. 3-я Черепковская 15А, Москва, Российская Федерация, 121552; ³Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт морфологии человека», ул. Цюрупы 3, Москва, Российская Федерация, 117418

Основные положения

- Липиды играют ключевую роль в регуляции функционирования макрофагов в патогенезе атеросклероза.
- Точные механизмы образования пенистых клеток из макрофагов в результате накопления липидов остаются до конца невыясненными ввиду сложности регуляции гомеостаза клеточного холестерина.
- В обзоре описаны основные участники и регуляторы метаболизма липидов в макрофагах.

Резюме

Нарушение метаболизма липидов может приводить к развитию патологических процессов. Атеросклероз является хроническим заболеванием, которое характеризуется атеросклеротическими поражениями в результате накопления липидов в стенках магистральных сосудов. Из-за накопления холестерина внутри атеросклеротических поражений макрофаги дифференцируются в пенистые клетки. Поглощение липидов макрофагами может осуществляться рецептор-зависимым путем, в котором принимают участие рецепторы к липопротеинам низкой плотности и скэвенджер-рецепторы SR-A, CD36 и LOX-1, а также рецептор-независимым – за счет пино- и фагоцитоза. Внутриклеточную регуляцию липидов осуществляют различные ферменты, такие как АСАТ-1 и NСЕН, ферменты путей биосинтеза и окисления жирных кислот, а также транскрипционные факторы – SREBP, Nrf1 и Nrf2. В регуляции оттока холестерина из клеток решающую роль играют липопротеины высокой плотности и такие белки-переносчики, как ABCA1, ABCG1 и SR-BI. Регуляцию всех участников метаболизма липидов осуществляют различные сигнальные киназные пути, активирующие множество транскрипционных факторов – LXR, RXR, PPAR γ , NF- κ B и другие. Нарушение регуляции процессов внутриклеточного метаболизма, дисбаланс поглощения и оттока холестерина из макрофагов в конечном счете приводят к их дифференцировке в пенистые клетки. Цель данного обзора состоит в описании известных механизмов метаболизма липидов в макрофагах, приводящих к превращению этих клеток в пенистые.

Ключевые слова

Холестерин • Метаболизм • Макрофаги • Атеросклероз • Липопротеины низкой плотности

Поступила в редакцию: 01.04.2020; поступила после доработки: 22.04.2020; принята к печати: 15.05.2020

CHOLESTEROL METABOLISM IN MACROPHAGES

V.A. Khotina¹ ✉, V.N. Sukhorukov³, D.A. Kashirskikh¹, I.A. Sobenin², A.N. Orekhov^{1,3}

¹Federal State Budget Scientific Institution “Research Institute of General Pathology and Pathophysiology”, 8, Baltiyskaya St., Moscow, Russian Federation, 125315; ²Federal State Budgetary Institution “National Medical Research Center for Cardiology” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 15A, 3rd Cherepkovskaya St., Moscow, Russian Federation, 121552; ³Federal State Budget Scientific Institution “Research Institute of Human Morphology”, 3, Tsyurupy St., Moscow, Russian Federation, 117418

Highlights

- Lipids play a key role in the regulation of macrophage function in the pathogenesis of atherosclerosis.
- The exact mechanisms of the foam cells formation from macrophages as a result of lipid accumulation remain unclear in view of the complexity and intricacy of the cell cholesterol homeostasis regulation.
- This review describes the main participants and regulators of lipid metabolism in macrophages.

Для корреспонденции: Виктория Александровна Хотина, nafany905@gmail.com; адрес: ул. Балтийская 8, Москва, Россия, 125315

Corresponding author: Victoria A. Khotina, nafany905@gmail.com; address: 8, Baltiyskaya St., Moscow, Russian Federation, 125315

Abstract

Disturbance of lipid metabolism can lead to the development of pathological processes. Atherosclerosis is a chronic disease characterized by the development of atherosclerotic lesions as a result of the lipid accumulation in the great arterial walls. As a result of cholesterol accumulation by macrophage within the atherosclerotic lesions, they differentiate into foam cells. Macrophage lipid uptake may occur either through the receptor-dependent pathway by low-density lipoprotein receptors and the SR-A, CD36 and LOX-1 scavenger receptors, or the receptor-independent pathway by pinocytosis and phagocytosis. Various enzymes such as ACAT-1 and NCEH, enzymes of the biosynthesis and fatty acid oxidation pathways, as well as various transcription factors – SREBP, Nrf1 and Nrf2 participate in the intracellular regulation of lipids. High-density lipoproteins and transporters such as ABCA1, ABCG1 and SR-BI play a vital role in the regulation of cholesterol efflux from cells. Players of lipid metabolism are regulated by various kinase signaling pathways that activate many transcription factors – LXR, RXR, PPAR γ , NF- κ B, etc. Regulation disturbance of intracellular metabolism and imbalance in uptake and efflux of cholesterol from macrophages lead to their differentiation into foam cells. The aim of this review is to describe the mechanisms underlying lipid metabolism in macrophages and resulting in the transformation of these cells into foam cells.

Keywords

Cholesterol • Metabolism • Macrophages • Atherosclerosis • Low-density lipoproteins

Received: 01.04.2020; received in revised form: 22.04.2020; accepted: 15.05.2020

Список сокращений

ЛПВП – липопротеин высокой плотности
ЛПНП – липопротеин низкой плотности

ЭПР – эндоплазматический ретикулум

Введение

Липиды играют важную структурную и сигнальную роль в клетках. Нарушения клеточного метаболизма липидов могут способствовать развитию некоторых заболеваний, в частности атеросклероза. Атеросклеротические поражения развиваются, с одной стороны, в результате проникновения липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в стенки артерий, где они активно поглощаются клетками интимы сосуда, макрофагами, гладкомышечными клетками и звездчатыми перицито-подобными клетками. При нормальных физиологических условиях в клетках наблюдается строго регулируемый баланс процессов поглощения, оттока и внутриклеточного гомеостаза холестерина. Нарушения липидного обмена могут приводить к развитию патологического процесса накопления холестерина внутри клеток и их дифференцировке в пенистые клетки. Для понимания причины, лежащей в основе дисбаланса метаболизма липидов в клетках, в частности макрофагах, необходимо проанализировать вероятные гены, сигнальные пути, которые принимают участие в регуляции данного процесса.

Переносчики холестерина

Переносчиками холестерина в организме человека являются липопротеины плазмы крови. Единственным липопротеином, обладающим антиатерогенными свойствами, является липопротеин высокой плотности (ЛПВП), тогда как ЛПНП считается

проатерогенным – способствует развитию атеросклеротических поражений.

Известно, что наибольшей атерогенностью обладают модифицированные ЛПНП. В результате различных химических модификаций могут быть получены окисленные, ацетилированные, этилированные, метилированные, гликированные, а также десиалированные ЛПНП [1]. Предполагается, что окисление ЛПНП наиболее вероятно происходит в стенке сосудов, тогда как десиалирование и гликирование ЛПНП – в крови, и такие липопротеины обнаруживаются у больных атеросклерозом и диабетом [2].

Поглощение макрофагами переносчиков холестерина рецепторным и нерепрепторным путями

Способность к фагоцитозу позволяет макрофагам защитить организм от инфекции, а также делает их ключевыми участниками метаболизма липидов. Захват липопротеинов может быть осуществлен нерепрепторным путем посредством микро-, макропиноцитоза и фагоцитоза – в зависимости от наличия или отсутствия модификаций в ЛПНП (*таблица*).

На поверхности макрофагов экспрессируются рецепторы к ЛПНП (LDLR) [3]. После связывания с LDLR комплексы частицы ЛПНП и рецептора погружаются внутрь клетки посредством клатриновых пузырьков и белков AP-2. После доставки ЛПНП до пункта назначения комплекс диссоциирует: LDLR

либо возвращается на поверхность клетки, либо направляется на лизосомы для последующей деградации. Регуляция экспрессии рецепторов ЛПНП опосредуется контролем уровня холестерина в клетке с помощью белков SREBP2 и LXR. Другим регулятором экспрессии рецептора ЛПНП является PCSK9, ограничивающий поглощение частиц ЛПНП путем направления их рецепторов к лизосомам.

Также макрофаги способны поглощать нативные ЛПНП путем жидкофазного эндоцитоза [4]. Данный тип пиноцитоза представляет собой механизм нерепторного поглощения растворенных веществ, который происходит путем слияния с клеткой крупных вакуолей (>0,5 мкм) в результате макропиноцитоза или небольших пузырьков (<0,2 мкм) в результате микропиноцитоза [5]. В отличие от рецептор-зависимого эндоцитоза поглощение растворенного вещества при жидкофазном пиноцитозе прямо пропорционально объему интернализированной жидкости и концентрации растворенного вещества. Соответственно, когда концентрация ЛПНП в стенке сосуда значительно увеличивается, может происходить их поглощение

макрофагами. Макропиноцитоз ЛПНП вносит значительный вклад в образование пенистых клеток из макрофагов, и в его регуляции принимают участие такие ключевые цитокины, как IFN- γ , TGF- β , IL-33, IL-17A [6] и IL-10 [7]. Также в процессе поглощения макрофагами нативных ЛПНП путем макропиноцитоза могут участвовать белки внеклеточного матрикса и NADPH-оксидаза 1 [8].

Отличным от эндоцитоза ЛПНП является механизм поглощения макрофагами агрегированных ЛПНП [9]. Агрегации ЛПНП способствуют окислительные модификации и связывание ЛПНП с протеогликанами внеклеточного матрикса в интиме. Макрофаги способны осуществлять деградацию агрегатов ЛПНП за счет внеклеточного гидролитического компартмента, который называется «лизосомальный синапс». В нем происходит частичный лизис агрегатов ЛПНП с помощью лизосомальных ферментов. После этого холестерин и остатки агрегатов ЛПНП интернализируются для дальнейшей деградации внутриклеточными лизосомами. В данном процессе принимает участие Toll-подобный рецептор 4 (TLR4), который активируется в ответ на

Таблица. Метаболизм липидов в клетке
Table. Lipid metabolism in cell

Стадия / Stage	Участники / Participants	Регуляция / Regulation	Клеточный компартмент / Cell compartment
Поглощение клеткой ЛПНП нерепторным путем / Non-receptor-mediated LDL uptake by cells	Клатрин / Clathrin	PI3K, SYK, Akt, LXR, PKC	Плазматическая мембрана клетки / Cell plasma membrane
Поглощение клеткой ЛПНП рецепторным путем / Receptor-mediated LDL uptake by cells	TLR4, LDLR, SR-AI, SR-AII, CD36, LOX-1	SYK/PI3K/Akt, PCSK9, LXR, SREBP1c, SREBP2, Sac1, Sac3, LKB1, Src, Jnk, Rac, NF- κ B, CD146, Nrf1	
Лизис ЛПНП / LDL lysis	Лизосомальная липопротеинлипаза / Lysosomal lipoprotein lipase	Перилипины, липазы и ГТФазы Rab / Perilipins, Lipases and Rab GTPases	Цитоплазма, лизосомы / Cytoplasm, lysosomes
Метаболизм холестерина / Cholesterol metabolism	ACAT1, NPC-1, NPC-2, ORP, OSBP, STARD3, STARD4, VAP, Aster, SREBP2, Nrf1, Nrf2, HMG-CoA-редуктаза / HMG-CoA reductase, NCEH, Lipe, Ces3	MAP, Jak, Erk, Jnk, NF- κ B, SREBP2-SCAP-INSIG1, S1P, S2P, LXR, nSREBP2	Эндоплазматический ретикулум / Endoplasmic reticulum Аппарат Гольджи / Golgi apparatus
Метаболизм жирных кислот / Fatty acid metabolism	SREBP2, Nrf1, Nrf2	Сигнальный путь с участием комплекса SREBP2-SCAP-INSIG1, протеаз S1P и S2P, а также nSREBP2, LXR / Signaling pathway involving the SREBP2-SCAP-INSIG1 complex, S1P and S2P proteases, as well as nSREBP2, LXR	Эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи / Endoplasmic reticulum, Golgi apparatus
β -окисление жирных кислот / Fatty acid β -oxidation	Ацил-КоА-синтетаза, карнитинацилтрансфераза 1, ферменты пути β -окисления / Acyl-CoA synthetase, carnitine acyltransferase 1, β -oxidation pathway enzymes Синтаза жирных кислот / Fatty acid synthase	SREBP1-SCAP-INSIG1, nSREBP1	Цитоплазма, митохондрии / Cytoplasm, mitochondria
Отток свободного холестерина / Free cholesterol efflux	ABCA1, ABCG1, SR-BI	LXR, RXR, PPAR γ , PCSK9, DAPK1, NF- κ B, PKA, PKC, JAK2, PI3, Akt, TLR2	Плазматическая мембрана клетки / Cell plasma membrane

Примечание: ЛПНП – липопротеин низкой плотности.
Note: LDL – low density lipoprotein.

компоненты окисленных ЛПНП. Киназный сигнальный каскад PI3K/SYK/Akt, запускаемый активацией TLR4, индуцирует образование лизосомального синапса и последующее накопление холестерина в макрофагах [8].

Согласно современным представлениям, основной вклад в образование пенистых клеток вносит захват модифицированных липопротеинов при помощи специфических рецепторов. Охарактеризованы несколько классов клеточных скэвенджер-рецепторов (SR), способных распознавать и связывать модифицированные ЛПНП: рецепторы SR-1 класса А (SR-A, также известный как CD204), SR класса В (CD36) и лектиноподобный рецептор окисленных ЛПНП 1 (LOX-1, или SR-E1).

SR-A опосредует поглощение модифицированных ЛПНП – окисленных, ацетилированных и метилированных [10]. Данная группа включает в себя несколько типов рецепторов – SR-AI, SR-AII и SR-AIII. Последний не участвует в захвате ЛПНП и часто выступает в качестве регулятора рецепторов первых двух типов. Экспрессия SR-A на поверхности макрофагов регулируется различными факторами. Вероятно, в сохранении постоянного уровня экспрессии ключевую роль играют локализованные в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР) фосфатазы Sac1 и Sac3 [11]. Sac1 способствует транспорту холестерина из ЭПР к транс-сети аппарата Гольджи. Данная фосфатаза, предположительно, регулирует трансляционные или посттрансляционные модификации экспрессируемых молекул рецептора. Репрессия экспрессии Sac1 приводит к снижению количества рецепторов SR-A. Также на усиление экспрессии SR-A могут оказывать влияние провоспалительные цитокины, например TNF- α и IL-6, что может приводить к накоплению ЛПНП макрофагами в условиях хронического воспаления в стенке сосуда [12]. Однако недавно обнаружен внутриклеточный механизм, который снижает поглощение модифицированных ЛПНП макрофагами за счет влияния на SR-A [13]. Серин-треониновая фосфатаза LKB1 фосфорилирует SR-A и способствует его лизосомальной деградации, благодаря чему количество рецепторов на поверхности клеток снижается.

Другим ключевым скэвенджер-рецептором, участвующим в захвате липопротеинов, является CD36. Данный рецептор является участником многих процессов, среди которых липидный метаболизм и захват клеткой модифицированных ЛПНП. В качестве лигандов CD36 выступают модифицированные ЛПНП, ЛПВП и жирные кислоты с длинной алифатической цепью [14]. При взаимодействии модифицированных ЛПНП и CD36 активируются каскадные сигнальные пути, опосредуемые киназами Src, Jnk, белком Rac и фактором транскрипции NF- κ B, которые способствуют усилению поглощения ЛПНП, окислительных процессов,

продукции провоспалительных цитокинов [15]. Недавние исследования показали [16], что одним из регуляторов экспрессии CD36 является CD146. Он способствует интернализации комплексов рецептора с окисленными ЛПНП внутрь клетки и дальнейшему накоплению липидов.

Третий скэвенджер-рецептор – лектиноподобный рецептор окисленных ЛПНП-1 (LOX-1). LOX-1 является членом семейства SR класса E. В норме экспрессия данного рецептора в клетках низкая, однако развитие воспаления и усиление окислительных процессов могут увеличивать уровень экспрессии и последующий захват окисленных ЛПНП [17]. PCSK9, оказывающий влияние на экспрессию рецептора ЛПНП в макрофагах, также в присутствии провоспалительного TNF- α может усиливать экспрессию SR-A, CD36 и LOX-1 и поглощение окисленных ЛПНП. При этом экспрессия LOX-1 является наибольшей среди всех SR [18].

Внутриклеточный метаболизм холестерина

После того как ЛПНП интернализуется клеткой, образуются эндосомы, которые переносятся к лизосомам для дальнейшей деградации ЛПНП лизосомальной липопротеинлипазой до свободного холестерина и жирных кислот [19]. Высвобождаемый свободный холестерин транспортируется в эндоплазматический ретикулум, где образуются липидные капли, которые в дальнейшем транспортируются в цитоплазму или за пределы клетки.

Существуют доказательства [20], что в данном процессе важную роль играет разновидность аутофагии – липофагия. Липофагия представляет собой процесс аутофагической деградации внутриклеточных липидных капель [21]. Аналогично стандартным аутофагическим процессам липофагия дифференцируется на микро- и макролипофагию. При макролипофагии образующиеся при поглощении ЛПНП липидные капли дифференцируются в аутофагосомы, которые затем доставляются в лизосомы. Процесс микролипофагии осуществляется при взаимодействии лизосом и липидных капель для их расщепления. Опосредованная шаперонами аутофагия косвенно влияет на липофагию за счет регуляции процессов липолиза, микро- и макролипофагии. Липофагия имеет важное значение для расщепления липидных капель в макрофагах и защищает клетки от избыточного накопления холестерина [20]. Ключевыми регуляторами активации липофагии являются перилипины, липазы и ГТФазы Rab.

Свободный холестерин из лизосом к ЭПР переносят лизосомальные белки NPC-1 и NPC-2 [22]. В частности, NPC-1 принимает участие в транспорте холестерина к плазматической мембране. Дефицит данных белков может приводить к усилению накопления холестерина. Помимо NPC-белков в перенос холестерина из лизосом к ЭПР вовлечены белки

надсемейства ORP, в которые входят оксистерол-связывающие белки OSBP и белки STAR3 семейства переносчиков липидов, родственных белкам STAR. Для транспорта холестерина из эндосом и лизосом эти белки взаимодействуют с белками VAP, локализующимися в мембране ЭПР [22]. В поддержании равновесия между уровнями холестерина в плазматических мембранах и ЭПР принимают участие белок семейства Aster и переносчик STAR4. Когда содержание холестерина в мембране поднимается выше гомеостатического, Aster-белки способствуют переносу его избытка к ЭПР.

Таким образом, избыточный свободный холестерин запасается в виде сложных эфиров холестерина в липидных каплях, образующихся из ЭПР и аутофагосом. Свободный холестерин в клетке требует переэтерификации, которая осуществляется в ЭПР с помощью фермента ацилхолестеринтрансферазы (ACAT), имеющей две изоформы – ACAT1 и ACAT2. Дефицит ACAT в макрофагах оказывает проатерогенное действие и усиливает атеросклеротические процессы. Макрофаги человека в основном экспрессируют ACAT1, тогда как экспрессия ACAT2 в них ограничена [23]. Регуляция ACAT1 может осуществляться различными сигнальными путями, одни из которых усиливают его экспрессию (киназные каскады MAP, Jak, Erk), а другие снижают (Jnk, NF-κB) [24]. Ингибирование ACAT1 в макрофагах при захвате из ацетилированных ЛПНП приводит как к снижению провоспалительного ответа, так и внутриклеточному образованию кристаллов холестерина [25]. Также показано, что микроРНК способны снижать экспрессию ACAT1 в макрофагах, что приводит к уменьшению образования пенных клеток [26]. В частности, микроРНК-467b воздействуют на экспрессию как ACAT1, так и липопротеинлипазы, таким образом регулируя образование эфиров холестерина и свободного холестерина [27].

Основным распределительным центром холестерина в клетке является ЭПР. Активацию внутриклеточного биосинтеза холестерина и усиление экспрессии рецепторов к липопротеинам регулирует фактор транскрипции SREBP, локализующийся в ЭПР. Семейство SREBP включает в себя три белка: SREBP-1a, SREBP-1c и SREBP-2. SREBP-1 контролирует транскрипцию генов, которые принимают участие в биосинтезе жирных кислот, а SREBP-2 – в биосинтезе холестерина, внутриклеточном переносе липидов и импорте липопротеинов из клеток [28].

На мембране ЭПР SREBP формирует комплекс с интегральным белком SCAP, который способен определять колебания концентрации холестерина внутри органеллы. В свою очередь SCAP связан с белком INSIG1, регуляция которого осуществляется инсулином. INSIG1 принимает участие в транс-

порте SCAP. Комплекс SREBP-SCAP-INSIG1 удерживается в мембране ЭПР при стабильной концентрации холестерина внутри цистерн органеллы. При снижении концентрации холестерина ниже 5% происходит диссоциация комплекса: INSIG остается заякоренным в мембране, а SREBP-SCAP переносится в комплекс Гольджи [28]. Здесь протеазы S1P и S2P расщепляют SREBP, высвобождая N-концевую область SREBP (nSREBP), которая транслоцируется в ядро, где запускает экспрессию генов. Таким образом, снижение уровня холестерина в ЭПР приводит к активации белка SREBP-2, дальнейшему усилению синтеза холестерина и захвату внеклеточных липопротеинов.

Также избыточному накоплению холестерина в ЭПР препятствует Nrf1, который регулирует экспрессию генов, участвующих в удалении холестерина из клетки. Nrf1 имеет домен, который специфически распознает и связывает холестерин в ЭПР [29]. В свою очередь холестерин опосредует транскрипционную активность и локализацию Nrf1. Nrf1 принимает участие в регуляции воспалительных ответов, транспорта и метаболизма липидов. Высказываются предположения, что Nrf1 оказывает влияние на экспрессию рецептора CD36 и фактора транскрипции LXR, который участвует в регуляции белков-транспортеров холестерина. Также, вероятно, Nrf1 и SREBP2 совместно стабилизируют концентрацию холестерина в клетке.

Другой представитель семейства белков Nrf, Nrf2, является фактором транскрипции, который опосредует многие процессы в макрофагах, включая реакции окислительного стресса митохондрий и воспаления [30]. Потеря Nrf2 усиливает образование пенных клеток и усугубляет процессы атеросклеротического поражения. Nrf2 способствует транскрипции белков с антиоксидантной активностью, одним из которых является гемоксигеназа-1 (HO-1), чья сверхэкспрессия усиливает отток холестерина в макрофагах [31].

Жирные кислоты, полученные клетками в процессе деградации ЛПНП, направляются в митохондрии, где посредством β-окисления жирных кислот превращаются в ацетил-коэнзим А (ацетил-КоА), NADH и FADH₂, которые могут быть использованы для выработки энергии [32]. Стоит отметить, что макрофаги, поляризованные по типам M1 и M2, используют разные пути для выработки энергии [22]. M1-макрофаги для получения энергии активируют аэробный путь – гликолиз, тогда как M2-макрофаги используют для синтеза аденозинтрифосфата цикл Кребса и окислительное фосфорилирование. Процессы окислительного фосфорилирования также поддерживаются свободными жирными кислотами. Что интересно, интенсивное накопление липидов и холестерина в липидных каплях преимущественно отмечено в M2-макрофагах.

Перед транспортом в митохондрии в цитоплазме клетки жирные кислоты активируются посредством ферментативной реакции с участием ацил-КоА-синтетазы жирных кислот и затраты энергии аденозинтрифосфата. Затем они транспортируются в митохондрии либо посредством пассивной диффузии (жирные кислоты с короткой цепью), либо с помощью карнитина и фермента карнитинацилтрансферазы 1. И уже в матриксе митохондрий происходит β -окисление ацил-КоА-жирной кислоты.

Одним из ключевых участников внутриклеточного биосинтеза холестерина является локализуемая в ЭПР HMG-КоА-редуктаза, которая катализирует реакцию синтеза мевалоната. Данный этап является лимитирующей стадией синтеза холестерина в клетках. Посредством ряда последовательных превращений из мевалоната образуется холестерин. После синтеза холестерин покидает ЭПР и доставляется к плазматической мембране для дальнейшей секреции из клетки. Редукция гена HMG-КоА-редуктазы в макрофагах приводит к снижению миграционной активности моноцитов и макрофагов к очагам атеросклеротического поражения [33].

В том случае когда уровень липидов в клетке опускается, в цитоплазме активируется путь синтеза жирных кислот, благодаря чему клетки могут синтезировать липиды из предшественников, имеющих происхождение из других метаболических путей, таких как цикл Кребса, гликолиз и пентозофосфатный путь. Синтез жирных кислот в макрофагах регулируется синтазой жирных кислот [32]. Дефицит синтазы жирных кислот в макрофагах приводит к изменениям в составе плазматической мембраны и снижению передачи провоспалительных сигналов. Синтез липидов включает в себя ряд последовательных ферментативных реакций, в которых из ацетил-КоА образуются триглицериды, жирные кислоты и холестерин [34]. Липогенез в макрофагах необходим не только для поддержания постоянства мембранного состава, но и синтеза медиаторов воспаления, в частности у M1-макрофагов. Синтез жирных кислот регулируется белками SREBP-1.

Отток холестерина из макрофагов

Обратным действием ACAT1 обладает нейтральная гидролаза эфиров холестерина (NCEH) [35]. Фермент гидролизует сложные эфиры холестерина обратно до свободного холестерина и жирных кислот для последующего удаления из клеток. Повышенная специфическая экспрессия NCEH-макрофагов нокаутных по *Ldlr*^{-/-} мышей способствует снижению формирования пенных клеток в атеросклеротических поражениях за счет усиления оттока и обратного транспорта холестерина [36]. Помимо NCEH гидролиз эфиров холестерина осуществляется гормоночувствительной липазой (Lipe) и карбоксилэстеразой 3 (Ces3). Однако по-

казано [37], что активность и уровень экспрессии NCEH в несколько раз выше, чем Lipe и Ces3, что позволяет сделать вывод о его ключевой роли в гидролизе эфиров холестерина.

Обратный транспорт холестерина является важнейшим механизмом регуляции удаления холестерина из клеток и организма в целом. Это процесс, при котором избыток внутриклеточного холестерина удаляется из клеток, в том числе макрофагов, транспортируется с помощью ЛПВП в печень для дальнейшего выведения из организма. Для поддержания уровня холестерина в клетках его синтез и отток должны регулироваться. Отток холестерина из макрофагов осуществляется посредством пассивного транспорта, путем простой диффузии, и активного – с помощью специфических белков-транспортёров [38]. Путем простой диффузии происходит перенос свободного холестерина через плазматическую мембрану к частицам ЛПВП. Отток холестерина из макрофагов с помощью активного транспорта осуществляется транспортными белками семейства ABC – ABCA1 и ABCG1 – и с помощью облегченной диффузии с участием сквенджер-рецептора класса B (SR-B1) [39].

Белки ABCA1 и ABCG1 локализируются в цитоплазматической мембране и обеспечивают отток внутриклеточного холестерина к аполипопротеину AI и ЛПВП [38]. Однако ABCA1 и ABCG1 не являются заякоренными к мембране и обладают способностью перемещаться между плазматической мембраной и внутриклеточными эндосомами, содержащими холестерин для его оттока к ЛПВП. Регуляция белков ABC осуществляется множеством транскрипционных факторов, являющихся участниками различных сигнальных путей, например LXR α , LXR β , RXR и PPAR γ , на активацию которых влияет уровень внутриклеточного холестерина. При увеличении концентрации холестерина в клетке транскрипционные факторы повышают экспрессию ABCA1 и ABCG1, тем самым усиливая эффективность оттока холестерина из макрофагов [39]. Непосредственную роль в оттоке холестерина, опосредованном ABCA1, играет PCSK9 путем подавления экспрессии гена *Abca1* [40]. Однако PCSK9 незначительно влияет на ABCG1, а также SR-B1.

Другим механизмом, регулирующим активность белков ABCA1 и ABCG1, является фосфорилирование протеинкиназами PKA, PKC и JAK2 [41]. Активация PKC также происходит при увеличении внутриклеточного уровня холестерина, а дальнейшее фосфорилирование ABCA1 и ABCG1 снижает их деградацию и усиливает отток холестерина из клеток. Обратный эффект на экспрессию ABCA1 и ABCG1 может оказывать киназа DAPK1 [42]. Она снижает экспрессию транспортёров в макрофагах и усиливает экспрессию липопротеинлипазы, вызывая таким образом формирование пенных клеток.

SR-B1 является белком-рецептором, гомологом CD36, который участвует в оттоке холестерина из клеток к ЛПВП [43]. Во многих исследованиях продемонстрированы противоречивые результаты вклада SR-B1 в отток холестерина из макрофагов [44]. В зависимости от условий, в которых происходит отток – его скорость или уровень холестерина в клетке, – активность SR-B1 может быть как выше активности ABCA1, так и ниже. Однако оба переносчика действуют совместно.

Показано, что SR-B1 также принимает участие в регуляции апоптоза макрофагов [45]. Избыток свободного холестерина может вызывать гибель макрофагов в атеросклеротических поражениях. Однако при делеции SR-B1 в клетках может наблюдаться снижение апоптотических процессов. В макрофагах, дефицитных по SR-B1, экспрессия ингибитора апоптоза усиливается, особенно при накоплении холестерина клетками. Регуляция SR-B1 также осуществляется транскрипционными факторами PPAR γ и LXR α [46].

Продемонстрировано [47], что активация PI3- и Akt-киназных каскадов инсулиноподобным фактором роста 1 подавляет экспрессию LXR α , что в дальнейшем приводит к снижению экспрессии и SR-B1, и белков ABC. На уровень экспрессии SR-B1, а также ABCA1 и ABCG1 может влиять Toll-подобный рецептор 2 (TLR2) [48]. Он значительно снижает экспрессию транспортеров в макрофагах путем регуляции сигнального пути NF- κ B.

Таким образом, можно выделить три пути оттока холестерина из макрофагов: опосредуемый ABCA1 к аполипопротеину AI, опосредуемый ABCG1 к частицам ЛПВП и путем облегченной диффузии к частицам ЛПВП с помощью SR-B1 [43].

ЛПВП являются основными переносчиками холестерина во время обратного транспорта [49]. ЛПВП, в состав которых входит аполипопротеин AI, получают свободный холестерин из макрофагов. Одновременно с этим процессом в состав ЛПВП включаются другие компоненты, такие как

микроРНК, белки, гормоны и витамины. Таким образом формируются зрелые, обогащенные липидами частицы ЛПВП. Показано [50], что частицы ЛПВП способны воздействовать на макрофаги путем стимуляции экспрессии генов, усиливающих отток холестерина к вновь образующимся ЛПВП.

Заключение

Клеточный метаболизм холестерина – это сложный процесс, который в физиологических условиях должен строго регулироваться различными факторами. Исходя из научных данных, можно сделать вывод, что в регуляции поглощения макрофагами липопротеинов, поддержания внутриклеточного гомеостаза липидов и оттока холестерина из клеток участвует множество сигнальных путей и генов, которые индуцируют подавление и активацию экспрессии поверхностных рецепторов, метаболических ферментов и белков-переносчиков. Становится очевидно, что липиды играют ключевую роль в регуляции функционирования макрофагов в патогенезе атеросклероза и других заболеваний, опосредованных нарушенным липидным метаболизмом. При этом ввиду сложности регуляции гомеостаза клеточного холестерина точные механизмы образования пенных клеток, несмотря на достигнутые значительные успехи, все еще предстоит установить.

Конфликт интересов

В.А. Хотина заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.Н. Сухоруков заявляет об отсутствии конфликта интересов. Д.А. Каширских заявляет об отсутствии конфликта интересов. И.А. Собенин заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Н. Орехов заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа проведена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 19-15-00297).

Информация об авторах

Хотина Виктория Александровна, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории ангиопатологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-2096-3237

Сухоруков Василий Николаевич, младший научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии и молекулярной микроэкологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0312-3773

Каширских Дмитрий Александрович, младший научный сотрудник лаборатории ангиопатологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0748-9238

Author Information Form

Khotina Victoria A., PhD student, research assistant at the Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-2096-3237

Sukhorukov Vasily N., research assistant at the Laboratory of Infectious Pathology and Molecular Microecology, Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0312-3773

Kashirskikh Dmitry A., research assistant at the Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0748-9238

Собенин Игорь Александрович, доктор медицинских наук, руководитель лаборатории медицинской генетики федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-0978-6444

Орехов Александр Николаевич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией ангиопатологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Российская Федерация; ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии и молекулярной микробиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6495-1628

Sobenin Igor A., PhD, Head of the Laboratory of Medical Genetics, National Medical Research Center of Cardiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-0978-6444

Orekhov Alexander N., PhD, Professor, Head of the Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation; Senior Researcher, Laboratory of Infectious Pathology and Molecular Microecology, Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6495-1628

Вклад авторов в статью

ХВА – получение и анализ данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

СВН – вклад в концепцию исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

КДА – получение и анализ данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

СИА – интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ОАН – интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Author Contribution Statement

KhVA – data collection and analysis, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

SVN – contribution to the concept of the study, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

KDA – data collection and analysis, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

SIA – data interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

OAN – data interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сухоруков В.Н., Карагодин В.П., Орехов А.Н. Атерогенные модификации липопротеинов низкой плотности. 2016; 62 (4): 391–402
2. Poznyak A., Grechko A.V., Poggio P., Myasoedova V.A., Alfieri V., Orekhov A.N. The diabetes mellitus–atherosclerosis connection: The role of lipid and glucose metabolism and chronic inflammation. *International Journal of Molecular Sciences MDPI AG*. 2020; 21 (5): 1835. doi: 10.3390/ijms21051835
3. Zaroni P., Velagapudi S., Yalcinkaya M., Rohrer L., von Eckardstein A. Endocytosis of lipoproteins. *Atherosclerosis*. 2018; 275: 273–295. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.06.881.
4. Kruth H.S., Jones N.L., Huang W., Zhao B., Ishii I., Chang J., Combs C.A., Malide D., Zhang W.-Y. Macropinocytosis is the endocytic pathway that mediates macrophage foam cell formation with native low density lipoprotein. *J. Biol. Chem. American Society for Biochemistry and Molecular Biology*. 2005; 280 (3): 2352–2360. doi: 10.1074/jbc.M407167200.
5. Kruth H.S., Huang W., Ishii I., Zhang W.-Y. Macrophage foam cell formation with native low density lipoprotein. *J. Biol. Chem. American Society for Biochemistry and Molecular Biology*. 2002; 277 (37): 34573–34580. doi: 10.1074/jbc.M205059200.
6. Michael D.R., Ashlin T.G., Davies C.S., Gallagher H., Stoneman T.W., Buckley M.L., Ramji D. P. Differential regulation of macropinocytosis in macrophages by cytokines: Implications for foam cell formation and atherosclerosis. *Cytokine Academic Press*. 2013; 64 (1): 357–361. doi: 10.1016/j.cyto.2013.05.016.
7. Lucero D., Islam P., Freeman L.A., Jin X., Pryor M., Tang J., Kruth H.S., Remaley A.T. Interleukin 10 promotes macrophage uptake of HDL and LDL by stimulating fluid-phase endocytosis. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids Elsevier B.V*. 2020; 1865 (2): 158537. doi: 10.1016/j.bbalip.2019.158537.
8. Csányi G., Feck D.M., Ghoshal P., Singla B., Lin H., Nagarajan S., Meijles D. N. et al. CD47 and Nox1 Mediate Dynamic Fluid-Phase Macropinocytosis of Native LDL. *Antioxidants Redox Signal. Mary Ann Liebert Inc*. 2017; 26 (16): 886–901. doi: 10.1089/ars.2016.6834.
9. Singh R.K., Haka A.S., Asmal A., Barbosa-Lorenzi V.C., Grosheva I., Chin H.F., Xiong Y., Hla T., Maxfield F.R. TLR4 (Toll-Like Receptor 4)-Dependent Signaling Drives Extracellular Catabolism of LDL (Low-Density Lipoprotein) Aggregates. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. NLM (Medline)*. 2020; 40 (1): 86–102. doi: 10.1161/ATVBAHA.119.313200.
10. Kelley J.L., Ozment T.R., Li C., Schweitzer J.B., Williams D.L. Scavenger receptor-A (CD204): A two-edged sword in health and disease. *Crit. Rev. Immunol. Begell House Inc*. 2014; 34 (3): 241–261. doi: 10.1615/critrevimmunol.2014010267.
11. Nigorikawa K., Matsumura T., Sakamoto H., Morioka S., Kofuji S., Takasuga S., Hazek K. Sac1 phosphoinositide phosphatase regulates foam cell formation by modulating SR-A expression in macrophages. *Biol. Pharm. Bull. Pharmaceutical Society of Japan*. 2019; 42 (6): 923–928. doi: 10.1248/bpb.b18-00907.
12. Hashizume M., Mihara M. Atherogenic effects of TNF- α and IL-6 via up-regulation of scavenger receptors. *Cytokine Academic Press*. 2012; 58 (3): 424–430. doi: 10.1016/j.cyto.2012.02.010.
13. Liu Z., Zhu H., Dai X., Wang C., Ding Ye, Song P., Zou M.-H. Macrophage Liver Kinase B1 Inhibits Foam Cell Formation and Atherosclerosis. *Circ. Res. Lippincott Williams and Wilkins*. 2017; 121 (9): 1047–1057. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311546.

14. Zhao L., Varghese Z., Moorhead J. F., Chen Y., Ruan X.Z. CD36 and lipid metabolism in the evolution of atherosclerosis. *Br. Med. Bull.* 2018; 126 (1): 101–112. doi: 10.1093/bmb/ldy006
15. Park Y.M. CD36, a scavenger receptor implicated in atherosclerosis. *Experimental and Molecular Medicine Nature Publishing Group.* 2014; 46 (6): e99. doi: 10.1038/emm.2014.38.
16. Luo Y., Duan H., Qian Y., Feng L., Wu Z., Wang F. et al. Macrophagic CD146 promotes foam cell formation and retention during atherosclerosis. *Cell Res. Nature Publishing Group.* 2017; 27 (3): 352–372. doi: 10.1038/cr.2017.8.
17. Ding Z., Pothineni N.V.K., Goel A., Lüscher T.F., Mehta J.L. PCSK9 and inflammation: Role of shear stress, pro-inflammatory cytokines and LOX-1. *Cardiovasc. Res.* 2019;
18. Ding Z., Liu S., Wang X., Theus S., Deng X., Fan Y., Zhou S., Mehta J.L. PCSK9 regulates expression of scavenger receptors and ox-LDL uptake in macrophages. *Cardiovasc. Res.* 2018; 114 (8): 1145–1153. doi: 10.1093/cvr/cvy079.
19. Hai Q., Ritchey B., Robinet P., Alzayed A.M., Brubaker G., Zhang J., Smith J.D. Quantitative Trait Locus Mapping of Macrophage Cholesterol Metabolism and CRISPR/Cas9 Editing Implicate an ACAT1 Truncation as a Causal Modifier Variant. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. Lippincott Williams and Wilkins.* 2018; 38 (1): 83–91. doi: 10.1161/ATVBAHA.117.310173.
20. Maiuri M.C., Grassia G., Platt A.M., Carnuccio R., Ialenti A., Maffia P. Macrophage Autophagy in Atherosclerosis. *Mediators Inflamm.* 2013; 2013: 584715. doi: 10.1155/2013/584715
21. Schulze R.J., Sathyanarayan A., Mashek D.G. Breaking fat: The regulation and mechanisms of lipophagy. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids Elsevier B.V.* 2017; 1862 (10): 1178–1187.
22. Yvan-Charvet L., Bonacina F., Guinamard R.R., Norata G.D. Immunometabolic function of cholesterol in cardiovascular disease and beyond. *Cardiovasc. Res.* 2019; 115 (9): 1393–1407. doi: 10.1093/cvr/cvz127.
23. Akopian D., Medh J.D. Genetics and molecular biology: macrophage ACAT depletion - mechanisms of atherogenesis. *Curr. Opin. Lipidol.* 2006; 17 (1): 85–88. doi: 10.1097/01.mol.0000203192.45649.ba.
24. Yu X.H., Fu Y.-C., Zhang D.-W., Yin K., Tang C.-K. Foam cells in atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta.* 2013; 424: 245–252. doi: 10.1016/j.cca.2013.06.006.
25. Melton E.M., Li H., Benson J., Sohn P., Huang L.-H., Song B.-L. et al. Myeloid Acat1/Soat1 KO attenuates pro-inflammatory responses in macrophages and protects against atherosclerosis in a model of advanced lesions. *J Biol Chem.* 2019 Oct 25;294(43):15836–15849. doi: 10.1074/jbc.RA119.010564.
26. Shao D., Di Y., Lian Z., Zhu B., Xu X., Guo D., et al. Grape seed proanthocyanidins suppressed macrophage foam cell formation by miRNA-9: via targeting ACAT1 in THP-1 cells. *Food Funct. Royal Society of Chemistry.* 2020; 11 (2): 1258–1269. doi: 10.1039/c9fo02352f.
27. Wang B., P.-P. Heb, Zenga G.-F., Zhang T., Yangmi X.-P.O. R-467b regulates the cholesterol ester formation via targeting ACAT1 gene in RAW 264.7 macrophages. *Biochimie Elsevier B.V.* 2017; 132: 38–44. doi:10.1016/j.biochi.2016.09.012
28. Shao W., Espenshade P.J. Sterol regulatory element-binding protein (SREBP) cleavage regulates golgi-to-endoplasmic reticulum recycling of SREBP cleavage-activating protein (SCAP). *J. Biol. Chem. American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc.* 2014; 289 (11): 7547–7557.
29. Widenmaier S.B., Snyder N.A., Nguyen T.B., Arduini A., Lee G.Y., Arruda A.P. et al. NRF1 Is an ER Membrane Sensor that Is Central to Cholesterol Homeostasis. *Cell.* 2017; 171 (5): 1094.e15–1109.e15. doi: 10.1016/j.cell.2017.10.003.
30. Mimura J., Itoh K. Role of Nrf2 in the pathogenesis of atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine Elsevier Inc.* 2015; 88 (Part B): 221–232. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.06.019.
31. Liu Z., Wang J., Huang E., Gao S., Li H., Lu J., K.Tian, et al. Tanshinone IIA suppresses cholesterol accumulation in human macrophages: Role of heme oxygenase-1. *J. Lipid Res.* 2014; 55 (2): 201–213. doi: 10.1194/jlr.M040394
32. Namgaladze D., Brüne B. Macrophage fatty acid oxidation and its roles in macrophage polarization and fatty acid-induced inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids.* 2016; 1861 (11): 1796–1807. doi: 10.1016/j.bbalip.2016.09.002
33. Sakai K., Nagashima S., Wakabayashi T., Tumenbayar B., Hayakawa H., Hayakawa M. et al. Myeloid HMG-CoA (3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A) Reductase Determines Atherosclerosis by Modulating Migration of Macrophages. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2018; 38 (11): 2590–2600. doi: 10.1161/ATVBAHA.118.311664.
34. Batista-Gonzalez A., Vidal R., Criollo A., Carreño L.J. New Insights on the Role of Lipid Metabolism in the Metabolic Reprogramming of Macrophages *Front Immunol.* 2020 Jan 10;10:2993. doi: 10.3389/fimmu.2019.02993.
35. Ghosh S. Early steps in reverse cholesterol transport: Cholesteryl ester hydrolase and other hydrolases. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity.* 2012; 19 (2): 136–141. doi: 10.1097/MED.0b013e3283507836.
36. Zhao B., Song J., Chow W.N., St Clair R.W., Rudel L.L., Ghosh S. Macrophage-specific transgenic expression of cholesteryl ester hydrolase significantly reduces atherosclerosis and lesion necrosis in Ldlr^{-/-} mice. *J. Clin. Invest. American Society for Clinical Investigation.* 2007; 117 (10): 2983–2992. doi: 10.1172/JCI30485.
37. Sakai K., Igarashi M., Yamamuro D., Ohshiro T., Nagashima S., Takahashi M. et al. Critical role of neutral cholesteryl ester hydrolase 1 in cholesteryl ester hydrolysis in murine macrophages. *J. Lipid Res. American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc.* 2014; 55 (10): 2033–2040. doi: 10.1194/jlr.M047787.
38. Ouimet M., Barrett T.J., Fisher E.A. HDL and reverse cholesterol transport: Basic mechanisms and their roles in vascular health and disease. *Circ. Res.* 2019; 124 (10): 1505–1518. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.312617.
39. Remmerie A., Scott C.L. Macrophages and lipid metabolism. *Cell. Immunol. Academic Press Inc.* 2018; 330: 27–42. doi: 10.1016/j.cellimm.2018.01.020
40. Adorni M.P., Cipollari E., Favari E., Zanotti I., Zimetti F., Corsini A., Ricci C., Bernini F., Ferri N. Inhibitory effect of PCSK9 on Abca1 protein expression and cholesterol efflux in macrophages. *Atherosclerosis.* 2017; 256: 1–6. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.11.019.
41. Watanabe T. et al. Phosphorylation by protein kinase C stabilizes ABCG1 and increases cholesterol efflux. *J. Biochem.* 2019
42. Zhen Z., Ren S., Ji H., Ding X., Zou P., Lu J. The lncRNA DAPK-IT1 regulates cholesterol metabolism and inflammatory response in macrophages and promotes atherogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019; 516 (4): 1234–1241. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.06.113.
43. Shen W.-J., Azhar S., Kraemer F.B. SR-B1: A Unique Multifunctional Receptor for Cholesterol Influx and Efflux. *Annu. Rev. Physiol.* 2018; 80 (1): 95–116. doi: 10.1146/annurev-physiol-021317-121550
44. Linton M.F., Tao H., Linton E.F., Yancey P.G. SR-B1: A Multifunctional Receptor in Cholesterol Homeostasis and Atherosclerosis. *Trends Endocrinol Metab.* 2017 Jun; 28(6): 461–472. doi: 10.1016/j.tem.2017.02.001
45. Galle-Treger L., Moreau M., Ballaire R., Poupel L., Huby T., Sasso E. et al. Targeted invalidation of SR-B1 in macrophages reduces macrophage apoptosis and accelerates atherosclerosis. *Cardiovasc. Res.* 2020; 116 (3): 554–565. doi: 10.1093/cvr/cvz138.
46. Ma X., Li S.F., Qin Z.S., Ye J., Zhao Z.-L., Fang H.-H. et al. Propofol up-regulates expression of ABCA1, ABCG1, and SR-B1 through the PPAR γ /LXR α signaling pathway in THP-1 macrophage-derived foam cells. *Cardiovasc. Pathol.* 2015; 24 (4): 230–235. doi: 10.1016/j.carpath.2014.12.004.
47. Tang S.L., Chen W.J., Yin K., Zhao G.-J., Mo Z.-C., Lv Y.-C. et al. PAPP-A negatively regulates ABCA1, ABCG1 and SR-B1 expression by inhibiting LXR α through the IGF-I-mediated signaling pathway. *Atherosclerosis.* 2012; 222 (2): 344–354. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.03.005.

48. Li Y., Shen S., Ding S., Wang L. Toll-like receptor 2 downregulates the cholesterol efflux by activating the nuclear factor- κ B pathway in macrophages and may be a potential therapeutic target for the prevention of atherosclerosis. *Exp. Ther. Med.* 2018; 15 (1): 198–204. doi: 10.3892/etm.2017.5404.
49. Ben-Aicha S., Badimon L., Vilahur G. Advances in HDL: Much more than lipid transporters. *Int J Mol Sci.* 2020

Jan 22;21(3):732. doi: 10.3390/ijms21030732.

50. Orekhov A.N., Pushkarsky T., Oishi Y., Nikiforov N.G., Zhelankin A.V., Dubrovsky L. et al. HDL activates expression of genes stimulating cholesterol efflux in human monocyte-derived macrophages. *Exp. Mol. Pathol.* 2018; 105 (2): 202–207. doi: 10.1016/j.yexmp.2018.08.003.

REFERENCES

- Sukhorukov V.N., Karagodin V.P., Orekhov A.N. Atherogenic modification of low-density lipoproteins. *Biomeditsinskaya Khimiya Russian Academy of Medical Sciences.* 2016; 62 (4): 391–402. (In Russian)
- Poznyak A., Grechko A.V., Poggio P., Myasoedova V.A., Alfieri V., Orekhov A.N. The diabetes mellitus–atherosclerosis connection: The role of lipid and glucose metabolism and chronic inflammation. *International Journal of Molecular Sciences MDPI AG.* 2020; 21 (5): 1835. doi: 10.3390/ijms21051835
- Zanoni P., Velagapudi S., Yalcinkaya M., Rohrer L., von Eckardstein A. Endocytosis of lipoproteins. *Atherosclerosis.* 2018; 275: 273–295. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.06.881.
- Kruth H.S., Jones N.L., Huang W., Zhao B., Ishii I., Chang J., Combs C.A., Malide D., Zhang W.-Y. Macropinocytosis is the endocytic pathway that mediates macrophage foam cell formation with native low density lipoprotein. *J. Biol. Chem. American Society for Biochemistry and Molecular Biology.* 2005; 280 (3): 2352–2360. doi: 10.1074/jbc.M407167200.
- Kruth H.S., Huang W., Ishii I., Zhang W.-Y. Macrophage foam cell formation with native low density lipoprotein. *J. Biol. Chem. American Society for Biochemistry and Molecular Biology.* 2002; 277 (37): 34573–34580. doi: 10.1074/jbc.M205059200.
- Michael D.R., Ashlin T.G., Davies C.S., Gallagher H., Stoneman T.W., Buckley M.L., Ramji D. P. Differential regulation of macropinocytosis in macrophages by cytokines: Implications for foam cell formation and atherosclerosis. *Cytokine Academic Press.* 2013; 64 (1): 357–361. doi: 10.1016/j.cyto.2013.05.016.
- Lucero D., Islam P., Freeman L.A., Jin X., Pryor M., Tang J., Kruth H.S., Remaley A.T. Interleukin 10 promotes macrophage uptake of HDL and LDL by stimulating fluid-phase endocytosis. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids Elsevier B.V.* 2020; 1865 (2): 158537. doi: 10.1016/j.bbailip.2019.158537.
- Csányi G., Feck D.M., Ghoshal P., Singla B., Lin H., Nagarajan S., Mejjles D. N. et al. CD47 and Nox1 Mediate Dynamic Fluid-Phase Macropinocytosis of Native LDL. *Antioxidants Redox Signal. Mary Ann Liebert Inc.* 2017; 26 (16): 886–901. doi: 10.1089/ars.2016.6834.
- Singh R.K., Haka A.S., Asmal A., Barbosa-Lorenzi V.C., Grosheva I., Chin H.F., Xiong Y., Hla T., Maxfield F.R. TLR4 (Toll-Like Receptor 4)-Dependent Signaling Drives Extracellular Catabolism of LDL (Low-Density Lipoprotein) Aggregates. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. NLM (Medline).* 2020; 40 (1): 86–102. doi: 10.1161/ATVBAHA.119.313200.
- Kelley J.L., Ozment T.R., Li C., Schweitzer J.B., Williams D.L. Scavenger receptor-A (CD204): A two-edged sword in health and disease. *Crit. Rev. Immunol. Begell House Inc.* 2014; 34 (3): 241–261. doi: 10.1615/critrevimmunol.2014010267.
- Nigorikawa K., Matsumura T., Sakamoto H., Morioka S., Kofuji S., Takasuga S., Hazek K. Sac1 phosphoinositide phosphatase regulates foam cell formation by modulating SR-A expression in macrophages. *Biol. Pharm. Bull. Pharmaceutical Society of Japan.* 2019; 42 (6): 923–928. doi: 10.1248/bpb.b18-00907.
- Hashizume M., Mihara M. Atherogenic effects of TNF- α and IL-6 via up-regulation of scavenger receptors. *Cytokine Academic Press.* 2012; 58 (3): 424–430. doi: 10.1016/j.cyto.2012.02.010.
- Liu Z., Zhu H., Dai X., Wang C., Ding Ye, Song P., Zou M.-H. Macrophage Liver Kinase B1 Inhibits Foam Cell Formation and Atherosclerosis. *Circ. Res. Lippincott Williams and Wilkins.* 2017; 121 (9): 1047–1057. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311546.
- Zhao L., Varghese Z., Moorhead J. F., Chen Y., Ruan X.Z. CD36 and lipid metabolism in the evolution of atherosclerosis. *Br. Med. Bull.* 2018; 126 (1): 101–112. doi: 10.1093/bmb/ldy006
- Park Y.M. CD36, a scavenger receptor implicated in atherosclerosis. *Experimental and Molecular Medicine Nature Publishing Group.* 2014; 46 (6): e99. doi: 10.1038/emmm.2014.38.
- Luo Y., Duan H., Qian Y., Feng L., Wu Z., Wang F. et al. Macrophagic CD146 promotes foam cell formation and retention during atherosclerosis. *Cell Res. Nature Publishing Group.* 2017; 27 (3): 352–372. doi: 10.1038/cr.2017.8.
- Ding Z., Pothineni N.V.K., Goel A., Lüscher T.F., Mehta J.L. PCSK9 and inflammation: Role of shear stress, pro-inflammatory cytokines and LOX-1. *Cardiovasc. Res.* 2019;
- Ding Z., Liu S., Wang X., Theus S., Deng X., Fan Y., Zhou S., Mehta J.L. PCSK9 regulates expression of scavenger receptors and ox-LDL uptake in macrophages. *Cardiovasc. Res.* 2018; 114 (8): 1145–1153. doi: 10.1093/cvr/cvy079.
- Hai Q., Ritchey B., Robinet P., Alzayed A.M., Brubaker G., Zhang J., Smith J.D. Quantitative Trait Locus Mapping of Macrophage Cholesterol Metabolism and CRISPR/Cas9 Editing Implicate an ACAT1 Truncation as a Causal Modifier Variant. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. Lippincott Williams and Wilkins.* 2018; 38 (1): 83–91. doi: 10.1161/ATVBAHA.117.310173.
- Maiuri M.C., Grassia G., Platt A.M., Carnuccio R., Ialenti A., Maffia P. Macrophage Autophagy in Atherosclerosis. *Mediators Inflamm.* 2013; 2013: 584715. doi: 10.1155/2013/584715
- Schulze R.J., Sathyanarayan A., Mashek D.G. Breaking fat: The regulation and mechanisms of lipophagy. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids Elsevier B.V.* 2017; 1862 (10): 1178–1187.
- Yvan-Charvet L., Bonacina F., Guinamard R.R., Norata G.D. Immunometabolic function of cholesterol in cardiovascular disease and beyond. *Cardiovasc. Res.* 2019; 115 (9): 1393–1407. doi: 10.1093/cvr/cvz127.
- Akopian D., Medh J.D. Genetics and molecular biology: macrophage ACAT depletion - mechanisms of atherogenesis. *Curr. Opin. Lipidol.* 2006; 17 (1): 85–88. doi: 10.1097/01.mol.0000203192.45649.ba.
- Yu X.H., Fu Y.-C., Zhang D.-W., Yin K., Tang C.-K. Foam cells in atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta.* 2013; 424: 245–252. doi: 10.1016/j.cca.2013.06.006.
- Melton E.M., Li H., Benson J., Sohn P., Huang L.-H., Song B.-L. et al. Myeloid Acat1/Soat1 KO attenuates pro-inflammatory responses in macrophages and protects against atherosclerosis in a model of advanced lesions. *J Biol Chem.* 2019 Oct 25;294(43):15836-15849. doi: 10.1074/jbc.RA119.010564.
- Shao D., Di Y., Lian Z., Zhu B., Xu X., Guo D., et al. Grape seed proanthocyanidins suppressed macrophage foam cell formation by miRNA-9: via targeting ACAT1 in THP-1 cells. *Food Funct. Royal Society of Chemistry.* 2020; 11 (2): 1258–1269. doi: 10.1039/c9fo02352f.
- Wang B., P.-P. Heb, Zenga G.-F., Zhang T., Yangmi X.-P.O. R-467b regulates the cholesterol ester formation via targeting ACAT1 gene in RAW 264.7 macrophages. *Biochimie Elsevier B.V.* 2017; 132: 38–44. doi: 10.1016/j.biochi.2016.09.012
- Shao W., Espenshade P.J. Sterol regulatory element-binding protein (SREBP) cleavage regulates golgi-to-endoplasmic reticulum recycling of SREBP cleavage-activating protein (SCAP). *J. Biol. Chem. American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc.* 2014; 289 (11): 7547–7557.

29. Widenmaier S.B., Snyder N.A., Nguyen T.B., Arduini A., Lee G.Y., Arruda A.P. et al. NRF1 Is an ER Membrane Sensor that Is Central to Cholesterol Homeostasis. *Cell*. 2017; 171 (5): 1094.e15-1109.e15. doi: 10.1016/j.cell.2017.10.003.
30. Mimura J., Itoh K. Role of Nrf2 in the pathogenesis of atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine* Elsevier Inc. 2015; 88 (Part B): 221–232. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.06.019.
31. Liu Z., Wang J., Huang E., Gao S., Li H., Lu J., K.Tian, et al. Tanshinone IIA suppresses cholesterol accumulation in human macrophages: Role of heme oxygenase-1. *J. Lipid Res*. 2014; 55 (2): 201–213. doi: 10.1194/jlr.M040394
32. Namgaladze D., Brüne B. Macrophage fatty acid oxidation and its roles in macrophage polarization and fatty acid-induced inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2016; 1861 (11): 1796–1807. doi: 10.1016/j.bbali.2016.09.002
33. Sakai K., Nagashima S., Wakabayashi T., Tumenbayar B., Hayakawa H., Hayakawa M. et al. Myeloid HMG-CoA (3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A) Reductase Determines Atherosclerosis by Modulating Migration of Macrophages. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2018; 38 (11): 2590–2600. doi: 10.1161/ATVBAHA.118.311664.
34. Batista-Gonzalez A., Vidal R., Criollo A., Carreño L.J. New Insights on the Role of Lipid Metabolism in the Metabolic Reprogramming of Macrophages. *Front Immunol*. 2020 Jan 10;10:2993. doi: 10.3389/fimmu.2019.02993.
35. Ghosh S. Early steps in reverse cholesterol transport: Cholesteryl ester hydrolase and other hydrolases. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. 2012; 19 (2): 136–141. doi: 10.1097/MED.0b013e3283507836.
36. Zhao B., Song J., Chow W.N., St Clair R.W., Rudel L.L., Ghosh S. Macrophage-specific transgenic expression of cholesteryl ester hydrolase significantly reduces atherosclerosis and lesion necrosis in Ldlr^{-/-} mice. *J. Clin. Invest. American Society for Clinical Investigation*. 2007; 117 (10): 2983–2992. doi: 10.1172/JCI30485.
37. Sakai K., Igarashi M., Yamamuro D., Ohshiro T., Nagashima S., Takahashi M. et al. Critical role of neutral cholesteryl ester hydrolase 1 in cholesteryl ester hydrolysis in murine macrophages. *J. Lipid Res. American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc*. 2014; 55 (10): 2033–2040. doi: 10.1194/jlr.M047787.
38. Ouimet M., Barrett T.J., Fisher E.A. HDL and reverse cholesterol transport: Basic mechanisms and their roles in vascular health and disease. *Circ. Res*. 2019; 124 (10): 1505–1518. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.312617.
39. Remmerie A., Scott C.L. Macrophages and lipid metabolism. *Cell. Immunol. Academic Press Inc*. 2018; 330: 27–42. doi: 10.1016/j.cellimm.2018.01.020
40. Adorni M.P., Cipollari E., Favari E., Zanotti I., Zimetti F., Corsini A., Ricci C., Bernini F., Ferri N. Inhibitory effect of PCSK9 on Abca1 protein expression and cholesterol efflux in macrophages. *Atherosclerosis*. 2017; 256: 1–6. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.11.019.
41. Watanabe T. et al. Phosphorylation by protein kinase C stabilizes ABCG1 and increases cholesterol efflux. *J. Biochem*. 2019
42. Zhen Z., Ren S., Ji H., Ding X., Zou P., Lu J. The lncRNA DAPK-IT1 regulates cholesterol metabolism and inflammatory response in macrophages and promotes atherogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2019; 516 (4): 1234–1241. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.06.113.
43. Shen W.-J., Azhar S., Kraemer F.B. SR-B1: A Unique Multifunctional Receptor for Cholesterol Influx and Efflux. *Annu. Rev. Physiol*. 2018; 80 (1): 95–116. doi: 10.1146/annurev-physiol-021317-121550
44. Linton M.F., Tao H., Linton E.F., Yancey P.G. SR-B1: A Multifunctional Receptor in Cholesterol Homeostasis and Atherosclerosis. *Trends Endocrinol Metab*. 2017 Jun; 28(6): 461–472. doi: 10.1016/j.tem.2017.02.001
45. Galle-Treger L., Moreau M., Ballaire R., Poupel L., Huby T., Sasso E. et al. Targeted invalidation of SR-B1 in macrophages reduces macrophage apoptosis and accelerates atherosclerosis. *Cardiovasc. Res*. 2020; 116 (3): 554–565. doi: 10.1093/cvr/cvz138.
46. Ma X., Li S.F., Qin Z.S., Ye J., Zhao Z.-L., Fang H.-H. et al. Propofol up-regulates expression of ABCA1, ABCG1, and SR-B1 through the PPAR γ /LXR α signaling pathway in THP-1 macrophage-derived foam cells. *Cardiovasc. Pathol*. 2015; 24 (4): 230–235. doi: 10.1016/j.carpath.2014.12.004.
47. Tang S.L., Chen W.J., Yin K., Zhao G.-J., Mo Z.-C., Lv Y.-C. et al. PAPP-A negatively regulates ABCA1, ABCG1 and SR-B1 expression by inhibiting LXR α through the IGF-I-mediated signaling pathway. *Atherosclerosis*. 2012; 222 (2): 344–354. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.03.005.
48. Li Y., Shen S., Ding S., Wang L. Toll-like receptor 2 downregulates the cholesterol efflux by activating the nuclear factor- κ B pathway in macrophages and may be a potential therapeutic target for the prevention of atherosclerosis. *Exp. Ther. Med*. 2018; 15 (1): 198–204. doi: 10.3892/etm.2017.5404.
49. Ben-Aicha S., Badimon L., Vilahur G. Advances in HDL: Much more than lipid transporters. *Int J Mol Sci*. 2020 Jan 22;21(3):732. doi: 10.3390/ijms21030732.
50. Orekhov A.N., Pushkarsky T., Oishi Y., Nikiforov N.G., Zhelankin A.V., Dubrovsky L. et al. HDL activates expression of genes stimulating cholesterol efflux in human monocyte-derived macrophages. *Exp. Mol. Pathol*. 2018; 105 (2): 202–207. doi: 10.1016/j.yexmp.2018.08.003.

Для цитирования: В.А. Хотина, В.Н. Сухоруков, Д.А. Каширских, И.А. Собенин, А.Н. Орехов. Метаболизм холестерина в макрофагах. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2020; 9 (2): 91-101. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-91-101

To cite: V.A. Khotina, V.N. Sukhorukov, D.A. Kashirskikh, I.A. Sobenin, A.N. Orekhov. Cholesterol metabolism in macrophages. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2020; 9 (2): 91-101. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-91-101



УДК 616.13.002.2-004.6

DOI 10.17802/2306-1278-2020-9-2-102-113

КЛЕТОЧНЫЕ И ТКАНЕВЫЕ МАРКЕРЫ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Д.А. Каширских¹ ✉, В.А. Хотина¹, В.Н. Сухоруков^{2,3}, И.А. Собенин², А.Н. Орехов^{1,3}

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», ул. Балтийская, 8, Москва, Российская Федерация, 125315;

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. 3-я Черепковская, 15а, Москва, Российская Федерация, 121552; ³Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт морфологии человека», ул. Цюрупы, 3, Москва, Российская Федерация, 117418

Основные положения

- Атеросклероз является комплексным хроническим воспалительным заболеванием, генетическая основа которого не до конца ясна.
- Рассмотрение биомаркеров, полученных при помощи высокопроизводительных методов молекулярной биологии, может помочь объяснить и дополнить сложные механизмы и ключевые элементы атерогенеза.

Резюме

Атеросклеротические изменения характеризуются различными множественными изменениями на уровне экспрессии генов. Однако существуют общие тенденции на клеточном и молекулярном уровнях. Происходит ремоделирование внеклеточного матрикса сосудов за счет повышения уровней матричных рибонуклеиновых кислот генов катепсинов, металлопротеиназ, а также снижения уровней транскриптов коллагена I и III типа. Изменение транскрипционной активности некоторых генов приводит к нарушению регуляции цитоскелета гладкомышечных клеток и межклеточного взаимодействия, что также вносит свой вклад в образование атеросклеротического поражения. Привлечение лейкоцитов к стенкам артерий при помощи катепсинов, хемокинов и других маркеров, связанных с сигнальными системами, приводит к инфильтрации моноцитов в интиму. Кроме того, наблюдается изменение соотношения экспрессии апобелков, превалирования экспрессии одних над другими, что приводит к накоплению холестерина и нарушению обмена липидов. Активируются гены, ответственные за накопление окисленных липопротеидов низкой плотности, что индуцирует воспалительные реакции через толл-подобные рецепторы. Наблюдаются высокие уровни CD36 и CD68, сигнализирующие об инфильтрации поражений макрофагами. В обзоре проанализированы результаты недавних исследований, связанных с изучением транскриптома атеросклеротической бляшки из сонной артерии человека. Мы рассмотрели дифференциально экспрессированные гены металлопротеиназ, катепсинов, хемокинов и их рецепторов, липидного метаболизма, компонентов внеклеточного матрикса; рецепторов, связанных с сигнальными системами, маркеров макрофагов и гладкомышечных клеток. Часть исследований имели перекрывающиеся результаты, а также новые гены, ранее не ассоциированные с атеросклерозом. Изучение маркеров атеросклеротической бляшки, отдельных генов сигнальных путей может помочь расширить наши знания о важных путях, вовлеченных в механизм атерогенеза, а также определить потенциальные биомаркеры, характеризующие стадии развития атеросклеротического поражения.

Ключевые слова

Атеросклеротическая бляшка • Металлопротеиназы • Хемокины • Гладкомышечные клетки • Внеклеточный матрикс

Поступила в редакцию: 01.04.2020; поступила после доработки: 10.04.2020; принята к печати: 30.04.2020

Для корреспонденции: Каширских Дмитрий Александрович, dim.kashirskih@gmail.com; адрес: ул. Балтийская, 8, Москва, Россия, 125315

Corresponding author: Kashirskikh Dmitry A., dim.kashirskih@gmail.com; address: 8, Baltiyskaya St., Moscow, 125315, Russian Federation

CELL AND TISSUE MARKERS OF ATHEROSCLEROSIS

D.A. Kashirskikh¹✉, V.A. Khotina¹, V.N. Sukhorukov^{2,3}, I.A. Sobenin², A.N. Orekhov^{1,3}

¹Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, 8, Baltiyskaya St., Moscow, Russian Federation, 125315; ²Federal State Budgetary Institution "National Medical Research Center for Cardiology" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 15a, 3rd Cherepkovskaya St., Moscow, Russian Federation, 121552; ³Federal State Scientific Institution "Research Institute of Human Morphology", 3, Tsyurupy St., Moscow, Russian Federation, 117418

Highlights

- Atherosclerosis is a complex chronic inflammatory disease, which genetic basis remains unclear.
- Discovery of biomarkers obtained using high-throughput technologies in molecular biology can help explain and provide new insights into the complex mechanisms and key elements of atherogenesis.

Abstract

Atherosclerotic lesions are characterized by various multiple changes at the gene expression levels. However, there are general trends at the cellular and molecular levels. Extracellular matrix remodeling of blood vessels occurs due to an increase in the mRNA levels of the cathepsin and metalloprotease genes, as well as a decrease in the levels of type I and III collagen transcripts. A change in the transcriptional activity of some genes leads to a disruption in the regulation of the smooth muscle cells cytoskeleton and intercellular interaction, which also contributes to the formation of atherosclerotic lesions. Attraction of leukocytes to the arterial walls by cathepsins, chemokines and other markers associated with signaling systems leads to the infiltration of monocytes into the intima. In addition, there is a change in the ratio of apoprotein expression, the prevalence of the expression of some over others, which leads to the cholesterol accumulation and impaired lipid metabolism. The genes responsible for the accumulation of oxidized low-density lipoprotein are activated, that induces inflammatory responses through Toll-like receptors. High levels of CD36 and CD68 are observed, signaling the infiltration of lesions by macrophages. This review focuses on the recent studies on the transcriptome of atherosclerotic plaque from the human carotid artery. We examined differentially expressed genes of metalloproteases, cathepsins, chemokines and their receptors, lipid metabolism, extracellular matrix components, receptors associated with signaling systems, macrophage and smooth muscle cells markers. Several studies have overlapping results, as well as new genes that have not previously been reported to be associated with atherosclerosis. Studying of atherosclerotic plaque markers and single signaling pathway genes can provide new insights into the pathways involved in the mechanism of atherogenesis, as well as identify potential biomarkers that characterize the stages of atherosclerotic lesion development.

Keywords

Atherosclerotic plaque • Metalloproteases • Chemokines • Smooth muscle cells • Extracellular matrix

Received: 01.04.2020; received in revised form: 10.04.2020; accepted: 30.04.2020

Список сокращений

ВКМ – внеклеточный матрикс	мРНК – матричные рибонуклеиновые кислоты
ГМК – гладкомышечные клетки	ТГ – триглицериды
ДЭГ – дифференциально экспрессируемые гены	MMPs – матриксные металлопротеиназы
ЛНП – липопротеиды низкой плотности	

Введение

Атеросклероз является хроническим воспалительным заболеванием, характеризующимся инфильтрацией моноцитов и других иммунных клеток в интиму артерии, накоплением липидов внутри клеток пораженных участков с дальнейшим образованием пенных клеток и миграцией гладкомы-

шечных клеток (ГМК) сосудов. Все эти процессы приводят к образованию липофиброзной бляшки, которая может вызывать прогрессирующий стеноз, ишемию и симптомы стабильной стенокардии. Внезапный разрыв атеросклеротических бляшек может приводить к образованию тромба, окклюзии сосудов и инфаркту миокарда или головного мозга [1].

Формирование атеросклеротической бляшки в основном включает различные стадии модификации, активации и дисфункции клеток, в том числе на уровне генов. Исследование транскриптома позволяет обнаружить гены и сигнальные пути, вовлеченные в атерогенез, а также маркеры заболевания, необходимые для диагностики, профилактики и лечения атеросклероза.

Транскриптомное профилирование атеросклеротических бляшек из сонных артерий человека позволяет выделить списки дифференциально экспрессируемых генов (ДЭГ), которые в большей степени меняют свою экспрессию относительно здоровой ткани [2–6]. При использовании анализа белок-белковых взаимодействий выделяют гены и их продукты, наиболее вовлеченные в патологические процессы атеросклероза.

Целью обзора является освещение последних данных в области изучения экспрессии генов атеросклеротической бляшки. При сравнении списков генов и процессов, в которых они принимают участие, в атеросклеротической бляшке наблюдаются общие паттерны экспрессии генов, в частности связанные с матриксными металлопротеиназами (ММПs), хемокинами, катепсинами, аполипопротеинами, маркерами макрофагов и ГМК сосудов (таблица).

Матриксные и другие металлопротеиназы

Матриксные металлопротеиназы представляют собой семейство эндопептидаз и играют важную роль в ремоделировании сосудов и развитии атеросклероза. У человека семейство ММПs включает 28 членов. ММПs посредством протеолиза вызывают очаговое разрушение внеклеточного матрикса (ВКМ) сосудов. ММПs принимают участие в некоторых патологических путях, наблюдаемых в атеросклеротических бляшках. В транскриптомных исследованиях бляшек сонных артерий выявлено значительное повышение экспрессии генов *MMP7*, *MMP9*, *MMP11* и *MMP12* по сравнению с образцами здоровых тканей [2, 3]. В качестве наиболее важного ДЭГ в метаанализе транскриптомных исследований выделен ген *MMP9* [6]. Кроме того, результаты исследований GWAS и METASTROKE подтвердили связь двух металлопротеиназ (*MMP12* и *MMP9*) с инсультом [7].

Показано, что *MMP7*, *MMP9* и *MMP12* имеют высокий уровень экспрессии в атеросклеротических поражениях [2] и обычно продуцируются макрофагами и ГМК [8]. *MMP7* связан с кальцификацией сонных артерий, тогда как *MMP9* считается маркером нестабильности атеросклеротической бляшки [9]. Регуляция *MMP9* осуществляется факторами транскрипции NF-κB и AP-1 [10].

MMP9 участвует в деградации атеросклеротических фиброзных покрышек, что приводит к трещинам и последующему острому тромбозу. В

исследованиях *in vitro* показано, что *MMP9* расщепляет субстраты ВКМ внутри фиброзной покрышки, таким образом усиливая уязвимость бляшки, и способствует миграции ГМК [11]. Генетический нокаут по гену *MMP9* нарушал миграционную активность изолированных ГМК сосудов и уменьшал гиперплазию интимы. Кроме того, недостаток *MMP9* вызывал реорганизацию коллагенового матрикса и уменьшал прикрепление ГМК. *MMP9* может регулировать пролиферативную активность ГМК путем регуляции клеточной адгезии, так же как и объединение кадгерина и β-катенина [12]. Кроме того, нарушение регуляции *MMP9* может привести к нарушению метаболизма липидов.

Показана повышенная экспрессия *ADAMDEC1*, который является членом семейства пептидаз ADAM, связанного с матриксными металлопротеиназами. В течение воспаления *ADAMDEC1* активируется в участках, где он не экспрессируется конститутивно, в том числе в липофиброзной атеросклеротической бляшке [13]. Предположительно, *ADAMDEC1* может играть роль в иммунной системе человека и остром воспалительном ответе [14].

Катепсины

Катепсины представляют собой группу лизосомальных протеиназ, которые играют важную роль в ремоделировании ВКМ сосудов и атерогенезе [15]. Катепсины могут функционировать как внутри клеток, так и во внеклеточном пространстве. Они могут разрушать компоненты ВКМ, такие как коллаген и эластин, и стимулировать апоптотические процессы. Обнаружено, что некоторые катепсины, включая катепсины В и D, колокализуются с макрофагами в атеросклеротических поражениях, а катепсин G играет важную роль в миграции лейкоцитов к стенкам артерий [16]. Ген катепсина В (*CTSB*) идентифицирован при сравнении экспрессии генов стабильных и нестабильных участков бляшки, полученных от одного пациента [13]. Кроме того, транскриптомный анализ показал экспрессию гена катепсина Z в атеросклеротических поражениях (*CTS2Z*) [4].

Хемокины и их рецепторы

Хемокины представляют собой суперсемейство секретируемых белков, участвующих в регуляции иммунных и воспалительных процессов. Биоинформатический анализ позволил выделить *CCL18* и *CCL4* в качестве ключевых генов хемокинов, участвующих в развитии фиброзной бляшки [6]. Помимо этого, активируются некоторые хемокины и их рецепторы, наиболее важными из которых являются *CCL5* и *CCL2*. Данная группа хемокинов относится к семейству с C-C-мотивом. Они принимают участие в нескольких ключевых процессах, таких как хемокinez, передача сигналов дендритными клетками, рекрутирование моноцитов и повышение

проницаемости сосудов, которые соответствуют патологии атеросклероза [17].

Местное воспаление инициируется поврежденными эндотелиальными клетками, которые вырабатывают MCP-1 (известный как CCL2). CCL2 взаимодействует с рецепторами CCR2 и CCR4, которые экспрессируют на своей поверхности цирку-

лирующие моноциты, таким образом привлекая их к местам поражения [18]. На миграцию моноцитов также влияют другие цитокины и хемокины, такие как IL-8, CCL3 и CCL4 [19].

CCL4 участвует в регуляции воспалительного ответа. Выработка CCL4 моноцитами имеет значительную корреляцию с концентрацией липопротеидов

Таблица. Список генов, меняющих экспрессию в атеросклеротической бляшке относительно здоровой ткани
Table. List of genes that change expression in atherosclerotic plaque relative to healthy tissue

Гены / Genes	Белки / Proteins	Процессы / Processes	Экспрессия гена при атеросклерозе / Gene expression in atherosclerosis
MMP7, MMP9, MMP11, MMP12	Матриксная металлопротеиназа 7, 9, 11, 12 / Matrix metalloproteinase 7, 9, 11, 12	Деградация ВКМ, кальцификация и нестабильность бляшки	↑
ADAMDEC1	ADAM-подобный децисин 1 / ADAM-like decysin 1	Воспаление, миграция лейкоцитов	↑
CTSB, CTSZ	Катепсин В, Z / Cathepsins B, Z	Деградация ВКМ, нестабильность бляшки	↑
CCL2, CCL4, CCL5, CCL18, CCL19, CCL21, CCR1	Лиганд с C-C-мотивом 2, 4, 5, 18, 19, 21 и рецептор с C-C-мотивом 1 / C-C motif ligand 2, 4, 5, 18, 19, 21 and receptor 1	Воспаление, миграция моноцитов и Т-клетки, повышение проницаемости стенки артерии	↑
CXCL2, CXCL7, CXCL16, CXCR4	Лиганд с CXC-мотивом 2, 7, 16 и рецептор с CXC-мотивом 4 / CXC motif ligand 2, 7, 16 and receptor 4	Воспаление, миграция моноцитов и нестабильность бляшки	↑
CIDEA, CIDEA	DFFA-подобные эффекторы С и А / DFFA-like effector C and A	Накопление липопротеидов	↓
APOE, APOD, APOC1	Аполипопротеин Е, D, С1 / Apolipoprotein E, D, C1	Воспаление, накопление липопротеидов	APOD ↓, APOE ↑, APOC1 ↑
OLR1	Рецептор окисленных липопротеидов низкой плотности 1 / Oxidized low-density lipoprotein receptor 1	Накопление липопротеидов	↑
PLIN	Перилипин 1 / Perilipin 1		↓
COL3A1, COL1A2	Коллаген типа I и III / Collagen type I and III	Деградация ВКМ, нестабильность бляшки	↓
RGS1	Регулятор сигнализации G-белка 1 / Regulator of G-protein signaling 1	Сигнализация, воспаление, рекрутирование лейкоцитов	↑
ITGAM	Субъединица интегрина α М / Integrin subunit α M	Воспаление, адгезия нейтрофилов и моноцитов, тромбоз	↑
TLR1, TLR2, TLR4	Толл-подобные рецепторы 1, 2, 4 / Toll-like receptors 1, 2, 4	Воспаление, деградация ВКМ	↑
LYN	Тирозинкиназа Lyn / Tyrosine-protein kinase Lyn	Подавление воспаления	↑
CD36 (SCARB3)	Сквенджер-рецептор класса В тип 3 / Scavenger receptor class B type 3	Воспаление, миграция лейкоцитов, атеросклеротических поражений	↑
CD68 (SCARD1)	Сквенджер-рецептор класса D тип 1 / Scavenger receptor class D type 1	Воспаление	↑
CD163 (M130)	Богатый цистеином сквенджер-рецептор тип 1 белок M130 / Scavenger receptor cysteine-rich type 1 protein M130	Воспаление, рекрутирование	↑
SPP1	Секретированный фосфопротеин 1 / Secreted Phosphoprotein 1	Воспаление, миграция и адгезия для моноцитов, кальцификация	↑
VCL	Винкулин / Vinculin	Деградация ВКМ	↓
ACTN1	Актинин альфа 1 / Actinin alpha 1		↓
LMOD1	Леймодин 1 / Leiomodin 1		↓
SYNPO2	Синаптоподин 2 / Synaptopodin 2		↓
			↓

Примечание: ВКМ – внеклеточный матрикс.

низкой плотности (ЛНП) и общего холестерина [20]. *CCL4* также обнаруживается в фиброзных бляшках человека, а его уровень в плазме отражает уровень проатерогенных цитокинов внутри бляшки. Окисленные ЛНП вызывают экспрессию *NLRP3*, *IL-1 β* и *CCL4* в ГМК сосудов [21].

CCL5 является одним из хемокинов, который рекрутирует моноциты и Т-клетки в участки с воспалением. *CCL5* экспрессируется моноцитами, макрофагами, Т-клетками и ГМК. Повышенная экспрессия *CCL5* в тромбоцитах обеспечивает миграцию моноцитов и макрофагов в поврежденные сосуды [22].

CCL18 главным образом вырабатывается моноцитами, макрофагами и дендритными клетками. *CCL18* экспрессируется только в атеросклеротических бляшках человека, а именно в участках скопления макрофагов. Накопление макрофагов в интиме артерии играет важную роль в развитии фиброзной бляшки. Кроме того, *CCL18* и ангиотензин II способны вызывать фиброзные изменения посредством активации TGF- β -независимых сигнальных путей [23]. *CCL18* служит маркером противовоспалительной активации, также может принимать участие в образовании атеросклеротических бляшек [24].

Наблюдается значительное повышение уровней матричных рибонуклеиновых кислот (мРНК) *CCL19* и *CCL21* в атеросклеротических бляшках. Недавние исследования показали, что модуляция хемокинов *CCL19* и *CCL21* на модели мышей, нокаутных по LDLR (LDLR^{-/-}), снижает уровень провоспалительных цитокинов, таких как IL-12 и IFN- γ , что приводит к стабилизации атеросклеротических бляшек [25].

CXCL2 принадлежит к семейству хемокинов с CXС-мотивом и является необходимым для процессов воспаления, опосредуемых нейтрофилами [8]. Активация сигнальных путей MAP-киназы и транскрипционного фактора NF- κ B способствует экспрессии *CXCL2*. Экспрессия гена *CXCL2* также была продемонстрирована в атеросклеротических бляшках [5].

CXCL7, также известный как протромбоцитарный основной белок, является тромбоцитарным фактором роста. *CXCL7* участвует в восстановлении сосудов после их повреждения. Сверхэкспрессия гена *CXCL7* в разорванных атеросклеротических бляшках выделяет его в качестве биомаркера дестабилизации атеросклеротических поражений [26].

CXCL16 экспрессируется ГМК, иммунными и эндотелиальными клетками, а также в атеросклеротических бляшках [5]. *CXCL16* в мембран-связанном состоянии может выступать в роли молекулы адгезии, а в свободном растворенном виде как хемоаттрактант.

CCR1 высоко экспрессирован в атеросклеротических поражениях по сравнению с контролем [5]. Показано, что ускоренное развитие атеросклероза, наблюдаемое у мышей с делецией гена *CCR1*, может быть обусловлено избирательной потерей передачи сигналов CCR1/CXCL4 в макрофагах атеро-

склеротической бляшки, что приводит к снижению поглощения модифицированных ЛНП. *CXCL4* индуцирует эндоцитоз CCR1 и может опосредовать хемотаксис моноцитов [27].

CXCR4 имеет высокие уровни мРНК в атеросклеротических бляшках [5]. Клеточно-специфическая делеция *CXCR4* в артериальных эндотелиальных клетках или ГМК заметно увеличивала образование атеросклеротических поражений у мышей с гиперлипидемией. В артериальных ГМК *CXCR4* поддерживал нормальную сосудистую реактивность и сократительную реакцию, в то время как дефицит *CXCR4* способствовал появлению ГМК-подобных макрофагов в очагах поражения и нарушению оттока холестерина [28].

Белки, связанные с метаболизмом липидов

Транскриптомное профилирование выделило ДЭГ, связанные с метаболизмом липидов, такие как *CIDEA*, *CIDEA*, *APOE*, *APOD* и *APOC1* [2]. В атеросклеротических бляшках наблюдается повышение уровней мРНК генов аполипопротеина E и C1 (*APOE* и *APOC1*) [2]. Однако они имеют различное распределение внутри бляшки. *APOC1* обнаруживается непосредственно в некротическом ядре, тогда как *APOE* – в областях вокруг него. Подобное распределение коррелирует с данными о распределении липидов и накоплением холестерина в бляшках, а также их размерах [29].

Процессы воспаления и атерогенеза тесно взаимосвязаны. У мышей с дефицитом гена *ApoE ApoC1* увеличивает площадь атеросклеротических поражений, а также системное и сосудистое воспаление [30].

APOD представляет собой атипичный аполипопротеин с множеством функций. Показано, что экспрессия *APOD* в атеросклеротической бляшке подавляется [2]. Избыточная экспрессия *ApoD* в печени мышей снижала уровни триглицеридов (ТГ) в плазме за счет повышения активности липопротеинлипазы и катаболизма частиц, богатых ТГ [31]. Дефицит *APOD* может стать причиной замедления катаболизма липопротеидов высокой плотности, липопротеидов очень низкой плотности и ТГ [32].

DFFA-подобные эффекторы С и А, вызывающие клеточную гибель (*CIDEA*, *CIDEA*), связаны с поглощением и накоплением липидов в пенистых клетках [33]. Снижение их экспрессии может указывать на уменьшение процессов образования пенистых клеток в атеросклеротических бляшках [34].

Наблюдается снижение уровня мРНК гена перилипина (*PLIN*) в атеросклеротической бляшке [2]. Рецептор PPAR- γ усиливает экспрессию *PLIN*, что приводит к образованию липидных капель, в которых содержатся ТГ. Уровень холестерина у мышей с нокаутом по *Plin* значительно выше, чем у мышей дикого типа [35].

Продемонстрирован высокий уровень мРНК гена *OLRI* в атеросклеротических бляшках [2].

OLR1 кодирует лектиноподобный рецептор окисленных ЛНП (LOX-1), который отвечает за поглощение клетками окисленных ЛНП. Основным признаком инициации атеросклеротических поражений являются поглощение и накопление нативных ЛНП и окисленные ЛНП, что приводит к образованию пенных клеток в атеросклеротических бляшках. Делеция гена *OLR1* уменьшает атерогенез у мышей, содержащихся на диете с высоким содержанием холестерина, и защищает от уязвимости бляшки в условиях гиперхолестеринемии [36].

Компоненты внеклеточного матрикса

При атеросклерозе коронарных артерий макрофаги и ГМК могут ингибировать синтез MMPs и коллагеновых белков. В участках уязвимых атеросклеротических бляшек, богатых макрофагами, наблюдается подавление экспрессии *COL3A1* и *COL1A2* [26].

COL1A2 является геном коллагена I типа, необходимого для образования фибрилл. Коллаген I типа является основным компонентом сосудистой стенки и может оказывать значительное влияние на развитие атеросклеротического заболевания [37].

Ген *COL3A1* кодирует пре- α 1-цепь коллагена III типа, который может быть связан с процессами утолщения интимы в атеросклеротических поражениях. Известно, что мутация гена *COL3A1* вызывает развитие синдрома Элерса – Данлоса IV типа, который связан с ранним началом возникновения артериальных разрывов [38]. Уменьшение транскрипционной активности *COL3A1* приводит к снижению стабильности, разрывам и повторной окклюзии бляшками мелких сосудов за счет снижения выработки коллагена III типа.

Подавление экспрессии *COL3A1* и *COL1A2* способствует разрыву бляшек за счет изменения компонентов ВКМ. Липофиброзные бляшки характеризуются повышенной деградацией ВКМ [39]. Таким образом, увеличение экспрессии коллагена, вероятно, способствует стабилизации атеросклеротических бляшек.

Рецепторы, опосредующие передачу сигнала

RGS1 является медиатором при передаче сигнала рецепторов, сопряженных с G-белком (GPCR), для привлечения и накопления лейкоцитов в аорте во время сосудистого воспаления при атеросклерозе [40]. Ген *RGS1* активируется в сосудах с атеросклерозом и в ответ на активацию и дифференцировку макрофагов, однако наблюдается низкий уровень транскриптов этого гена в циркулирующих моноцитах. Также дефицит *RGS1* усиливает хемотаксис макрофагов и снижает потерю чувствительности рецепторов хемокинов. Дефицит *Rgs1* снижает вероятность развития атеросклероза у мышей с нокаутом по ApoE^{-/-} из-за уменьшения накопления лейкоцитов в стенке артерии [41].

В атеросклеротической бляшке наблюдается повышенная экспрессия гена *ITGAM* [5]. *ITGAM* кодирует α M-цепь белка интегрина α M β 2, который преимущественно экспрессируется моноцитами и макрофагами и обеспечивает адгезию клеток к белкам, связанным с внеклеточным матриксом. Интегрин α M β 2 участвует в прикреплении нейтрофилов и моноцитов к стимулированному эндотелию в процессах воспаления и тромбоза. Интегрины, специфические для лимфоцитов (α L β 2, α M β 2, α X β 2, α D β 2, α 4 β 7), взаимодействуют с контррецепторами суперсемейства Ig, экспрессируемыми на активированных эндотелиальных клетках [42]. Для обеспечения механических и сигнальных функций гетеродимерам интегрина необходимы белки, которые собираются в большие и функционально разнообразные комплексы.

Толл-подобные рецепторы представляют собой группу белков, принимающих участие в обеспечении реакций врожденного иммунитета. Обнаруживается избыточная экспрессия *TLR1*, *TLR2* и *TLR4* в эндотелиальных клетках на поверхности атеросклеротических поражений человека [43]. Также *TLR4* экспрессируется внутри богатых липидами атеросклеротических бляшек. TLR4 может активироваться с помощью окисленных ЛНП и принимать участие в развитии атеросклероза. Провоспалительную передачу сигналов с помощью TLR4 может подавлять Lyn-протеинкиназа. Обнаружено, что дефицит *Lyn* усиливает MyD88- и TRIF-зависимую выработку TNF- α и CCL5/RANTES в ответ на воспаление [5]. Транскриптомное профилирование выявило высокие уровни мРНК генов *LYN* и *TLR2* в атеросклеротической бляшке [5].

TLR2 и *TLR4* экспрессируются макрофагами, нейтрофилами и дендритными клетками и участвуют в развитии заболевания коронарной артерии посредством активации путей, опосредуемых NF- κ B. У LDLR^{-/-} мышей гиперлипидемия усиливает экспрессию эндотелиального *TLR2* [44]. Активация *TLR2* у ApoE^{-/-} нокаутных мышей увеличивает образование атеросклеротических бляшек. Кроме того, TLR2 при участии IL-6 способствует миграции сосудистых ГМК из меди в интиму. Генетический нокаут *TLR2* снижает развитие атеросклероза у ApoE^{-/-} мышей, а экспрессия и активация *TLR2* регулирует воспалительные процессы и выработку активных форм кислорода [45]. В активации *TLR2* также принимают участие CD36.

Маркеры макрофагов

CD36 представляет собой мембранный рецептор, который присутствует в различных типах клеток, включая моноциты, макрофаги, эндотелиальные клетки, адипоциты и тромбоциты. Макрофаги с CD36⁺ участвуют в формировании атеросклеротического поражения артерий благодаря взаимодействию

с окисленными ЛНП, которые запускают сигнальные каскады воспалительных реакций. Окисленные ЛНП посредством взаимодействия с CD36 активируют ядерный рецептор PPAR- γ , который усиливает экспрессию гена *CD36*. CD36 за счет поглощения окисленных ЛНП принимает участие в образовании пенистых клеток. Кроме того, окисленные ЛНП посредством взаимодействия с CD36 ингибируют миграцию макрофагов, а также вызывают секрецию цитокинов, которые усиливают инфильтрацию иммунных клеток в интиму артерии. Дефицит CD36 снижает образование атеросклеротических бляшек [46].

Экспрессия гена *CD68* резко увеличивается в жировой полосе по сравнению с начальным типом повреждения. CD68 является маркером макрофагов. Транскриптомное профилирование атеросклеротической бляшки выявило повышенные уровни мРНК генов *CD36*, *CD68* и *CD163* [3].

В мышинной модели внутрибляшечной геморрагии с делецией гена *CD163* наблюдалось снижение развития атеросклеротической бляшки и уменьшение привлечения клеток, участвующих в воспалении в интиму. У мышей с комбинированной делецией *CD163* и *ApoE* выявлено значительное снижение развития бляшек по сравнению с мышами, дефицитными по ApoE. Это указывает на вероятный механизм, не зависящий от липидов. Считается, что в основе развития атеросклеротических поражений с участием CD163⁺-макрофагов лежат молекулярные каскады, опосредованные HIF1 α /VEGF-A [47].

В развитии атеросклероза особая роль отводится остеопонтину. В атеросклеротических бляшках обнаруживается высокий уровень экспрессии остеопонтина (*SPP1*) по сравнению со здоровыми участками артерий [2]. Остеопонтин участвует в процессах воспаления, миграции и адгезии клеток и действует в качестве хемоаттрактанта для моноцитов [48]. Повышенная экспрессия *SPP1* в атеросклеротических поражениях может быть связана с процессами кальцификации. У ApoE^{-/-} мышей, подвергшихся воздействию ангиотензина II, недостаточная экспрессия *SPP1* вызывала уменьшение размеров атеросклеротических поражений, снижала количество и жизнеспособность макрофагов. Повышенная экспрессия *SPP1* также наблюдается в пенистых клетках макрофагов [49]. Таким образом, *SPP1* играет одну из ключевых ролей не только в процессах образования бляшек, но и нарушении их стабильности.

Маркеры гладкомышечных клеток

Винкулин (*VCL*) является актин-связывающим белком цитоскелета и принимает участие в межклеточном взаимодействии. Изучение транскриптома атеросклеротической бляшки выявило снижение экспрессии гена *VCL* [5]. Нарушение регуляции цитоскелета, вероятно, свидетельствует о том, что

медиальные клетки ГМК сосудов переключаются с сократительного на синтетический фенотип во время развития атеросклероза [50].

В атеросклеротических бляшках обнаруживается пониженная экспрессия гена *ACTN1* [2, 5]. Ген *ACTN1* кодирует структурный белок – актин, участвующий в регуляции организации цитоскелета в клетках. Снижение экспрессии может свидетельствовать о деградациии ВКМ. Нокдаун *LMOD1* приводит к увеличению пролиферации и миграции ГМК у мыши. Помимо *LMOD1* еще одним геном, который функционально связан с актиновым цитоскелетом, является синаптоподин 2 (*SYNPO2*). *SYNPO2* является ГМК-специфическим геном, генетический вариант которого связан с толщиной интимы сонной артерии у субъектов с высоким риском бессимптомных сердечно-сосудистых заболеваний. Экспрессия *LMOD1* и *SYNPO2* сильно снижена в бляшках и коррелирует с маркерами дифференцированных ГМК [4].

Заключение

Развитие атеросклеротического поражения нарушает функцию артериальной стенки человека и приводит к экспрессии ряда генов и сигнальных путей, не характерных для здоровых артерий. Представленные в обзоре данные дают представление о вовлеченности различных процессов в атерогенез. Во-первых, участие хемокинов, их рецепторов, маркеров макрофагов и различных сигнальных путей демонстрирует воспалительную природу атеросклеротического заболевания, а также активное привлечение моноцитов к очагам поражений и их дальнейшую дифференцировку в макрофаги. Во-вторых, одной из главных отличительных черт атерогенеза является реорганизация внеклеточного матрикса благодаря металлопротеиназам и катепсинам, чему также способствует изменение фенотипа ГМК. В-третьих, показано изменение регуляции генов, связанных с накоплением липопротеидов при атеросклерозе. Несмотря на множество потенциальных биомаркеров атеросклероза, дальнейшее изучение роли каждого гена и их продуктов позволит дополнить наши знания о структуре такого сложного и многофакторного процесса, как атерогенез.

Финансирование

Работа проведена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 20-45-08002).

Конфликт интересов

Д.А. Каширских заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.А. Хотина заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.Н. Сухоруков заявляет об отсутствии конфликта интересов. И.А. Собенин заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Н. Орехов заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Информация об авторах

Каширских Дмитрий Александрович, младший научный сотрудник лаборатории ангиопатологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0748-9238

Хотина Виктория Александровна, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории ангиопатологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-2096-3237

Сухоруков Василий Николаевич, младший научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии и молекулярной микроэкологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека», научный сотрудник лаборатории медицинской генетики федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0312-3773

Собенин Игорь Александрович, доктор медицинских наук, руководитель лаборатории медицинской генетики федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-0978-6444

Орехов Александр Николаевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией ангиопатологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии и молекулярной микроэкологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6495-1628

Author Information Form

Kashirskikh Dmitry A., researcher assistant at the Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0748-9238

Khotina Victoria A., postgraduate student, researcher assistant at the Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-2096-3237.

Sukhorukov Vasily N., researcher assistant at the Laboratory of Infectious Pathology and Molecular Microecology, Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russian Federation; researcher at the Laboratory of Medical Genetics, National Medical Research Center of Cardiology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0312-3773

Sobenin Igor A., PhD, Head of the Laboratory of Medical Genetics, Federal State Budgetary Institution “National Medical Research Center for Cardiology” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-0978-6444

Orekhov Alexander N., PhD, Professor, Head of the Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology; Moscow, Russian Federation; senior researcher at the Laboratory of Infectious Pathology and Molecular Microecology, Federal State Scientific Institution “Research Institute of Human Morphology”, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6495-1628

Вклад авторов в статью

КДА – получение и анализ данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ХВА – получение и анализ данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

СВН – вклад в концепцию исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

СИА – интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ОАН – интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Author Contribution Statement

KDA – data collection and analysis, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

KhVA – data collection and analysis, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

SVN – contribution to the concept of the study, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

SIA – data interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

OAN – data interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кочергин Н.А., Кочергина А.М., Ганюков В.И., Барбараш О.Л. Нестабильные атеросклеротические бляшки коронарных артерий у пациентов со стабильной ишеми-

ческой болезнью сердца. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2018; 7(3): 65-71 <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2018-7-3-65-71>

2. Sulkava M., Raitoharju E., Levula M., Seppälä I., Lyytikäinen L.P., Mennander A., Järvinen O., Zeitlin R., Salenius J.P., Illig T., Klopp N., Mononen N., Laaksonen R., Kähönen M., Oksala N., Lehtimäki T. Differentially expressed genes and canonical pathway expression in human atherosclerotic plaques-Tampere Vascular Study. *Sci. Rep.* 2017; 7 (1): 1–10. doi: 10.1038/srep41483.
3. Razuvaev A., Ekstrand J., Folkersen L., Agardh H., Markus D., Swedenborg J., Hansson G.K., Gabrielsen A., Paulsson-Berne G., Roy J., Hedin U. Correlations between clinical variables and gene-expression profiles in carotid plaque instability. *Eur. J. Vasc. Endovasc.* 2011; 42 (6): 722–730. doi: 10.1016/j.ejvs.2011.05.023.
4. Perisic L., Aldi S., Sun Y., Folkersen L., Razuvaev A., Roy J. et al. Gene expression signatures, pathways and networks in carotid atherosclerosis. *J. Intern. Med.* 2016; 279 (3): 293–308. doi: 10.1111/joim.12448.
5. Liu W., Zhao Y., Wu J. Gene expression profile analysis of the progression of carotid atherosclerotic plaques. *Mol. Med. Rep.* 2018; 17 (4): 5789–5795.
6. Chen P., Chen Y., Wu W., Chen L., Yang X., Zhang S. Identification and validation of four hub genes involved in the plaque deterioration of atherosclerosis. *Aging.* 2019; 11 (16): 6469–6489. doi: 10.18632/aging.102200.
7. Traylor M., Mäkelä K.M., Kilarski L.L., Holliday E.G., Devan W.J., Nalls M.A. et al. A Novel MMP12 Locus Is Associated with Large Artery Atherosclerotic Stroke Using a Genome-Wide Age-at-Onset Informed Approach. *PLoS Genet.* 2014; 10 (7): e1004469. doi: 10.1371/journal.pgen.1004469.
8. Chistiakov D.A., Grechko A.V., Myasoedova V.A., Melnichenko A.A., Orekhov A.N. The role of monocytosis and neutrophilia in atherosclerosis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* c. 2018; 22 (3): 1366–1382. doi: 10.1111/jcmm.13462.
9. Gaubatz J.W., Ballantyne C.M., Wasserman B.A., He M., Chambless L.E., Boerwinkle E., Hoogeveen R. CAssociation of circulating matrix metalloproteinases with carotid artery characteristics: The atherosclerosis risk in communities carotid mri study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010; 30 (5): 1034–1042. doi: 10.1161/ATVBAHA.109.195370
10. Tsai C.L., , Chen W.C., Hsieh H.L., Chi P.L., Hsiao L.D., Yang C. TNF- α induces matrix metalloproteinase-9-dependent soluble intercellular adhesion molecule-1 release via TRAF2-mediated MAPKs and NF- κ B activation in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. *J. Biomed. Sci.* 2014; 21:12. doi: 10.1186/1423-0127-21-12.
11. Ma Y., Yabluchanskiy A., Hall M.E., Lindsey M.L. Using plasma matrix metalloproteinase-9 and monocyte chemoattractant protein-1 to predict future cardiovascular events in subjects with carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2014; 232 (1): 231–233. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.09.013
12. Cho A., Reidy M.A. Matrix metalloproteinase-9 is necessary for the regulation of smooth muscle cell replication and migration after arterial injury. *Circ. Res.* 2002; 91 (9): 845–851.
13. Paspaspyridonos M., Smith A., Burnand K.G., Taylor P., Padayachee S., Suckling K.E., James C.H., Greaves D.R., Patel L. Novel candidate genes in unstable areas of human atherosclerotic plaques. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26 (8): 1837–1844.
14. O'Shea N.R. Critical Role of the Disintegrin Metalloprotease ADAM-like Decysin-1 [ADAMDEC1] for Intestinal Immunity and Inflammation [NCBI] Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5174729/> (accessed: 30.03.2020).
15. Liu J., Sukhova G.K., Sun J.S., Xu W.H., Libby P., Shi G.P. Lysosomal cysteine proteases in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004; 24 (8): 1359–1366. doi:10.1161/01.ATV.0000134530.27208.41
16. Li W., Yuan X.M. Increased expression and translocation of lysosomal cathepsins contribute to macrophage apoptosis in atherogenesis. *Ann N Y Acad Sci.* 2004; 1030: 427–433. doi: 10.1196/annals.1329.053
17. O'Connor T., Borsig L., Heikenwalder M. CCL2-CCR2 Signaling in Disease Pathogenesis. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2015;15(2):105-18. doi: 10.2174/1871530315666150316120920
18. Lin J., Kakkar V., Lu X. Impact of MCP -1 in Atherosclerosis. *Curr. Pharm. Des.* 2014; 20 (28): 4580–4588.
19. Koenen R.R., von Hundelshausen P., Nesmelova I.V., Zerneck A., Liehn E.A., Sarabi A. et al. Disrupting functional interactions between platelet chemokines inhibits atherosclerosis in hyperlipidemic mice. *Nat. Med.* 2009; 15 (1): 97–103. doi: 10.1038/nm.1898
20. Bala M., Kopp A., Wurm S., Büchler C., Schölmerich J., Schäffler A. Type 2 diabetes and lipoprotein metabolism affect LPS-induced cytokine and chemokine release in primary human monocytes. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 2011; 119 (6): 370–376. doi: 10.1055/s-0030-1268413.
21. Wang J., Wu Q., Yu J., Cao X., Xu Z. miR-125a-5p inhibits the expression of NLRP3 by targeting CCL4 in human vascular smooth muscle cells treated with ox-LDL. *Exp. Ther. Med.* 2019; 18 (3): 1645 -1652. doi: 10.3892/etm.2019.7717.
22. Jones K.L., Maguire J.J., Davenport A.P. Chemokine receptor CCR5: From AIDS to atherosclerosis. *Br J Pharmacol.* 2011; 162 (7): 1453–1469. doi: 10.1111/j.1476-5381.2010.01147.x
23. Günther J., Kill A., Becker M.O., Heidecke H., Rademacher J., Siegert E., Radić M., Burmester G.R., Dragun D., Riemekasten G. Angiotensin receptor type 1 and endothelin receptor type A on immune cells mediate migration and the expression of IL-8 and CCL18 when stimulated by autoantibodies from systemic sclerosis patients. *Arthritis Res. Ther.* 2014; 16 (2): R65. doi: 10.1186/ar4503.
24. Orekhov A., Sobenin I.A., Gavrillin M.A., Gratchev A., Kotyashova S.Y., Nikiforov N.G., Kzhyshkowska J. Macrophages in Immunopathology of Atherosclerosis: A Target for Diagnostics and Therapy. *Curr. Pharm. Des.* 2014; 21 (9): 1172–1179. doi: 10.2174/1381612820666141013120459
25. Akhavanpoor M., Gleissner C.A., Gorbatsch S., Doesch A.O., Akhavanpoor H., Wangler S. et al. CCL19 and CCL21 modulate the inflammatory milieu in atherosclerotic lesions. *Drug Des. Devel. Ther.* 2014; 8: 2359–2371. doi: 10.2147/DDDT.S72394
26. Wang H., Liu D., Zhang H. Investigation of the underlying genes and mechanism of macrophage-enriched ruptured atherosclerotic plaques using bioinformatics method. *J. Atheroscler. Thromb.* 2019; 26 (7): 636–658. doi: 10.5551/jat.45963
27. Fox J.M., Kausar F., Day A., Osborne M., Hussain K., Mueller A., et al. CXCL4/Platelet Factor 4 is an agonist of CCR1 and drives human monocyte migration. *Sci. Rep.* 2018; 8:9466. doi:10.1038/s41598-018-27710-9
28. Döring Y., Noels H., van der Vorst E.P.C., Neideck C., Egea V., Drechsler M., Mandl M. et al. Vascular CXCR4 limits atherosclerosis by maintaining arterial integrity: Evidence from mouse and human studies. *Circulation.* 2017; 136 (4): 388–403. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.027646
29. Notø A.-T.W., Mathiesen E.B., Brox J., Björkegren J., Hansen J.B. The ApoC-I Content of VLDL Particles is Associated with Plaque Size in Persons with Carotid Atherosclerosis. *Lipids.* 2008; 43 (7): 673–679. doi: 10.1007/s11745-008-3193-2.
30. Westerterp M., Berbée J.F., Pires N.M., van Mierlo G.J., Kleemann R., Romijn J.A., Havekes L.M., Rensen P.C. Apolipoprotein C-I is crucially involved in lipopolysaccharide-induced atherosclerosis development in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation.* 2007; 116 (19): 2173–2181. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.693382
31. Perdomo G., Kim D.H., Zhang T., Qu S., Thomas E.A., Toledo F.G., Slusher S., Fan Y., Kelley D.E., Dong H.H. A role of apolipoprotein D in triglyceride metabolism. *J. Lipid Res.* 2010; 51 (6): 1298–1311. doi: 10.1194/jlr.M001206.
32. Ali K., Abo-Ali E.M., Kabir M.D., Riggins B., Nguy S., Li L., Srivastava U., Thinn S.M. A Western-fed diet increases plasma HDL and LDL-cholesterol levels in ApoD-/- mice. *PLoS One.* 2014; 9 (12). doi: 10.1371/journal.pone.0115744.
33. Wang J., Wei B., Cao S., Xu F., Chen W., Lin H., Du C.,

Sun Z. Identification by microarray technology of key genes involved in the progression of carotid atherosclerotic plaque. *Genes Genet. Syst.* 2014; 89 (6): 253–258. doi: 10.1266/ggs.89.253.

34. Xu L., Zhou L., Li P. CIDE proteins and lipid metabolism. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2012; 32 (5): 1094–1098. doi: 10.1161/ATVBAHA.111.241489.

35. Takahashi Y., Shinoda A., Furuya N., Harada E., Arimura N., Ichi I., Fujiwara Y., Inoue J., Sato R. Perilipin-Mediated Lipid Droplet Formation in Adipocytes Promotes Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1 Processing and Triacylglyceride Accumulation. *PLoS One.* 2013; 8 (5): e64605. doi: 10.1371/journal.pone.0064605..

36. Mehta J.L., Sanada N., Hu C.P., Chen J., Dandapat A., Sugawara F. et al. Deletion of LOX-1 reduces atherogenesis in LDLR knockout mice fed high cholesterol diet. *Circ. Res.* 2007; 100 (11): 1634–1642. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.107.149724

37. Prockop D.J., Kivirikko K.I. Collagens: Molecular Biology, Diseases, and Potentials for Therapy. *Annu. Rev. Biochem.* s 1995; 64 (1): 403–434. doi: 10.1146/annurev.bi.64.070195.002155

38. Leistriz D.F., Pepin M.G., Schwarze U., Byers P.H. COL3A1 haploinsufficiency results in a variety of Ehlers-Danlos syndrome type IV with delayed onset of complications and longer life expectancy. *Genet. Med.* 2011; 13 (8): 717–722. doi: 10.1097/GIM.0b013e3182180c89.

39. Choudhary S., Higgins C.L., Chen I.Y., Reardon M., Lawrie G., Vick G.W. 3rd, Karmonik C., Via D.P., Morrisett J.D. Quantitation and localization of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human carotid endarterectomy tissues. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26 (10): 2351–2358. doi: 10.1161/01.ATV.0000239461.87113.0b

40. Strassheim D., Karoor V., Stenmark K., Verin A., Gerasimovskaya E. A current view of G protein-coupled receptor - mediated signaling in pulmonary hypertension: finding opportunities for therapeutic intervention. *Vessel Plus OAE Publishing* 2018; 2 (9): 29. doi: 10.20517/2574-1209.2018.44

41. Patel J., McNeill E., Douglas G., Hale A.B., de Bono J., Lee R. et al. RGS1 regulates myeloid cell accumulation in atherosclerosis and aortic aneurysm rupture through altered chemokine signalling. *Nat. Commun. Nature Publishing Group* 2015; 6. doi: 10.1038/ncomms7614.

42. Hynes R.O. Integrins: Bidirectional, allosteric signaling

machines. *Cell Cell Press* 2002; 110 (6): 673–687. doi: 10.1016/s0092-8674(02)00971-6

43. Edfeldt K., Swedenborg J., Hansson G.K., Yan Z.Q. Expression of toll-like receptors in human atherosclerotic lesions: A possible pathway for plaque activation. *Circulation* 2002; 105 (10): 1158–1161.

44. Mullick A.E., Soldau K., Kiosses W.B., Bell T.A., Tobias P.S., Curtiss L.K. Increased endothelial expression of Toll-like receptor 2 at sites of disturbed blood flow exacerbates early atherogenic events. *J. Exp. Med.* 2008; 205 (2): 373–383. doi: 10.1084/jem.20071096.

45. Shishido T., Nozaki N., Takahashi H., Arimoto T., Niizeki T., Koyama Y., Abe J., Takeishi Y., Kubota I. Central role of endogenous Toll-like receptor-2 activation in regulating inflammation, reactive oxygen species production, and subsequent neointimal formation after vascular injury. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006; 345 (4): 1446–1453. doi: 10.1016/j.bbrc.2006.05.056

46. Jiang Y., Wang M., Huang K., Zhang Z., Shao N., Zhang Y., Wang W., Wang S. Oxidized low-density lipoprotein induces secretion of interleukin-1 β by macrophages via reactive oxygen species-dependent NLRP3 inflammasome activation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012; 425 (2): 121–126. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.07.011.

47. Guo L., Akahori H., Harari E., Smith S.L., Polavarapu R., Karmali V. et al. CD163+ macrophages promote angiogenesis and vascular permeability accompanied by inflammation in atherosclerosis. *J. Clin. Invest.* 2018; 128 (3): 1106–1124. doi: 10.1172/JCI93025.

48. Lund S.A., Giachelli C.M., Scatena M. The role of osteopontin in inflammatory processes. *J Cell Commun Signal.* 2009; 3 (3–4): 311–322. doi: 10.1007/s12079-009-0068-0.

49. Chiba S., Okamoto H., Kon S., Kimura C., Murakami M., Inobe M., Matsui Y., Sugawara T., Shimizu T., Uede T., Kitabatake A. Development of atherosclerosis in osteopontin transgenic mice. *Heart Vessels.* 2002; 16 (3): 111–117. doi: 10.1007/s003800200005

50. de la Cuesta F., Zubiri I., Maroto A.S., Posada M., Padial L.R., Vivanco F., Alvarez-Llamas G., Barderas M.G. Deregulation of smooth muscle cell cytoskeleton within the human atherosclerotic coronary media layer. *J. Proteomics.* 2013; 82: 155–165. doi: 10.1016/j.jprot.2013.01.032.

REFERENCES

1. Kochergin N.A., Kochergina A.M., Ganjukov V.I., Barbarash O.L. Vulnerable atherosclerotic plaques of coronary arteries in patients with stable coronary artery disease. *Complex Issues Cardiovasc. Dis.* 2018; 7 (3): 65–71. (In Russian) <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2018-7-3-65-71>

2. Sulkava M., Raitoharju E., Levula M., Seppälä I., Lyytikäinen L.P., Mennander A., Järvinen O., Zeitlin R., Salenius J.P., Illig T., Klopp N., Mononen N., Laaksonen R., Kähönen M., Oksala N., Lehtimäki T. Differentially expressed genes and canonical pathway expression in human atherosclerotic plaques-Tampere Vascular Study. *Sci. Rep.* 2017; 7 (1): 1–10. doi: 10.1038/srep41483.

3. Razuvaev A., Ekstrand J., Folkersen L., Agardh H., Markus D., Swedenborg J., Hansson G.K., Gabrielsen A., Paulsson-Berne G., Roy J., Hedin U. Correlations between clinical variables and gene-expression profiles in carotid plaque instability. *Eur. J. Vasc. Endovasc.* 2011; 42 (6): 722–730. doi: 10.1016/j.ejvs.2011.05.023.

4. Perisic L., Aldi S., Sun Y., Folkersen L., Razuvaev A., Roy J. et al. Gene expression signatures, pathways and networks in carotid atherosclerosis. *J. Intern. Med.* 2016; 279 (3): 293–308. doi: 10.1111/joim.12448.

5. Liu W., Zhao Y., Wu J. Gene expression profile analysis of the progression of carotid atherosclerotic plaques. *Mol. Med. Rep.* 2018; 17 (4): 5789–5795.

6. Chen P., Chen Y., Wu W., Chen L., Yang X., Zhang S. Identification and validation of four hub genes involved in the plaque deterioration of atherosclerosis. *Aging.* 2019; 11 (16): 6469–6489. doi: 10.18632/aging.102200.

7. Traylor M., Mäkelä K.M., Kilarski L.L., Holliday E.G., Devan W.J., Nalls M.A. et al. A Novel MMP12 Locus Is Associated with Large Artery Atherosclerotic Stroke Using a Genome-Wide Age-at-Onset Informed Approach. *PLoS Genet.* 2014; 10 (7): e1004469. doi: 10.1371/journal.pgen.1004469.

8. Chistiakov D.A., Grechko A.V., Myasoedova V.A., Melnichenko A.A., Orekhov A.N. The role of monocytosis and neutrophilia in atherosclerosis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* c. 2018; 22 (3): 1366–1382. doi: 10.1111/jcmm.13462.

9. Gaubatz J.W., Ballantyne C.M., Wasserman B.A., He M., Chambless L.E., Boerwinkle E., Hoogeveen R. C Association of circulating matrix metalloproteinases with carotid artery characteristics: The atherosclerosis risk in communities carotid mri study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010; 30 (5): 1034–1042. doi: 10.1161/ATVBAHA.109.195370

10. Tsai C.L., , Chen W.C., Hsieh H.L., Chi P.L., Hsiao L.D., Yang C. TNF- α induces matrix metalloproteinase-9-dependent soluble intercellular adhesion molecule-1 release via TRAF2-mediated MAPKs and NF- κ B activation in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. *J. Biomed. Sci.* 2014; 21:12. doi: 10.1186/1423-0127-21-12.

11. Ma Y., Yabluchanskiy A., Hall M.E., Lindsey M.L. Using plasma matrix metalloproteinase-9 and monocyte chemoattractant protein-1 to predict future cardiovascular events in subjects with carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2014; 232 (1): 231–233. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.09.013
12. Cho A., Reidy M.A. Matrix metalloproteinase-9 is necessary for the regulation of smooth muscle cell replication and migration after arterial injury. *Circ. Res.* 2002; 91 (9): 845–851.
13. Papaspyridonos M., Smith A., Burnand K.G., Taylor P., Padayachee S., Suckling K.E., James C.H., Greaves D.R., Patel L. Novel candidate genes in unstable areas of human atherosclerotic plaques. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26 (8): 1837–1844.
14. O'Shea N.R. Critical Role of the Disintegrin Metalloprotease ADAM-like Decysin-1 [ADAMDEC1] for Intestinal Immunity and Inflammation [NCBI] Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5174729/> (accessed: 30.03.2020).
15. Liu J., Sukhova G.K., Sun J.S., Xu W.H., Libby P., Shi G.P. Lysosomal cysteine proteases in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004; 24 (8): 1359–1366. doi:10.1161/01.ATV.0000134530.27208.41
16. Li W., Yuan X.M. Increased expression and translocation of lysosomal cathepsins contribute to macrophage apoptosis in atherogenesis. *Ann N Y Acad Sci.* 2004; 1030: 427–433. doi: 10.1196/annals.1329.053
17. O'Connor T., Borsig L., Heikenwalder M. CCL2-CCR2 Signaling in Disease Pathogenesis. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2015;15(2):105-18. doi: 10.2174/1871530315666150316120920
18. Lin J., Kakkar V., Lu X. Impact of MCP -1 in Atherosclerosis. *Curr. Pharm. Des.* 2014; 20 (28): 4580–4588.
19. Koenen R.R., von Hundelshausen P., Nesselmeier I.V., Zerneck A., Liehn E.A., Sarabi A. et al. Disrupting functional interactions between platelet chemokines inhibits atherosclerosis in hyperlipidemic mice. *Nat. Med.* 2009; 15 (1): 97–103. doi: 10.1038/nm.1898
20. Bala M., Kopp A., Wurm S., Büchler C., Schölmerich J., Schäffler A. Type 2 diabetes and lipoprotein metabolism affect LPS-induced cytokine and chemokine release in primary human monocytes. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 2011; 119 (6): 370–376. doi: 10.1055/s-0030-1268413.
21. Wang J., Wu Q., Yu J., Cao X., Xu Z. miR-125a-5p inhibits the expression of NLRP3 by targeting CCL4 in human vascular smooth muscle cells treated with ox-LDL. *Exp. Ther. Med.* 2019; 18 (3): 1645–1652. doi: 10.3892/etm.2019.7717.
22. Jones K.L., Maguire J.J., Davenport A.P. Chemokine receptor CCR5: From AIDS to atherosclerosis. *Br J Pharmacol.* 2011; 162 (7): 1453–1469. doi: 10.1111/j.1476-5381.2010.01147.x
23. Günther J., Kill A., Becker M.O., Heidecke H., Rademacher J., Siegert E., Radić M., Burmester G.R., Dragun D., Riemekasten G. Angiotensin receptor type 1 and endothelin receptor type A on immune cells mediate migration and the expression of IL-8 and CCL18 when stimulated by autoantibodies from systemic sclerosis patients. *Arthritis Res. Ther.* 2014; 16 (2): R65. doi: 10.1186/ar4503.
24. Orekhov A., Sobenin I.A., Gavrilin M.A., Gratchev A., Kotyashova S.Y., Nikiforov N.G., Kzhyshkowska J. Macrophages in Immunopathology of Atherosclerosis: A Target for Diagnostics and Therapy. *Curr. Pharm. Des.* 2014; 21 (9): 1172–1179. doi: 10.2174/1381612820666141013120459
25. Akhavanpoor M., Gleissner C.A., Gorbatsch S., Doesch A.O., Akhavanpoor H., Wangler S. et al. CCL19 and CCL21 modulate the inflammatory milieu in atherosclerotic lesions. *Drug Des. Devel. Ther.* 2014; 8: 2359–2371. doi: 10.2147/DDDT.S72394
26. Wang H., Liu D., Zhang H. Investigation of the underlying genes and mechanism of macrophage-enriched ruptured atherosclerotic plaques using bioinformatics method. *J. Atheroscler. Thromb.* 2019; 26 (7): 636–658. doi: 10.5551/jat.45963
27. Fox J.M., Kausar F., Day A., Osborne M., Hussain K., Mueller A., et al. CXCL4/Platelet Factor 4 is an agonist of CCR1 and drives human monocyte migration. *Sci. Rep.* 2018; 8:9466. doi:10.1038/s41598-018-27710-9
28. Döring Y., Noels H., van der Vorst E.P.C., Neideck C., Egea V., Drechsler M., Mandl M. et al. Vascular CXCR4 limits atherosclerosis by maintaining arterial integrity: Evidence from mouse and human studies. *Circulation.* 2017; 136 (4): 388–403. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.027646
29. Notø A.-T.W., Mathiesen E.B., Brox J., Björkegren J., Hansen J.B. The ApoC-I Content of VLDL Particles is Associated with Plaque Size in Persons with Carotid Atherosclerosis. *Lipids.* 2008; 43 (7): 673–679. doi: 10.1007/s11745-008-3193-2.
30. Westerterp M., Berbée J.F., Pires N.M., van Mierlo G.J., Kleemann R., Romijn J.A., Havekes L.M., Rensen P.C. Apolipoprotein C-I is crucially involved in lipopolysaccharide-induced atherosclerosis development in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation.* 2007; 116 (19): 2173–2181. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.693382
31. Perdomo G., Kim D.H., Zhang T., Qu S., Thomas E.A., Toledo F.G., Slusher S., Fan Y., Kelley D.E., Dong H.H. A role of apolipoprotein D in triglyceride metabolism. *J. Lipid Res.* 2010; 51 (6): 1298–1311. doi: 10.1194/jlr.M001206.
32. Ali K., Abo-Ali E.M., Kabir M.D., Riggins B., Nguy S., Li L., Srivastava U., Thinn S.M. A Western-fed diet increases plasma HDL and LDL-cholesterol levels in ApoD^{-/-} mice. *PLoS One.* 2014; 9 (12). doi: 10.1371/journal.pone.0115744.
33. Wang J., Wei B., Cao S., Xu F., Chen W., Lin H., Du C., Sun Z. Identification by microarray technology of key genes involved in the progression of carotid atherosclerotic plaque. *Genes Genet. Syst.* 2014; 89 (6): 253–258. doi: 10.1266/ggs.89.253.
34. Xu L., Zhou L., Li P. CIDE proteins and lipid metabolism. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2012; 32 (5): 1094–1098. doi: 10.1161/ATVBAHA.111.241489.
35. Takahashi Y., Shinoda A., Furuya N., Harada E., Arimura N., Ichi I., Fujiwara Y., Inoue J., Sato R. Perilipin-Mediated Lipid Droplet Formation in Adipocytes Promotes Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1 Processing and Triacylglyceride Accumulation. *PLoS One.* 2013; 8 (5): e64605. doi: 10.1371/journal.pone.0064605..
36. Mehta J.L., Sanada N., Hu C.P., Chen J., Dandapat A., Sugawara F. et al. Deletion of LOX-1 reduces atherogenesis in LDLR knockout mice fed high cholesterol diet. *Circ. Res.* 2007; 100 (11): 1634–1642. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.107.149724
37. Prockop D.J., Kivirikko K.I. Collagens: Molecular Biology, Diseases, and Potentials for Therapy. *Annu. Rev. Biochem.* 1995; 64 (1): 403–434. doi: 10.1146/annurev.bi.64.070195.002155
38. Leistritz D.F., Pepin M.G., Schwarze U., Byers P.H. COL3A1 haploinsufficiency results in a variety of Ehlers-Danlos syndrome type IV with delayed onset of complications and longer life expectancy. *Genet. Med.* 2011; 13 (8): 717–722. doi: 10.1097/GIM.0b013e3182180c89.
39. Choudhary S., Higgins C.L., Chen I.Y., Reardon M., Lawrie G., Vick G.W. 3rd, Karmonik C., Via D.P., Morrisett J.D. Quantitation and localization of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human carotid endarterectomy tissues. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26 (10): 2351–2358. doi: 10.1161/01.ATV.0000239461.87113.0b
40. Strassheim D., Karoor V., Stenmark K., Verin A., Gerasimovskaya E. A current view of G protein-coupled receptor - mediated signaling in pulmonary hypertension: finding opportunities for therapeutic intervention. *Vessel Plus OAE Publishing* 2018; 2 (9): 29. doi: 10.20517/2574-1209.2018.44
41. Patel J., McNeill E., Douglas G., Hale A.B., de Bono J., Lee R. et al. RGS1 regulates myeloid cell accumulation in atherosclerosis and aortic aneurysm rupture through altered chemokine signalling. *Nat. Commun.* Nature Publishing Group 2015; 6. doi: 10.1038/ncomms7614.

42. Hynes R.O. Integrins: Bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell Cell Press* 2002; 110 (6): 673–687. doi: 10.1016/s0092-8674(02)00971-6
43. Edfeldt K., Swedenborg J., Hansson G.K., Yan Z.Q. Expression of toll-like receptors in human atherosclerotic lesions: A possible pathway for plaque activation. *Circulation* 2002; 105 (10): 1158–1161.
44. Mullick A.E., Soldau K., Kiosses W.B., Bell T.A., Tobias P.S., Curtiss L.K. Increased endothelial expression of Toll-like receptor 2 at sites of disturbed blood flow exacerbates early atherogenic events. *J. Exp. Med.* 2008; 205 (2): 373–383. doi: 10.1084/jem.20071096.
45. Shishido T., Nozaki N., Takahashi H., Arimoto T., Niizeki T., Koyama Y., Abe J., Takeishi Y., Kubota I. Central role of endogenous Toll-like receptor-2 activation in regulating inflammation, reactive oxygen species production, and subsequent neointimal formation after vascular injury. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006; 345 (4): 1446–1453. doi: 10.1016/j.bbrc.2006.05.056
46. Jiang Y., Wang M., Huang K., Zhang Z., Shao N., Zhang Y., Wang W., Wang S. Oxidized low-density lipoprotein induces secretion of interleukin-1 β by macrophages via reactive oxygen species-dependent NLRP3 inflammasome activation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012; 425 (2): 121–126. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.07.011.
47. Guo L., Akahori H., Harari E., Smith S.L., Polavarapu R., Karmali V. et al. CD163+ macrophages promote angiogenesis and vascular permeability accompanied by inflammation in atherosclerosis. *J. Clin. Invest.* 2018; 128 (3): 1106–1124. doi: 10.1172/JCI93025.
48. Lund S.A., Giachelli C.M., Scatena M. The role of osteopontin in inflammatory processes. *J Cell Commun Signal.* 2009; 3 (3–4): 311–322. doi: 10.1007/s12079-009-0068-0.
49. Chiba S., Okamoto H., Kon S., Kimura C., Murakami M., Inobe M., Matsui Y., Sugawara T., Shimizu T., Uede T., Kitabatake A. Development of atherosclerosis in osteopontin transgenic mice. *Heart Vessels.* 2002; 16 (3): 111–117. doi: 10.1007/s003800200005
50. de la Cuesta F., Zubiri I., Maroto A.S., Posada M., Padial L.R., Vivanco F., Alvarez-Llamas G., Barderas M.G. Deregulation of smooth muscle cell cytoskeleton within the human atherosclerotic coronary media layer. *J. Proteomics.* 2013; 82: 155–165. doi: 10.1016/j.jpro.2013.01.032.

Для цитирования: Д.А. Каширских, В.А. Хотина, В.Н. Сухоруков, И.А. Собенин, А.Н. Орехов. Клеточные и тканевые маркеры атеросклероза. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2020; 9 (2): 102–113. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-102-113

To cite: D.A. Kashirskikh, V.A. Khotina, V.N. Sukhorukov, I.A. Sobenin, A.N. Orekhov. *Cell and tissue markers of atherosclerosis. Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2020; 9 (2): 102–113. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-102-113



УДК 57.086.82

DOI 10.17802/2306-1278-2020-9-2-114-122

ПОЛУЧЕНИЕ КЛЕТОЧНЫХ СУСПЕНЗИЙ АРТЕРИЙ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

Д.В. Шарыш ✉, А.В. Марков, М.С. Назаренко

Научно-исследовательский институт медицинской генетики федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Набережная реки Ушайки, 10, Томск, Российская Федерация, 634050

Основные положения

- Проанализированы и систематизированы имеющиеся в литературе подходы к получению отдельных клеток методом дезагрегации артерий животных и человека, в том числе при их поражении атеросклерозом.
- Рассмотрены основы и предложен алгоритм оптимизации данного метода.

Резюме

Ключевым этапом в исследованиях, направленных на изучение роли отдельных типов клеток в функционировании артерий человека *in vivo* как в норме, так и при поражении атеросклерозом, является получение суспензии клеток из стенки кровеносного сосуда. К настоящему времени разработан ряд подходов к дезагрегации артерий. В обзоре систематизированы опубликованные ранее данные и методики, представлен алгоритм оптимизации процедуры дезагрегации артерий, а также описаны возникающие проблемы и способы их решения.

Ключевые слова

Атеросклероз • Дезагрегация тканей • Единичные клетки • Клеточные суспензии • Артерии • Атеросклеротические бляшки

Поступила в редакцию: 13.04.2020; поступила после доработки: 27.04.2020; принята к печати: 10.05.2020

PREPARATION OF CELL SUSPENSIONS FROM ARTERIES AFFECTED WITH ATHEROSCLEROSIS

D.V. Sharysh ✉, A.V. Markov, M.S. Nazarenko

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, 10, Ushayka embankment, Tomsk, Russian Federation, 634050

Highlights

- Available approaches for isolating individual cells by disaggregation of animal and human arteries, including those affected with atherosclerosis, have been described.
- Basic issues are reported along with a novel optimization algorithm.

Abstract

Preparation of cell suspension from arterial walls is a key issue in planning the research aimed at studying the role of individual cell types in human arteries *in vivo*, both normal and affected with atherosclerosis. To date, there is a range of approaches for disaggregating arterial tissues. In this review, we report previously published data and techniques for disaggregating arterial tissues. In addition, an algorithm able optimizing the disaggregation of arteries is proposed taking into account emerging problems and probable solutions.

Keywords

Atherosclerosis • Tissue disaggregation • Single cells • Cell suspension • Arteries • Atherosclerotic plaques

Received: 13.04.2020; received in revised form: 27.04.2020; accepted: 10.05.2020

Список сокращений

АБ – атеросклеротическая бляшка ЭК – эндотелиальная клетка
ГМК – гладкомышечная клетка

Для корреспонденции: Диана Владимировна Шарыш, sharysh.diana@gmail.com; адрес: Набережная реки Ушайки, 10, Томск, Россия, 634050

Corresponding author: Diana V. Sharysh, sharysh.diana@gmail.com; address: 10, Ushayka embankment, Tomsk, 634050, Russian Federation

Введение

Атеросклероз представляет собой хронический воспалительный процесс артерий среднего и крупного размера, который характеризуется образованием бляшек, состоящих из различных клеток: пенистых, иммунных, эндотелиальных и гладкомышечных, тромбоцитов, – а также внеклеточного матрикса и богатого липидами ядра с обширным некрозом и фиброзом окружающих ядро тканей сосудистой стенки [1].

Данные о клеточных и молекулярных механизмах атерогенеза получены в основном с использованием цельных образцов атеросклеротической бляшки (АБ) либо клеточных культур. Известно, что с изменением напряжения сдвига эндотелиальные клетки (ЭК) приобретают проатеросклеротический фенотип, что делает их более проницаемыми для липидов. Далее накопленные в интиме липиды активируют в ЭК синтез провоспалительных цитокинов, происходит запуск воспаления, а значит, рекрутирование иммунокомпетентных клеток. Каждый из отдельных типов клеток воспаления способствует атерогенезу. За представление атерогенных антигенов Т-клеткам отвечают дендритные клетки, которым, в свою очередь, их презентируют макрофаги. Последние, наравне с гладкомышечными клетками (ГМК), поглощают липиды, превращаясь в пенистые клетки. Перечисленные типы клеток активно секретируют провоспалительные цитокины. Однако на воспаление реагируют и резидентные клетки стенки артерии: ГМК активно пролиферируют и мигрируют из меди в интиму, участвуя в образовании покрышки АБ. Таким образом, определены роль и функциональные изменения клеток артерии при развитии атеросклероза, однако детальные молекулярные механизмы, лежащие в основе таких изменений, всецело не описаны и остаются предметом активного изучения.

Необходимо понимать, что эти знания получены при моделировании отдельных звеньев атерогенеза на клеточных культурах либо при изучении цельных АБ человека и модельных животных с превращением их в гомогенат или секционированием для гистологии и иммунофенотипирования. В настоящее время мы находимся на этапе перехода к изучению функционирования отдельных типов клеток или даже единичных клеток, непосредственно участвующих в развитии атеросклеротической бляшки *in vivo*. Это связано, прежде всего, с поиском фармакологических мишеней, участвующих в клеточно-специфичных молекулярно-биологических путях. Воздействуя на целевые клетки, например только на макрофаги, а не подавляя воспаление в целом, можно избежать множества побочных эффектов. Ранее были обозначены несколько перспективных в отношении фармакологического воздействия зве-

ньев атерогенеза: молекулярные механизмы дисфункции и повреждения ЭК [2]; несовершенный эффероцитоз в макрофагах и роль отдельных субпопуляций данного типа клеток [1]; переключение фенотипа, миграция и пролиферация ГМК [3].

Таким образом, изучение отдельных клеток, принимающих непосредственное участие в атеросклерозе, является следующим этапом исследований в сосудистой биологии, который достигается методически через преобразование цельного кровеносного сосуда в клеточную суспензию (деагрегацию артерий на клетки). Выделение популяций отдельных типов клеток из органов/тканей человека и модельных животных остается проблемой в клеточной биологии. Тем не менее в последнее время достигнут значительный прогресс в получении отдельных типов клеток из твердых или высокоплотных по структуре тканей благодаря использованию различных методов, таких как ферментативное расщепление и механическая деагрегация.

Однако общего источника сведений об этих способах нет – традиционно исследователи используют тот метод, который апробирован в их лаборатории, не применяя доказательную базу. Обзор посвящен обобщению имеющихся в литературе данных по деагрегации кровеносных сосудов с описанием ключевых этапов данной процедуры, а также оптимизации методики деагрегации клеток в лаборатории.

Основные подходы к деагрегации клеток артерий

Для изоляции отдельных клеток (или отдельных типов клеток) из плотных тканей разработаны различные подходы, основанные на их физических или биологических свойствах. На схеме (рис. 1) представлены наиболее часто применяемые методы анализа клеточного состава артерий или других плотных тканей.

Для изоляции отдельных популяций клеток наиболее часто используют поверхностные маркерные

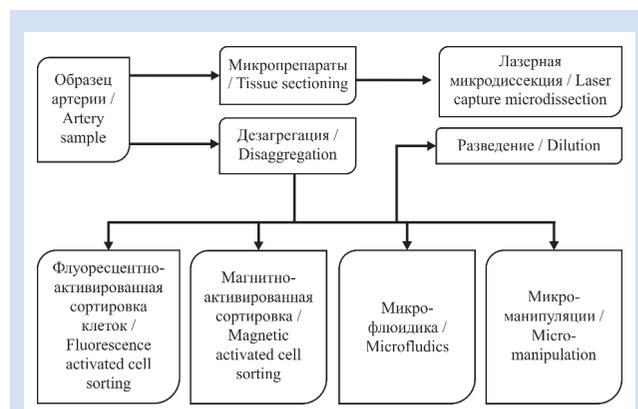


Рисунок 1. Методы получения различных клеточных типов или единичных клеток из цельных образцов тканей

Figure 1. Methods of isolation of various cell types or single cells from bulk tissue

белки и реакцию «антиген – антитело». Данный принцип лежит в основе методов иммуногистохимии (иммунофлуоресценции) и последующей лазерной микродиссекции отдельных областей с клетками в срезе ткани, а также методов флуоресцентно- и магнитно-активированной сортировки клеток и некоторых методов с использованием микрофлюидных систем (cell-affinity chromatography based microfluidic). Если необходимо получить информацию о расположении клеток в исследуемом образце ткани, то рекомендуется использовать гистологические техники, иммуногистохимию (иммунофлуоресценцию) и изолировать часть микропрепарата, содержащую целевые клетки, посредством лазерной микродиссекции. Этот метод имеет ряд ограничений в отношении исследования клеток атеросклеротической бляшки из-за кальцинации стенок артерии, часто сопровождающей атерогенез.

В случае когда нужно изолировать клетки из образца ткани без одновременного изучения его гистологического строения, можно воспользоваться широким спектром методов, включающим предварительный этап дезагрегации ткани. Данный набор методов является наиболее распространенным, так как обеспечивает наибольший выход клеток. Самый распространенный метод флуоресцентно-активированной сортировки клеток заключается в предварительном связывании маркерных молекул клеток антителами, конъюгированными с флуоресцентной меткой, которая распознается детекторами специального прибора – клеточного сортера. Наиболее простым методом является магнитно-активированная сортировка клеток, в которой антитела конъюгированы с магнитными частицами, а целевые клетки выделяются из клеточной суспензии под действием магнитного поля. В последнее время активно развиваются методы с использованием микрофлюидных систем, основанные на пропускании клеточной суспензии через систему микроканалцев, позволяющих разделить клетки и с использованием различных принципов выделить нужный тип клеток. Микроманипуляции и разведение клеток – редко применяемые методы ввиду их трудоемкости и низкой эффективности [4, 5].

Таким образом, наиболее распространенные методы получения единичных клеток из плотных тканей требуют предварительного этапа дезагрегации. Кроме того, клеточная дезагрегация приобретает особую актуальность в активно развивающемся направлении мультиомного изучения единичных клеток (с использованием технологий single-cell). Методика дезагрегации представляет собой процесс разрушения межклеточного матрикса с высвобождением клеток, а цель оптимизации процесса – максимально полно изолировать клетки из нативной структуры ткани или органа с сохранением их функциональных свойств и жизнеспособности [6]. Существуют два подхода к этому этапу: механический и ферментативный.

На сегодняшний день в литературе не описаны методы применения механической дезагрегации артерий до клеток, вероятно, из-за высокой плотности самой ткани и прочности структуры внеклеточных волокон, которые не удается разрушить растягиванием (с помощью гомогенизатора Даунса) или протираем через металлическое сито с заостренными краями ячеек (например, с помощью прибора Medimachine System, Becton Dickinson, США).

Ферментативный способ дезагрегации заключается в обработке цельного образца ткани различными протеазами, разрушающими белки-компоненты межклеточного матрикса (коллагены, эластин, протеогликаны и так далее). При проведении дезагрегации необходимо учитывать многие параметры: 1) тип исследуемого кровеносного сосуда; 2) источник материала (человек, мышь и так далее); 3) возможные генетические модификации объекта исследования; 4) среда для дезагрегации; 5) используемые ферменты, примеси в неочищенном ферментном препарате; 6) концентрации используемых ферментов; 7) температура инкубации с ферментативным коктейлем; 8) время инкубации; 9) особенности проведения дезагрегации (помешивание, пипетирование, центрифугирование). При известном дизайне эксперимента первые три пункта, как правило, неизменны, однако их надо учитывать при подборе условий. Эффективная дезагрегация ткани достигается варьированием оставшихся параметров.

Методика ферментативной дезагрегации

В общем виде схема методики ферментативной дезагрегации выглядит следующим образом: к измельченному образцу добавляют протеазы и, возможно, другие ферменты, инкубируют образец с ферментной смесью в течение установленного времени для лизирования межклеточного матрикса, после чего фильтруют полученную суспензию через клеточный фильтр и центрифугируют для осаждения изолированных клеток.

Каждый шаг данной схемы требует подбора условий. Подбор состава ферментной смеси – ключевой этап успешной дезагрегации. Ферментная смесь состоит из протеолитических и добавочных ферментов и среды, а также иногда добавляются дополнительные вещества. Следует учитывать особенности строения используемого биологического материала – артерий и АБ человека или животных. Известно, что артерии по строению делятся на эластический, мышечно-эластический (смешанный) и мышечный типы. Соответственно, первые два типа артерий требуют введения дополнительного фермента при дезагрегации – эластазы.

Основные ферментные препараты

Обычно используют неочищенные ферментные смеси, такие как коллагеназа, либеразы и диспаза.

Они содержат несколько протеаз (коллагеназу, клострипаин, казеиназу, трипсиноподобные ферменты) в различных концентрациях, а также различные полисахаридазы, нуклеазы и липазы, однако известны только приблизительные количество и активность этих ферментов [6].

Коллагеназы (collagenases). Коллагеназы являются самым часто используемым ферментом для дезагрегации как артерий, так и других тканей [7, 8]. Они представляют собой эндопептидазы, которые переваривают нативный коллаген в области тройной спирали. Коллагены являются основным волокнистым компонентом внеклеточной соединительной ткани животных. Бактериальные коллагеназы наиболее подходят для дезагрегации, так как они проявляют более широкую субстратную специфичность [6]. Наиболее активной коллагеназой является неочищенная, секретлируемая анаэробными бактериями *Clostridium histolyticum*. Способность клостридиальных коллагеназ переваривать нативные, троично-спиральные коллагены типов I, II и III до небольших пептидов является их основным преимуществом. Это достигается путем множественных разрывов в тройной спирали. У каждой фирмы-производителя (основные – Sigma-Aldrich / Merck, Worthington Biochemical Corp., в России – «ПанЭко») имеется свой набор коллагеназ и ферментных смесей, но в целом их можно разделить на четыре основных типа (табл. 1). Помимо основных типов ферментных препаратов в каталоге Sigma-Aldrich имеются коллагеназы V, VIII и XI типов, последняя из которых указана как обладающая наибольшей коллагеназной активностью, однако исследователи обнаружили потерю (от 40 до 90%) поверхностных маркеров клеток при ее использовании [9].

Чаще всего коллагеназы поставляются в лиофилизированном виде. Наиболее подходящим буфером для разведения лиофилизата является раствор Кребса – Рингера, но допустимо использование других буферов (например, раствора Хэнкса). Обязательными для функционирования коллагеназы являются присутствие ионов кальция и оптимальный pH (обычно приводятся в рекомендациях производителя ферментного препарата). Желательно готовить раствор *ex tempore*, однако допускается его аликвотирование и хранение при -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание коллагеназы может привести к значительной потере активности фермента.

Либеразы (Liberase). Коммерческая смесь высокоочищенных коллагеназ I и II типов, почти лишенная клострипаиновой и трипсиновой активностей, но с повышенной коллагеназной активностью [10, 11]. Однако сравнение либеразы и коллагеназы XI типа не показало значимых различий в эффективности дезагрегации клеток поджелудочной железы [12]. Отмечено, что либеразы DL (Sigma-Aldrich / Merck) вызывает потерю CD4 с поверхности клеток [9].

Диспаза (Dispase). Нейтральная протеаза, расщепляющая фибронектин и коллаген IV типа. Используется как альтернатива более агрессивному трипсину в культуральных методах и при дезагрегации клеток мыши [13, 14].

Трипсин (Trypsin). Трипсин представляет собой сериновую протеазу, продуцируемую и секретлируемую в виде неактивного трипсиногена в поджелудочной железе. Он неспецифично расщепляет адгезивные белки [15] и поэтому является стандартным ферментом для отделения адгезированных клеток от подложки (трипсинизации) при культивировании. В современных исследованиях с применением методов

Таблица 1. Основные типы ферментных препаратов, представленных на рынке под названием «коллагеназа»
Table 1. Main types of commercially available collagenases

Тип коллагеназы / Type of collagenase	Особенности / Brief description	Рекомендуемые для обработки типы тканей / Recommended types of tissue
Тип I / Type I	Наиболее часто применяемый тип коллагеназы; содержит умеренное количество пептидаз (коллагеназу, казеиназу, клострипаин и трипсиноподобные ферменты) / The most commonly used type of collagenase; it contains moderate amounts of peptidases (collagenase, caseinase, clostripain and trypsin-like enzymes)	Жировая ткань, надпочечники и печень, сосуды, опухолевые ткани / Adipose tissue, adrenal glands and liver, blood vessels, tumor tissue
Тип II / Type II	Имеет большую (по сравнению с коллагеназой I типа) активность клострипана / It has a greater (compared with type I collagenase) clostripain activity	Сердце, кости, мышечная ткань, щитовидная железа, хрящи, печень, кровеносные сосуды / Heart, bones, muscle tissue, thyroid gland, cartilage, liver, blood vessels
Тип III / Type III	Используется достаточно редко; содержит низкую протеолитическую активность / It is rarely used; possesses low proteolytic activity	Молочная железа, ткани плода, слизистые ткани / Breast, fetal tissues, mucous tissues
Тип IV / Type IV	Имеет низкую трипсиноподобную активность / It has a low trypsin-like activity	Островки Лангерганса и случаи, когда необходимо максимально сохранить поверхностные маркеры интактными [7] / Langerhans islands and cases when it is necessary to keep surface markers as intact as possible [7]

деагрегации тканей трипсин практически не используют изолированно ввиду его слабой эффективности при расщеплении внеклеточных волокон, но его можно встретить в ферментных смесях – с коллагеназой и диспазой [14]. Кроме того, трипсин способен достаточно активно разрушать клеточные маркеры [16].

Дополнительные ферментные препараты

Эластаза. Данный компонент необходимо добавлять в ферментную смесь для повышения эффективности деагрегации артерий, если артериальная стенка богата эластином (аорта, общая сонная артерия).

ДНКаза. При измельчении биологического образца перед инкубацией, как и во время инкубации измельченной ткани в ферментной смеси, из разрушенных клеток в культуральную среду поступает внеклеточная ДНК. Она адгезируется на поверхности клеток и вызывает их слипание. Для более эффективной деагрегации ткани и получения синглетных клеток для дальнейшего анализа (например, проточной цитометрии или сортирования) в ферментную смесь необходимо добавлять ДНКазу [6].

Гиалуронидаза. Гиалуроновая кислота и хондроитинсульфат обильно представлены в составе межклеточного матрикса соединительных тканей и кровеносных сосудов. В связи с этим исследователи добавляют этот фермент в состав смеси для деагрегации тканей [7, 10].

Другие реагенты

Трипсиновый ингибитор. Трипсиновый ингибитор, полученный из сои, нередко вводится в состав смесей для деагрегации [8, 17, 18]. Это связано, вероятно, с повреждающим действием трипсина, находящегося в составе неочищенной коллагеназы, на поверхностные маркеры клеток. При использовании неочищенных ферментных препаратов следует это учитывать и добавлять трипсиновый ингибитор.

Среда для деагрегации

Для поддержания жизнеспособности клеток и активности ферментов в течение инкубации ферменты и образец должны находиться в подходящих по физико-химическим и биологическим параметрам условиях. В первую очередь, среда должна быть буферным раствором с нейтральным pH, желательна с присутствием ионов кальция, так как он является кофактором многих протеаз. В опубликованных протоколах используются в основном фосфатно-солевой буферный раствор Дульбекко (DPBS) с кальцием и 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислотой (HEPES) либо различные питательные среды (DMEM, RPMI и др.) в зависимости от типа клеток и цели последующего использования полученной клеточной суспензии.

Условия инкубации

Критически важными параметрами деагрегации являются температура и длительность культивирования образца ткани с ферментной смесью. Ферменты для деагрегации наиболее активны при 37 °С. Время инкубации – второй по значимости параметр после состава ферментной смеси. Для его определения следует понимать, что ферменты работают на поверхности образца. Соответственно, чем больше площадь поверхности, тем быстрее клетки высвобождаются из структуры ткани. С другой стороны, ферменты воздействуют на клетки и могут активировать апоптоз. В литературе параметр времени варьирует от 30 мин до 8 ч (инкубация на ночь). Время инкубации образца с ферментной смесью определяется задачами эксперимента. Короткого промежутка времени хватит, чтобы отделить эндотелиоциты при залипании ферментной смеси в клипированный кровеносный сосуд [19]. В большинстве случаев для высвобождения клеток артерий в достаточном количестве (несколько миллионов) достаточно 1 ч [7]. Чтобы наиболее эффективно освободить клетки из ткани, но при этом не уменьшить долю жизнеспособных клеток, можно несколько раз проводить процедуру с одним и тем же образцом, заменяя ферментную смесь с клетками через 1–2 ч [20]. При недостаточном высвобождении клеток или их низкой жизнеспособности необходима коррекция параметров деагрегации.

Контроль результатов деагрегации

Проверка результата деагрегации заключается в оценке полноты лизирования ткани, а также количества, жизнеспособности и функционального состояния полученных клеток. После получения клеточного осадка и его ресуспендирования обзор осадка можно провести в камере Горяева или с помощью автоматического счетчика клеток с окраской витальными красителями (например, трипановым синим). Производится подсчет жизнеспособных и мертвых клеток, оценивается чистота суспензии по наличию нерасщепленных клеточных конгломератов, волокон, кристаллов или иных нежелательных контаминантов.

Оценка функционального состояния клеток заключается в проверке действия ферментативного коктейля на изучаемые свойства. Например, коллагеназа I типа активна в отношении некоторых поверхностных маркеров лейкоцитов [9]. Для проверки действия ферментной смеси на клетки возможно использовать в качестве контроля изначально жидкую ткань, например кровь. Анализ клеток крови до и после деагрегации позволяет оценить повреждающее действие планируемых к использованию ферментов.

Оценка полноты лизирования ткани особенно важна, если необходимо получить репрезентативный набор тех же типов клеток, которые составляли

исследуемый образец ткани. Для этого гистологическими методами можно проанализировать у оставшихся «непереваренных» фрагментов образца наличие, количество и тип остаточных клеток [21].

Разработанные протоколы дезагрегации клеток артерий и атеросклеротических бляшек

Как отмечено ранее, обычно исследователи используют те протоколы, которые оптимизированы и апробированы непосредственно в их лаборатории. К настоящему времени накоплено достаточно данных по дезагрегации клеток артерий и АБ. Вместо того чтобы самостоятельно разрабатывать протокол клеточной дезагрегации с нуля, рекомендуется взять за основу уже опубликованный протокол и оптимизировать его под конкретный набор ферментов, сред и других компонентов ферментной смеси, а также спектр оборудования и расходных материалов, которым располагает лаборатория. В табл. 2 представлены опубликованные ранее протоколы по дезагрегации клеток артерий и атеросклеротических бляшек.

Алгоритм оптимизации дезагрегации образцов артерий, в том числе при их атеросклеротическом поражении

Подбор оптимальной концентрации ферментов

Даже при использовании существующих рекомендаций о составе ферментной смеси из конкретного источника литературы непосредственно для каждого эксперимента требуется определить концентрации ферментов, так как их активность варьирует между партиями ферментного препарата одного и того же производителя.

В случае использования одного фермента в смеси для дезагрегации следует сначала проверить действие фермента в меньших концентрациях с определенным шагом приращения: например, 25, 50, 75 и 100% референсных значений концентрации, взятых из источника литературы.

При использовании нескольких ферментов в смеси сначала следует оптимизировать концентрацию основного фермента (количество которого должно быть наибольшим) согласно вышеописанной стратегии, после чего ввести в смесь оставшиеся ферменты, оптимизируя их концентрации одну за другой (рис. 2) [6].

Трудности при дезагрегации артерий и способы их решения

Результаты дезагрегации артерий, видимые в микроскоп, можно разделить на оценку выделения клеток (их количество и жизнеспособность) и нежелательных примесей, которые могут присутствовать из-за некротического дебриса АБ, недостаточной дезагрегации или образования конгломератов вследствие выхода ДНК из разрушенных клеток.

Эффективность дезагрегации тканей, в том числе

артерий, определяется получением большого количества жизнеспособных клеток. Однако в результате оптимизации может возникнуть три проблемных ситуации: клеток мало (менее 1 млн), но они жизнеспособны (>50–70% в зависимости от дальнейших этапов); клеток мало (менее 1 млн) и они не жизнеспособны (<50%); клеток достаточно много (более 1 млн) при их низкой жизнеспособности (рис. 2) [6]. Возможные пути решения проблем, возникающих при дезагрегации артерий, рассмотрены далее.

Низкий выход, но большинство клеток жизнеспособны – повысить время инкубации и/или концентрацию коллагеназы (или другого фермента, дезагрегирующего клетки), добавить дополнительный дезагрегирующий фермент. Возможно, что низкая клеточность обусловлена слипанием клеток – в таком случае необходимо добавить ДНКазу.

Высокий выход, мало жизнеспособных клеток – понизить концентрацию коллагеназы и/или время инкубации, добавить в смесь для дезагрегации бычий сывороточный альбумин (BSA), эмбриональную телячью сыворотку (FBS) или трипсиновый ингибитор, уменьшить количество оборотов при перемешивании суспензии.

Низкий выход, мало жизнеспособных клеток – возможно, что низкий выход клеток обусловлен их разрушением чрезмерно активной коллагеназой: следует снизить концентрацию коллагеназы. Если добиться увеличения выхода клеток не удастся, то нужно сменить тип коллагеназы на более щадящий (например, тип IV).

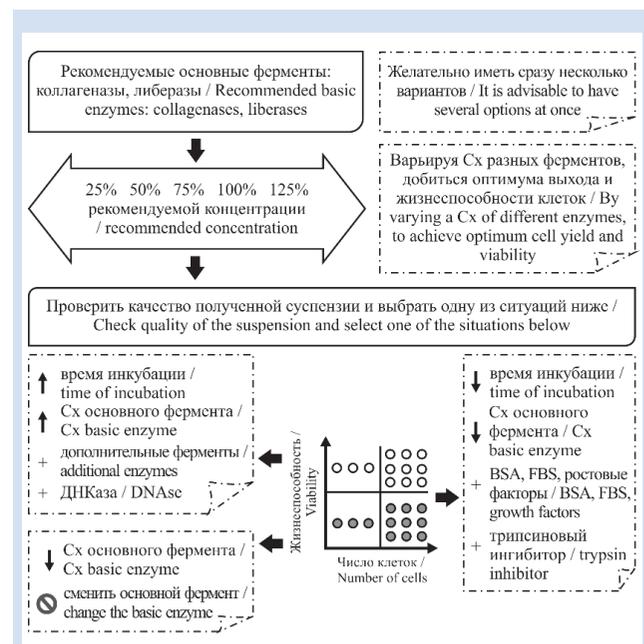


Рисунок 2. Алгоритм оптимизации дезагрегации артерий и атеросклеротических бляшек

Примечание: ДНКаза – дезоксирибонуклеаза; Cx – концентрация; BSA – бычий сывороточный альбумин; FBS – эмбриональная телячья сыворотка.

Figure 2. Optimization of artery and atherosclerotic plaque disaggregation

Note: BSA – bovine serum albumin; Cx – concentration; DNase – deoxyribonuclease; FBS – fetal bovine serum.

Таблица 2. Основные условия ферментативной дезагрегации артерий животных и человека
Table 2. General conditions for enzyme disaggregation of animal and human arteries

Образец / Sample	Состав ферментной смеси / Composition of enzyme mixture	Время инкубации / Time of incubation	Источник литературы / Reference
Атеросклеротические бляшки кролика / RAP	450 Ед/мл коллагеназы I типа, 4,7 Ед/мл эластазы, 1,0 мг/мл трипсинового ингибитора в HBSS / 450 U/ml collagenase I, 4,7 U/ml elastase, 1,0 mg/ml trypsin inhibitor in HBSS	4 раза по 1 ч / 4 times for 1 h	Galis Z.S., 1995 [22]
Атеросклеротические бляшки человека / HAP	1–1,25 мг/мл коллагеназы IV типа с 0,2 мг/мл ДНКазы в среде RPMI / 1 – 1,25 mg/ml collagenase IV, 0,2 mg/ml DNase in RPMI	1 ч / 1 h	Grivel J.-Ch., 2011 [9]
	450 Ед/мл коллагеназы IV типа, 500 Ед/мл ДНКазы, 1 мг/мл трипсинового ингибитора в HBSS с 4,8 мг/мл HEPES / 450 U/ml collagenase IV, 500 U/ml DNase, 1,0 mg/ml trypsin inhibitor in HBSS with 4,8 mg/ml HEPES	30–60 мин / 30–60 min	Patino W.D., 2006 [18]
	1 мг/мл коллагеназы IV типа, 0,3 мг/мл ДНКазы, гиалуронидазы, коллагеназы II, XI типов в DMEM с 10% FBS / 1 mg/ml collagenase IV, 0,3 mg/ml DNase, hyaluronidase, collagenases II, XI each, in DMEM with 10% FBS	1 ч / 1 h	Fernandez D.M., 2019 [23]
Аорта человека / HAO	1 мг/мл коллагеназы II типа в среде M213 / 1 mg/ml collagenase II in M213	3 ч / 3 h	Meekel J.P., 2018 [24]
	450 Ед/мл коллагеназы IV типа с 1 мг/мл трипсинового ингибитора в 4,8 мг/мл HEPES в HBSS / 450 U/ml collagenase IV, 1,0 mg/ml trypsin inhibitor in HBSS with 4,8 mg/ml HEPES	По 15 мин в течение 3 ч / Every 15 min during 3 h	Mattsson L., 1991 [17]
Артерии человека / HA	2 мг/мл коллагеназы I типа в HBSS / 2 mg/ml collagenase I in HBSS	15 мин (ЭК), 30 мин (ГМК) / 15 min (ECs), 30 min (SMCs)	Moss S.C., 2007 [25]
Аорта мыши / MAO	1 мг/мл коллагеназы I типа, 0,1875 мг/мл эластазы, 0,25 мг/мл трипсинового ингибитора в среде для роста ГМК / 1 mg/ml collagenase I, 0,1875 mg/ml elastase, 0,25 mg/ml trypsin inhibitor in medium containing SMCs growth factors	3–4 ч / 3–4 h	Kwartler C.S., 2016 [8]
	1 мг/мл коллагеназы IV типа, 1 Ед/мл свиной эластазы в DMEM / 1 mg/ml collagenase IV, 1 U/ml porcine elastase in DMEM	1–2 ч / 1–2 h	Dobnikar L. 2018 [26]
	2 мг/мл коллагеназы II типа в DMEM / 2 mg/ml collagenase II in DMEM	45 мин (ЭК), 2 ч (ГМК) / 45 min (ECs), 2 h (SMCs)	Kobayashi M., 2005 [19]
	450 Ед/мл коллагеназы I типа, 125 Ед/мл коллагеназы XI типа, 60 Ед/мл гиалуронидазы в RPMI / 450 U/ml collagenase I, 125 U/ml collagenase XI, 60 U/ml hyaluronidase in RPMI	40 мин / 40 min	Cochain C., 2018 [27]
	1,4 мг/мл коллагеназы II типа в среде для культивирования ГМК / 1,4 mg/ml collagenase II in medium for SMCs	4–6 ч / 4–6 h	Metz R.P., 2012 [28]
	450 Ед/мл коллагеназы I типа, 125 Ед/мл коллагеназы XI типа, 60 Ед/мл гиалуронидазы, 60 Ед/мл ДНКазы I типа в PBS с 20 ммоль/л HEPES / 450 U/ml collagenase I, 125 U/ml collagenase XI, 60 U/ml hyaluronidase, 60 U/ml DNase I in PBS with 20 mM HEPES	1 ч / 1 h	Galkina E., 2006 [7]
Атеросклеротические бляшки мыши / MAP	4 Ед/мл либеразы TH, 60 Ед/мл гиалуронидазы, 0,1 мг/мл ДНКазы в DPBS / 1,25 mg/ml Liberase TM in medium with thermolysin	1 ч / 1 h	Tang J., 2015 [10]
Фетальный артериальный проток крысы / Rat FDA	1 мг/мл коллагеназы II типа, 0,2 мг/мл эластазы, 0,5 мг/мл трипсинового ингибитора, 0,1 мг/мл ДНКазы типа I, 2 мг/мл БСА в среде для культивирования ГМК / 1 mg/ml collagenase II, 0,2 mg/ml elastase, 0,5 mg/ml trypsin inhibitor, 0,1 mg/ml DNase I, 2 mg/ml BSA in medium for SMCs	На ночь / Overnight	Weber S.C., 2011 [29]
Артерии крысы / RA	1,25 мг/мл либеразы TM в среде с термолизином / 1,25 mg/ml liberase TM in medium with thermolysin	1,5 ч / 1,5 h	Radziwon-Balicka A., 2017 [30]
Аорта свиньи / PAO	ЭК: 25 Ед/мл диспазы в DMEM, 1% пенициллин; ГМК: 0,2% (в/о) коллагеназы I типа в первые 1,5 ч, потом 0,1% (в/о) коллагеназы I типа, DMEM / ECs: 25 U/ml dispase in DMEM with 1% penicillium SMCs: 0,2% (w/v) collagenase I in first 1,5 h, then 0,1% mix	8–10 мин (ЭК) 1,5 ч, потом 10 ч (ГМК) / 8–10 min (ECs), 10 h (SMCs)	Beigi F., 2017 [20]

Примечание: БСА – бычий сывороточный альбумин; ГМК – гладкомышечные клетки; ДНКазы – дезоксирибонуклеаза; ЭК – эндотелиальные клетки; DMEM – модифицированная по способу Дюльбекко среда Игла; DPBS – фосфатно-солевой буферный раствор Дюльбекко; HBSS – сбалансированный солевой раствор Хэнкса; HEPES – 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота; PBS – фосфатно-солевой буферный раствор; RPMI – среда, разработанная Roswell Park Memorial Institute medium.
Note: BSA – bovine serum albumin; DNase – deoxyribonuclease; ECs – endothelial cells; FDA – rat fetal ductus arteriosus; HA – human arteries; HAO – human aorta; HAP – human atherosclerotic plaques; MAO – murine aorta; MAP – murine atherosclerotic plaques; PAO – porcine aorta; RA – rat arteries; RAP – rabbit atherosclerotic plaques; SMCs – smooth muscle cells.

Присутствие нежелательных примесей

1. Бесструктурные конгломераты клеток – это следствие выхода ДНК из разрушенных клеток, вызывающее их слипание. Решение – введение ДНКазы в ферментативный коктейль. Также следует уменьшить механическое повреждение тканей при измельчении.

2. Непереваренные участки ткани – для устранения данной проблемы необходимо увеличить время инкубации и/или концентрацию фермента. Если недорасщепленные участки остаются, ввести дополнительные ферменты: гиалуронидазу или коллагеназу другого типа.

3. Некротический дебрис. Проблема присутствия дебриса в суспензиях, полученных из атеросклеротических бляшек, стоит достаточно остро, так как он обладает аутофлуоресценцией [21]. Возможно ручное отделение дебриса и кальцинатов от мягких тканей кровеносного сосуда при его секции и тщательном препарировании, а также использование неокрашенного контроля при проточной цитофлуориметрии для детекции аутофлуоресценции.

Заключение

Дезагрегация артерий является актуальной задачей, эффективное решение которой позволяет выйти на новый уровень изучения атеросклероза – уровень

единичных клеток, поскольку именно патологические изменения в каждом отдельном типе клеток (а также отдельных подтипах клеток) определяют стадию, тяжесть течения и осложнения атеросклероза.

Главной проблемой дезагрегации артерий и атеросклеротических бляшек в частности является отсутствие системы, помогающей исследователю сориентироваться в существующем многообразии подходов, что порождает целый ряд проб и ошибок и существенно увеличивает время, необходимое на исследование. Накопленные сведения и опыт, обобщенные в настоящем обзоре, помогут сориентироваться исследователям, сталкивающимся с задачей получения отдельных клеток из образцов артериальной стенки с целью изучения патологических процессов и механизмов атерогенеза на уровне единичных клеток или отдельных типов клеток.

Конфликт интересов

Д.В. Шарыш заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.В. Марков заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.С. Назаренко заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ № 17-75-10146.

Информация об авторах

Шарыш Диана Владимировна, аспирант, лаборант-исследователь лаборатории Научно-исследовательского института медицинской генетики федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-2173-2772

Марков Антон Владимирович, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории Научно-исследовательского института медицинской генетики федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-5824-6439

Назаренко Мария Сергеевна, доктор медицинских наук, руководитель лаборатории Научно-исследовательского института медицинской генетики федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0673-4094

Вклад авторов в статью

ШДВ – вклад в дизайн исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

МАВ – вклад в дизайн исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

НМС – вклад в дизайн исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Author Information Form

Sharysh Diana V., PhD student, laboratory assistant at the Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Science, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-2173-2772

Markov Anton V., PhD, researcher at the Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Science, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-5824-6439

Nazarenko Mariya S., PhD, Head of the Laboratory, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Science, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0673-4094

Author Contribution Statement

ShDV – contribution to the design of the study, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

MAV – contribution to the design of the study, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

NMS – contribution to the design of the study, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Tabas I., García-Cardeña G., Owens G.K. Recent insights into the cellular biology of atherosclerosis. *J Cell Biol.* 2015;209(1):13. doi: 10.1083/jcb.201412052.
2. Gimbrone M.A., García-Cardeña G. Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circ Res.* 2016 Feb 19;118(4):620–36. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306301
3. Bennett M.R., Sinha S., Owens G.K. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis. *Circ Res.* 2016 Feb 19;118(4):692–702. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306361
4. Gross A., Schoendube J., Zimmermann S., Steeb M., Zengerle R., Koltay P. Technologies for Single-Cell Isolation. *Int J Mol Sci.* 2015 Aug;16(8):16897–919. doi: 10.3390/ijms160816897.
5. Hu P., Zhang W., Xin H., Deng G. Single Cell Isolation and Analysis. *Front Cell Dev Biol [Internet].* 2016 Oct 25 [cited 2019 May 10];4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5078503/>
6. Worthington Tissue Dissociation Guide [Internet]. [cited 2019 May 10]. Available from: <http://www.worthington-biochem.com/tissuedissociation/basic.html>
7. Galkina E., Kadl A., Sanders J., Varughese D., Sarembock I.J., Ley K. Lymphocyte recruitment into the aortic wall before and during development of atherosclerosis is partially L-selectin dependent. *J Exp Med.* 2006 May 15;203(5):1273–82. doi: 10.1084/jem.20052205
8. Kwartler C., Zhou P., Kuang S.-Q., Duan X.-Y., Gong L., Milewicz D. Vascular Smooth Muscle Cell Isolation and Culture from Mouse Aorta. *BIO-Protoc [Internet].* 2016 [cited 2019 May 10];6(23). Available from: <https://bio-protocol.org/e2045>
9. Grivel J.-C., Ivanova O., Pinegina N., Blank P.S., Shpektor A., Margolis L.B., Vasilieva E. Activation of T lymphocytes in atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011 Dec;31(12):2929–37. doi: 10.1161/ATVBAHA.111.237081
10. Tang J., Lobatto M.E., Hassing L., van der Staay S., van Rijns S.M., Calcagno C., Braza M.S., Baxter S., Fay F., Sanchez-Gaytan B.L., Duivenvoorden R., Sager H.B., Astudillo Y.M., Leong W., Ramachandran S., Storm G., Pérez-Medina C., Reiner T., Cormode D.P., Strijkers G.J., Stroes E.S.G., Swirski F.K., Nahrendorf M., Fisher E.A., Fayad Z.A., Mulder W.J.M. Inhibiting macrophage proliferation suppresses atherosclerotic plaque inflammation. *Sci Adv [Internet].* 2015 Apr 3 [cited 2019 May 10];1(3). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4539616/>
11. Sternberg Z., Ghanim H., Gillotti K.M., Tarió J.D., Munschauer F., Curl R., Noor S., Yu J., Ambrus J.L., Wallace P., Dandona P. Flow cytometry and gene expression profiling of immune cells of the carotid plaque and peripheral blood. *Atherosclerosis.* 2013 Aug;229(2):338–47. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.04.035.
12. Nikolic D.M., Djordjevic P.B., Sreckovic V.D., Paunovic I., Kalezic N., Popovic S., Nikolic B., Stefanovic D. Comparative analysis of collagenase XI and liberase H1 for the isolation of human pancreatic islets. *Hepatogastroenterology.* 2010 Dec;57(104):1573–8.
13. Danoviz M.E., Yablonska-Reuveni Z. Skeletal Muscle Satellite Cells: Background and Methods for Isolation and Analysis in a Primary Culture System. *Methods Mol Biol Clifton Nj.* 2012;798:21–52. doi: 10.1007/978-1-61779-343-1_2
14. Miersch C., Stange K., Röntgen M. Effects of trypsinization and of a combined trypsin, collagenase, and DNase digestion on liberation and in vitro function of satellite cells isolated from juvenile porcine muscles. *Vitro Cell Dev Biol - Anim.* 2018 Jun 1;54(6):406–12. doi: 10.1007/s11626-018-0263-5.
15. Lockhart R.A., Hakakian C. S., Aronowitz J. A. Tissue Dissociation Enzymes for Adipose Stromal Vascular Fraction Cell Isolation: A Review. *J Stem Cell Res Ther [Internet].* 2015 [cited 2019 May 10];5(12). Available from: <https://www.omicsonline.org/open-access/tissue-dissociation-enzymes-for-adipose-stromal-vascular-fraction-cell-isolation-a-review-2157-7633-1000321.php?aid=66045>
16. Botting R.A., Bertram K.M., Baharlou H., Sandgren K.J., Fletcher J., Rhodes J.W., Rana H., Plasto TM, Wang XM, Lim JJK, Barnouti L, Kohout MP, Papadopoulos T, Merten S, Olbourne N., Cunningham A.L., Haniffa M., Harman A.N. Phenotypic and functional consequences of different isolation protocols on skin mononuclear phagocytes. *J Leukoc Biol.* 2017 Jun;101(6):1393–403. doi: 10.1189/jlb.4A1116-496R.
17. Mattsson L., Bondjers G., Wiklund O. Isolation of cell populations from arterial tissue, using monoclonal antibodies and magnetic microspheres. *Atherosclerosis.* 1991 Jul;89(1):25–34. doi: 10.1016/0021-9150(91)90004-m.
18. Patino W.D., Kang J.G., Matoba S., Mian O.Y., Gochuico B.R., Hwang P.M. Atherosclerotic plaque macrophage transcriptional regulators are expressed in blood and modulated by tristetraprolin. *Circ Res.* 2006 May;98(10):1282–9. doi:10.1161/01.RES.0000222284.48288.28
19. Kobayashi M., Inoue K., Warabi E., Minami T., Kodama T. A Simple Method of Isolating Mouse Aortic Endothelial Cells. *J Atheroscler Thromb.* 2005;12(3):138–42. doi:10.5551/jat.12.138
20. Beigi F., Patel M., Morales-Garza M.A., Winebrenner C., Gobin A.S., Chau E., Sampaio L.C., Taylor D.A. Optimized method for isolating highly purified and functional porcine aortic endothelial and smooth muscle cells. *J Cell Physiol.* 2017 Nov;232(11):3139–45. doi: 10.1002/jcp.25764.
21. Bonanno E., Mauriello A., Partenzi A., Anemona L., Spagnoli L.G. Flow cytometry analysis of atherosclerotic plaque cells from human carotids: a validation study. *Cytometry.* 2000;39(2):158–65. doi: 10.1002/(sici)1097-0320(20000201)39:2<158::aid-cyto9>3.0.co;2-8.
22. Galis Z.S., Sukhova G.K., Kranzhöfer R., Clark S., Libby P. Macrophage foam cells from experimental atheroma constitutively produce matrix-degrading proteinases. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(2):402–6. doi: 10.1073/pnas.92.2.402.
23. Fernandez D.M., Rahman A.H., Fernandez N.F., Chudnovskiy A., Amir E.D., Amadori L., Khan N.S., Wong C.K., Shamailova R., Hill C.A., Wang Z., Remark R., Li J.R., Pina C., Faries C., Awad A.J., Moss N., Bjorkegren J.L.M., Kim-Schulze S., Gnjatic S., Ma'ayan A., Mocco J., Faries P., Merad M., Giannarelli C. Single-cell immune landscape of human atherosclerotic plaques. *Nat Med.* 2019 Oct;25(10):1576–88. doi:10.1038/s41591-019-0590-4
24. Meekel J.P., Groeneveld M.E., Bogunovic N., Keekstra N., Musters R.J.P., Zandieh-Doulabi B., Pals G., Micha D., Niessen H.W.M., Wiersma A.M., Kievit J.K., Hoksbergen A.W.J., Wisselink W., Blankensteijn J.D., Yeung K.K. An in vitro method to keep human aortic tissue sections functionally and structurally intact. *Sci Rep.* 2018 May 25;8(1):8094. doi:10.1038/s41598-018-26549-4
25. Moss S.C., Bates M., Parrino P.E., Woods T.C. Isolation of Endothelial Cells and Vascular Smooth Muscle Cells from Internal Mammary Artery Tissue. *Ochsner J.* 2007;7(3):133–6.
26. Dobnikar L., Taylor A.L., Chappell J., Oldach P., Harman J.L., Oerton E., Dzierzak E., Bennett M.R., Spivakov M., Jørgensen H.F. Disease-relevant transcriptional signatures identified in individual smooth muscle cells from healthy mouse vessels. *Nat Commun.* 2018 Dec;9(1):4567.
27. Cochain C., Vafadarnejad E., Arampatzis P., Pelisek J., Winkels H., Ley K., Wolf D., Saliba A.-E., Zerneck A. Single-Cell RNA-Seq Reveals the Transcriptional Landscape and Heterogeneity of Aortic Macrophages in Murine Atherosclerosis. *Circ Res.* 2018 Jun 8;122(12):1661–74. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.312509
28. Metz R.P., Patterson J.L., Wilson E. Vascular smooth muscle cells: isolation, culture, and characterization. *Methods Mol Biol Clifton NJ.* 2012;843:169–76. doi: 10.1007/978-1-61779-523-7_16.
29. Weber S.C., Gratopp A., Akanbi S., Rheinlaender C., Sallmon H., Barikbin P., Koehne P.S. Isolation and culture of fibroblasts, vascular smooth muscle, and endothelial cells from the fetal rat ductus arteriosus. *Pediatr Res.* 2011 Sep;70(3):236–41. doi: 10.1203/PDR.0b013e318225f748.
30. Radziwon-Balicka A., Degn M., Johansson S.E., Warfvinge K., Edvinsson L. A novel multicolor flow-cytometry application for quantitative detection of receptors on vascular smooth muscle cells. *PLOS ONE.* 2017 Oct 30;12(10):e0186504. doi: 10.1371/journal.pone.0186504.

Для цитирования: Д.В. Шарыш, А.В. Марков, М.С. Назаренко. Получение клеточных суспензий артерий при атеросклерозе. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2020; 9 (2): 114-122. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-114-122

To cite: D. V. Sharysh, A. V. Markov, M. S. Nazarenko. Preparation of cell suspensions from arteries affected with atherosclerosis. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2020; 9 (2): 114-122. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-114-122

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Редакция научно-практического рецензируемого журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний» просит авторов внимательно ознакомиться с нижеследующими инструкциями по подготовке рукописей для публикации.

Правила по подготовке рукописей в журнал «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний» составлены с учетом рекомендаций по проведению, описанию, редактированию и публикации результатов научной работы в медицинских журналах, подготовленных Международным комитетом редакторов медицинских журналов (ICMJE), методических рекомендаций по подготовке и оформлению научных статей в журналах, индексируемых в международных наукометрических базах данных, разработанных Ассоциацией научных редакторов и издателей и Министерством образования и науки Российской Федерации. Обращаем внимание авторов, что проведение и описание всех клинических исследований должно соответствовать стандартам CONSORT – (<http://www.consort-statement.org>).

Все рукописи, поступающие в редакцию журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний», проходят обязательную проверку в системах антиплагиат (рукописи, представленные на русском языке, проходят проверку в системе Антиплагиат; рукописи, представленные на английском языке, проходят проверку в системе iThenticate).

Журнал «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний» принимает к печати следующие рукописи:

1. Оригинальные исследования – рукописи, которые содержат описания оригинальных данных, вносящих приоритетный вклад в накопление научных знаний. Объем статьи – до 20 страниц машинописного текста (включая источники литературы, подписи к рисункам и таблицы), до 25 источников литературы. Резюме должно быть структурировано, и содержать 5 параграфов (Цель, Материал и методы, Результаты, Заключение, Ключевые слова), и не превышать 300 слов.

2. Клинические случаи – краткое, информационное сообщение, представляющее сложную диагностическую проблему и объяснение как ее решить или описание редкого клинического случая. Объем текста до 5 страниц машинописного текста (включая источники литературы, подписи к рисункам и таблицы), до 10 источников литературы, с неструктурируемым резюме, которое не должно превышать 200 слов.

3. Аналитический обзор – критическое обобщение исследовательской темы. Объем – до 25 страниц машинописного текста (включая источники литературы, подписи к рисункам и таблицы), до 50 источников литературы, с неструктурируемым резюме, которое не должно превышать 250 слов. Рекомендуем использовать иллюстративный материал – таблицы, рисунки, графики, если они помогают раскрыть содержание документа и сокращают объем текста.

4. Передовая статья – объем текста до 1500 слов (включая источники литературы, подписи к рисункам

и таблицы), до 20 источников литературы, с неструктурированным или структурируемым резюме, которое не должно превышать 250 слов.

5. Письма в редакцию – обсуждение определенной статьи, опубликованной в журнале «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний». Объем не более 500 слов, без резюме.

6. Анонс – информационное сообщение о научно-практических конференциях, конгрессах, научно-исследовательских грантах. Объем до 600 слов, без резюме.

РАЗДЕЛ 1. Сопроводительные документы

1. Сопроводительное письмо должно содержать общую информацию и включать (1) указание, что данная рукопись ранее не была опубликована, (2) рукопись не представлена для рассмотрения и публикации в другом журнале (в случае если рукопись подана параллельно в другой журнал, редакция имеет полное право отказать в публикации рукописи авторам), (3) раскрытие конфликта интересов всех авторов, (4) информацию о том, что все авторы прочитали и одобрили рукопись, (5) указание об авторе, ответственном за переписку. Письмо должно быть выполнено на официальном бланке учреждения, подписано руководителем учреждения и заверено печатью.

2. Информация о конфликте интересов/финансировании. Документ содержит раскрытие авторами возможных отношений с промышленными и финансовыми организациями, способных привести к конфликту интересов в связи с представленным в рукописи материалом. Желательно перечислить источники финансирования работы. Конфликт интересов должен быть заполнен на каждого автора.

3. Информация о соблюдении этических норм при проведении исследования. Скан справки / выписки из Локального этического комитета учреждения (учреждений), где выполнялось исследование. Скан информированного согласия пациента при подаче случая из клинической практики.

4. Информация о перекрывающихся публикациях (если таковая имеется). При наличии перекрывающихся публикациях, следует указать их количество и названия (желательно приложить сканы ранее опубликованных статей). Также в сопроводительном письме на имя главного редактора журнала, следует кратко указать по какой причине имеются перекрывающиеся публикации (например, крупное многофазовое исследование и т.д.).

РАЗДЕЛ 2. Электронная подача рукописи

1. Подать статью в журнал может любой из авторов, как правило, это автор, ответственный за переписку. Автору необходимо зарегистрироваться на сайте, указать полностью свое ФИО. В форме для заполнения при подаче статьи указываются все авторы и вся дополнительная информация (места работы, должности, научные звания, учреждения – для всех авторов).

2. Отдельно готовится файл в Word, который потом отправляется как дополнительный файл. Файл должен содержать: титульный лист рукописи. На титульном листе рукописи в левом верхнем углу указывается индекс универсальной десятичной классификации (УДК).

Далее указывается заглавие публикуемого материала (полное и краткое наименование статьи). В названии не рекомендуется использовать аббревиатуры. Со следующей строки указываются инициалы и фамилии авторов. Инициалы указывают до фамилий и отделяются пробелом. После фамилий и инициалов необходимо указать полное наименование (наименования) учреждения (уч-

реждений), в котором (которых) выполнена работа с указанием ведомства и полного юридического адреса: страны, индекса, города, улицы, номера дома. Если авторы относятся к разным учреждениям, отметьте это цифровыми индексами в верхнем регистре перед учреждением и после фамилии авторов.

Пример для оформления:

УДК 616.1

КЛИНИЧЕСКАЯ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВЗАИМОСВЯЗЬ
ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ,
САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА И ОСТЕОПОРОЗА

А.Т. Тепляков¹, С.Н. Шилов², И.В. Яковлева², А.А. Попова², Е.Н. Березикова²,
Е.В. Гракова¹, А.В. Молоков², М.Н. Неупокоева², В.В. Кобец³,
К.В. Копьева¹, О.В. Гармаева¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» «Научно-исследовательский институт кардиологии», пер. Кооперативный 5, Томск, Российская Федерация, 634009; ²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красный пр., 52, Новосибирск, Российская Федерация, 630091; ³Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Новосибирской области «Городская клиническая больница No 1», ул. Залесского, 6, Новосибирск, Российская Федерация, 630047

3. Ниже предоставляется информация об авторах, где указываются: полные ФИО, место работы всех авторов, их должности; полная контактная информация обязательно указывается для одного (или более) автора и включает электронную почту, доступный телефон.

4. Если рукопись написана в соавторстве, то всем членам авторской группы необходимо указать вклад каждого автора в написание рукописи. Авторы должны отвечать всем критериям, рекомендованным Международным комитетом редакторов медицинских журналов (International Committee of Medical Journal Editors, ICMJE), а именно: (1) вносить существенный вклад в концепцию и дизайн исследования, или получение и анализ данных, или их интерпретацию; (2) принимать активное участие в написании первого варианта статьи или участвовать в переработке ее важного интеллектуального содержания; (3) утвердить окончательную версию для публикации; (4) нести ответственность за все аспекты работы и гарантировать соответствующее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Более подробная информация об авторстве (истинные авторы, гостевые авторы, подарочные авторы, безымянные авторы) и критериях авторства представлены в разделе Авторство и долевое участие (<https://www.nii-kpssz.com/jour/about/editorialPolicies#custom-8>).

РАЗДЕЛ 3. Оформление аннотации.

Аннотация на русском языке

Аннотация должна быть информативной (не содержать общих слов), оригинальной, содержательной (т.е. отражать основное содержание статьи и результаты исследований) и компактной (т.е. укладываться в установленные объемы в зависимости от типа рукописи). При написании аннотации необходимо следовать логике описания результатов в статье. В ней необходимо указать, что нового несет в себе научная статья в сравне-

нии с другими, родственными по тематике и целевому назначению. В резюме не следует включать ссылки на литературу и использовать аббревиатуры, кроме общепотребительных сокращений и условных обозначений. При первом упоминании сокращения необходимо расшифровать.

Структурированная аннотация должна включать 5 параграфов: цель (не дублирующая заглавие статьи), материалы и методы, результаты, заключение, ключевые слова). Является обязательной для оригинальных исследований (не более 300 слов).

Неструктурированная аннотация является обязательной для клинических случаев (не более 200 слов) и аналитических обзоров (не более 250 слов). Несмотря на отсутствие обязательных структурных элементов, аннотация должна следовать логике статьи и не противоречить представленной информации.

Авторы, направляющие в редакцию журнала переводную статью, могут использовать как структурированную, так и неструктурированную аннотацию, содержащую не более 250 слов.

Ключевые слова (не более 7) составляют семантическое ядро статьи и представляют собой перечень основных понятий и категорий, служащих для описания исследуемой проблемы. Они должны отражать дисциплину (область науки, в рамках которой написана статья), тему, цель и объект исследования.

Перевод аннотация на английский язык (для рукописей, поданных на русском языке).

При переводе на английский язык аннотация должна сохранить свою информативность, оригинальность, быть содержательной и компактной, отражать логику описания результатов в статье. При переводе не рекомендуется пропускать словосочетания и предложения. Перевод аннотации должен дублировать текст аннотации на английском языке.

Структурированная аннотация на английском языке также включает 5 параграфов: **Aim** (Aims – в случае, если в Вашей рукописи заявлено более одной цели), **Methods**, **Results**, **Conclusion**, **Keywords**. Является обязательной для оригинальных исследований (не более 300 слов).

Неструктурированная аннотация является обязательной для клинических случаев (не более 200 слов) и аналитических обзоров (не более 250 слов). Несмотря на отсутствие обязательных структурных элементов, перевод аннотация на английский язык должен отражать логику статьи и не противоречить представленной информации.

РАЗДЕЛ 4. Оформление основного файла рукописи.

Поскольку основной файл рукописи автоматически отправляется рецензенту для проведения «слепого рецензирования», то он не должен содержать имен авторов и названия учреждений. Файл содержит только следующие разделы:

1. Название статьи.

Название статьи пишется прописными буквами (РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ФАКТОРОВ РИСКА...), в конце точка не ставится.

2. Краткий заголовок статьи.

Краткий заголовок статьи должен состоять из 3-5 слов и отражать основную идею рукописи.

3. Вклад в предметную область.

Вклад в предметную область должен подчеркивать вклад исследования в предметную область, его новизну и уникальность. Состоит из 2-3 предложений.

4. Резюме с ключевыми словами.

Резюме с ключевыми словами должно содержать только те разделы, которые описаны в Правилах для авторов.

5. Список сокращений.

При составлении списка сокращений к статье, включая текст, таблицы и рисунки, вносятся только те, которые используются автором 3 и более раз. Если сокращения используются только в таблицах и рисунках, а в тексте не используются, их не следует включать в список сокращений, но необходимо дать расшифровку в примечании к таблице или рисунку. К резюме статьи, как к отдельному документу, применимы те же правила, что и к статье (сокращения вносятся при их использовании 3 и более раз). Сокращения в списке сокращений пишутся в алфавитном порядке через запятую, сплошным текстом, с использованием «тире».

6. Текст статьи.

Текст статьи должен быть представлен в формате MS (*.doc, *.docx), размер кегля 12, шрифт Times New Roman, межстрочный интервал 1,5, поля обычные, выравнивание по ширине. Страницы нумеруют. Перед подачей рукописи удалите из текста статьи двойные пробелы.

Таблицы размещают в месте упоминания в тексте. В тексте обязательно присутствуют ссылки на все таблицы, обозначаемые как «табл.» с указанием порядкового номера таблицы, например «табл. 1». Каждая таблица имеет заголовок: слово «Таблица», порядковый номер, название (без точек). Если таблица единственная в статье, ее не нумеруют, в тексте слово «таблица» выделяют курсивом. Название таблицы и номер таблицы выравнивается по левому краю страницы. Для всех сокращений,

используемых в таблице, дается расшифровка в примечании. Название таблицы и примечание к ней переводятся на английский язык и размещаются под русскоязычной версией. Содержание таблицы также переводится на английский и дается через / (например, Показатели / Parameters и т.д.).

Иллюстративный материал (черно-белые и цветные фотографии, рисунки, диаграммы, схемы, графики) размещают в тексте статьи в месте упоминания (.jpg, разрешение не менее 300 dpi). Проверьте наличие ссылок в тексте на все иллюстрации, обозначаемые как «рис.» с указанием порядкового номера, например, «рис. 1». Рисунки не должны повторять материалов таблиц. Каждый рисунок должен иметь подпись, содержащую номер рисунка. Название и примечание к рисунку переводятся на английский язык и размещаются под русскоязычной версией. Единственную в статье иллюстрацию не нумеруют, при ссылке на нее в тексте используют слово «рисунок» (полностью, курсивом). Если иллюстрация состоит из нескольких рисунков, представленных под а, б, в, г, помимо подписи каждого рисунка под буквенным обозначением необходимо привести общий заголовок иллюстрации.

Обращаем внимание авторов на то, что использование таблиц и рисунков из других статей с оформленным цитированием допустимо только при наличии разрешения на репринт. Разрешение на репринт таблиц и рисунков запрашивается не у автора, а у издателя журнала. Просим Вас своевременно позаботиться о разрешении на репринт. В случае отсутствия такого разрешения, рисунки и таблицы будут рассматриваться как плагиат, и редакция журнала будет вынуждена исключить их из рукописи.

При обработке материала используется система единиц СИ. Без точек пишут: ч, мин, мл, см, мм (но мм рт. ст.), с, мг, кг, мкг. С точками: мес., сут., г. (год), рис., табл. Для индексов используют верхние (кг/м²) или нижние (СН₂DS₂-VAsc) регистры. Знак мат. действий и соотношений (+, -, x, /, =, ~) отделяют от символов и чисел: p = 0,05. Знак ± пишут слитно с цифровыми обозначениями: 27,0±17,18. Знаки >, <, ≤ и ≥ пишут слитно: p>0,05. В тексте рекомендуем заменять символы словами: более (>), менее (<), не более (≤), не менее (≥). Знак % пишут слитно с цифровым показателем: 50%; при двух и более цифрах знак % указывают один раз после чисел: от 50 до 70%; на 50 и 70%. Знак № отделяют от числа: № 3. Знак °C отделяют от числа: 13 °C. Обозначения единиц физических величин отделяют от цифр: 13 мм. Названия и символы генов выделяют курсивом: *ген PON1*.

7. Благодарности (если таковые имеются).

Участники, не соответствующие критериям, предъявляемым к авторам, должны быть указаны в разделе «Благодарности».

8. Конфликт интересов.

Авторы раскрывают конфликт интересов, связанный с представленным материалом. Конфликт интересов должен быть раскрыт для каждого конкретного автора. Информация о конфликте интересов публикуется в составе полного текста статьи.

9. Финансирование.

Указывают источник финансирования. Если исследо-

вание выполнено при поддержке гранта (например, РФФИ, РНФ), приводят номер.

10. Список литературы

Список литературы должен быть представлен на русском и английском языках (обратите внимания, что списки должны быть отдельными). За правильность приведенных в списке литературы данных ответственность несут автор(ы).

Библиографическое описание на русском языке рекомендуется выполнять на основе ГОСТ Р 7.0.5-2008 («Библиографическая ссылка. Общие требования и правила составления»). Англоязычная часть библиографического описания должна соответствовать формату, рекомендуемому Американской Национальной Организацией по Информационным стандартам (National Information Standards Organisation — NISO), принятому National Library of Medicine (NLM) (http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).

Библиографические ссылки в тексте указывают номерами в квадратных скобках. Источники располагают

в порядке первого упоминания в тексте. В список литературы не включаются неопубликованные работы. Названия журналов на русском языке в списке литературы не сокращаются. Названия иностранных журналов могут сокращаться в соответствии с вариантом сокращения, принятым конкретным журналом. При наличии у цитируемой статьи цифрового идентификатора (Digital Object Identifier, DOI) указывают в конце ссылки.

Пристатейный список должен соответствовать Российскому индексу цитирования и требованиям международных баз данных. Англоязычный вариант библиографического описания ссылки на русскоязычный источник помещают после русскоязычной ссылки в квадратных скобках. Ссылки на русскоязычные статьи, имеющие название на английском языке приводятся также на английском языке, при этом в конце ссылки указывается (in Russian). Если статья не имеет английского названия, вся ссылка транслитерируется на сайте www.translit.ru (формат BSI).

Примеры оформления:

1. Статья из русскоязычного журнала, имеющая англоязычное название:

Кухарчук А.Л. Стволовые клетки и регенеративно-пластическая медицина. *Трансплантология*. 2004; 7 (3): 76-90 [Kuharchuk A.L. Stem cells and regenerative-plastic medicine. *Transplantologiya*. 2004; 7 (3): 76-90. (In Russ)]

2. Статья из русскоязычного журнала, не имеющая англоязычного названия:

Трапезникова М.Ф., Филиппцев П.Я., Перлин Д.В., Кулачков С.М. Лечение структур мочеточника после трансплантации почки. *Урология и нефрология*. 1994; 3: 42-45 [Trapeznikova M.F., Filiptsev P.Ya., Perlin D.V., Kulachkov S.M. Lechenie striktur mochetochnika posle transplantatsii pochki. *Urologia I nefrologia*. 1994; 3:42-45. (In Russ)]

3. Статья из англоязычного журнала:

Goldstein D.J., Oz M.C., Rose E.A. Implantable left ventricular assist devices. *N Engl J Med*. 1998; 339: 1522–1533.

4. Статья из журнала, имеющего DOI:

Kaplan B., Meier-Kriesche H-U. Death after graft loss: An important late study endpoint in kidney transplantation. *American Journal of Transplantation*. 2002; 2 (10): 970-974. doi:10.1034/j.1600-6143.2002.21015.x

5. Англоязычная монография:

Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A. *Medical microbiology*. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

6. Русскоязычная монография:

Ивашкин В.Т., Шептулин А.А. Методические рекомендации по обследованию и лечению больных с нарушениями двигательной функции желудка. М; 2008 [Ivashkin V.T., Sheptulin A.A. Metodicheskie rekomendatsii po obsledovaniyu i lecheniyu bol'nykh s narusheniyami dvigatel'noy funktsii zheludka. Moscow; 2008. (In Russ)].

7. Диссертация (автореферат диссертации):

Максимова Н.В. Клинико-экономический анализ консервативной тактики лечения пациентов с синдромом диабетической стопы в городе Москве. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М; 2011. [Maksimova N.V. Kliniko-ekonomicheskii analiz konservativnoy taktiki lecheniya patsientov s sindromom diabeticheskoy stopy v gorode Moskve. [dissertation] Moscow; 2011. (In Russ)].

8. Электронный источник.

Кондратьев В.Б. Глобальная фармацевтическая промышленность. Режим доступа: http://perspektivy.info/rus/ekob/globalnaja_farmaceuticheskaja_promyshlennost_2011-07-18.html. (дата обращения 23.06.2013) [Kondrat'ev V.B. Global'naya farmatsevticheskaya promyshlennost' [The global pharmaceutical industry]. Available at: http://perspektivy.info/rus/ekob/globalnaja_farmaceuticheskaja_promyshlennost_2011-07-18.html. (accessed 23.06.2013) (In Russ.)]

Уважаемые коллеги!

Приглашаем Вас к сотрудничеству. Вы можете разместить информацию о деятельности Вашей компании на страницах журнала в виде научной статьи, доклада или в форме рекламы.

По вопросам размещения рекламы обращаться к Сыренковой Валерии Олеговне по телефону +7 (3842) 34-53-89 или e-mail: sirevo@kemcardio.ru

ТАРИФЫ НА РАЗМЕЩЕНИЕ РЕКЛАМНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Площадь на полосе	Черно-белая печать, руб.	Полноцветная печать, руб.
1/1 165 x 260 мм (A4)	12 000	24 000
1/2	6 000	12 000
1/4	3 000	6 000
1/8	1 500	3 000
1/16	800	1 500
Текстовая реклама	120 руб. за 1 кв. см	
Научная статья - 1 страница	6 000	8 500

Скидки: 2 публикации — 5%, 4 публикации — 10%, 6 публикаций — 15%

Денежные средства перечислять на расчетный счет:

КООО «Кузбасское научное общество кардиологов»

ИНН 4205069956

КПП 420501001

БИК 045004725

Р/с 40703810032350000033

Филиал ПАО «УРАЛСИБ» в г. Кемерово

К/с 30101810400000000725

650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, дом 6

Подписано в печать 18.06.2020 г. Дата выхода в свет: 25.06.2020 г. Формат 62 x 94/8. Бумага мелованная матовая. Усл. печ. л. 19.5. Тираж 1 000 экз. Заказ № 41229. Цена свободная.

Адрес редакции и издателя: 650002, Кемеровская обл., Кемерово, Сосновый бульвар, 6, тел. (3842) 34-53-89, email: avtor@kemcardio.ru (главный редактор Л.С. Барбараш)

Адрес типографии ООО «Издательский Дом «ВОЯЖ»»: 630048, Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 104, тел. (383) 314-19-40



РОССИЙСКОЕ ОБЩЕСТВО
РЕНТГЕНОЛОГОВ И РАДИОЛОГОВ



**VI СЪЕЗД СПЕЦИАЛИСТОВ
ПО ЛУЧЕВОЙ ДИАГНОСТИКЕ И ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ
СИБИРСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА**

**«ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ИНТРОСКОПИЯ.
РЕАЛЬНОСТЬ МНОГОЕ ОСТАВЛЯЕТ
ВООБРАЖЕНИЮ»**

29-30 ОКТЯБРЯ 2020 ГОДА

мероприятие проводится в online-формате

трансляция на YouTube

регистрация на сайте

events.kemcardio.ru

**Документация по данному учебному мероприятию
будет представлена в Комиссию по оценке
учебных мероприятий и материалов для НМО**