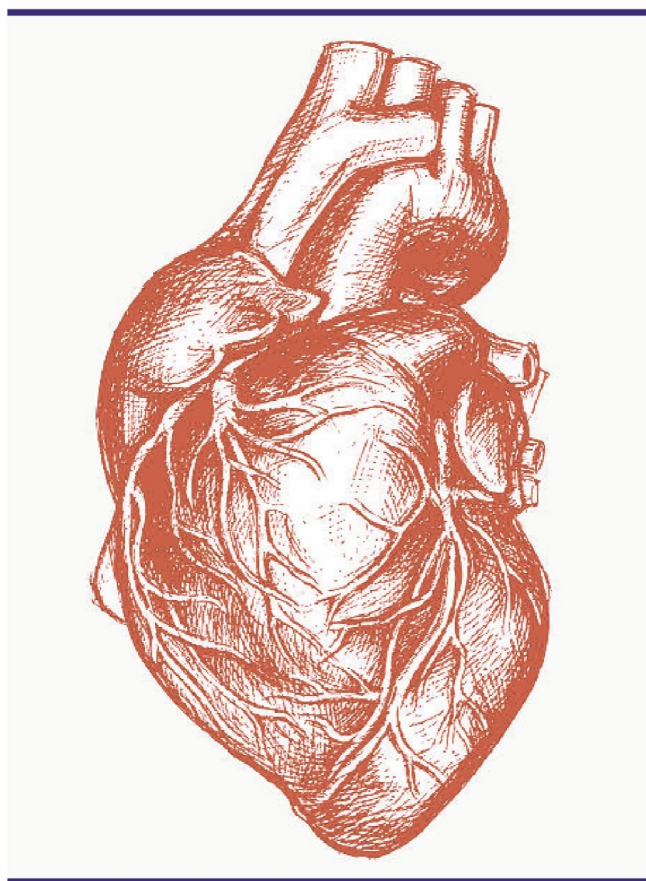




Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний



Complex Issues of Cardiovascular Diseases

16+

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

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

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

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

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. Алесян (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, Москва, РФ)
академик 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 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 (Москва, 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., ЭЛ № ФС77-75552 от 12 апреля 2019 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. Индексируется в международной библиографической и реферативной базе данных Scopus.

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>.

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, Prof. 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, Moscow, RF)

RAS academician 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 S. V. Popov (Tomsk, RF)

RAS academician V. P. Puzyrev (Tomsk, RF)

PhD, Prof. V.A. Rudnov (Yekaterinburg, RF)

PhD, Prof. A.B. Salmina (Moscow, 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, EL № FC77-75552 issued of April 12, 2019).

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. Indexed in the international bibliographic and abstract database Scopus.

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>.

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>)



ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ		ORIGINAL STUDIES	
КАРДИОЛОГИЯ / CARDIOLOGY			
А.А. Гарганеева, В.А. Александренко, Е.А. Кужелева, В.В. Рябов, Т.Ю. Реброва, С.А. Афанасьев Взаимосвязь бета-адренореактивности эритроцитов и особенностей течения острого инфаркта миокарда		6	A.A. Garganeeva, V.A. Aleksandrenko, E.A. Kuzheleva, V.V. Ryabov, T.Yu. Rebrova, S.A. Afanasiev Association between the osmotic fragility of erythrocytes and the course of acute myocardial infarction
И.В. Тарасова, О.А. Трубникова, И.Н. Кухарева, А.С. Соснина, Д.С. Куприянова, В.Г. Шестернин, О.А. Нагирняк, О.Л. Барбараш Эффекты когнитивной реабилитации с применением двойной задачи у пациентов в раннем послеоперационном периоде прямой реваскуляризации миокарда		15	I.V. Tarasova, O.A. Trubnikova, I.N. Kuhareva, A.S. Sosnina, D.S. Kupriyanova, V.G. Shesternin, O.A. Nagirnyak, O.L. Barbarash Effects of dual-task rehabilitative training in the early postoperative period after direct myocardial revascularization
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТАЯ ХИРУРГИЯ / ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ CARDIOVASCULAR SURGERY / PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY			
Л.А. Богданов, Н.Ю. Осяев, Ю.Д. Богданова, Р.А. Мухамадияров, А.Р. Шабаев, А.В. Евтушенко, А.Г. Кутихин Анализ топографических сценариев формирования очагов кальцификации в дисфункциональных клапанах сердца и атеросклеротических бляшках		26	L.A. Bogdanov, N.Yu. Osyaev, Yu.D. Bogdanova, R.A. Mukhamadiyarov, A.R. Shabaev, A.V. Evtushenko, A.G. Kutikhin Elemental analysis of valvular and atherosclerotic calcification
ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ / PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY			
К.В. Дергилев, З.И. Цоколаева, Ю.Д. Василец, И.Б. Белоглазова, Е.В. Парфенова Клеточные пласты на основе кардиальных прогениторных клеток продуцируют проангиогенные факторы роста и оказывают локальное стимулирующее воздействие на формирование капилляров после инфаркта миокарда		34	K.V. Dergilev, Z.I. Tsokolaeva, Yu.D. Vasilets, I.B. Beloglazova, E.V. Parfenova Cardiac progenitor cell sheets secrete proangiogenic growth factors and locally activate capillarogenesis after infarction
Д.С. Семенова, А.М. Киселев, А.Б. Малашичева Активация экспрессии транскрипционного фактора ZBTB16 при остеогенной дифференцировке стволовых клеток мезенхимного ряда		44	D.S. Semenova, A.M. Kiselev, A.B. Malashicheva Activation of transcriptional factor ZBTB16 expression during osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells
ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ / PUBLIC HEALTH			
Д.В. Карась, Я.В. Данильченко, Е.А. Бацина, А.Н. Попсуйко, Д.В. Килижекова, Г.В. Артамонова Результативность системы менеджмента качества в условиях риска непреодолимой силы (пандемия COVID-19)		56	D.V. Karas, Y.V. Danilchenko, E.A. Batsina, A.N. Popsuyko, D.V. Kilizhekova, G.V. Artamonova Quality management system performance under force majeure risk (COVID-19 pandemic)
АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР		REVIEW	
КАРДИОЛОГИЯ / CARDIOLOGY			
С.Л. Глизер, О.А. Штегман, М.М. Петрова Биомаркеры в прогнозировании неблагоприятных исходов у пациентов с острой декомпенсированной сердечной недостаточностью и почечным повреждением		65	S.L. Glizer, O.A. Shtegman, M.M. Petrova Biomarkers and the prediction of adverse outcomes in patients with acute decompensated heart failure and kidney injury
П.М. Докшин, А. Бейркдар, А.Б. Малашичева Современные проблемы и перспективы развития клеточной терапии на основе мезенхимных клеток сердца в восстановлении сократительной функции миокарда		72	P.M. Docshin, A. Bairqdar, A.B. Malashicheva Current status, challenges and perspectives of mesenchymal stem cellbased therapy for cardiac regeneration

КАРДИОЛОГИЯ / ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ CARDIOLOGY / INTERNAL MEDICINE	
И.С. Сабиров, И.Т. Муркамилов, В.В. Фомин Кардиопротективный потенциал ингибиторов натрий-глюкозного котранспортера (фокус на эмпаглифлозин)	79
I.S. Sabirov, I.T. Murkamilov, V.V. Fomin Potential mechanisms underlying cardiovascular protection by sodium glucose cotransporter 2 inhibitors (empagliflozin)	
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТАЯ ХИРУРГИЯ / CARDIOVASCULAR SURGERY	
Е.О. Кривкина, В.Г. Матвеева, Л.В. Антонова Сосудистые протезы с противомикробным покрытием: экспериментальные разработки и внедрение в клиническую практику	90
E.O. Krivkina, V.G. Matveeva, L.V. Antonova Antimicrobial vascular grafts: experimental development and implementation in clinical practice	
ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ / PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY	
А.Е. Yuzhalin State-of-the-art technology for cardiovascular research	
103	
А.И. Мосягина, А.В. Моргун, А.Б. Салмина Модели ГЭБ <i>in vitro</i> : преимущества и недостатки, текущее положение и перспективы развития	109
A.I. Mosiagina, A.V. Morgun, A.B. Salmina Overview of existing <i>in vitro</i> BBB models: advantages and disadvantages, current state and future prospects	
МНЕНИЕ ЭКСПЕРТОВ EXPERT VIEW	
КАРДИОЛОГИЯ / CARDIOLOGY	
О.Л. Барбараш, В.В. Кашталап, А.А. Гарганеева, К.В. Протасов, О.Ю. Кореннова, Н.Г. Гоголашвили, А.С. Саласюк, А.А. Ефремушкина, С.Л. Жарский, С.А. Зенин, С.А. Макаров, В.А. Невзорова, Л.Б. Содномова, С.А. Устюгов, О.Г. Цыганкова, О.Ю. Шабельникова Резолюция онлайн-совещания экспертов Сибирского, Дальневосточного и Южного федеральных округов по результатам исследования EMPEROR-Reduced «Подходы к терапии сердечной недостаточности со сниженной фракцией выброса: от исследования EMPA-REG Outcome к EMPEROR-Reduced»	121
O.L. Barbarash, V.V. Kashtalap, A.A. Garganeeva, K.V. Protasov, O.Yu. Korennova, N.G. Gogolashvili, A.S. Salasyuk, A.A. Efremushkina, S.L. Zharskiy, S.A. Zenin, S.A. Makarov, V.A. Nevzorova, L.B. Sodnomova, S.A. Ustyugov, O.G. Tsygankova, O.Yu. Shabelnikova Resolution of an online meeting of the Siberian, Far Eastern and Southern Federal Districts experts on the results of the EMPEROR-Reduced trial “Therapeutic approaches in heart failure with reduced ejection fraction: the EMPA-REG OUTCOME trial and the EMPEROR-Reduced trial”	

Уважаемые коллеги!

Приглашаем вас принять участие в формировании номеров 2021 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**.

Тематика и график выхода номеров в 2021 г.:

№ 4/2021. Болезни системы кровообращения, коморбидность и нарушения метаболизма

Прием статей осуществляется до 1 октября 2021 г. Выход номера 17 декабря 2021 г.

Тематика и график выхода номеров в 2022 г.:

№ 1/2022. Болезни системы кровообращения: от клинических рекомендаций до реальной практики

Прием статей осуществляется до 10 января 2022 г. Выход номера – 25 марта 2022 г.

№ 2/2022. Инновации в сердечно-сосудистой хирургии

Прием статей осуществляется до 1 апреля 2022 г. Выход номера – 25 июня 2022 г.

№ 3/2022. Фундаментальная и трансляционная кардиология

Прием статей осуществляется до 1 июля 2022 г. Выход номера – 25 сентября 2022 г.

№ 4/2022. Протоколы клинической апробации и поисковые научные исследования: стандарты и алгоритмы

Прием статей осуществляется до 1 октября 2022 г. Выход номера – 17 декабря 2022 г.

ДОРОГИЕ ЧИТАТЕЛИ, КОЛЛЕГИ, ДРУЗЬЯ!

Связанные с пандемией COVID-19 события обозначили новые серьезные вызовы для фундаментальной и трансляционной сердечно-сосудистой медицины. Становится все более очевидной необходимость внедрения новых высокопроизводительных технологий в экспериментальную работу, ускорения трансляции перспективных тканеинженерных разработок в доклинические испытания на физиологически релевантных моделях крупных лабораторных животных, а также изучения новых способов экспериментальной терапии атеросклероза на патофизиологически обоснованных моделях трансгенных мышей. По нашему общему мнению, каждое из фундаментальных исследований должно иметь перспективы внедрения в клиническую практику, поэтому в данный номер журнала вошли именно те статьи, которые отвечают обозначенным выше критериям.

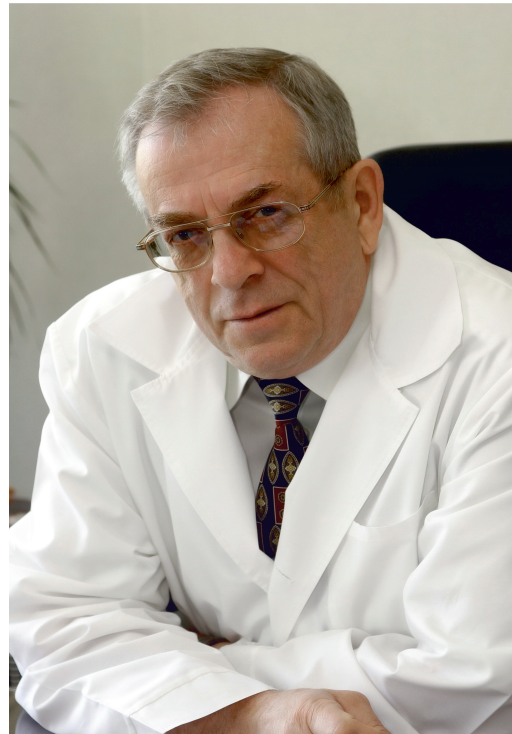
Открывает номер работа коллег из Томска о связи бета-адренореактивности зачастую незаслуженно игнорируемой клеточной популяции – эритроцитов – с клиническим течением инфаркта миокарда. Посвященные клеткам крови статьи по единогласному решению редакции входят в фундаментальный номер нашего журнала второй год подряд, что отражает важность сотрудничества специалистов по гемореологии и микроциркуляции с сосудистыми биологами, кардиологами и кардиохирургами.

Продолжает список статья, включающая одну из флагманских научно-клинических тематик нашего Института, – когнитивную реабилитацию в послеоперационном периоде реваскуляризации миокарда. Мы убеждены, что именно успешная реабилитация является краеугольным камнем последующего качества жизни пациентов с болезнями системы кровообращения, поскольку задача кардиологов – не только спасать жизни, но и способствовать комфорту дальнейшей жизни больных.

Одной из загадок патофизиологии сердечно-сосудистых заболеваний является патогенетический параллелизм между атеросклерозом и развитием приобретенных пороков сердца. В этом номере представлено исследование экспериментального отдела НИИ КПССЗ, в котором оценены закономерности формирования очагов кальцификации при различных патологиях сосудов и клапанов сердца.

Последующие статьи ведущих отечественных научных групп из Москвы и Санкт-Петербурга посвящены разработкам в области тканевой инженерии – клеточным пластам для микрососудистой регенерации после инфаркта миокарда и способам направленной дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток.

Неотъемлемым компонентом планирования и проведения всех видов научных исследований является управление рисками, которое в условиях пандемии можно с полным правом назвать искусством. Оценке результативности системы менеджмента



качества, внедренной в НИИ КПССЗ, посвящена отдельная статья данного номера.

Важнейшей нерешенной проблемой современной кардиологии служит хроническая сердечная недостаточность. Биомаркерам ее неблагоприятных исходов и перспективам развития клеточной терапии посвящены сразу два аналитических обзора. Кроме того, стоит также обратить внимание на статью, в которой оценен кардиопротективный потенциал ингибиторов натрий-глюкозного котранспортера, в особенности наиболее перспективного и применяемого из них – эмпаглифлозина.

Ведущей отечественной разработкой в области тканевой инженерии являются тканеинженерные сосудистые протезы малого диаметра, одно из осложнений имплантации которых – бактериальное инфицирование. Анализ этой проблемы представлен в отдельной обзорной статье.

Качественная научная работа невозможна без современных высокопроизводительных методов получения значительных массивов данных и экспериментальных моделей. В заключительном блоке работ данного номера представлен обзор последних перспективных технологий изучения патофизиологических аспектов сердечно-сосудистых заболеваний, а также критический обзор существующих моделей гематоэнцефалического барьера *in vitro*. Завершает номер резолюция онлайн-совещания экспертов Сибирского, Дальневосточного и Южного федеральных округов по результатам исследования EMPEROR-Reduced, посвященного новым подходам терапии больных сердечной недостаточностью со сниженной фракцией выброса.

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

Главный редактор академик РАН
Л.С. Барбараш



УДК 616.127-005.8

DOI 10.17802/2306-1278-2021-10-3-6-14

ВЗАИМОСВЯЗЬ БЕТА-АДРЕНОРЕАКТИВНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ И ОСОБЕННОСТЕЙ ТЕЧЕНИЯ ОСТРОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

А.А. Гарганеева, В.А. Александренко, Е.А. Кузелева, В.В. Рябов, Т.Ю. Реброва, С.А. Афанасьев

Научно-исследовательский институт кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», ул. Киевская, 111а, Томск, Российская Федерация, 634012

Основные положения

- Гиперактивация симпатoadреналовой системы у пациентов с инфарктом миокарда проявляется увеличением уровня бета-адренореактивности мембран эритроцитов выше условно принятой нормы.
- Повышенный уровень бета-адренореактивности мембран эритроцитов ассоциирован с развитием острой левожелудочковой недостаточности и большим объемом поражения сердечной мышцы при инфаркте миокарда.

Цель	Выявление ассоциации показателя бета-адренореактивности эритроцитов (β -АРМ) с особенностями течения острого инфаркта миокарда (ИМ).
Материалы и методы	Проведен анализ бета-адренореактивности у 62 пациентов с острым ИМ в первые 6 ч от появления симптомов для определения уровня активности симпатoadреналовой системы.
Результаты	Для больных с повышенными уровнями показателя β -АРМ характерно более частое развитие осложнений в остром периоде ИМ, таких как острые левожелудочковая недостаточность и нарушения сердечного ритма (желудочковая экстрасистолия высоких градаций и желудочковая тахикардия) ($p = 0,026$). Также среди пациентов с повышенными значениями показателя β -АРМ отмечен больший объем поражения сердечной мышцы, что проявляется кратным повышением концентрации биомаркеров некроза в крови – креатинфосфокиназы, креатинфосфокиназы-МВ и тропонина I ($p = 0,009$, $p = 0,032$ и $p = 0,001$ соответственно) и визуализацией большего числа зон гипо- и акинеза; более высокими значениями индекса нарушения локальной сократимости при эхокардиографическом исследовании и более низкой фракцией выброса левого желудочка. Индекс нарушения локальной сократимости был значительно выше среди обследованных с повышенным уровнем β -АРМ (1,5 (1,22; 1,75)), чем в группе пациентов с нормальным показателем (1,12 (1,0; 1,56)) ($U = 157,5$, $p = 0,032$).
Заключение	Для пациентов с гиперактивацией симпатoadреналовой системы, проявляющейся повышением значений показателя β -АРМ, характерен больший объем поражения сердечной мышцы, что находит отражение в кратном повышении концентрации биомаркеров некроза в крови, а также визуализации большего числа зон гипо- и акинеза при эхокардиографическом исследовании.
Ключевые слова	Бета-адренореактивность • Инфаркт миокарда • Симпатoadреналовая система

Поступила в редакцию: 28.04.2021; поступила после доработки: 11.05.2021; принята к печати: 05.06.2021

ASSOCIATION BETWEEN THE OSMOTIC FRAGILITY OF ERYTHROCYTES AND THE COURSE OF ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION

А.А. Garganeeva, V.A. Aleksandrenko, E.A. Kuzheleva, V.V. Ryabov, T.Yu. Rebrova, S.A. Afanasiev

Cardiology Research Institute, Federal State Budgetary Scientific Institution "Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences", 111a, Kievskaya St., Tomsk, Russian Federation, 634012

Highlights

- Activation of the sympathoadrenal system in patients with myocardial infarction is manifested by an increased erythrocyte osmotic fragility.

Для корреспонденции: Виктория Анатольевна Александренко, v.a.aleksandrenko@mail.ru; адрес: ул. Киевская, 111а, Томск, Россия, 634012

Corresponding author: Victoria A. Aleksandrenko, v.a.aleksandrenko@mail.ru; address: 111a, Kievskaya str., Tomsk, Russia, 634012

- Increased erythrocyte osmotic fragility is associated with the development of acute left ventricular failure and severe heart muscle damage after myocardial infarction.

Aim	To investigate the relationship between the osmotic fragility of erythrocytes and the course of acute myocardial infarction (MI).
Methods	An analysis of the osmotic fragility of erythrocytes was conducted using beta-blocker-based osmotic fragility test in sixty-two patients within the first 6 hours after onset of MI symptoms.
Results	The results revealed that the patients with increased erythrocyte osmotic fragility experienced more complications after acute MI, such as left ventricular failure and cardiac arrhythmias (ventricular extrasystoles and ventricular tachycardia) ($p = 0.026$). Moreover, these patients exhibited greater myocardial injury – the concentration of biomarkers of myocardial necrosis, such as creatine phosphokinase, creatine phosphokinase MB and Troponin I was increased – $p = 0.009$, $p = 0.032$ and $p = 0.001$, respectively. In addition to that, the patients with high osmotic fragility had a larger number of hypokinetic and akinetic segments, high impaired myocardial contractility index, and low ejection fraction. The impaired myocardial contractility index was significantly higher in patients with increased erythrocyte osmotic fragility (1.5 (1.22; 1.75) vs 1.12 (1.0; 1.56), $U = 157.5$, $p = 0.032$).
Conclusion	Increased erythrocyte osmotic fragility in patients was associated with greater myocardial injury, manifesting through the higher concentration of biomarkers of myocardial necrosis in blood, as well as higher number of hypokinetic segments.
Keywords	Osmotic fragility • Myocardial infarction • Sympathoadrenal system

Received: 28.04.2021; received in revised form: 11.05.2021; accepted: 05.06.2021

Список сокращений

АГ – артериальная гипертония	САС – симпатoadренaловaя система
ИБС – ишемическая болезнь сердца	β -АРМ – бета-адренореактивность эритроцитов
ИМ – инфаркт миокарда	

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания остаются ведущей причиной смертности населения России на протяжении последних десятилетий. При этом основное место занимает ишемическая болезнь сердца (ИБС) с ее наиболее тяжелым проявлением – инфарктом миокарда (ИМ) [1]. В структуре смертности от ИБС на долю ИМ приходится значительный процент случаев – от 10,1 до 11,6. Вместе с тем мужчины в 8,1 раза чаще женщин умирают от первичного ИМ и в 13,7 раза – от повторного ИМ [2]. Также известно, что пациенты с перенесенным ИМ характеризуются высокими показателями летальности в течение последующих 5 лет, в связи с чем необходима максимально персонифицированная стратегия в отношении данной категории больных [3].

В последние десятилетия продолжается поиск новых предикторов развития сердечно-сосудистой патологии, при этом значительное внимание уделяют изучению вклада симпатoadренaловaой системы (САС) в патогенез основных заболеваний сердечно-сосудистого континуума. В настоящее время

САС рассматривают ведущей нейрогуморальной системой в развитии как артериальной гипертонии (АГ), так и многих других сердечно-сосудистых заболеваний, к которым относятся ИБС и в частности ИМ [4–7]. Избыточный уровень катехоламинов при ИМ, отражающий гиперактивацию САС, способствует существенному уменьшению количества бета-адренорецепторов на мембранах эритроцитов – десенситизации клеточной мембраны, что послужило основанием считать бета-адренореактивность мембран эритроцитов системным показателем адренореактивности организма [8, 9].

На сегодняшний день используют как прямые, так и косвенные методы оценки активности САС. Прямые методы исследования отличаются высокими чувствительностью и специфичностью, при этом довольно трудоемкие и дорогие, в связи с чем отдельного внимания заслуживают косвенные методы оценки. Поскольку на этом этапе отсутствует единый подход определения активности САС, а данные по изучению бета-адренореактивности мембран эритроцитов у пациентов с ИМ весьма ограничены,

необходимо исследование малоизученных методик с целью возможного установления и внедрения в практику универсальной, экономически доступной технологии определения активности САС.

На наш взгляд, таким способом может стать экспресс-метод определения бета-адренореактивности, который разработан Р.И. Стрюк и И.Г. Длусской и основан на оценке деструктурирующего действия катехоламинов на мембранную структуру клетки [10]. Следует отметить, что большинство исследований по изучению бета-адренореактивности с использованием данной методики проведены в начале 2000-х гг., после чего диагностические и лечебные подходы при ИМ претерпели ряд изменений, в связи с чем необходимы дальнейшие исследования в данной области уже на современном этапе, что позволит расширить границы применения предложенного метода.

Не менее важно, что предложенная методика в силу экономической доступности легко применима на практике и позволяет косвенно оценивать состояние САС в краткие сроки, что, безусловно, обеспечит еще более персонализированную стратегию ведения данной категории больных, а также позволит на раннем этапе выделять пациентов наиболее высокого риска.

Цель данной работы – выявить ассоциации показателя бета-адренореактивности эритроцитов (β -АРМ) с особенностями течения острого инфаркта миокарда.

Материалы и методы

В проспективное исследование включены 62 пациента с острым ИМ (49 мужчин и 13 женщин), госпитализированных в отделение неотложной кардиологии Научно-исследовательского института кардиологии Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук (НИИ кардиологии Томского НИМЦ) в первые 6 ч от начала развития симптомов.

Работа выполнена в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 163 от 8 ноября 2017 г.). Все пациенты, включенные в исследование, подписали добровольное информированное согласие.

Критерии исключения больных из исследования: тиреотоксикоз, терминальная почечная и печеночная недостаточность, психические расстройства, онкологические и аутоиммунные заболевания, острые хронические инфекционные заболевания или их обострение, а также декомпенсация сахарного диабета и клапанные пороки сердца.

Средний возраст мужчин (79%) составил $57,4 \pm 12,5$ года, средний возраст женщин (21%) – $71,6 \pm 10,6$ года. Диагноз «инфаркт миокарда» устанавливали в соответствии с последними рекомендациями по диагностике и лечению ИМ [11].

Всем пациентам при поступлении в стационар проведен забор крови для анализа бета-адренореактивности по изменению осморезистентности эритроцитов под влиянием бета-адреноблокатора (1-(1-изопропиламино)-3-(1-нафталенил-окси)-2-пропанол гидрохлорид). Медиана времени от начала симптомов острого ИМ до забора крови для определения β -АРМ составила 2,5 (2,0; 4,0) ч. С целью данного анализа использован набор реагентов БЕТА-АРМ АГАТ (ООО «Агат-Мед», Россия).

Нормальными принимали значения показателя β -АРМ от 2 до 20 усл. ед., установленные авторами данного экспресс-метода. Уровень β -АРМ более 20 усл. ед. считали повышенным. С целью выявления ассоциации β -АРМ с особенностями течения ИМ обследованные разделены на две группы. Первую группу ($n = 11$) составили пациенты с нормальной бета-адренореактивностью (2–20 усл. ед.). Вторая группа ($n = 51$) представлена больными с повышенным уровнем показателя бета-адренореактивности (более 20 усл. ед.).

Статистический анализ

Статистическая обработка полученных данных выполнена с использованием программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США) и демоверсии IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM Corp., США). Качественные данные представлены в виде абсолютных (n) и относительных величин (%). Анализ номинативных данных выполнен с использованием критерия χ^2 Пирсона, а также двустороннего точного теста Фишера. Анализ количественных данных на соответствие нормальному закону распределения проведен при помощи критерия Шапиро – Уилка. Количественные данные, которые соответствовали нормальному закону распределения, представлены в виде $M \pm SD$ (M – среднее значение, SD – стандартное отклонение). Критерий Стьюдента применен в случае нормального распределения изучаемых величин и при условии равенства дисперсий. В виде медианы и интерквартильного размаха, Me (Q25; 75), представлены количественные данные, не соответствовавшие нормальному закону распределения. С целью сравнения количественных данных в двух независимых выборках в случае распределения, отличного от нормального, использован U-критерий Манна – Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принят равным 0,05 (p – достигнутый уровень значимости).

Результаты

Первая группа представлена 9 мужчинами (81,8%) и 2 женщинами (18,2%), вторая – 40 мужчинами (78,4%) и 11 женщинами (21,6%). Средний возраст пациентов на момент включения в исследование в первой группе составил $56,8 \pm 11,5$ года и не отличался от среднего возраста пациентов второй группы – $61,1 \pm 13,7$ года ($p = 0,337$) (табл. 1).

Таблица 1. Клинико-anamnestическая характеристика обследованных пациентов
Table 1. Clinical and anamnestic characteristics of patients

Показатель / Parameter	Группа 1 (β-АРМ 2–20 усл. ед.) / Group 1 (OFI 2–20 c.u.), n = 11	Группа 2 (β-АРМ >20 усл. ед.) / Group 2 (OFI>20 c.u.), n = 51	P
Мужчины/женщины / Men/women, n (%)	9 (81,8) / 2 (18,2)	40 (78,4) / 11 (21,6)	0,802
Возраст, лет / Age, years (M±SD)	56,8±11,5	61,1±13,7	0,337
Величина β-АРМ, усл. ед. / β-ARM value, c.u., Me (Q25; Q75)	14,6 (7,2; 16,9)	37,8 (31,6; 46,8)	<0,001
Клиническая характеристика ИМ / Clinical characteristics of MI			
ИМ с подъемом сегмента ST / ST segment elevation MI, n (%)	10 (90,9)	48 (94,1)	0,552
ИМ с зубцом Q / Q wave MI, n (%)	8 (72,7)	41 (80,4)	0,685
Передний ИМ / Anterior MI, n (%)	5 (45,5)	20 (39,2)	0,702
Нижний ИМ / Inferior MI, n (%)	6 (54,5)	32 (62,7)	0,613
Типичная клиническая картина ИМ / Typical clinical manifestation of MI, n (%)	11 (100)	50 (98)	0,999
Риск летальности по шкале GRACE / GRACE risk score, %, Me (Q25; Q75)	2,5 (1,0; 5,3)	5,0 (2,0; 8,0)	0,174
Осложнения острого ИМ / Complications of acute MI			
Стадия ОЛЖН по Killip / ALVF Killip class, n (%)	–	17 (33,3)	0,026
I	–	7 (41,2)	–
II	–	8 (47,0)	–
III	–	1 (5,9)	–
IV	–	1 (5,9)	–
Острая аневризма левого желудочка / Left ventricular aneurysm, n (%)	1 (9,1)	5 (9,8)	0,942
Острые нарушения ритма сердца и проводимости / Cardiac rhythm and conduction disturbances, n (%)	4 (36,4)	28 (54,9)	0,329
Желудочковая экстрасистолия (III–IV по Lown) / Ventricular extrasystole (III–IV Lown), n (%)	–	14 (27,5)	0,056
Желудочковая тахикардия / Ventricular tachycardia, n (%)	–	4 (7,8)	0,999
Фибрилляция желудочков / Ventricular fibrillation, n (%)	–	3 (10,7)	0,999
Рецидив ИМ / Recurrent MI, n (%)	–	1 (2,0)	–
Ранняя постинфарктная стенокардия / Early post-infarction angina, n (%)	1 (9,1)	1 (2)	0,326
Острый перикардит / Acute pericarditis, n (%)	–	3 (5,9)	0,410
Данные анамнеза / Anamnesis data			
ИБС в анамнезе / Prior CAD, n (%)	3 (27,3)	22 (43,1)	0,501
Два и более ИМ в течение жизни / 2 or more prior MIs, n (%)	4 (36,4)	14 (27,5)	0,715
ХСН в анамнезе до индексного ИМ / Prior CHF before index MI, n (%)	4 (36,4)	27 (52,9)	0,508
Прием бета-адреноблокаторов до индексного ИМ / Taking beta-blockers before index MI, n (%)	4 (36,4)	18 (35,3)	0,999
Артериальная гипертензия / Arterial hypertension, n (%)	7 (63,6)	46 (90,2)	0,044
Сахарный диабет 2-го типа / Type 2 diabetes mellitus, n (%)	2 (18,2)	7 (13,7)	0,655
Ожирение / Obesity, n (%)	2 (18,2)	15 (29,4)	0,712
Фибрилляция предсердий в анамнезе / Atrial fibrillation in medical history, n (%)	1 (9,1)	5 (9,8)	0,942
Острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе / Prior acute cerebrovascular accident, n (%)	1 (9,1)	2 (3,9)	0,449
ЧКВ в анамнезе / Prior PCI, n (%)	2 (18,2)	8 (15,7)	0,838
АКШ в анамнезе / Prior CABG, n (%)	–	1 (2,0)	–
Периферический атеросклероз / Peripheral vascular disease, n (%)	6 (54,5)	41 (80,4)	0,069
Курение / Smoking, n (%)	1 (9,1)	11 (21,6)	0,675

Примечание: АКШ – аортокоронарное шунтирование; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИМ – инфаркт миокарда; ОЛЖН – острая левожелудочковая недостаточность; ХСН – хроническая сердечная недостаточность; ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство; β-АРМ – показатель бета-адренореактивности.
Note: ALVF – acute left ventricular failure; CABG – coronary artery bypass graft surgery; CAD – coronary artery disease; CHF – chronic heart failure; MI – myocardial infarction; OFI – osmotic fragility index; PCI – percutaneous coronary intervention.

Группы 1 и 2 были сопоставимы по частоте встречаемости ИМ с подъемом сегмента ST и зубцом Q, а также локализации и симптоматике ИМ. Одним из наиболее частых осложнений ИМ являлась острая левожелудочковая недостаточность, которую диагностировали только во второй группе, причем у каждого третьего пациента (33,3%, $n = 17$) ($p = 0,026$). В остром периоде ИМ острые нарушения ритма сердца встречались в 36,4% случаев ($n = 4$) в первой группе и в 54,9% случаев ($n = 28$) во второй группе. При этом во второй группе наблюдалась тенденция увеличения случаев желудочковой экстрасистолы высоких градаций (III–IV по Lown) ($p = 0,056$). В целом желудочковую экстрасистолу высоких градаций и/или желудочковую тахикардию во второй группе регистрировали значительно чаще, чем в первой (33,3%, $n = 17$) ($p = 0,026$).

При анализе фоновой патологии обнаружено, что среди пациентов второй группы число больных АГ (90,2%, $n = 46$) почти в полтора раза превышало таковое в первой группе (63,6%, $n = 7$) ($p = 0,044$). По наличию другой фоновой патологии представленные группы были сопоставимы. Кроме того, пациенты обеих групп статистически значимо не различались по наличию ИБС, хронической сердечной недостаточности в анамнезе до развития индексного ИМ. Также участники исследования не имели статистически значимых различий по частоте фибрилляции предсердий, ранее проведенных чрескожного коронарного вмешательства и аортокоронарного шунтирования (см. табл. 1).

По основным лабораторным показателям, таким как уровень эритроцитов, тромбоцитов, гемоглобина, глюкозы и общего холестерина, исследуемые группы были также сопоставимы.

Для выявления ассоциации показателя β -АРМ с объемом поражения сердечной мышцы пациентам проведена эхокардиографическая оценка наличия зон нарушений локальной сократимости. Индекс нарушения локальной сократимости был значительно выше во второй группе (1,5 (1,22; 1,75)) в сравнении с первой (1,12 (1,0; 1,56)), где значения приближены к норме ($U = 157,5$, $p = 0,032$). Кроме того, для больных второй группы характерны более низкие показатели фракции выброса левого желудочка (51,0 (46,5; 59,0) %) в сравнении с пациентами первой группы (58,0 (52,0; 63,0) %) ($p = 0,042$). Таким образом, среди участников второй группы в большей степени распространено поражение сердечной мышцы, проявляющееся увеличением числа зон гипо- и акинеза и, как следствие, индекса нарушения локальной сократимости, а также фракции выброса левого желудочка (табл. 2).

В то же время при анализе степени поражения коронарного русла по данным коронарной ангиогра-

фии не установлено статистически значимых различий между пациентами с нормальными и повышенными значениями показателя β -АРМ (табл. 3).

Стоит отметить, что по частоте приема основных групп лекарственных препаратов до возникновения индексного инфаркта, таких как бета-адреноблокаторов, антиагрегантов, статинов, ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента, блокаторов рецепторов ангиотензина, диуретиков, антагонистов минералкортикоидных рецепторов, блокаторов кальциевых каналов и антикоагулянтов, группы были сопоставимы. Исследуемые пациенты также не различались по частоте тромболитической терапии и ее эффективности на момент развития индексного ИМ.

Изучаемая методика проведена с использованием неселективного бета-адреноблокатора пропранолола. Для исключения потенцирования эффекта проанализирована частота приема бета-адреноблокаторов среди больных обеих групп до развития индексного ИМ. Так, на момент поступления в стационар с острым ИМ четыре пациента первой группы (36,4%) и 18 больных второй группы (35,3%) принимали бета-адреноблокаторы ($p = 0,999$), при этом все бета-адреноблокаторы являлись селективными. Наиболее часто назначаемым препаратом данной группы был бисопролол (75% случаев ($n = 3$) в первой группе и 72,2% случаев ($n = 13$) во второй, $p = 0,812$). Таким образом, статистически значимых различий частоты приема и вида бета-адреноблокаторов до развития индексного ИМ среди обследованных с нормальными и повышенными значениями показателя β -АРМ не зафиксировано.

Всем пациентам при поступлении в стационар с диагнозом «острый инфаркт миокарда» выполнен забор крови с определением уровней биомаркеров некроза. При анализе концентраций биомаркеров некроза в крови, таких как креатинфосфокиназа, креатинфосфокиназа-МВ и высокочувствительный тропонин I, в первые 6 ч от начала ИМ обнаружено, что в группе больных с повышенными значениями β -АРМ уровни данных биомаркеров в целом были выше, чем у пациентов с нормальными значениями данного показателя. Так, уровни креатинфосфокиназы во второй группе значительно превышали (1210,0 (425,5; 2852,5) Ед/л) значения данного биомаркера в первой группе (498,0 (181,0; 1054,0) Ед/л) ($U = 132,0$, $p = 0,009$). Аналогичной была картина для двух других биомаркеров некроза. Значения креатинфосфокиназы-МВ во второй группе (134,0 (61,5; 331,5) Ед/л) более чем в два раза превышали аналогичный показатель в первой группе (54,0 (30,0; 181,0) Ед/л) ($U = 157,0$, $p = 0,032$); для тропонина I во второй группе отмечено более чем 20-кратное превышение нормальных значений (1,3 (0,2; 1,8) и 24,1 (9,9; 68,0) нг/мл соответственно) ($U = 33,0$, $p = 0,001$) (табл. 4).

Таблица 2. Характеристика зон гипо- и акинеза по данным эхокардиографии в группах пациентов с нормальными и повышенными значениями показателя бета-адренореактивности
Table 2. Echocardiographic features of the hypokinetic and akinetic segments in both groups of patients

Показатель / Parameter	Группа 1 (β-АРМ 2–20 усл. ед.) / Group 1 (OFI 2–20 c.u.), n = 11	Группа 2 (β-АРМ >20 усл. ед.) / Group 2 (OFI>20 c.u.), n = 51	Р
ФВ ЛЖ / LVEF, %, Ме (Q25; Q75)	58,0 (52,0; 63,0)	51,0 (46,5; 59,0)	0,042
КДО, мм / EDV, mm, Ме (Q25; Q75)	108,0 (102,0; 114,0)	110,0 (89,0; 130,0)	0,738
КСО, мм / ESV, mm, Ме (Q25; Q75)	45,0 (40,0; 55,0)	53,0 (40,0; 65,0)	0,153
Наличие зон гипо- и акинеза по данным ЭхоКГ / Hypokinetic and akinetic segments detected by ECHO, n (%)	7 (63,6)	48 (94,1)	0,015
Гипо- и акинез двух и более сегментов по данным ЭхоКГ / Two or more hypokinetic and akinetic segments detected by ECHO, n (%)	5 (45,5)	39 (76,5)	0,040
Индекс нарушения локальной сократимости / Impaired myocardial contractility index, Ме (Q25; Q75)	1,12 (1,0; 1,56)	1,5 (1,22; 1,75)	0,032

Примечание: КДО – конечный диастолический объем; КСО – конечный систолический объем; ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка; ЭхоКГ – эхокардиография; β-АРМ – показатель бета-адренореактивности.
Note: ECHO – echocardiography; EDV – end-diastolic volume; ESV – end-systolic volume; LVEF – left ventricular ejection fraction; OFI – osmotic fragility index.

Таблица 3. Характеристика коронарного русла пациентов исследуемых групп по данным селективной коронарной ангиографии, n (%)
Table 3. Characteristic of the coronary circulation of patients according to the selective coronary angiography data, n (%)

Показатель / Parameter		Группа 1 (β-АРМ 2–20 усл. ед.) / Group 1 (OFI 2–20 c.u.), n = 11	Группа 2 (β-АРМ >20 усл. ед.) / Group 2 (OFI>20 c.u.), n = 51	Р
Однососудистое поражение коронарных артерий (стеноз ≥50% в одной артерии) / Single-vessel coronary artery disease (stenosis ≥50% in one artery)		3 (27,3)	7 (13,7)	0,363
Многососудистое поражение коронарных артерий (стеноз ≥50% в двух и более артериях) / Multivessel coronary artery disease (stenosis ≥50% in two or more arteries)		6 (54,5)	34 (66,7)	0,446
Стеноз ствола левой коронарной артерии / Stenosis of the trunk of left coronary artery		–	3 (5,9)	0,999
Стеноз передней нисходящей артерии / Anterior descending coronary artery stenosis		10 (90,9)	38 (74,5)	0,429
Стеноз правой коронарной артерии / Right coronary artery stenosis		8 (72,7)	33 (64,7)	0,735
Стеноз огибающей артерии / Circumflex artery stenosis		3 (27,3)	29 (56,9)	0,101
Стеноз диагональной артерии / Diagonal artery stenosis		3 (27,3)	15 (29,4)	0,999
Стеноз ветви тупого края / Stenosis of obtuse marginal artery		3 (27,3)	13 (25,5)	0,999
Чрескожное вмешательство / Percutaneous intervention		10 (90,9)	44 (86,3)	0,999
Количество имплантированных стентов / Number of stents implanted	один / one	7 (63,6)	33 (64,7)	0,735
	два / two	2 (18,2)	5 (9,8)	0,597
	три / three	–	1 (2,0)	0,999
Вид стента / Stent type	с лекарственным покрытием / drug-eluting	9 (100)	38 (97,4)	0,999
	голометаллический / bare metal	–	1 (2,6)	0,999
По результатам коронароангиографии рекомендовано коронарное шунтирование / CABG was recommended based on the results of coronary angiography		1 (9,1)	6 (11,8)	0,999

Примечание: β-АРМ – показатель бета-адренореактивности.
Note: OFI – osmotic fragility index.

Обсуждение

Ранее проведенные исследования указывают на важность изучения и определения β-АРМ у пациентов с сердечно-сосудистыми патологиями, например АГ и хронической сердечной недостаточностью. Показано, что повышенный уровень β-АРМ у

представленной категории больных ассоциирован с неблагоприятным течением и прогнозом [10, 12]. Данные нашей работы согласуются с результатами раннее проведенных исследований. Так, для пациентов с АГ в анамнезе характерны повышенные значения показателя β-АРМ при остром ИМ.

Таблица 4. Уровни биомаркеров некроза на момент развития инфаркта миокарда у пациентов исследуемых групп, Ме (Q25; Q75)
Table 4. Biomarkers of myocardial necrosis after onset of myocardial infarction in studied groups of patients, Me (Q25; Q75)

Показатель / Parameter	Группа 1 (β-АРМ 2–20 усл. ед.) / Group 1 (OFI 2–20 с.у.), n = 11	Группа 2 (β-АРМ>20 усл. ед.) / Group 2 (OFI>20 с.у.), n = 51	p
КФК в первые 6 ч от начала ИМ, Ед/л / CPK within 6 hours after onset of myocardial infarction, unit/L	498,0 (181,0; 1054,0)	1210,0 (425,5; 2852,5)	0,009
КФК-МВ в первые 6 ч от начала ИМ, Ед/л / CPK-MB within 6 hours after onset of myocardial infarction, unit/L	54,0 (30,0; 181,0)	134,0 (61,5; 331,5)	0,032
Тропонин I, нг/мл / Troponin I, ng / mL	1,3 (0,2; 1,8)	24,1 (9,9; 68,0)	0,001

Примечание: β-АРМ – показатель бета-адренореактивности; КФК – креатинфосфокиназа; КФК-МВ – миокардиальная фракция креатинфосфокиназы.
Note: OFI – osmotic fragility index; CPK – creatine phosphokinase; CPK-MB – creatine phosphokinase-MB.

В то же время количество работ по изучению β-АРМ у больных острым ИМ с использованием экспресс-метода определения бета-адренореактивности сравнительно не велико, а их результаты носят противоречивый характер [13, 14]. Несмотря на это, авторы склоняются к единому выводу, что исходные величины показателя β-АРМ могут иметь прогностическое значение при ИМ. В нашей работе у пациентов с повышенными значениями β-АРМ чаще отмечены такие осложнения острого периода ИМ, как острые левожелудочковая недостаточность и нарушения ритма сердца, что позволяет отнести обследованных больных к группе более высокого риска неблагоприятных сердечно-сосудистых событий.

Установлено, что для пациентов с повышенными значениями показателя β-АРМ характерен больший объем поражения сердечной мышцы, что проявляется кратным увеличением концентрации биомаркеров некроза в крови. Диагностическая значимость раннего определения биомаркеров некроза, один из которых тропонин, уже давно подтверждена результатами многочисленных исследований и на сегодняшний день является «золотым стандартом» установления острого ИМ [15]. Кроме того, выявлена ассоциация β-АРМ с визуализацией большего числа зон гипо- и акинеза при эхокардиографическом исследовании и более низкой фракцией выброса левого желудочка в сравнении с пациентами без гиперактивации САС, что также отражает степень поражения сердечной мышцы.

Ограничения исследования

Ограничением настоящего исследования явилось отсутствие многофакторного регрессионного анализа с включением показателя β-АРМ. Полученные в результате однофакторного анализа ассоциации указывают на то, что состояние β-АРМ может косвенно отражать гиперактивацию САС у пациентов с ИМ, а также на возможность исполь-

зования изучаемого показателя у данной категории больных. Вместе с тем для установления причинно-следственных связей необходимы дальнейшие исследования, которые не только помогут понять природу взаимосвязи десенситизации адренорецепторов и фактического состояния адренореактивности организма у больных ИМ, но и позволят расширить границы применения данной методики.

Заключение

Для пациентов с повышенными значениями показателя бета-адренореактивности мембран эритроцитов, определяемыми в первые 6 ч от начала симптомов острого ИМ, характерен больший объем поражения сердечной мышцы. Кроме этого, в каждом третьем случае ИМ в данной группе осложнялся развитием острой левожелудочковой недостаточности, тогда как у пациентов с нормальными значениями β-АРМ данное заболевание не диагностировали. Учитывая полученные данные, необходимо рассматривать возможность практического применения экспресс-метода определения β-АРМ в остром периоде ИМ для выделения больных наиболее высокого риска.

Конфликт интересов

А.А. Гарганеева входит в редакционную коллегию журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний». В.А. Александренко заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.А. Кужелева заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.В. Рябов заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.Ю. Реброва заявляет об отсутствии конфликта интересов. С.А. Афанасьев заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена на основе темы ПНИ по государственному заданию № АААА-А20-120041090007-8 от 10.04.2020 г.

Информация об авторах

Гарганеева Алла Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор руководитель отделения патологии миокарда Научно-исследовательского института кардиологии

Author Information Form

Garganeeva Alla A., PhD, professor, Head of the Department of Cardiovascular Pathology, Cardiology Research Institute, Federal State Budgetary Scientific Institution “Tomsk

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-9488-6900

Александренко Виктория Анатольевна, младший научный сотрудник отделения патологии миокарда Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6717-5898

Кужелева Елена Андреевна, кандидат медицинских наук научный сотрудник отделения патологии миокарда Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8070-2234

Рябов Вячеслав Валерьевич, доктор медицинских наук заместитель директора по научной и лечебной работе, руководитель отделения неотложной кардиологии Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4358-7329

Реброва Татьяна Юрьевна, кандидат медицинских наук научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-3667-9599

Афанасьев Сергей Александрович, доктор медицинских наук, профессор руководитель лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-6066-3998

National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences», Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-9488-6900

Aleksandrenko Victoria A., research assistant at the Department of Cardiovascular Pathology, Cardiology Research Institute, Federal State Budgetary Scientific Institution “Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences”, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6717-5898

Kuzheleva Elena A., PhD, researcher at the Department of Cardiovascular Pathology, Cardiology Research Institute, Federal State Budgetary Scientific Institution “Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences”, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8070-2234

Ryabov Vyacheslav V., PhD, Deputy Director for Science and Clinical Services, Head of the Emergency Cardiac Care Department, Cardiology Research Institute, Federal State Budgetary Scientific Institution “Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences”, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4358-7329

Rebrova Tatyana Yu., PhD, researcher at the Laboratory of Molecular Pathology and Genetic Diagnostics, Cardiology Research Institute, Federal State Budgetary Scientific Institution “Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences”, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3667-9599

Afanasiev Sergey A., PhD, professor, Head of the Laboratory of Molecular Pathology and Genetic Diagnostics, Cardiology Research Institute, Federal State Budgetary Scientific Institution “Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences”, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-6066-3998

Вклад авторов в статью

ГАА – существенный вклад в концепцию и дизайн исследования, коррективировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

АВА – существенный вклад в концепцию и дизайн исследования, получение, анализ и интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

КЕА – существенный вклад в концепцию и дизайн исследования, коррективировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

РВВ – интерпретация данных исследования, коррективировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

РТЮ – получение и интерпретация данных исследования, коррективировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

АСА – интерпретация данных исследования, коррективировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Author Contribution Statement

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

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

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

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

RTYu – data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кардиоваскулярная профилактика 2017. Российские национальные рекомендации. Российский кардиологический журнал. 2018;(6):7-122. doi: 10.15829/1560-4071-2018-6-7-122
2. Глушенко В.А., Иркин Е.К. Сердечно-сосудистая заболеваемость – одна из важнейших проблем здравоохранения. Медицина и организация здравоохранения. 2019;4(1):56-60
3. Гарганеева А.А., Кужелева Е.А., Александренко В.А. Популяционное исследование отдаленных исходов острого инфаркта миокарда в Томске. Российский кардиологический журнал. 2017;(11):27-30. doi: 10.15829/1560-4071-2017-11-27-30
4. Vasoregulation. In: Kingma G.J., Simard D., Rouleau R. Jacques. Autonomic Nervous System and Neurocardiac Physiopathology. IntechOpen; 2018:39-46. doi: 10.5772/intechopen.77087
5. Johnson J. O. Autonomic Nervous System: Physiology. In: Hugh C. Hemmings, Talmage D. Egan, editors. Pharmacology and Physiology for Anesthesia. Elsevier; 2019:137-175. ISBN: 978-1-4377-1679-5
6. Karakas M., Koenig W. Sympathetic Nervous System. A Crucial Player Modulating Residual Cardiovascular Risk. Circulation Research. 2013;112:13-16. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.112.281097
7. Araujo C.G., Laukkanen J.A. Heart and Skeletal Muscles: Linked by Autonomic Nervous System. Arq Bras Cardiol. 2019;112(6):747-748. doi: 10.5935/abc.20190097
8. Булашова О.В., Малкова М.И. Адренореактивность как прогностический критерий периоперационных кардиальных осложнений при внесердечных операциях. Казанский медицинский журнал. 2012;2(93):177-181
9. Малкова М.И., Булашова О.В., Хазова Е.В. Определение адренореактивности организма по адренорецепции клеточной мембраны при сердечно-сосудистой патологии. Практическая медицина. 2013;3(13):20-23
10. Стрюк Р.И., Длусская И.Г. Адренореактивность и сердечно-сосудистая система. М: Медицина; 2003. ISBN: 5-225-04337-2
11. Общество специалистов по неотложной кардиологии. Клинические рекомендации: Острый инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST электрокардиограммы. Министерство здравоохранения Российской Федерации. 2016:1-13
12. Александренко В.А., Реброва Т.Ю., Афанасьев С.А., Гарганеева А.А. Взаимосвязь адренореактивности со стадией хронической сердечной недостаточности у пациентов, перенесших инфаркт миокарда. Сибирский медицинский журнал. 2019;34(2):79-83. doi: 10.29001/2073-8552-2019-34-2-79-83
13. Туришчева А.П. Прогностическая роль показателя адренореактивности в течении ишемической болезни сердца у больных, перенесших инфаркт миокарда в молодом возрасте. Автореферат дисс. канд.мед. наук. М.: 2005.
14. Аймагамбетова А.О., Каражанова Л.К., Котляр А. Предикторы осложненного течения инфаркта миокарда. Актуальные научные исследования в современном мире. 2017;6-2(26):13-18.
15. Барбараш О.Л., Кашталап В.В. Четвертое универсальное определение инфаркта миокарда. Фокус на инфаркт миокарда 2-го типа. Фундаментальная и клиническая медицина. 2018;3(4):73-82. doi:10.23946/2500-0764-2018-3-4-73-82

REFERENCES

1. Cardiovascular prevention 2017. National guidelines. Russian Journal of Cardiology. 2018;(6):7-122 (In Russian). doi: 10.15829/1560-4071-2018-6-7-122
2. Glushhenko VA, Irklienko EK. Cardiovascular morbidity — one of the most vital problems of modern health care. Medicine and healthcare organization. 2019;4(1):56-60 (In Russian)
3. Garganeeva AA., Kuzheleva EA., Aleksandrenko VA. Population study of long term outcomes of acute myocardial infarction in Tomsk. Russian Journal of Cardiology. 2017;(11):27-30. (In Russian). doi: 10.15829/1560-4071-2017-11-27-30
4. Vasoregulation. In: Kingma G.J., Simard D., Rouleau R. Jacques. Autonomic Nervous System and Neurocardiac Physiopathology. IntechOpen; 2018:39-46. doi: 10.5772/intechopen.77087
5. Johnson J. O. Autonomic Nervous System: Physiology. In: Hugh C. Hemmings, Talmage D. Egan, editors. Pharmacology and Physiology for Anesthesia. Elsevier; 2019:137-175. ISBN: 978-1-4377-1679-5
6. Karakas M., Koenig W. Sympathetic Nervous System. A Crucial Player Modulating Residual Cardiovascular Risk. Circulation Research. 2013;112:13-16. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.112.281097
7. Araujo C.G., Laukkanen J.A. Heart and Skeletal Muscles: Linked by Autonomic Nervous System. Arq Bras Cardiol. 2019;112(6):747-748. doi: 10.5935/abc.20190097
8. Bulashova O.V., Malkova M.I. Adrenoreactivity as a prognostic criterion for perioperative cardiac complications in extracardiac surgery. Kazan Medical Journal. 2012;2(93):177-181 (In Russian)
9. Malkova M.I., Bulashova O.V., Khazova E.V. Specification of adrenoreactivity of an organism with adrenoreception of cell membrane in cardiovascular pathology. Practical medicine. 2013;3(13):20-23 (In Russian)
10. Stryuk R.I., Dlusskaya I.G. Adrenoreactivity and cardiovascular system. Moscow: Medicine: 2003. (In Russian). ISBN: 5-225-04337-2
11. Society of Specialists in Emergency Cardiology. Clinical recommendations: Acute myocardial infarction with ST segment elevation. Ministry of Health of the Russian Federation. 2016:1-13 (In Russian)
12. Aleksandrenko V.A., Rebrova T.Y., Afanasiev S.A., Garganeeva A.A. Association of adrenoreactivity with the stage of chronic heart failure in patients with previous myocardial infarction. The Siberian Medical Journal. 2019;34(2):79-83 (In Russian). doi: 10.29001/2073-8552-2019-34-2-79-83
13. Turishcheva A.P. The prognostic role of the adrenoreactivity indicator during coronary heart disease in patients who have had myocardial infarction at a young age [dissertation]. Moscow; 2005. (In Russian)
14. Aimagambetova A.O., Karazhanova L.K., Kotlyar A. Predictors of the complicated course of myocardial infarction. Actual scientific researches in the modern world. 2017;6-2(26):13-18 (In Russian)
15. Barbarash O.L., Kashtalap V.V. Fourth universal definition of myocardial infarction. Focus on the type 2 myocardial infarction. Fundamental and clinical medicine. 2018;3(4):73-82 (In Russian). doi:10.23946/2500-0764-2018-3-4-73-82

Для цитирования: Гарганеева А.А., Александренко В.А., Кужелева Е.А., Рябов В.В., Реброва Т.Ю., Афанасьев С.А. Взаимосвязь бета-адренореактивности эритроцитов и особенностей течения острого инфаркта миокарда. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2021;10(3): 6-14. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-6-14

To cite: Garganeeva A.A., Aleksandrenko V.A., Kuzheleva E.A., Ryabov V.V., Rebrova T.Yu., Afanasiev S.A. Association between the osmotic fragility of erythrocytes and the course of acute myocardial infarction. Complex Issues of Cardiovascular Diseases. 2021;10(3): 6-14. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-6-14



УДК 616.127-089.844-06:616.89-008.4]: 615.84

DOI 10.17802/2306-1278-2021-10-3-15-25

ЭФФЕКТЫ КОГНИТИВНОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ДВОЙНОЙ ЗАДАЧИ У ПАЦИЕНТОВ В РАННЕМ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ ПРЯМОЙ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИИ МИОКАРДА

И.В. Тарасова¹, О.А. Трубникова¹, И.Н. Кухарева¹, А.С. Соснина¹, Д.С. Куприянова¹,
В.Г. Шестернин², О.А. Нагирняк¹, О.Л. Барбараш¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Сосновский бульвар, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002; ² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Кузбасский клинический кардиологический диспансер имени академика Л.С. Барбараша», Сосновский бульвар, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Основные положения

- Впервые продемонстрированы положительные эффекты когнитивной реабилитации с применением двойной задачи на нейрофизиологические показатели пациентов, перенесших прямую реваскуляризацию миокарда.
- У пациентов, прошедших когнитивный тренинг с применением двойной задачи, наблюдаются меньшая частота послеоперационной когнитивной дисфункции, улучшение когнитивного статуса и менее выраженная корковая дисфункция.

Цель	Оценить влияние когнитивной реабилитации с применением двойной задачи на когнитивные, поструральные функции и показатели электроэнцефалограммы у пациентов в раннем послеоперационном периоде прямой реваскуляризации миокарда.
Материалы и методы	В проспективном рандомизированном исследовании участвовали 48 пациентов, подвергнутых коронарному шунтированию. Путем простой рандомизации (метод конвертов) сформированы группы послеоперационного когнитивного тренинга (n = 23) и сравнения (n = 25). Основной группе когнитивный тренинг проводили ежедневно, с 3–4-го дня после операции и до выписки из стационара в виде 15–20-минутных сессий с выполнением двойных заданий (постуральный тренинг и когнитивная задача). Всем больным оценены нейрофизиологический статус (психометрическое тестирование и электроэнцефалографическое исследование) и стабิโลграфия за 3–5 дней до и на 8–11-е сут после вмешательства.
Результаты	В раннем послеоперационном периоде кардиохирургических вмешательств у пациентов, прошедших когнитивный тренинг, число случаев послеоперационной когнитивной дисфункции (ПОКД) составило 39%, тогда как в группе сравнения – 64%. Относительный риск развития ПОКД в группе без когнитивного тренинга – 2,77 (95% доверительный интервал 0,86–8,91; Z = 1,704; p = 0,08). В группе когнитивного тренинга наблюдалось увеличение интегрального показателя когнитивного статуса по сравнению с предоперационным уровнем (Z = 2,58; p = 0,01) при отсутствии статистически значимых различий в группе сравнения. Также обнаружено, что мощность био-потенциалов тета-1-ритма увеличилась по сравнению с дооперационными показателями только у больных группы сравнения, тогда как у участников, прошедших программу когнитивного тренинга, не выявлено статистически значимого послеоперационного увеличения тета-активности.
Заключение	Показано положительное влияние когнитивной реабилитации с применением двойной задачи на нейрофизиологические показатели пациентов, перенесших прямую реваскуляризацию миокарда, в виде меньшей частоты ПОКД, улучшения когнитивного статуса и менее выраженной корковой дисфункции, что позволяет говорить об эффективности этого когнитивного тренинга для анализируемой выборки. Необходимо дополнительно рассмотреть вопросы продолжительности и интенсивности тренинга с использованием двойных

Для корреспонденции: Ирина Валерьевна Тарасова, taraiv@kemcardio.ru; адрес: Сосновский бульвар, 6, Кемерово, Россия, 650002

Corresponding author: Irina V. Tarasova, taraiv@kemcardio.ru; address: 6, Sosnoviy Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

задач для повышения восстановительного эффекта на интеллектуальные ресурсы и постуральные функции больных в послеоперационном периоде прямой реваскуляризации миокарда.

Ключевые слова

Когнитивный тренинг • Двойная задача • Постуральные функции • Стабилография • Электроэнцефалограмма • Ишемия мозга • Коронарное шунтирование

Поступила в редакцию: 11.06.2021; поступила после доработки: 26.06.2021; принята к печати: 14.07.2021

EFFECTS OF DUAL-TASK REHABILITATIVE TRAINING IN THE EARLY POSTOPERATIVE PERIOD AFTER DIRECT MYOCARDIAL REVASCULARIZATION

I.V. Tarasova¹, O.A. Trubnikova¹, I.N. Kuhareva¹, A.S. Sosnina¹, D.S. Kupriyanova¹,
V.G. Shesternin², O.A. Nagirnyak¹, O.L. Barbarash¹

¹ Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases", 6, Sosnoviy Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002; ² State Budgetary Healthcare Institution "Kuzbass Clinical Cardiology Dispensary named after academician L.S. Barbarash", 6, Sosnoviy Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

Highlights

- For the first time, the positive effects of dual-task rehabilitative training on the neurophysiological parameters of patients undergoing direct myocardial revascularization were demonstrated.
- Dual-task rehabilitative training improved cognitive abilities, and dual-task training subjects had a lower incidence of postoperative cognitive dysfunction and less pronounced cortical dysfunction.

Aim

To assess the effects of cognitive rehabilitation with dual-task training that involves a cognitive task combined with postural and walking control, as well as electroencephalogram indices in patients in the early postoperative period after direct myocardial revascularization.

Methods

The study enrolled 48 patients scheduled for coronary artery bypass graft surgery. Subjects in this prospective, randomized study were randomized using envelopes to a postoperative cognitive training group (n = 23) and non-training group (n = 25). The cognitive training was carried out daily, starting 3–4 days after the procedure and until the discharge order. Dual tasks training (a cognitive task combined with postural and walking control) lasted 15–20 minutes. All patients were submitted to an extended neurophysiological assessment (psychometric tests and electroencephalogram study) and stabilography 3–5 days before and 8–11 days after coronary artery bypass grafting.

Results

The patients who underwent cognitive training experienced postoperative cognitive dysfunction (POCD) in 39% cases in the early postoperative period after intervention, while the non-training group – in 64%. The relative risk of developing POCD in the non-training group was 2.77 (95% CI: 0.86–8.91, Z = 1.704, p = 0.08). The patients in cognitive training exhibited better cognitive state compared to the preoperative state (Z = 2.58; p = 0.01) in the absence of statistically significant differences in the non-training group. Moreover, type-1 theta power values increased in the non-training group in comparison to the preoperative values, while the cognitive training group did not have a statistically significant difference in theta power.

Conclusion

Positive effects of dual task rehabilitation on the neurophysiological parameters of patients undergoing direct myocardial revascularization were demonstrated. Positive effects include lower frequency of POCD, improved cognitive state and less pronounced cortical dysfunction. The dual task training had proved a suitable training method for this category of patients. Additional studies are required to test the possibility of increasing the duration and intensity of dual task training for stronger recovery effect and improved cognitive and walking performance of patients in the postoperative period after direct myocardial revascularization.

Keywords

Cognitive training • Dual task • Postural functions • Stabilography • EEG • Cerebral ischemia • Coronary artery bypass graft surgery

Received: 11.06.2021; received in revised form: 26.06.2021; accepted: 14.07.2021

Список сокращений

ИК – искусственное кровообращение	ОЦД – общий центр давления
ККС – комплексный показатель когнитивного статуса	ПОКД – послеоперационная когнитивная дисфункция
КШ – коронарное шунтирование	ЭЭГ – электроэнцефалограмма

Введение

Когнитивные функции в норме обеспечиваются нейрофизиологическими процессами передачи информации в корковых нейронных сетях и по проводящим путям белого вещества головного мозга [1, 2]. Повреждение головного мозга вследствие старения, травмы, воздействия токсических агентов, в том числе анестетиков, и/или ишемии ведет к нарушению нейрональных информационных процессов и когнитивной дисфункции [3–5]. Разработка и апробация методов коррекции когнитивных нарушений особенно актуальны для кардиохирургических вмешательств, при которых развитие послеоперационной когнитивной дисфункции (ПОКД) является не только одним из частых осложнений раннего послеоперационного периода, но и приводит к инвалидизации и социальной дезадаптации пациентов [6–8]. Важно отметить, что определение специфических мишеней и методов когнитивной реабилитации больных после кардиохирургических вмешательств должно основываться на современных нейрофизиологических представлениях о периоперационном повреждении головного мозга и ассоциированных с ним когнитивных дефицитах.

Ранее установлено, что сложные мультизадачные операции сопровождаются более эффективной координацией когнитивных процессов, что обеспечивает дополнительные ресурсы для успешного когнитивного функционирования [9]. Вместе с тем выявлено, что у пожилых лиц, а также при ряде заболеваний (цереброваскулярной патологии, болезнях Альцгеймера и Паркинсона) сосредоточение на одном задании (чаще когнитивном) повышает риск падений [4, 10, 11]. Снижение способности поддержания вертикальной позы может быть прямо пропорционально степени когнитивных нарушений [4, 12]. Это объясняют за счет ограниченности когнитивных резервов при развитии церебральной патологии, в частности, а также процесса интерференции при распределении внимания между двумя задачами [12].

В ряде исследований продемонстрировано, что коррекция нарушений постральной функции может благоприятно сказываться на состоянии когнитивного статуса у пожилых лиц и при когнитивных расстройствах различного генеза [13–16]. Можно предполагать, что использование для когнитивной реабилитации двухкомпонентных тренингов, состоящих из моторного и когнитивного заданий,

так называемых двойных задач, окажет значимый восстановительный эффект на когнитивные функции при периоперационном мозговом повреждении. При этом оптимальной комбинацией могут быть сочетания заданий, задействующих области головного мозга, обеспечивающие исполнительный контроль, функции рабочей памяти, внимания и моторные зоны коры [5]. Выполнение таких заданий будет вызывать расширенную активацию функциональных систем мозга с преимущественным вовлечением фронтальных и париетальных областей коры головного мозга, которые наиболее восприимчивы к снижению уровня перфузии при операциях в условиях искусственного кровообращения (ИК) [17].

В настоящее время изучение эффективности когнитивных реабилитационных программ невозможно представить без контроля со стороны методов нейровизуализации. Неинвазивная регистрация активности коры (электроэнцефалограмма, ЭЭГ) имеет многообещающий потенциал в качестве инструмента отслеживания ассоциированных с процессом восстановления когнитивных изменений мозга [2, 9].

Целью настоящего исследования стала оценка влияния когнитивной реабилитации с применением двойной задачи на когнитивные и постральные функции, а также показатели ЭЭГ у пациентов в раннем послеоперационном периоде прямой реваскуляризации миокарда.

Материалы и методы

Пациенты

В проспективное рандомизированное исследование включены пациенты с апреля 2020 г. по март 2021 г. и отобраны согласно критериям включения и исключения из когорты больных, подготовленных для планового коронарного шунтирования (КШ) [18]. Дизайн исследования одобрен локальным этическим комитетом НИИ КПССЗ. Письменное информированное согласие на участие в исследовании получено от всех пациентов.

Перед включением в исследование оценивали состояние когнитивных функций пациентов с помощью Монреальской шкалы (Montreal Cognitive Assessment, MoCA), пациенты с показателем <20 баллов не включались. Также проверяли выраженность симптомов депрессии с помощью Шкалы депрессии Бека (Beck Depression Inventory, BDI-II) и тревожности согласно опроснику Спилбергера – Ханина.

Все оперативные вмешательства проведены в условиях ИК по стандартной методике. В послеоперационном периоде (3–4-е сут) пациенты после определения наличия или отсутствия у них ПОКД рандомизированы методом конвертов в одну из групп исследования: послеоперационного когнитивного тренинга (n = 23) и сравнения (n = 25). Клинико-anamнестические и интраоперационные характеристики больных изучаемых групп представлены в табл. 1.

В период подготовки к операции (2–3 дня до) и на момент выписки из стационара (7–10-е сут после КШ) всем пациентам проведены расширенное нейропсихологическое тестирование, ЭЭГ и стабильное графическое исследование.

Расширенное нейропсихологическое тестирование

Оценено выполнение следующих психофизиологических тестов: сложная зрительно-моторная реакция (время реакции, количество ошибок), уровень функциональной подвижности нервных процессов в режиме обратной связи (время реакции, количество

ошибок и пропущенных сигналов). С помощью корректурной пробы Бурдона изучена функция направленного и распределенного внимания (количество обработанных знаков на 1-й и 4-й минутах теста), кратковременная память оценена при запоминании предъявляемых визуально 10 слов, 10 чисел и 10 бессмысленных слогов (их количество) [18]. Далее получен комплексный показатель когнитивного статуса (ККС) по авторизованной методике [19]: для выбранных когнитивных показателей произведен расчет среднеквадратичного расстояния до условных норм и сформирован интегральный показатель, отражающий сумму пяти параметров: средних значений времени реакции (Y1), количества ошибок (Y2) и пропущенных сигналов (Y3) в нейродинамических тестах, памяти (Y4) и внимания (Y5). Расчет выполнен по формуле:

$$ККС = 1 - \sqrt{[(1-Y1)]^2 + [(1-Y2)]^2 + [(1-Y3)]^2 + [(1-Y4)]^2 + [(1-Y5)]^2} / 5,$$

где ККС – комплексный показатель когнитивного статуса, Y – перекодированное значение показателя.

Таблица 1. Клинико-анамнестические и интраоперационные характеристики групп пациентов с наличием и отсутствием когнитивного тренинга
Table 1. Clinical and intraoperative characteristics of patients in cognitive training and non-training groups

Показатель / Parameter	Группа без когнитивного тренинга / Non-training group, n = 25	Группа с когнитивным тренингом / Cognitive training group, n = 23	p
Возраст, лет / Age, years, Me [25; 75]	56,8±5,3	55,9±5,9	n/s
Пол (мужчины/женщины) / Sex (men/women), n	18 / 7	16 / 7	n/s
Образование / Education, n (%): среднее и среднее специальное / secondary and secondary specialized высшее / higher	20 (80) 5 (20)	18 (78) 5 (22)	n/s
Фракция выброса левого желудочка / Left ventricular ejection fraction, %, M±σ	53,4±9,1	54,5±5,2	n/s
Длительность ИБС, лет / CAD history, years, M±σ	4,8 ±1,1	5,9±2,4	n/s
Функциональный класс стенокардии / Angina functional class, n (%): I–II III	18 (72) 7 (28)	16 (70) 7 (30)	n/s
Артериальная гипертензия, лет / Arterial hypertension history, years, M±σ	4,6 ±1,5	4,7±1,5	n/s
Функциональный класс ХСН по NYHA / NYHA functional class, n (%): I–II III	19 (74) 6 (26)	16 (69) 7 (31)	n/s
MoCA, баллы / scores, M±σ	24,7±2,75	25,1±2,45	n/s
BDI-II, баллы / scores, M±σ	2,7±2,2	3,4±2,9	n/s
Стенозы сонных артерий / Carotid artery stenoses, n (%): нет / no ≤50% >50%	17 (68) 7 (28) 1 (4)	16 (70) 7 (30) 0 (0)	n/s
Сахарный диабет 2-го типа / Type 2 diabetes mellitus, n (%)	8 (19)	5 (21)	n/s
Длительность ИК, мин / CPB duration, min, M±σ	94,6±20,7	96,3±15,9	n/s
Продолжительность пережатия аорты, мин / Aorta cross-clamping, min, M±σ	50,3±20,8	52,2±21,1	n/s
Коронарные шунты / Coronary grafts, n, M±σ	2,3±0,9	2,7±0,8	n/s

Примечание: ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИК – искусственное кровообращение; ХСН – хроническая сердечная недостаточность; BDI-II – Шкала депрессии Бека; MoCA – Монреальская шкала когнитивной оценки; NYHA – Нью-Йоркская кардиологическая ассоциация.
Note: BDI-II – Beck Depression Inventory; CAD – coronary artery disease; CPB – cardiopulmonary bypass; MoCA – Montreal Cognitive Assessment; NYHA – The New York Heart Association.

У всех пациентов наличие ПОКД установлено по принятому ранее критерию: 20% снижение когнитивного показателя по сравнению с базовым, предоперационным уровнем в 20% тестов из использованной тестовой батареи [20].

Электроэнцефалографическое исследование

Цифровую ЭЭГ регистрировали монополярно в 62 стандартных отведениях в состоянии покоя с закрытыми глазами при помощи усилителя Neuvo SynAmps2 (Compumedics, Шарлот, Северная Каролина, США). Данные проанализированы в автоматическом режиме, проведены визуальный поиск и удаление окуло-, миографических и прочих артефактов записи. Безартефактные фрагменты ЭЭГ разделены на двухсекундные эпохи и трансформированы с помощью Фурье-преобразования [18]. Для каждого пациента значения мощности биопотенциалов ЭЭГ во всех зарегистрированных отведениях коры были усреднены в пределах тета-1 (4–6 Гц), тета-2 (6–8 Гц), альфа-1 (8–10 Гц), альфа-2 (10–13 Гц). Также рассчитаны индекс тета/альфа-активности по формуле $(\text{тета-1} + \text{тета-2}) / (\text{альфа-1} + \text{альфа-2})$ и среднее значение ведущей частоты в α -диапазоне (частоты наибольшего значения спектральной мощности ритма – альфа-пик).

Стабилографическое исследование

Для определения постуральных функций пациентов применяли статическую стабилографию на аппаратно-программном стабилографическом комплексе «Стабилан-01-2» («Ритм», Таганрог, Россия). Регистрировали положение общего центра давления (ОЦД), проецируемого на горизонтальную поверхность (тест Ромберга). Оценивали следующие параметры: средний разброс колебаний ОЦД (мм) при закрытых и открытых глазах и коэффициент Ромберга (%).

Тренирующая процедура

Основной группе тренинг проводили ежедневно начиная с 3–4-х сут послеоперационного периода и до выписки пациента из стационара. Программа когнитивного тренинга состояла из 15–20-минутных сессий с выполнением двойных заданий (постуральный тренинг и когнитивная задача). Продолжительность курса когнитивной реабилитации составила 5–7 тренировок. Компонентами двойной задачи были одно моторное и три когнитивных задания. Моторное задание заключалось в том, что тренируемый пациент, стоя на стабилоплатформе, поддерживал равновесие с положением ОЦД в одной и той же точке при использовании обратной зрительной связи. На экране монитора ОЦД испытуемого был представлен в виде маркера, который было необходимо совмещать с мишенью, находящейся в центре монитора. Постуральный тренинг

включал одновременное решение одной из когнитивных задач (называние предметов на определенную букву, последовательное вычитание из числа 100 числа 7 и называние необычного использования предметов (кирпич, газета, линейка), т. н. задача открытого типа Дж.П. Гилфорда «Необычное использование обычного предмета»). Каждая из когнитивных задач выполнена последовательно с чередованием периодов отдыха и схода со стабилоплатформы.

Статистический анализ

Статистический анализ проведен с использованием пакета программ STATISTICA 10.0 (StatSoft, Талса, Оклахома, США). Проверка нормальности распределения выполнена по критерию Колмогорова – Смирнова. Все изучаемые показатели распределены ненормально и проанализированы с применением непараметрических критериев Манна – Уитни и Уилкоксона, а показатели ЭЭГ подвержены логарифмированию для нормализации распределения; далее проведен дисперсионный анализ (ANOVA).

Результаты

В изучаемых группах при проведении КШ не зарегистрировано случаев госпитальной летальности и значимых цереброваскулярных событий. Статистически значимо не отличались показатели нейропсихологического скрининга (шкала MoCA) (см. табл. 1), выполненного на предоперационном этапе. Расширенное нейропсихологическое тестирование и ЭЭГ-обследование не показали различий в нейрофизиологическом статусе пациентов обеих групп перед вмешательством. Предоперационные показатели стабилограммы также значимо не различались.

Большинство больных, подвергшихся тренингу с использованием двойной задачи, 20 из 23 (~87%), сообщили о приемлемом уровне субъективной трудности выполнения заданий.

По результатам анализа изменений нейрофизиологического статуса пациентов в раннем послеоперационном периоде КШ в зависимости от наличия или отсутствия когнитивного тренинга с помощью двойной задачи число случаев ПОКД в группе сравнения составило 64% ($n = 16$), тогда как в группе тренинга – 39% ($n = 9$). Относительный риск развития ПОКД в группе пациентов без когнитивного тренинга составил 2,77 (95% доверительный интервал 0,86–8,91; $Z = 1,704$; $p = 0,08$).

У пациентов, прошедших когнитивный тренинг с использованием двойной задачи, наблюдались положительные изменения ККС по сравнению с предоперационным уровнем ($Z = 2,58$; $p = 0,01$) (рис. 1). Тогда как у участников группы сравнения статистически значимых различий между пред- и послеоперационными показателями ККС не выявлено.

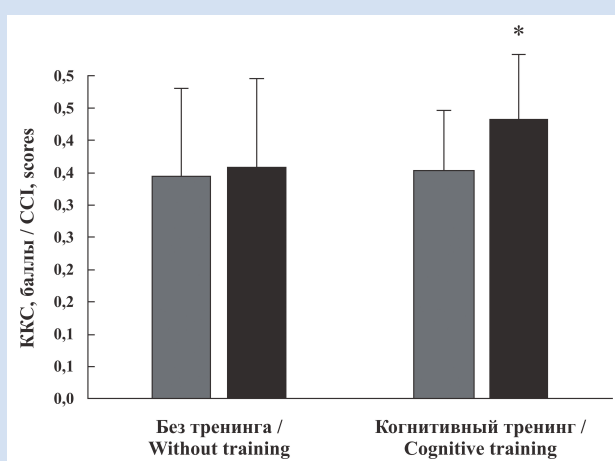


Рисунок 1. Изменения комплексного показателя когнитивного статуса (ККС) у пациентов в раннем послеоперационном периоде кардиохирургических вмешательств в зависимости от наличия или отсутствия когнитивного тренинга с использованием двойной задачи

Примечание: светлые столбцы – дооперационные показатели, темные столбцы – после операции; * – различия со статистической значимостью $p < 0,05$.

Figure 1. The changes of complex cognitive state indicator (CCSI) in cardiac surgery patients depending on whether the cognitive training in the early postoperative period was performed

Note: light columns – preoperative values, dark columns – postoperative values; * – statistically significant difference $p < 0,05$.

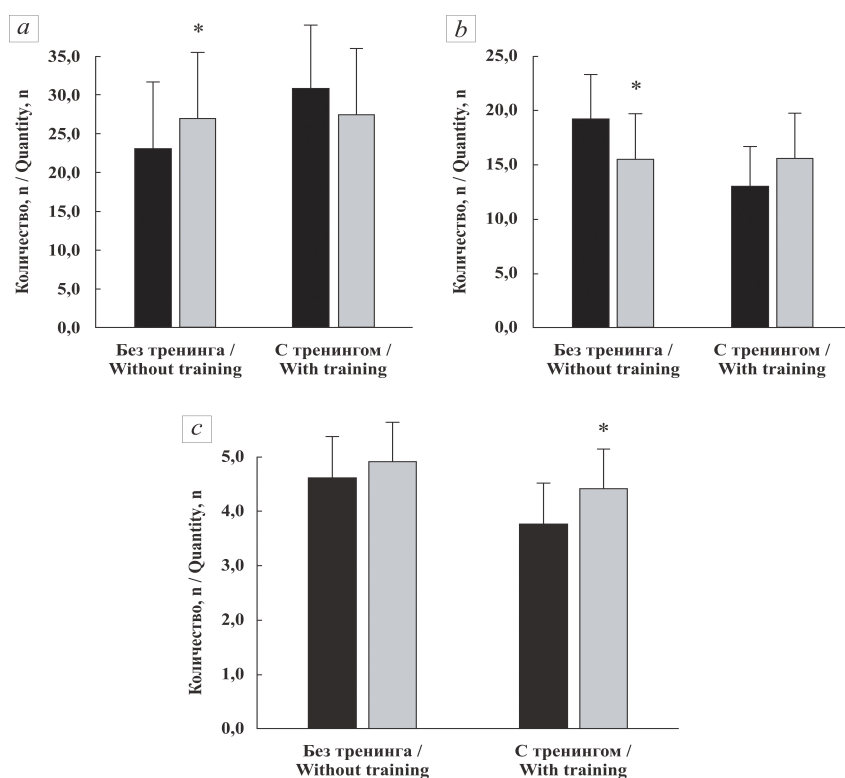


Рисунок 2. Изменения психофизиологических показателей пациентов в раннем послеоперационном периоде кардиохирургических вмешательств в зависимости от наличия или отсутствия когнитивного тренинга с помощью двойной задачи: а – количество ошибок в тесте функциональной подвижности нервных процессов; б – количество пропущенных сигналов в этом же тесте; в – количество запомненных слов.

Примечание: светлые столбцы – дооперационные показатели, темные столбцы – после коронарного шунтирования; * – различия со статистической значимостью $p < 0,05$.

Figure 2. Changes of psychophysiological indicators in cardiac surgery patients depending on whether the cognitive training in the early postoperative period was performed: а – errors in the mobility of nervous processes test; б – missed signals in the mobility of nervous processes test; в – number of memorized words.

Note: light columns – preoperative values, dark columns – postoperative values; * – statistically significant difference $p < 0,05$.

Помимо этого, отмечены разнонаправленные изменения выполнения отдельных психофизиологических тестов в послеоперационном периоде у пациентов в зависимости от наличия или отсутствия когнитивного тренинга. У больных, прошедших тренинг, тенденция к улучшению показателей отмечена для домена нейродинамики ($Z = 1,53$; $p = 0,1$) (уменьшилось количество ошибок в тесте функциональной подвижности нервных процессов) и кратковременной памяти ($Z = 1,93$; $p = 0,05$) (увеличилось количество запомненных чисел). При этом у пациентов без когнитивного тренинга возросло количество ошибок в тесте функциональной подвижности нервных процессов ($Z = 2,19$; $p = 0,03$) при уменьшении количества пропущенных сигналов ($Z = 2,26$; $p = 0,02$) (рис. 2).

При изучении показателей стабильного исследования в послеоперационном периоде кардиохирургических вмешательств статистически значимых меж- и внутригрупповых различий коэффициента Ромберга и средних значений разброса колебаний ОЦД (мм) при закрытых и открытых глазах у пациентов группы сравнения и прошедших когнитивный тренинг с использованием двойной задачи не обнаружено (табл. 2).

Далее проведен анализ послеоперационных изменений средних значений мощности биопотенциалов ЭЭГ во всех вышеперечисленных частотных диапазонах, а также индекса тета/альфа-активности и средней частоты альфа-пика у пациентов в зависимости от наличия или отсутствия когнитивного тренинга с помощью двойной задачи. Средняя частота альфа-пика снизилась у всех больных независимо от наличия или отсутствия когнитивного тренинга с 9,4 до 9,1 Гц ($F_{1,46} = 5,95$; $p = 0,02$). Статистически значимых изменений индекса тета/альфа-активности у пациентов исследованных групп не выявлено.

ANOVA, проведенный с выделением следующих факторов

– ГРУППА (наличие/отсутствие когнитивного тренинга) × ВРЕМЯ ОБСЛЕДОВАНИЯ (до и после КШ) × ЛАТЕРАЛЬНОСТЬ (правое, левое полушарие), отдельно для каждого изучаемого диапазона ЭЭГ, позволил установить только для показателей мощности биопотенциалов тета-1-ритма значимость взаимодействия факторов ГРУППА × ВРЕМЯ ОБСЛЕДОВАНИЯ ($F_{1,46} = 4,38$; $p = 0,04$). У пациентов группы сравнения в раннем послеоперационном периоде наблюдалось увеличение мощности биопотенциалов ритма, тогда как у группы, прошедшей программу когнитивного тренинга, не выявлено статистически значимого послеоперационного увеличения тета-активности (рис. 3).

Обсуждение

Как продемонстрировали результаты нашего исследования, даже краткий курс когнитивной реабилитации с использованием двойной задачи оказывает благоприятный эффект на когнитивные и ЭЭГ-показатели пациентов, перенесших КШ. У больных, прошедших курс, выявлена почти в два раза меньшая частота развития ПОКД в раннем послеоперационном периоде, чем у пациентов без когнитивного тренинга (39 против 64%). Обнаружено как улучшение интегрального показателя когнитивного статуса, так и отдельных психофизиологических параметров. Следует особо отметить, что улучшение наблюдалось для показателей нейродинамики и кратковременной памяти, то есть в тех когнитивных доменах, где ранее выявлено наиболее выраженное послеоперационное когнитивное снижение [7, 20].

Исходя из полученных в настоящем исследовании результатов можно предполагать, что компоненты двойной задачи подобраны верно и воздействие тренирующей процедуры осуществляется на особо восприимчивые к ишемии в ходе кардиохирургического вмешательства регионы мозга.

Поскольку снижение исполнительного контроля, планирования действий и рабочей памяти особенно характерно для сосудистых когнитивных дефицитов, восстановление этих функций приобретает принципиальное значение для когорты пациентов, перенесших прямую реваскуляризацию миокарда.

Также установлена меньшая выраженность корковой дисфункции в группе больных, прошедших когнитивный тренинг, по сравнению с пациентами без тренинга согласно показателям тета-активности. Патологический «сдвиг» ритмической активности мозга в сторону медленных волн наблюдается при когнитивных дефицитах различной природы

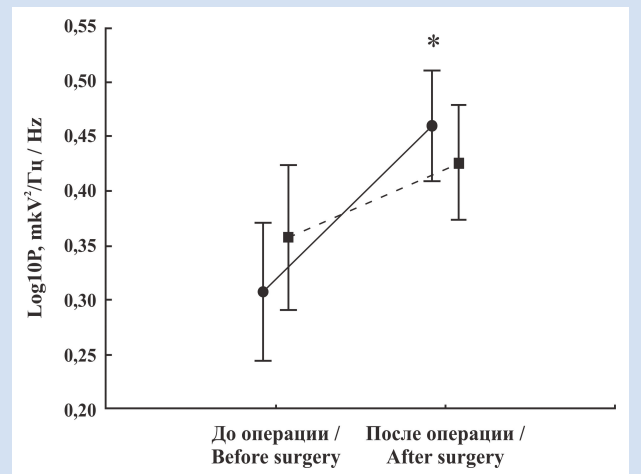


Рисунок 3. Изменения мощности биопотенциалов тета-1-ритма у пациентов в раннем послеоперационном периоде кардиохирургических вмешательств в зависимости от наличия или отсутствия когнитивного тренинга с помощью двойной задачи

Примечание: сплошная линия – группа сравнения, прерывистая – когнитивный тренинг; * – различия послеоперационных показателей по сравнению с исходными со статистической значимостью $p < 0,05$.

Figure 3. Type-1 theta rhythm power changes in cardiac surgery patients depending on whether the cognitive training in the early postoperative period was performed

Note: Solid line – non-training group, dashed line – cognitive training group; * – statistically significant differences ($p < 0,05$) in postoperative values compared to the baseline values.

Таблица 2. Показатели стабильности у пациентов с наличием и отсутствием когнитивного тренинга (M±σ) Table 2. Stabilographic data of patients in cognitive training and non-training groups (M±σ)			
Показатель / Parameter	Группа без когнитивного тренинга / Non-training group, n = 25	Группа с когнитивным тренингом / Cognitive training group, n = 23	p
Коэффициент Ромберга до операции / Romberg ratio before intervention, %	281,8±204,2	314,1±263,4	n/s
Коэффициент Ромберга после операции / Romberg ratio after intervention, %	250,9±173,4	263,4±172,2	n/s
Разброс колебаний ОЦД при закрытых глазах до операции, мм / Variance of CoP with closed eyes before intervention, mm	6,1± 2,76	6,5± 3,86	n/s
Разброс колебаний ОЦД при закрытых глазах после операции, мм / Variance of CoP with closed eyes after intervention, mm	6,0±2,38	5,6±2,73	n/s
Разброс колебаний ОЦД при открытых глазах до операции, мм / Variance of CoP with open eyes before intervention, mm	3,9±1,66	4,4±2,12	n/s
Разброс колебаний ОЦД при открытых глазах после операции, мм / Variance of CoP with open eyes after intervention, mm	4,7±2,96	3,8±1,77	n/s

Примечание: ОЦД – общий центр давления.
Note: CoP – the center of pressure.

и, предположительно, связан с процессами перевозбуждения в миндално-гиппокампальном комплексе и дестабилизации корково-подкорковых нейронных взаимодействий [21–23].

Вместе с тем в данном исследовании не получено значимых изменений постуральных функций больных. С одной стороны, это может быть связано с краткосрочностью тренирующей процедуры (5–7 тренировок по 15–20 мин), с другой стороны, моторная задача могла быть второстепенной по отношению к когнитивным заданиям при распределении мозговых ресурсов тренируемого субъекта.

Настоящее исследование продемонстрировало важность когнитивных тренировок у пациентов, подвергающихся кардиохирургическим вмешательствам с ИК. Когнитивная реабилитация в виде двойных задач в раннем послеоперационном периоде КШ позволяет снизить частоту когнитивного дефицита, что способствует сохранению эффективности оперативного вмешательства и, соответственно, качества жизни больных. Однако остаются открытыми вопросы продолжительности и интенсивности подобных тренировок, а также сохранения их положительного влияния на интеллектуальные ресурсы в долгосрочной перспективе.

Ограничения исследования

Основное ограничение исследования – небольшой объем выборки ($n = 48$), из которой лишь 23 пациента подверглись процедуре когнитивного тренинга с использованием двойной задачи. В дальнейшем мы планируем увеличить количество больных. Для лучшего понимания процессов, происходящих в головном мозге пациентов в послеоперационном периоде сердечно-сосудистых вмешательств, желательно соотнести результаты нейрофизиологических исследований и тестирования когнитивных

функций путем многофакторного анализа. Это входит в задачи наших последующих исследований.

Заключение

В проведенном исследовании получены положительные результаты влияния когнитивной реабилитации с применением двойной задачи на нейрофизиологические показатели пациентов, перенесших прямую реваскуляризацию миокарда. Эффективность этого когнитивного тренинга для анализируемой выборки больных подтверждена меньшей частотой ПОКД, улучшением когнитивного статуса и менее выраженной корковой дисфункцией. Необходимо дополнительно рассмотреть вопросы продолжительности и интенсивности тренинга с использованием двойных задач для повышения восстановительного эффекта на интеллектуальные ресурсы и постуральные функции пациентов в послеоперационном периоде кардиохирургических вмешательств.

Конфликт интересов

И.В. Тарасова заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.А. Трубникова заявляет об отсутствии конфликта интересов. И.Н. Кухарева заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.С. Соснина заявляет об отсутствии конфликта интересов. Д.С. Куприянова заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.Г. Шестернин заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.А. Нагирняк заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.Л. Барбараш входит в редакционную коллегию журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний».

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Кемеровской области, проект № 20-415-420005.

Информация об авторах

Тарасова Ирина Валерьевна, доктор медицинских наук ведущий научный сотрудник лаборатории нейрососудистой патологии отдела клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6391-0170

Трубникова Ольга Александровна, доктор медицинских наук заведующая лабораторией нейрососудистой патологии отдела клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-8260-8033

Кухарева Ирина Николаевна, кандидат медицинских наук, врач-невролог, научный сотрудник лаборатории нейрососудистой патологии отдела клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6813-7017

Author Information Form

Tarasova Irina V., Ph.D, Senior Researcher at the Laboratory of Neurovascular Pathology, Department of Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6391-0170

Trubnikova Olga A., Ph.D, Head of the Laboratory of Neurovascular Pathology, Department of Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-8260-8033

Kuhareva Irina N., Ph.D, neurologist, researcher at the Laboratory of Neurovascular Pathology, Department of Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6813-7017

Соснина Анастасия Сергеевна, кандидат медицинских наук врач-кардиолог, научный сотрудник лаборатории нейрососудистой патологии отдела клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-8908-2070

Куприянова Дарья Сергеевна, лаборант-исследователь лаборатории ультразвуковых и электрофизиологических методов исследований отдела диагностики сердечно-сосудистых заболеваний федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-9750-5536

Шестернин Виктор Гаврилович, врач по ЛФК и спортивной медицине отделения медицинской реабилитации государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Кузбасский клинический кардиологический диспансер имени академика Л.С. Барбараша», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-6086-9398

Нагирняк Ольга Алексеевна, кандидат медицинских наук врач-кардиолог, научный сотрудник лаборатории нейрососудистой патологии отдела клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4361-9853

Барбараш Ольга Леонидовна, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор директор федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4642-3610

Sosnina Anastasia S., Ph.D, cardiologist, researcher at the Laboratory of Neurovascular Pathology, Department of Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-8908-2070

Kupriyanova Darya S., research assistant at the Laboratory of Electrophysiological and Ultrasound study methods, Department of Cardiovascular Disease Diagnostics, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-9750-5536

Shesternin Viktor G., physical therapist, sports medicine specialist at the Department of Medical Rehabilitation, State Budgetary Healthcare Institution “Kuzbass Clinical Cardiology Dispensary named after academician L.S. Barbarash”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-6086-9398

Nagirnyak Olga A., Ph.D., cardiologist, researcher at the Laboratory of Neurovascular Pathology, Department of Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4361-9853

Barbarash Olga L., Ph.D., Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of the Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4642-3610

Вклад авторов в статью

ТИВ – вклад в концепцию и дизайн исследования, интерпретация данных исследования, написание статьи, коррективировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ТОА – вклад в концепцию и дизайн исследования, коррективировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

КИН – получение и интерпретация данных исследования, коррективировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

САС – получение и интерпретация данных исследования, коррективировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

КДС – получение и интерпретация данных исследования, коррективировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ШВГ – получение и интерпретация данных исследования, коррективировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

НОА – получение и интерпретация данных исследования, коррективировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

БОЛ – вклад в концепцию и дизайн исследования, коррективировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Author Contribution Statement

TIV – contribution to the concept and design of the study, data interpretation, manuscript writing, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

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

KIN – data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

SAS – data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

KDS – data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

ShVG – data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

NOA – data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fraga F.J., Mamani G.Q., Johns E., Tavares G., Falk T.H., Phillips N.A. Early diagnosis of mild cognitive impairment and Alzheimer's with event-related potentials and event-related desynchronization in N-back working memory tasks. *Comput Methods Programs Biomed.* 2018;164:1-13. doi: 10.1016/j.cmpb.2018.06.011.
2. Beppi C., Ribeiro V.I., Scott G., Sandrone S. EEG, MEG and neuromodulatory approaches to explore cognition: Current status and future directions. *Brain Cogn.* 2021;148:105677. doi: 10.1016/j.bandc.2020.105677.
3. van den Berg E., Geerlings M.I., Biessels G.J., Nederkoorn P.J., Kloppenborg R.P. White Matter Hyperintensities and Cognition in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease: A Domain-Specific Meta-Analysis. *J Alzheimers Dis.* 2018;63(2):515-527. doi: 10.3233/JAD-170573.
4. Жаворонкова Л.А., Максакова О.А., Шевцова Т.П., Морареску С.И., Купцова С.В., Кушнир Е.М., Иксанова Е.М. Двойные задачи - индикатор особенностей когнитивного дефицита у пациентов после черепно-мозговой травмы. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2019;119(8):46-52. doi: 10.17116/jnevro201911908146
5. Трубникова О.А., Тарасова И.В., Барбараш О.Л. Нейрофизиологические механизмы и перспективы использования двойных задач в восстановлении когнитивных функций у кардиохирургических пациентов. *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2020;5(2):101-111. doi:10.23946/2500-0764-2020-5-1-101-111
6. Moreira J.M.A., Grilo E.N. Quality of life after coronary artery bypass graft surgery - results of cardiac rehabilitation programme. *J Exerc Rehabil.* 2019;15(5):715-722. doi: 10.12965/jer.1938444.222.
7. Relander K., Hietanen M., Rantanen K., Rämö J., Vento A., Saastamoinen K.P., Roine R.O., Soinne L. Postoperative cognitive change after cardiac surgery predicts long-term cognitive outcome. *Brain Behav.* 2020;10(9):e01750. doi: 10.1002/brb3.1750.
8. Тарасова И.В., Трубникова О.А., Куприянова Д.С. Когнитивная реабилитация кардиохирургических пациентов: проблемы и перспективы. *Сибирское медицинское обозрение.* 2020;5(5):23-30. doi: 10.20333/2500136-2020-5-23-30
9. Borghini G., Astolfi L., Vecchiato G., Mattia D., Babiloni F. Measuring neurophysiological signals in aircraft pilots and car drivers for the assessment of mental workload, fatigue and drowsiness. *Neurosci Biobehav Rev.* 2014;44:58-75. doi:10.1016/j.neubiorev.2012.10.003
10. Сидорович Э.К., Лихачев С.А., Клишевская Н.Н., Павловская Т.С. Результаты тренировки постральной и когнитивной функций у пациентов с хроническими ишемическими нарушениями мозгового кровообращения с применением статической и динамической стабилоплатформ. *Неврология и нейрохирургия. Восточная Европа.* 2015; 1(25): 69-78
11. Petrigna L., Thomas E., Gentile A., Paoli A., Pajaujiene S., Palma A., Bianco A. The evaluation of dual-task conditions on static postural control in the older adults: a systematic review and meta-analysis protocol. *Syst Rev.* 2019 Jul 27;8(1):188. doi: 10.1186/s13643-019-1107-4.
12. Chu C.H., Yang K.T., Song T.F., Liu J.H., Hung T.M., Chang Y.K. Cardiorespiratory fitness is associated with executive control in late-middle-aged adults: an event-related (de) synchronization (ERD/ERS) Study. *Front Psychol.* 2016; 7: 1135. doi: 10.3389/fpsyg.2016.01135.
13. Muir-Hunter S.W., Wittwer J.E. Dual-task testing to predict falls in community-dwelling older adults: a systematic review. *Physiotherapy.* 2016;102(1): 29-40. doi:10.1016/j.physio.2015.04.011.
14. Ansai J.H., Andrade L.P., Rossi P.G., Almeida M.L., Carvalho Vale F.A., Rebelatto J.R. Association between gait and dual task with cognitive domains in older people with cognitive impairment. *J Mot Behav.* 2018;50(4):409-415. doi:10.1080/00222895.2017.1363702.
15. Kleiner A.F.R., Souza Pagnussat A., Pinto C., Redivo Marchese R., Salazar A.P., Galli M. Automated mechanical peripheral stimulation effects on gait variability in individuals with Parkinson disease and freezing of gait: a double-blind, randomized controlled trial. *Arch Phys Med Rehabil.* 2018. pii: S0003-9993(18)30355-1. doi:10.1016/j.apmr.2018.05.009.
16. Commandeur D., Klimstra M.D., MacDonald S., Inouye K., Cox M., Chan D., Hundza S.R. Difference scores between single-task and dual-task gait measures are better than clinical measures for detection of fall-risk in community-dwelling older adults. *Gait Posture.* 2018;66:155-159. doi:10.1016/j.gaitpost.2018.08.020.
17. Erdoes G., Rummel C., Basciani R.M., Verma R., Carrel T., Banz Y., Eberle B., Schroth G. Limitations of Current Near-Infrared Spectroscopy Configuration in Detecting Focal Cerebral Ischemia During Cardiac Surgery: An Observational Case-Series Study. *Artif Organs.* 2018;42(10):1001-1009. doi: 10.1111/aor.13150.
18. Тарасова И.В., Трубникова О.А., Сырова И.Д., Акбиров Р.М., Барбараш О.Л. Отдаленные результаты нейрофизиологического обследования пациентов с когнитивным снижением, перенесших коронарное шунтирование. *Неврологический журнал.* 2018; 23(5): 229-240. doi: 10.18821/1560-9545-2018-23-5-229-240
19. Трубникова О.А., Каган Е.С., Куприянова Т.В., Малева О.В., Аргунова Ю.А., Кухарева И.Н. Нейропсихологический статус пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца и факторы на него влияющие. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2017; 6(1): 112-121. doi: 10.17802/2306-1278-2017-1-112-121
20. Трубникова О.А., Тарасова И.В., Барбараш О.Л., Барбараш Л.С. Структура и частота выявления когнитивных нарушений у пациентов после прямой реваскуляризации миокарда. *Креативная кардиология.* 2015; 4: 5-12. doi:10.15275/kreatkard.2015.04.01
21. Moretti D.V. Electroencephalography-driven approach to prodromal Alzheimer's disease diagnosis: from biomarker integration to network-level comprehension. *Clin Interv Aging.* 2016;11:897-912. doi: 10.2147/CIA.S103313.
22. Benwell C.S.Y., Davila-Pérez P., Fried P.J., Jones R.N., Trivison T.G., Santarnecchi E., Pascual-Leone A., Shafi M.M. EEG spectral power abnormalities and their relationship with cognitive dysfunction in patients with Alzheimer's disease and type 2 diabetes. *Neurobiol Aging.* 2020;85:83-95. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2019.10.004
23. Schumacher J., Taylor J.P., Hamilton C.A., Firbank M., Cromarty R.A., Donaghy P.C., Roberts G., Allan L., Lloyd J., Durcan R., Barnett N., O'Brien J.T., Thomas A.J. Quantitative EEG as a biomarker in mild cognitive impairment with Lewy bodies. *Alzheimers Res Ther.* 2020;12(1):82. doi: 10.1186/s13195-020-00650-1.

REFERENCES

1. Fraga F.J., Mamani G.Q., Johns E., Tavares G., Falk T.H., Phillips N.A. Early diagnosis of mild cognitive impairment and Alzheimer's with event-related potentials and event-related desynchronization in N-back working memory tasks. *Comput Methods Programs Biomed.* 2018;164:1-13. doi: 10.1016/j.cmpb.2018.06.011.
2. Beppi C., Ribeiro V.I., Scott G., Sandrone S. EEG, MEG and neuromodulatory approaches to explore cognition: Current status and future directions. *Brain Cogn.* 2021;148:105677. doi: 10.1016/j.bandc.2020.105677.
3. van den Berg E., Geerlings M.I., Biessels G.J., Nederkoorn P.J., Kloppenborg R.P. White Matter Hyperintensities and

Cognition in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease: A Domain-Specific Meta-Analysis. *J Alzheimers Dis.* 2018;63(2):515-527. doi: 10.3233/JAD-170573.

4. Zhavoronkova L.A., Maksakova O.A., Shevtsova T.P., Moraresku S.I., Kuptsova S.V., Kushnir E.M., Iksanova E.M. Dual-tasks is an indicator of cognitive deficit specificity in patients after traumatic brain injury. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry* 2019;119(8):46-52. (In Russian). doi:10.17116/jnevro201911908146

5. Trubnikova O.A., Tarasova I.V., Barbarash O.L. Neurophysiological mechanisms and perspective for the use of dual tasks in recovering cognitive function after cardiac surgery. *Fundamental and Clinical Medicine.* 2020;5(2): 101-111. (In Russian). doi:10.23946/2500-0764-2020-5-2-101-111

6. Moreira J.M.A., Grilo E.N. Quality of life after coronary artery bypass graft surgery - results of cardiac rehabilitation programme. *J Exerc Rehabil.* 2019;15(5):715-722. doi: 10.12965/jer.1938444.222.

7. Relander K., Hietanen M., Rantanen K., Rämö J., Vento A., Saastamoinen K.P., Roine R.O., Soine L. Postoperative cognitive change after cardiac surgery predicts long-term cognitive outcome. *Brain Behav.* 2020;10(9):e01750. doi: 10.1002/brb3.1750.

8. Tarasova I.V., Trubnikova O.A., Kupriyanova D.S. Cognitive rehabilitation of cardiac surgery patients: problems and prospects. *Siberian Medical Review.* 2020; (5):23-30. (In Russian). doi: 10.20333/2500136-2020-5-23-30

9. Borghini G., Astolfi L., Vecchiato G., Mattia D., Babiloni F. Measuring neurophysiological signals in aircraft pilots and car drivers for the assessment of mental workload, fatigue and drowsiness. *Neurosci Biobehav Rev.* 2014;44:58-75. doi:10.1016/j.neubiorev.2012.10.003

10. Sidorovich Je.K., Lihachev S.A., Klishevskaja N.N., Pavlovskaja T.S. Rezultaty trenirovki postural'noj i kognitivnoj funkcij u pacientov s hronicheskimi ishemicheskimi narushenijami mozgovogo krovoobrashhenija s primeneniem staticheskij i dinamicheskij stabiloplatform. *Nevrologija i neirohirurgija. Vostochnaja Evropa.* 2015; 1 (25): 69-78. (In Russian)

11. Petrigna L., Thomas E., Gentile A., Paoli A., Pajaujiene S., Palma A., Bianco A. The evaluation of dual-task conditions on static postural control in the older adults: a systematic review and meta-analysis protocol. *Syst Rev.* 2019 Jul 27;8(1):188. doi: 10.1186/s13643-019-1107-4.

12. Chu C.H., Yang K.T., Song T.F., Liu J.H., Hung T.M., Chang Y.K. Cardiorespiratory fitness is associated with executive control in late-middle-aged adults: an event-related (de) synchronization (ERD/ERS) Study. *Front Psychol.* 2016; 7: 1135. doi: 10.3389/fpsyg.2016.01135.

13. Muir-Hunter S.W., Wittwer J.E. Dual-task testing to predict falls in community-dwelling older adults: a systematic review. *Physiotherapy.* 2016;102(1): 29-40. doi:10.1016/j.physio.2015.04.011.

14. Ansai J.H., Andrade L.P., Rossi P.G., Almeida M.L., Carvalho Vale F.A., Rebelatto J.R. Association between gait and

dual task with cognitive domains in older people with cognitive impairment. *J Mot Behav.* 2018;50(4):409-415. doi:10.1080/0022895.2017.1363702.

15. Kleiner A.F.R., Souza Pagnussat A., Pinto C., Redivo Marchese R., Salazar A.P., Galli M. Automated mechanical peripheral stimulation effects on gait variability in individuals with Parkinson disease and freezing of gait: a double-blind, randomized controlled trial. *Arch Phys Med Rehabil.* 2018. pii: S0003-9993(18)30355-1. doi:10.1016/j.apmr.2018.05.009.

16. Commandeur D., Klimstra M.D., MacDonald S., Inouye K., Cox M., Chan D., Hundza S.R. Difference scores between single-task and dual-task gait measures are better than clinical measures for detection of fall-risk in community-dwelling older adults. *Gait Posture.* 2018;66:155-159. doi:10.1016/j.gaitpost.2018.08.020.

17. Erdoes G., Rummel C., Basciani R.M., Verma R., Carrel T., Banz Y., Eberle B., Schroth G. Limitations of Current Near-Infrared Spectroscopy Configuration in Detecting Focal Cerebral Ischemia During Cardiac Surgery: An Observational Case-Series Study. *Artif Organs.* 2018;42(10):1001-1009. doi: 10.1111/aor.13150.

18. Tarasova I.V., Trubnikova O.A., Syrova I.D., Akbirov R.M., Barbarash O.L. Long-term results of the neurophysiological examination of patients with cognitive decline underwent coronary artery bypass surgery. *Nevrologicheskij Zhurnal (Neurological Journal)* 2018; 23 (5): 229-240 (In Russian). doi:10.18821/1560-9545-2018-23-5-229-240.

19. Trubnikova O.A., Kagan E.S., Kupriyanova T.V., Maleva O.V., Argunova Y.A., Kukhareva I.N. Neuropsychological status of patients with stable coronary artery disease and factors affecting it. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2017; (1):112-121. (In Russian) doi: 10.17802/2306-1278-2017-1-112-121

20. Trubnikova O.A., Tarasova I.V., Barbarash O.L., Barbarash L.S. Structure and frequency of detection of cognitive decline in patients after direct myocardial revascularization. *Creative cardiology.* 2015; 4: 5-12. (In Russian). doi: 10.15275/kreatkard.2015.04.01

21. Moretti DV. Electroencephalography-driven approach to prodromal Alzheimer's disease diagnosis: from biomarker integration to network-level comprehension. *Clin Interv Aging.* 2016;11:897-912. doi: 10.2147/CIA.S103313.

22. Benwell C.S.Y., Davila-Pérez P., Fried P.J., Jones R.N., Trivison T.G., Santarnecchi E., Pascual-Leone A., Shafi M.M. EEG spectral power abnormalities and their relationship with cognitive dysfunction in patients with Alzheimer's disease and type 2 diabetes. *Neurobiol Aging.* 2020;85:83-95. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2019.10.004

23. Schumacher J., Taylor J.P., Hamilton C.A., Firbank M., Cromarty R.A., Donaghy P.C., Roberts G., Allan L., Lloyd J., Durcan R., Barnett N., O'Brien J.T., Thomas A.J. Quantitative EEG as a biomarker in mild cognitive impairment with Lewy bodies. *Alzheimers Res Ther.* 2020;12(1):82. doi: 10.1186/s13195-020-00650-1.

Для цитирования: Тарасова И.В., Трубникова О.А., Кухарева И.Н., Соснина А.С., Куприянова Д.С., Шестернин В.Г., Нагирняк О.А., Барбараш О.Л. Эффекты когнитивной реабилитации с применением двойной задачи у пациентов в раннем послеоперационном периоде прямой реваскуляризации миокарда. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2021;10(3): 15-25. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-15-25

To cite: Tarasova I.V., Trubnikova O.A., Kuhareva I.N., Sosnina A.S., Kupriyanova D.S., Shesternin V.G., Nagirnyak O.A., Barbarash O.L. Effects of dual-task rehabilitative training in the early postoperative period after direct myocardial revascularization. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2021;10(3): 15-25. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-15-25



УДК 616.13.002.2-004.6

DOI 10.17802/2306-1278-2021-10-3-26-33

АНАЛИЗ ТОПОГРАФИЧЕСКИХ СЦЕНАРИЕВ ФОРМИРОВАНИЯ ОЧАГОВ КАЛЬЦИФИКАЦИИ В ДИСФУНКЦИОНАЛЬНЫХ КЛАПАНАХ СЕРДЦА И АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШКАХ

Л.А. Богданов¹, Н.Ю. Осяев¹, Ю.Д. Богданова², Р.А. Мухамадияров¹, А.Р. Шабаетв¹,
А.В. Евтушенко¹, А.Г. Кутихин¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Сосновый бульвар, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002; ² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный университет», ул. Красная, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650000

Основные положения

• На данный момент процесс морфологического развития кальцификата в литературе почти не описан. Расшифровка механизма морфологического роста кальцификата в атеросклеротической бляшке и створке аортального клапана позволит унифицировать фармакотерапию, направленную на ингибирование кальцификации элементов сердечно-сосудистой системы.

Цель

Проанализировать топографические сценарии формирования кальцификатов в дисфункциональных аортальных клапанах сердца и атеросклеротических бляшках.

Материалы и методы

Дисфункциональные аортальные клапаны сердца ($n = 18$) и атеросклеротические бляшки ($n = 20$) фиксировали в формалине, постфиксировали в 1% тетраоксиде осмия, последовательно окрашивали 2% тетраоксидом осмия и 2% уранилацетатом и заключали в эпоксидную смолу Епон с последующей шлифовкой и полировкой сформованных блоков. После контрастирования цитратом свинца и напыления углеродом проводили визуализацию образцов методом сканирующей электронной микроскопии в обратно рассеянных электронах и элементный анализ кальцификатов методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии. Измерение соотношения Са/Р в кальцификатах аортальных клапанов и бляшек произведено по схеме «бильярдного стола» в центре кальцификата и часовой стрелке в ближней и дальней окружностях, а также в контрольных участках возле и вдали от кальцификата. Топографические сценарии формирования кальцификатов моделировали при помощи корреляционного анализа.

Результаты

Выявлена значимая корреляция соотношения Са/Р в центре кальцификата с таковой в ближней и дальней окружностях как в клапанных ($r = 0,35-0,78$ в ближней окружности; $r = 0,63-0,69$ в дальней окружности), так и атеросклеротических ($r = 0,37-0,56$ в ближней окружности; $r = 0,48-0,63$ в дальней окружности) кальцификатах, что свидетельствует об иерархическом принципе формирования очагов кальцификации.

Заключение

Кальцификация в кальцинированных аортальных клапанах сердца и атеросклеротических бляшках развивается по концентрическому принципу (от центра к периферии).

Ключевые слова

Атеросклероз • Кальцинирующий аортальный стеноз • Минерализация • Кальцификация • Элементный анализ • Фосфат кальция

Поступила в редакцию: 29.05.2021; поступила после доработки: 04.06.2021; принята к печати: 21.07.2021

ELEMENTAL ANALYSIS OF VALVULAR AND ATHEROSCLEROTIC CALCIFICATION

L.A. Bogdanov¹, N.Yu. Osyayev¹, Yu.D. Bogdanova², R.A. Mukhamadiyarov¹, A.R. Shabaev¹,
A.V. Evtushenko¹, A.G. Kutikhin¹

Для корреспонденции: Лев Александрович Богданов, bogdanovleone@gmail.com; адрес: Сосновый бульвар, 6, Кемерово, Россия, 650002

Corresponding author: Leo A. Bogdanov, bogdanovleone@gmail.com; address: 6, Sosnoviy Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

¹ Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases", 6, Sosnoviy Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002; ² Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Kemerovo State University", 6, Krasnaya St., Kemerovo, Russian Federation, 650000

Highlights

- The lack of scientific data hinders understanding of morphological patterns of calcification. Deciphering the mechanism of morphological growth of calcification in the atherosclerotic plaque and the aortic valve leaflet will allow clinicians to advance the development of unified therapy aimed at successful treatment of calcifications of the cardiovascular system.

Aim	To analyze the topographic patterns of valvular and atherosclerotic calcification growth.
Methods	Dysfunctional aortic valves (n = 18) and atherosclerotic plaques (n = 20) were fixed in formalin, postfixed in 1% osmium tetroxide, consecutively stained by 2% osmium tetroxide and 2% uranyl acetate, and embedded into epoxy resin (Epon) with the further grinding and polishing of the samples. Upon the counterstaining by lead citrate and sputter coating with carbon, samples were visualized by backscattered scanning electron microscopy. Elemental analysis was conducted via energy-dispersive X-ray spectroscopy. Measurement of Ca/P ratio within the mineral deposits was carried out employing a pool table principle (i.e., in the center of the deposit, in the near and far circumferences (clockwise), and in control regions around the mineral deposit). Topographic patterns of calcifications were modeled using the correlation analysis.
Results	Significant correlation was revealed between the Ca/P ratio in the deposit center and in the near and far circumferences of deposit in both in valvular ($r = 0,35-0,78$ – near circumference; $r = 0,63-0,69$ – far circumference) and atherosclerotic mineral deposits ($r = 0,37-0,56$ – near circumference; $r = 0,48-0,63$ – far circumference), suggesting the hierarchical growth of cardiovascular calcification around the initial nucleation sites.
Conclusion	Valvular and atherosclerotic calcifications development is concentric.
Keywords	Atherosclerosis • Calcific aortic stenosis • Mineralization • Calcification • Elemental analysis • Calcium phosphate

Received: 29.05.2021; received in revised form: 04.06.2021; accepted: 21.07.2021

Введение

Патологические механизмы минерализации элементов сердечно-сосудистой системы гетерогенны и представляют собой предмет дискуссий на протяжении последних десятилетий. К примеру, макрокальцификация (более 100 мкм) неоинтимы играет положительную роль, сдерживая прогрессирование атеросклеротической бляшки [1], микрокальцификация (от 5 до 100 мкм) неоинтимы, напротив, нарушает целостность фиброзной покрышки и способствует нестабильности бляшки [1–3], а кальцификация меди в любом ее проявлении играет отрицательную роль, критически нарушая способность артерий реагировать на изменения артериального давления и приводя к их механической недостаточности [4]. В то же время кальцификация клапанов сердца носит сугубо негативный характер, препятствуя физиологическим движениям их створок и вызывая развитие аортального стеноза, как следствие приводящего к хронической сердечной недостаточности [5–7].

На протяжении долгого времени считалось, что патологическая минерализация сердечно-сосудистой

системы является пассивным дегенеративным процессом, однако последние исследования доказали обратное, при этом эктопическая кальцификация в сосудах и клапанах сердца протекает аналогично ортотопической оссификации в костной ткани [8, 9]. В ходе онтогенетического остеогенеза матриксные везикулы отделяются от плазматической мембраны остеобластов/остеоцитов и могут служить центрами нуклеации гидроксиапатита [10]. Матриксные везикулы сосудистых гладкомышечных клеток с остеохондрогенной дифференцировкой содержат кальций-связывающие аннексины A2, A5, A6 [11], а также щелочную фосфатазу, которая участвует в разложении пирофосфата, выступающего в роли ингибитора минерализации, и приводит к генерации свободных фосфат-анионов [7]. Ультраструктурные исследования продемонстрировали в стенке патологических сосудов и клапанов сердца матриксные везикулы, содержащие гидроксиапатит, что позволяет предположить их участие в формировании очага кальцификации [7, 12, 13].

Образующийся в результате действия щелочной фосфатазы неорганический фосфат активно

поглощается интерстициальными клетками клапанов через натрий-зависимый переносчик фосфатов Pit-1, после чего от клеток отделяются кальцифицирующиеся матриксные везикулы [14]. Сосудистые гладкомышечные клетки также играют ключевую роль в иницировании и регулировании кальцификации сосудов, выделяя при остеохондрогенной дифференцировке кальцифицирующиеся матриксные везикулы и экспрессируя специфические кальций-связывающие белки, синтез которых в норме ограничен костной тканью [15–17]. Остеохондрогенная дифференцировка сосудистых гладкомышечных клеток в нормальных физиологических условиях не происходит в результате регулирующего действия тканевых ингибиторов минерализации матриксного Gla-белка (MGP), Gla-богатого белка (GRP) и фетуина-А, связывающих избыточные ионы кальция и фосфора в микроокружении сосудистых гладкомышечных клеток [18]. Справедливым является и обратное утверждение – уровень внеклеточного кальция и фосфора ассоциирован с кальцификацией сосудов [19, 20].

Механизм химической трансформации фосфата кальция при формировании кальцификата *in vivo* изучен достаточно хорошо [21, 22], тогда как процесс морфологического развития кальцификата в литературе почти не описан. На данный момент имеются две основные теории: концентрическая (рост кальцификата из центра к периферии с выраженной корреляцией отношения содержания кальция к содержанию фосфора (Са/Р) от центра к периферии) [21, 22] и мультицентричная (множественные очаги кальцификации сливаются друг с другом, образуя единый кальцификат с неоднородным соотношением Са/Р в различных участках, неравномерно распределенных по всей площади кальцификата) [23–25].

Цель исследования – проанализировать релевантность каждой из представленных гипотез происходящему в нативных кальцинированных аортальных клапанах и атеросклеротических бляшках сценарию, используя элементный анализ и расчет соотношения кальция к фосфору в репрезентативных кальцификатах и их участках.

Материалы и методы

Получены нативные створки аортального клапана сердца ($n = 18$), удаленные при их протезировании по причине аортального стеноза или недостаточности, и атеросклеротические бляшки ($n = 20$), удаленные в ходе каротидной эндартерэктомии из-за гемодинамически значимого стеноза. Оба вида операций проведены в НИИ КПССЗ (Кемерово, Россия). До включения в исследование от всех пациентов получено письменное информированное согласие, протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом НИИ КПССЗ (№ ЛФАА-ЛБ-3 от 25.06.2019).

Эксплантированные створки аортального клапана и бляшки были промыты в физиологическом растворе и перенесены в забуференный 10% формалин (рН 7,4) (B06-003, ООО «БиоВитрум», Россия) для фиксации на 24 ч с однократной сменой формалина через первые 2 ч. На следующем этапе образцы постфиксировали в 1% тетраоксиде осмия (OsO₄, 19110, Electron Microscopy Sciences, США), приготовленном на 0,1М фосфатном буфере, в течение 12 ч и далее окрашивали 2% водным раствором тетраоксида осмия в течение 48 ч. На следующем этапе биоптаты обезживали в этаноле возрастающей концентрации (50, 60, 70, 80, 95%, по две 15-минутных смены в каждой из указанных концентраций). Далее биоптаты докрашивали 2% спиртовым раствором уранилацетата (22400-2, Electron Microscopy Sciences) в течение 5 ч, обезживали в изопропанол (06-002, ООО «БиоВитрум») в течение 5 ч и ацетоне (150495, АО «ЛенРеактив», Россия) в течение часа.

Затем образцы пропитывали смесью эпоксидной смолы Epon (14120, Electron Microscopy Sciences) и ацетона в соотношении 1:1 в течение 6 ч, чистой эпоксидной смолой в течение 24 ч и полимеризовали в свежей эпоксидной смоле при 60 °С в течение 24 ч. Получившиеся эпоксидные блоки шлифовали до поверхности образца и полировали на установке TegraPol-11 (Struers, Дания) с последовательным использованием шлифовальных дисков с диаметром зерна 9, 6 и 3 мкм. После полировки образцы контрастировали цитратом свинца по Рейнольдсу (17810, Electron Microscopy Sciences) в течение 15 мин путем нанесения раствора на отполированную поверхность блока. После отмытки в бидистиллированной воде на блоки наносили углеродное напыление толщиной в 10–15 нм с помощью вакуумного напылительного поста (EM ACE200, Leica, Австрия).

Визуализацию образцов производили методом сканирующей электронной микроскопии (Hitachi S-3400N, Hitachi, Япония) в режиме BSECOMP (обратно рассеянных электронов) при ускоряющем напряжении 15 кВ. Элементный анализ кальцификатов выполняли при помощи энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (XFlash 4010, Bruker, США). Анализ проводился также в режиме обратно рассеянных электронов в условиях высокого вакуума при ускоряющем напряжении 15 кВ.

Статистический анализ

Статистическую обработку полученных данных выполняли при помощи программы GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США). Корреляционный анализ производили с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Корреляцию считали значимой при значении коэффициента корреляции $r \geq 0,4$ и $p \leq 0,05$.

Результаты

При электронно-микроскопическом анализе выявлена массивная кальцификация как дисфункциональных аортальных клапанов, так и атеросклеротических бляшек. Особенностью кальцификации клапанов были множественные макрокальцификаты, распределенные по всей створке клапана (рис. 1, а), в то время как в подавляющем большинстве атеросклеротических бляшек отмечены лишь один или несколько крупных очагов кальцификации (рис. 1, b).

С целью определения механизма роста кальцификата в клапанах и бляшках измеряли элементный состав различных зон репрезентативных кальцификатов по схеме «бильярдного стола» (рис. 2). Соотношение Ca/P в различных участках кальцификатов аортального клапана варьировало от 1,85 до 3,43 по сравнению с кальцификатами бляшек, где наблюдали значения от 1,92 до 3,08. По результатам корреляционного анализа полученных данных в очагах и клапанной (рис. 3), и атеросклеротической

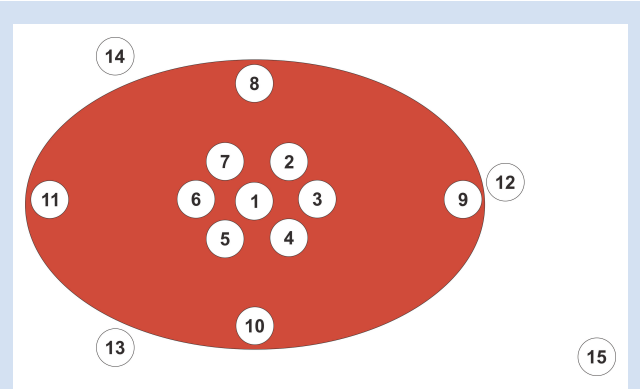


Рисунок 2. Схема проведения элементного анализа внутри одного кальцификата по типу «бильярдного стола»: 1–11 – участки внутри кальцификата (2–7 – ближняя окружность, 8–11 – дальняя окружность), 12–14 – контрольные участки вокруг кальцификата, 15 – контрольный участок вдали от кальцификата

Figure 2. Scheme of elemental analysis employing “pool table principal”. 1–11, regions within the mineral deposit (2–7, near circumference; 8–11, far circumference); 12–14, control regions around the mineral deposit; 15, a control region aside the mineral deposit

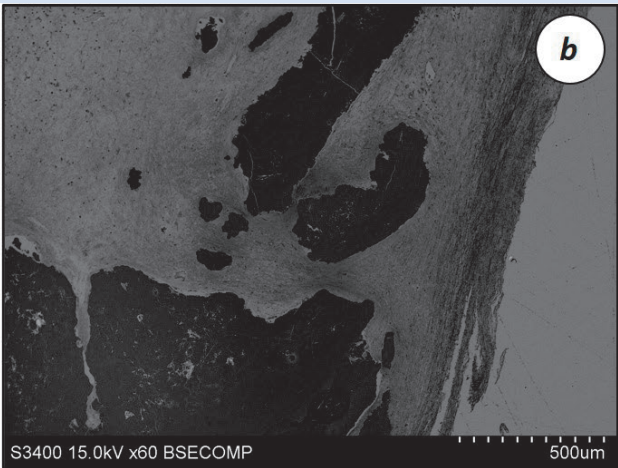
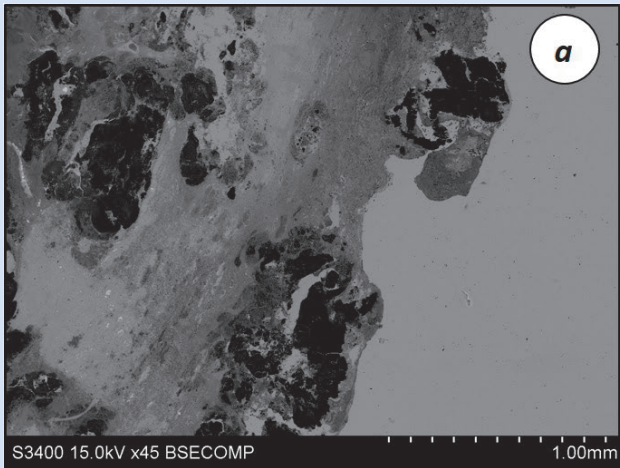


Рисунок 1. Кальцификаты: в составе кальцинированного аортального клапана, ув. × 45 (a); в составе атеросклеротической бляшки, ув. × 42 (b)
Figure 1. Calcifications in: (a) dysfunctional aortic valve, magnification 45×; (b) atherosclerotic plaque, magnification 42×

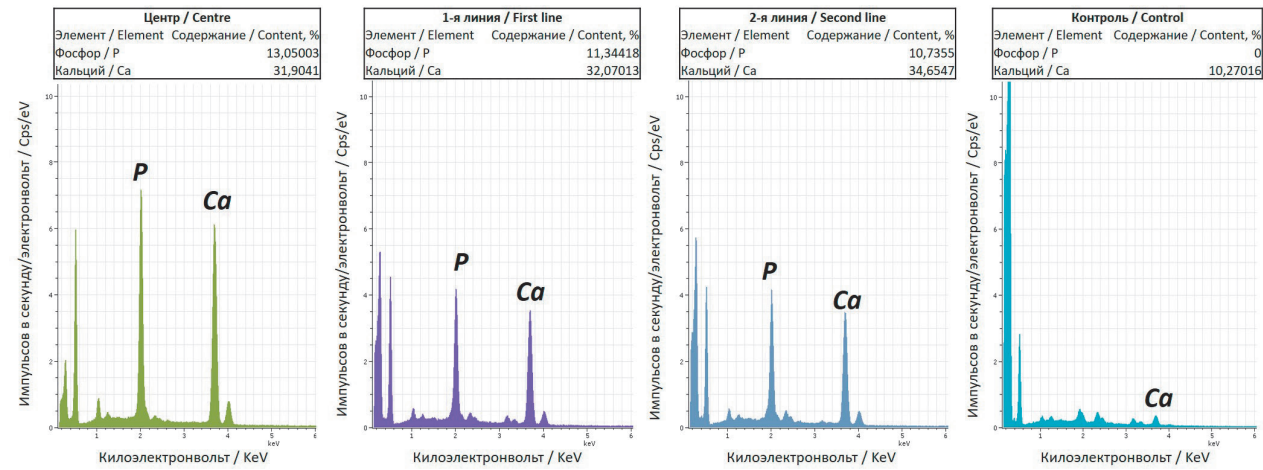


Рисунок 3. Репрезентативное соотношение Ca/P в центре, ближней и дальней окружностях клапанного кальцификата, а также контрольном участке возле кальцификата
Figure 3. Representative Ca/P ratio in the center, near circumference, and far circumference of the valvular calcification and adjacent control region

минерализации (рис. 4) выявлено увеличение соотношения Са/Р по мере удаления от центра кальцификата, свидетельствующее о меньшей зрелости фосфата кальция в периферических зонах. Соотношение Са/Р в центре клапанных кальцификатов коррелировало с таковым в участках ближней ($r = 0,35\text{--}0,78$) и дальней ($r = 0,63\text{--}0,69$) окружностей (таблица) и было выше, чем в атеросклеротических бляшках ($r = 0,37\text{--}0,56$, центр и ближняя окружность; $r = 0,48\text{--}0,63$, центр и дальняя окружность) (см. таблицу). Таким образом, созревание минерала от центра к периферии более выражено в клапанных кальцификатах по сравнению с атеросклеротическими, где оно протекает более равномерно. Кроме того, контрольные участки 12, 13 и 14 (см. рис. 2) в непосредственной близости к

кальцификату и в аортальном клапане (см. рис. 3), и в бляшке (см. рис. 4) содержали исключительно кальций, а не фосфор.

Обсуждение

Согласно данным литературы, терминальной стадией кальцификации является гидроксиапатит с соотношением Са/Р, равным 1,67 [26], однако кальцификаты в биологических тканях характеризуются существенной долей карбоната в составе фосфата кальция (к примеру, карбонат-гидроксиапатита, который также называется биоапатитом); помимо гидроксиапатита они также могут содержать дикальций фосфат и октакальций фосфат [27–30]. По этой причине метод энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии не позволяет идентифицировать

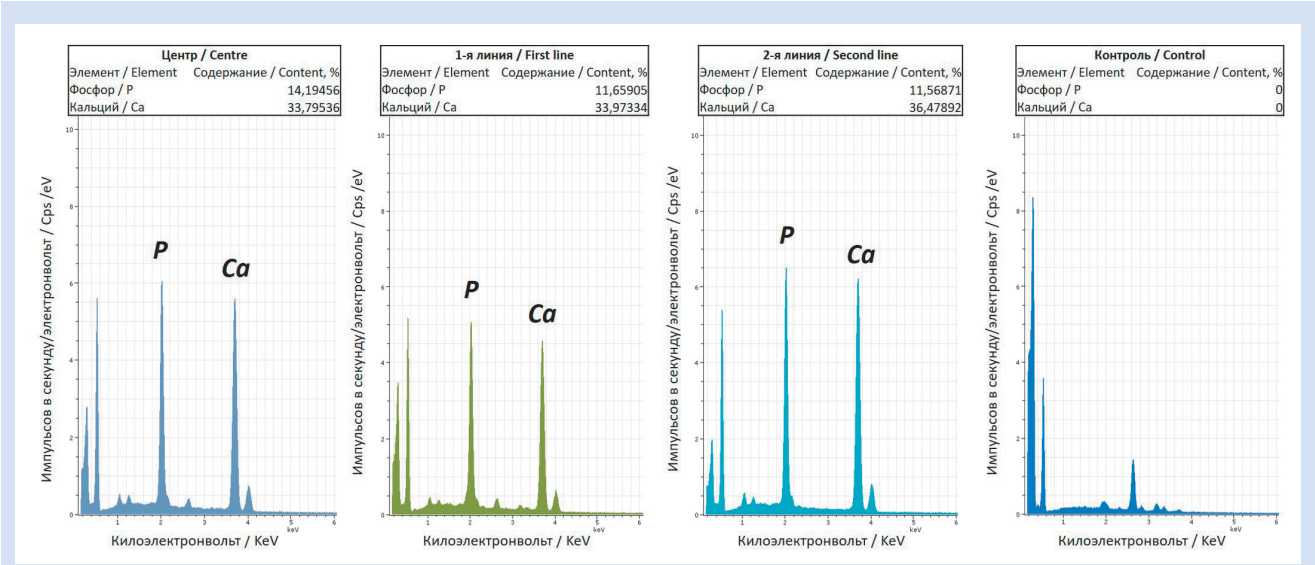


Рисунок 4. Репрезентативное соотношение Са/Р в центре, ближней и дальней окружностях атеросклеротического кальцификата, а также контрольном участке возле кальцификата
Figure 4. Representative Ca/P ratio in the center, near circumference, and far circumference of the atherosclerotic calcification and adjacent control region

Корреляция соотношения Са/Р в центре и различных участках атеросклеротических и клапанных кальцификатов, выбранных по схеме согласно рис. 2
Correlation (Spearman’s r) between the Ca/P ratio in the center of valvular calcifications and in hierarchically selected areas at their near circumference (2–7), far circumference (8–11) and control region (12)

Номер участка / Area number	Аортальные клапаны / Aortic valves		Атеросклеротические бляшки / Atherosclerotic plaques	
	коэффициент корреляции Спирмена / Spearman’s rank correlation coefficient	p	коэффициент корреляции Спирмена / Spearman’s rank correlation coefficient	p
2	0,355	0,148	0,374	0,104
3	0,566	0,014	0,499	0,025
4	0,690	0,002	0,52	0,019
5	0,645	0,004	0,556	0,011
6	0,785	0,001	0,442	0,051
7	0,219	0,383	0,135	0,569
8	0,248	0,321	0,083	0,729
9	0,690	0,002	0,633	0,003
10	0,347	0,158	0,481	0,032
11	0,638	0,004	0,28	0,232
12	–0,079	0,838	–0,206	0,384

точное количество и соотношение Са и Р в биоминералах, а следовательно, достоверно определить в них тип фосфата кальция. Как правило, дифференцировка фаз фосфата кальция осуществляется при помощи рентгеновской порошковой дифрактометрии, однако такой анализ требует предварительного сжигания ткани и поэтому не позволяет провести дифференциальный анализ в различных участках кальцификата [27].

По данным, полученным в ходе элементного анализа различных фаз фосфата кальция во время его созревания, трансформация фосфата кальция до гидроксиапатита происходит за 7–10 дней [25]. Более раннее исследование элементного состава кальцификатов 41 атеросклеротической бляшки с гемодинамически значимым стенозом (>60%) при помощи энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии показало, что почти две трети кальцификатов состоят из гидроксиапатита, еще треть – из оксалата кальция [31]. В эксперименте со сжиганием органического компонента биопротезов клапанов сердца и последующим элементным анализом продемонстрировано, что соотношение Са/Р в неорганическом компоненте соответствует гидроксиапатиту [32]. В целом длительность формирования кальцификатов в бляшках позволяет с достаточной долей уверенности предполагать преимущественное преобладание в них терминальной фазы фосфата кальция – гидроксиапатита.

Полученные в представленной работе результаты демонстрируют рост кальцификатов от центра к периферии как в кальцинированных аортальных клапанах сердца, так и атеросклеротических бляшках, что свидетельствует в пользу концентрической, а не мультицентричной теории роста минерала [21, 22]. Безусловно, нельзя исключать того, что в некоторых случаях эктопические кальцификаты в тканях

сердечно-сосудистой системы могут постепенно соединяться в один, однако сильная корреляционная связь соотношения Са/Р от центра к периферии свидетельствует об иерархическом порядке кальцификации вокруг ядер нуклеации, которыми в том числе могут служить секретируемые сосудистыми гладкомышечными клетками остеохондрогенного фенотипа матриксные везикулы [11].

Заключение

Кальцификация в кальцинированных аортальных клапанах сердца и атеросклеротических бляшках развивается по концентрическому принципу (от центра к периферии).

Конфликт интересов

Л.А. Богданов заявляет об отсутствии конфликта интересов. Н.Ю. Осяев заявляет об отсутствии конфликта интересов. Ю.Д. Богданова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Р.А. Мухамадияров заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Р. Шабаев заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.В. Евтушенко заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Г. Кутихин заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2019-0002 «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

Богданов Лев Александрович, младший научный сотрудник лаборатории фундаментальных аспектов атеросклероза отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-4124-2316

Осяев Николай Юрьевич, лаборант-исследователь лаборатории фундаментальных аспектов атеросклероза отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-5186-7873

Богданова Юлия Дмитриевна, магистрант 2-го курса института биологии, экологии и природных ресурсов федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный университет», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6607-1544

Author Information Form

Bogdanov Leo A., junior researcher at the Laboratory of Fundamental Aspects of Atherosclerosis, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-4124-2316

Osyayev Nikolay Yu., MD, research assistant at the Laboratory of Fundamental Aspects of Atherosclerosis, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-5186-7873

Bogdanova Yulia D., master student, Institute of Biology, Ecology, and Natural Resources, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kemerovo State University”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6607-1544

Мухамадияров Ринат Ахматович, кандидат биологических наук старший научный сотрудник лаборатории фундаментальных аспектов атеросклероза отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-5558-3229

Шаббаев Амин Рашитович, младший научный сотрудник лаборатории фундаментальных аспектов атеросклероза отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-9734-8462

Евтушенко Алексей Валерьевич, доктор медицинских наук заведующий лабораторией пороков сердца отдела хирургии сердца и сосудов федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-8475-4667

Кутихин Антон Геннадьевич, кандидат медицинских наук заведующий лабораторией фундаментальных аспектов атеросклероза отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-8679-4857

Mukhamadiyarov Rinat A., PhD, senior researcher at the Laboratory of Fundamental Aspects of Atherosclerosis, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-5558-3229

Shabaev Amin R., MD, junior researcher at the Laboratory of Fundamental Aspects of Atherosclerosis, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-9734-8462

Evtushenko Aleksey V., Ph.D., Head of the Laboratory of Valvular Heart Disease, Department of Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-8475-4667

Kutikhin Anton G., MD, PhD, Head of the Laboratory of Fundamental Aspects of Atherosclerosis, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-8679-4857

Вклад авторов в статью

БЛА – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

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

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

МРА – получение и интерпретация материала, внесение корректив в статью, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ШАР – получение и интерпретация материала, внесение корректив в статью, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ЕАВ – получение и интерпретация материала, внесение корректив в статью, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

КАГ – вклад в концепцию и дизайн исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Author Contribution Statement

BLA – contribution to the concept and design of the study, data collection and interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

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

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

MRA – data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

ShAR – data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

EAV – data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

KAG – contribution to the concept and design of the study, manuscript writing, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Shi X., Gao J., Lv Q., Cai H., Wang F., Ye R., Liu X. Calcification in Atherosclerotic Plaque Vulnerability: Friend or Foe? *Front Physiol.* 2020; 11: 56. doi: 10.3389/fphys.2020.00056.
2. Vengrenyuk Y., Carlier S., Xanthos S., Cardoso L., Ganatos P., Virmani R., Einav S., Gilchrist L., Weinbaum S. A hypothesis for vulnerable plaque rupture due to stress-induced debonding around cellular microcalcifications in thin fibrous caps. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103(40): 14678-83. doi: 10.1073/pnas.0606310103.
3. Kelly-Arnold A., Maldonado N., Laudier D., Aikawa E., Cardoso L., Weinbaum S. Revised microcalcification hypothesis

- for fibrous cap rupture in human coronary arteries. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013; 110(26): 10741-6. doi: 10.1073/pnas.1308814110.
4. Petsophonsakul P., Furmanik M., Forsythe R., Dweck M., Schurink G.W., Natour E., Reutelingsperger C., Jacobs M., Mees B., Schurgers L. Role of Vascular Smooth Muscle Cell Phenotypic Switching and Calcification in Aortic Aneurysm Formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019; 39(7): 1351-1368. doi: 10.1161/ATVBAHA.119.312787.
5. Halevi R., Hamdan A., Marom G., Lavon K., Ben-Zekry S., Raanani E., Haj-Ali R. A New Growth Model for

Aortic Valve Calcification. *J Biomech Eng.* 2018; 140(10). doi: 10.1115/1.4040338.

6. Lindman B.R., Clavel M.A., Mathieu P., Iung B., Lancellotti P., Otto C.M., Pibarot P. Calcific aortic stenosis. *Nat Rev Dis Primers.* 2016; 2: 16006. doi: 10.1038/nrdp.2016.6.

7. Di Vito A., Donato A., Presta I., Mancuso T., Brunetti F.S., Mastroberto P., Amorosi A., Malara N., Donato G. Extracellular Matrix in Calcific Aortic Valve Disease: Architecture, Dynamic and Perspectives. *Int J Mol Sci.* 202; 22(2): 913. doi: 10.3390/ijms22020913.

8. Demer L.L., Tintut Y. Inflammatory, metabolic, and genetic mechanisms of vascular calcification. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014; 34(4): 715-23. doi:10.1161/ATVBAHA.113.302070.

9. Massera D., Kizer J.R., Dweck M.R. Mechanisms of mitral annular calcification. *Trends Cardiovasc Med.* 2020 Jul;30(5):289-295. doi: 10.1016/j.tcm.2019.07.011

10. Shroff R.C., McNair R., Skepper J.N., Figg N., Schurgers L.J., Deanfield J., Rees L., Shanahan C.M. Chronic mineral dysregulation promotes vascular smooth muscle cell adaptation and extracellular matrix calcification. *J Am Soc Nephrol.* 2010; 21: 103–112. doi: 10.1681/ASN.2009060640.

11. Kapustin A.N., Chatrou M.L., Drozdov I., Zheng Y., Davidson S.M., Soong D., Furmanik M., Sanchis P., De Rosales R.T., Alvarez-Hernandez D., Shroff R., Yin X., Muller K., Skepper J.N., Mayr M., Reutelingsperger C.P., Chester A., Bertazzo S., Schurgers L.J., Shanahan C.M. Vascular smooth muscle cell calcification is mediated by regulated exosome secretion. *Circ Res.* 2015; 116(8): 1312-23. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.305012.

12. Mayr M., Grainger D., Mayr U., Leroyer A.S., Leseche G., Sidibe A., Herbin O., Yin X., Gomes A., Madhu B., Griffiths J.R., Xu Q., Tedgui A., Boulanger C.M. Proteomics, metabolomics, and immunomics on microparticles derived from human atherosclerotic plaques. *Circ Cardiovasc Genet.* 2009; 2: 379–388. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.108.842849.

13. New S.E., Goettsch C., Aikawa M., Marchini J.F., Shibasaki M., Yabusaki K., Libby P., Shanahan C.M., Croce K., Aikawa E. Macrophage-derived matrix vesicles: an alternative novel mechanism for microcalcification in atherosclerotic plaques. *Circ Res.* 2013; 113: 72–77. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.113.301036.

14. Cote N., El Hussein D., Pepin A., Guauque-Olarte S., Ducharme V., Bouchard-Cannon P., Audet A., Fournier D., Gaudreault N., Derbali H., McKee MD, Simard C., Després JP, Pibarot P., Bossé Y., Mathieu P. ATP acts as a survival signal and prevents the mineralization of aortic valve. *J Mol Cell Cardiol.* 2012; 52: 1191–202.

15. Durham A.L., Speer M.Y., Scatena M., Giachelli C.M., Shanahan C.M. Role of smooth muscle cells in vascular calcification: implications in atherosclerosis and arterial stiffness. *Cardiovasc. Res.* 2018; 114(4): 590-600. doi: 10.1093/cvr/cvy010.

16. Allahverdian S., Chaabane C., Boukais K., Francis G.A., Bochaton-Piallat M.L. Smooth muscle cell fate and plasticity in atherosclerosis. *Cardiovasc. Res.* 2018; 114(4): 540-550. doi: 10.1093/cvr/cvy022.

17. Chistiakov D.A., Orekhov A.N., Bobryshev Y.V. Vascular smooth muscle cell in atherosclerosis. *Acta Physiol. (Oxf).* 2015; 214(1): 33-50. doi: 10.1111/apha.12466.

18. Reynolds J.L., Skepper J.N., McNair R., Kasama T., Gupta K., Weissberg P.L., Jahnke-Dechent W., Shanahan C.M. Multifunctional roles for serum protein fetuin-a in inhibition of human vascular smooth muscle cell calcification. *J Am Soc Nephrol.* 2005; 16: 2920–2930. doi: 10.1681/ASN.2004100895.

19. Ambale-Venkatesh B., Yang X., Wu C.O., Liu K., Hundley W.G., McClelland R., Gomes A.S., Folsom A.R., Shea

S., Guallar E., Bluemke D.A., Lima J.A.C. Cardiovascular Event Prediction by Machine Learning: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Circ Res.* 2017; 121(9): 1092-1101. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311312.

20. Foley R.N., Collins A.J., Herzog C.A., Ishani A., Kalra P.A. Serum phosphorus levels associate with coronary atherosclerosis in young adults. *J Am Soc Nephrol.* 2009; 20(2): 397-404. doi: 10.1681/ASN.2008020141.

21. Chen J., Peacock J.R., Branch J., David Merryman W. Biophysical analysis of dystrophic and osteogenic models of valvular calcification. *J Biomech Eng* 2015; 137 (2): 020903. DOI: 10.1115/1.4029115.

22. Hutcheson J.D., Goettsch C., Bertazzo S., Maldonado N., Ruiz J.L., Goh W., Yabusaki K., Faits T., Bouten C., Franck G., Quillard T., Libby P., Aikawa M., Weinbaum S., Aikawa E. Genesis and growth of extracellular-vesicle-derived microcalcification in atherosclerotic plaques. *Nat Mater.* 2016; 15(3): 335-43. doi: 10.1038/nmat4519.

23. Burgmaier M., Milzi A., Dettori R., Burgmaier K., Marx N., Reith S. Co-localization of plaque macrophages with calcification is associated with a more vulnerable plaque phenotype and a greater calcification burden in coronary target segments as determined by OCT. *PLoS One.* 2018; 13(10): e0205984. doi: 10.1371/journal.pone.0205984.

24. Fuery M.A., Liang L., Kaplan F.S., Mohler E.R. 3rd. Vascular ossification: Pathology, mechanisms, and clinical implications. *Bone.* 2018; 109: 28-34. doi: 10.1016/j.bone.2017.07.006.

25. Carino A., Ludwig C., Cervellino A., Müller E., Testino A. Formation and transformation of calcium phosphate phases under biologically relevant conditions: Experiments and modelling. *Acta Biomater.* 2018; 74: 478-488. doi: 10.1016/j.actbio.2018.05.027.

26. Lee J.S., Morrisett J.D., Tung C.H. Detection of hydroxyapatite in calcified cardiovascular tissues. *Atherosclerosis.* 2012; 224(2): 340-7. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.07.023.

27. Cheng C.L., Chang H.H., Huang P.J., Wang W.C., Lin S.Y. Ex vivo assessment of valve thickness/ calcification of patients with calcific aortic stenosis in relation to in vivo clinical outcomes. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2017; 74: 324-332. doi: 10.1016/j.jmbbm.2017.06.020.

28. Cottignoli V., Relucenti M., Agrosi G., Cavarretta E., Familiari G., Salvador L., Maras A. Biological niches within human calcified aortic valves: towards understanding of the pathological biomineralization process. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 542687. doi: 10.1155/2015/542687.

29. Mangialardo S., Cottignoli V., Cavarretta E., Salvador L., Postorino P., Maras A. Pathological biominerals: raman and infrared studies of bioapatite deposits in human heart valves. *Appl Spectrosc.* 2012; 66(10): 1121-7. doi: 10.1366/12-06606.

30. Cottignoli V., Cavarretta E., Salvador L., Valfré C., Maras A. Morphological and chemical study of pathological deposits in human aortic and mitral valve stenosis: a biomineralogical contribution. *Patholog Res Int.* 2015; 2015: 342984. doi: 10.1155/2015/342984.

31. Bischetti S., Scimeca M., Bonanno E., Federici M., Anemona L., Menghini R., Casella S., Cardellini M., Ippoliti A., Mauriello A. Carotid plaque instability is not related to quantity but to elemental composition of calcification. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2017; 27(9): 768-774. doi: 10.1016/j.numecd.2017.05.006.

32. Pettenazzo E., Deiwick M., Thiene G., Molin G., Glasmacher B., Martignago F., Bottio T., Reul H., Valente M. Dynamic in vitro calcification of bioprosthetic porcine valves evidence of apatite crystallization. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2001; 121(3): 500-9. doi: 10.1067/mtc.2001.112464.

Для цитирования: Богданов Л.А., Осяев Н.Ю., Богданова Ю.Д., Мухамадияров Р.А., Шабаетв А.Р., Евтушенко А.В., Кутихин А.Г. Анализ топографических сценариев формирования очагов кальцификации в дисфункциональных клапанах сердца и атеросклеротических бляшках. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2021;10(3): 26-33. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-26-33

To cite: Bogdanov L.A., Osyayev N.Yu., Bogdanova Yu.D., Mukhamadiyarov R.A., Shabaev A.R., Evtushenko A.V., Kutikhin A.G. Elemental analysis of valvular and atherosclerotic calcification. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2021;10(3): 26-33. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-26-33



УДК 61

DOI 10.17802/2306-1278-2021-10-3-34-43

КЛЕТОЧНЫЕ ПЛАСТЫ НА ОСНОВЕ КАРДИАЛЬНЫХ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК ПРОДУЦИРУЮТ ПРОАНГИОГЕННЫЕ ФАКТОРЫ РОСТА И ОКАЗЫВАЮТ ЛОКАЛЬНОЕ СТИМУЛИРУЮЩЕЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ФОРМИРОВАНИЕ КАПИЛЛЯРОВ ПОСЛЕ ИНФАРКТА МИОКАРДА

К.В. Дергилев¹, З.И. Цоколаева^{1,2}, Ю.Д. Василец¹, И.Б. Белоглазова¹, Е.В. Парфенова^{1,3}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. 3-я Черепковская, 15а, Москва, Российская Федерация, 121552; ² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, д. Лыткарино, 777, Московская область, Российская Федерация, 140083; ³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Ленинские горы, 1, Москва, Российская Федерация, 119991

Основные положения

- Разработаны простейшие тканеинженерные конструкции на основе пластов клеток кардиосфер, которые формируют микроокружение, обеспечивающее сохранение жизнеспособности прогениторных клеток *in vitro* и *in vivo*.
- Сформированные клеточные пласты продуцируют проангиогенные факторы роста, секреция которых повышается в условиях гипоксии.
- Трансплантация клеточных пластов на эпикардальную поверхность сердца после инфаркта миокарда способствовала локальному повышению капилляризации зоны повреждения.

Актуальность	Использование тканеинженерных конструкций, моделирующих естественное микроокружение клеток, поддерживающих их жизнеспособность и функциональные свойства, является новым перспективным направлением лечения заболеваний ишемической природы. Однако механизмы, обеспечивающие эффективность такого вида лечения и условия выбора оптимальной популяции прогениторных клеток, остаются малоизученными.
Цель	Исследовать профиль секреции проангиогенных факторов роста клетками кардиосфер, формирующими клеточные пласты (КП), и влияние трансплантации конструкции на восстановление капилляров после инфаркта.
Материалы и методы	Для создания КП на основе клеток кардиосфер использованы чашки с термочувствительным покрытием. Характеристику КП выполняли с помощью иммунофлуоресцентного окрашивания и коммерческого набора для определения проангиогенных факторов Mouse Angiogenesis Antibody Array (R&D, США). Оценку ангиогенных свойств клеточного графта <i>in vivo</i> проводили на модели инфаркта миокарда у крыс.
Результаты	Обнаружено, что сформированные КП секретируют факторы, участвующие в регуляции васкуло- и ангиогенеза. При этом культивирование КП в условиях умеренной гипоксии (3% O ₂) приводило к повышению секреции проангиогенных факторов VEGF и PlGF, FGF1, FGF2, эндотелина 1, а также MMP9, регулирующей уровень VEGF и участвующей в ремоделировании внеклеточного матрикса. Трансплантация КП на эпикардальную поверхность сердца после инфаркта способствует сохранению жизнеспособности клеток и локальному повышению васкуляризации зоны повреждения.
Заключение	Использование КП на основе клеток кардиосфер, обладающих проангиогенными свойствами и возможностью поддерживать посттрансплантационную выживаемость клеток, может рассматриваться в качестве перспективного подхода для разработки новых средств лечения заболеваний сердца.
Ключевые слова	Кардиосферы • Клеточные пласты • Капиллярогенез

Поступила в редакцию: 01.07.2021; поступила после доработки: 13.08.2021; принята к печати: 02.09.2021

Для корреспонденции: Константин Владимирович Дергилев, doctorkote@gmail.com; адрес: ул. 3-я Черепковская, 15а, Москва, Россия, 121552

Corresponding author: Konstantin V. Dergilev, doctorkote@gmail.com, address: 3rd Cherepkovskaya St., 15a, Moscow, Russia, 121552

CARDIAC PROGENITOR CELL SHEETS SECRETE PROANGIOGENIC GROWTH FACTORS AND LOCALLY ACTIVATE CAPILLAROGENESIS AFTER INFARCTION

K.V. Dergilev¹, Z.I. Tsokolaeva^{1,2}, Yu.D. Vasilets¹, I.B. Beloglazova¹, E.V. Parfenova^{1,3}
¹ Federal State Budgetary Institution "National Medical Research Center of Cardiology" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 3rd Cherepkovskaya St., 15a, Moscow, Russian Federation, 121552; ² Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, 777, Lytkarino, Russian Federation, 140083; ³ Federal State Budget Educational Institution of Higher Education M.V.Lomonosov Moscow State University, 1, Leninskie gory, Moscow, Russian Federation, 119991

Highlights

- Constructing multilayered cell sheet structure resulted in a favorable microenvironment that ensures the viability and proliferation of progenitor cells *in vitro* and *in vivo*.
- Cardiosphere-derived cell sheets secrete multiple growth factors, and the levels of the proangiogenic activity are increasing under hypoxic conditions.
- Cell sheet transplantation on the epicardial surface of the heart after myocardial infarction ensures cell viability and local increase in capillarization of the damaged area.

Background

The application of tissue-engineered constructs that simulate the natural microenvironment of cells, maintain their viability and functional properties, is a new promising route for the treatment of ischemic diseases. However, the mechanisms that ensure the effectiveness of this type of treatment and the principles of choosing the optimal population of progenitor cells remain poorly understood.

Aim

To study the profile of secretion of proangiogenic growth factors of cardiosphere-derived cell sheet (CS), and to study the effect of their transplantation on postinfarction myocardial vascularization.

Methods

Assembly of cardiosphere-derived cell sheets were performed on thermosensitive culture plates. Characterization of cell sheets was performed using immunofluorescence staining and a commercial kit for the determination of proangiogenic factors "Mouse Angiogenesis Antibody Array". The evaluation of the angiogenic properties of the cell graft *in vivo* was carried out using a rat myocardial infarction model.

Results

It was found that the cardiosphere-derived cell sheet secrete factors involved in the regulation of vasculo-/angiogenesis. At the same time, the cultivation of cell sheets under hypoxic conditions (3% O₂) led to an increase in the secretion of proangiogenic factors VEGF and PIGF, FGF-1, FGF-2, endothelin-1, as well as MMP-9, which is involved in extracellular matrix remodeling. Cell sheet transplantation on the epicardial surface of the heart after myocardial infarction ensures cell viability and local increase in capillarization of the damaged area.

Conclusion

Thus, the application of cardiosphere-derived cell sheets, which have proangiogenic properties and ability to maintain post transplantation cell survival, can be considered as a promising approach for the development of new methods of therapy for heart diseases.

Keywords

Cardiosphere • Cell sheets • Capillarogenesis

Received: 01.07.2021; received in revised form: 13.08.2021; accepted: 02.09.2021

Список сокращений

КП – клеточные пласты

Введение

Ишемическая болезнь сердца и хроническая сердечная недостаточность многие годы служат ведущи-

ми причинами заболеваемости и смертности населения во всем мире [1]. Около половины пациентов с коронарной болезнью нуждаются в эндоваскулярной

или хирургической реваскуляризации миокарда. Однако для ряда больных существуют ограничения по использованию этих методов, связанные с диффузным поражением миокарда, патологией ствола левой коронарной артерии, многососудистым поражением или наличием сопутствующих заболеваний, что существенно повышает риск возникновения осложнений после вмешательства [2, 3]. В связи с этим внимание исследователей привлечено к разработке новых подходов, направленных на стимуляцию васкуляризации поврежденного сердца. Клинические исследования использования генной терапии на основе векторов, кодирующих проангиогенные факторы роста, показали ограниченную эффективность и невозможность длительного поддержания терапевтического эффекта [4, 5]. В связи с этим другой перспективной концепцией стало применение комбинации клеточной терапии и биоинженерных решений как способа лечения пациентов с ИБС и сердечной недостаточностью нового уровня [6, 7]. К ним относятся 3D-конструкции, созданные на основе комбинации прогениторных клеток и синтетического или нативного матрикса-носителя, которые обеспечивают пространственные межклеточные взаимодействия, образование градиента биологически активных соединений и кислорода [8, 9]. Особый интерес могут представлять конструкции (клеточные пласты (КП) по типу cell sheet), состоящие из слоев прогениторных клеток и наработанного ими внеклеточного матрикса [10–12]. Для их создания могут быть использованы клетки кардиальных сфероидов (кардиосфер), образованные гетерогенной популяцией прогениторных клеток миокарда, способные к мультипотентной дифференцировке и обладающие высокой паракринной активностью [6, 13]. Предполагается, что применение КП может обеспечить точное позиционирование трансплантата для локального воздействия на зону ишемии, позволит повысить выживаемость клеток, их секреторную активность, а также эффективность терапии.

Цель исследования – оценить профиль секреции проангиогенных факторов роста клетками кардиосфер, формирующими КП, и исследовать влияние трансплантации конструкции на восстановление капилляров после инфаркта миокарда.

Материалы и методы

Экспериментальные животные

Эксперименты проводили на самцах крыс линии Wistar и самцах мышей линии C57BL/6J (исследование секреции проангиогенных факторов роста), приобретенных в питомнике лабораторных животных «Пушино» (Пушино, Россия). Животных содержали в условиях вивария при свободном доступе к пище и воде в соответствии с требованиями ГОСТ. Эвтаназию проводили после ингаляционной наркотизации изоплюраном (Piramal Healthcare, Индия) методом дисло-

кации шейного отдела позвоночника. Все необходимые манипуляции выполняли в соответствии с Директивой № 2010/63/ЕС Европейского парламента и Совета Европейского Союза «О защите животных, использующихся для научных целей». Исследование одобрено этическим комитетом института экспериментальной кардиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Получение кардиосфер и формирование клеточных пластов

Для получения кардиосферообразующих клеток методом эксплантной культуры и сборки сфероидов использовали протокол, описанный ранее [14]. Для сборки КП суспензию клеток кардиосфер крысы высаживали на культуральные чашки (370 000 клеток /см² площади поверхности) Nunc™ Dishes with UpCell™ Surface (Thermo Scientific, США), имеющие термочувствительное покрытие, и культивировали в течение 72 ч в среде IMDM (Gibco, США), дополненной 5% фетальной бычьей сывороткой (ATCC, США), 100 ед/мл пенициллина и стрептомицина (Gibco). Для открепления полученных КП культуральные чашки помещали на хладагент и инкубировали при комнатной температуре, что приводило к спонтанному откреплению пласта.

Моделирование инфаркта миокарда и трансплантация клеток

Инфаркт миокарда был индуцирован перевязкой передней нисходящей коронарной артерии крыс Wistar по методу, описанному ранее [15]. Для трансплантации использовали КП, сформированные на основе клеток кардиосфер, помеченных флуоресцентным красителем CM Dil (Invitrogen, США) в соответствии с рекомендациями фирмы-изготовителя реагента. Трансплантацию КП проводили в соответствии с протоколом, описанным ранее [10, 12]. С помощью низкоадгезионной мембраны КП переносили на область ишемии, обеспечивая точное позиционирование и сохранение исходной адгезионной поверхности, а затем тщательно расправляли складки с помощью игольчатого пинцета. Для адгезии КП к эпикардальной поверхности сердца животных содержали на аппарате искусственной вентиляции легких в течение 30 мин, после чего проводили послойное ушивание раны. Животным контрольной группы выполняли моделирование ИМ без трансплантации КП. В каждой экспериментальной группе (группа контроля и трансплантации КП) было по 12 животных. Эвтаназию животных проводили на 3-й и 7-й дни после начала эксперимента.

Оценка секреции проангиогенных факторов роста

Для оценки проангиогенных факторов роста использовали коммерческий набор Mouse Angiogenesis

Antibody Array (R&D, США). Перед проведением эксперимента сформированные КП, собранные на основе клеток мыши, депривировали в бессывороточной среде IMDM (Gibco, США) в течение 12 ч. Далее КП промывали, заливали бессывороточную среду IMDM и инкубировали в условиях нормоксии (21% O₂) или гипоксии (3% O₂) в течение 48 ч. Полученные кондиционные среды центрифугировали (600g 10 мин) и использовали для анализа.

Гистологическая оценка клеточных пластов и капилляров в зоне повреждения

Замороженные криосрезы КП сердец фиксировали 3,7% параформальдегидом (20 мин) и промывали фосфатно-солевым буфером (5 мин). При оценке внутриклеточных маркеров дополнительно проводили обработку срезов 0,1% раствором Тритона X-100 (5 мин). Срезы миокарда блокировали раствором, содержащим 1% бычьего сывороточного альбумина, 10% сыворотки донора вторых антител в фосфатно-солевом буфере (30 мин). После этого криосрезы окрашивали антителами к белкам внеклеточного матрикса коллаген 1 (Abcam, США), коллаген 3 (Abcam), фибронектин (Abcam), коннексин 43 (Abcam), маркерам Ki-67 (Abcam), cleaved caspase-3 (Cell signaling, США), Pecam (CD31) (Becton Dickinson, США) в течение 1 ч, промывали и окрашивали антителами, конъюгированными с AlexaFluor 488, AlexaFluor 594 (Invitrogen, США; 1 ч при 37 °C). Для оценки локализации сформированных сосудов проводили иммуногистохимическое окрашивание антителами к Pecam (CD31) и реагентами из коммерческого набора ABC Elite kit (Vector lab, США). Анализ капилляризации зоны, расположенной около КП, проводили путем подсчета CD31-позитивных структур без просвета на 6–11 уровнях (шаг между уровнями 250 мкм). Представлены данные по числу капилляров в поле зрения.

Микроскопия и анализ изображений

Клетки и криосрезы миокарда анализировали на флуоресцентном микроскопе Zeiss AxioObserver A1 (Carl Zeiss, Германия) с программным обеспечением Axiovision 4.8 (Carl Zeiss).

Статистический анализ

Данные представлены в формате среднее значение ± стандартное отклонение. При анализе данных использовали U-критерий Манна – Уитни. Статистический анализ выполнен с применением программного пакета Statistica 8.0 (StatSoft, США).

Результаты

Проведенные исследования показали, что культивирование клеток кардиосфер на чашках с термочувствительным покрытием обеспечивает сборку многослойного КП и его последующее открепление

с сохранением структуры (рис. 1). Полученные конструкции состояли из 5–6 слоев клеток, формирующих коннексин 43-содержащие щелевые контакты и окруженных белками внеклеточного матрикса (коллаген 1, коллаген 3, фибронектин) (см. рис. 1, a–d). Около 5% клеток, преимущественно расположенных по краю конструкции, экспрессировали маркер пролиферации Ki-67 (см. рис. 1, e), что в совокупности с отсутствием маркеров апоптоза (активированная каспаза 3) (см. рис. 1, f) указывало

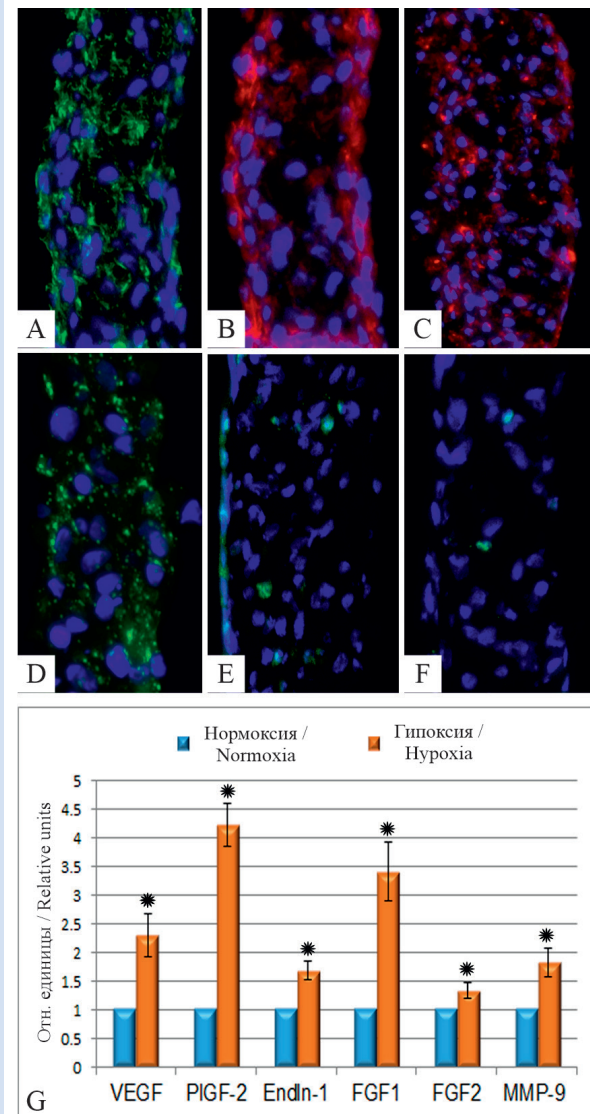


Рисунок 1. Характеристика КП, сформированного на основе клеток кардиосфер, *in vitro*. Репрезентативные изображения иммунофлуоресцентного окрашивания срезов КП антителами к маркерам: фибронектин (A, зеленый), коллаген 1 (B, красный), коллаген 3 (C, красный), коннексин 43 (D, зеленый), Ki-67 (E, зеленый), активированная форма каспазы 3 (F, зеленый); G – график количественной оценки проангиогенных факторов роста, секретируемых клетками КП в условиях нормо- и гипоксии; *p<0,05, M±SD, n = 3

Figure 1. Characteristics of cardiosphere-derived cell sheets *in vitro*. Representative images of immunofluorescent staining of sections of cell sheets with antibodies to markers: fibronectin (A, green), collagen 1 (B, red), collagen 3 (C, red), connexin-43 (D, green), Ki-67 (E, green), an activated form of caspase 3 (F, green); G – graph of quantitative assessment of proangiogenic growth factors secreted by CS cells under conditions of normoxia and hypoxia; *p<0.05, M±SD, n = 3

на сохранение жизнеспособности клеток в составе клеточной конструкции. Диаметр сформированной тканеинженерной конструкции составлял $1,37 \pm 0,26$ см ($M \pm SD$, $n = 5$). Средняя толщина – 98 ± 8 мкм ($M \pm SD$, $n = 7$).

Обнаружено, что сформированные КП секретируют факторы, участвующие в регуляции васкуло-ангиогенеза (см. рис. 1, g). При этом культивирование КП в условиях умеренной гипоксии (3% O_2) приводило к повышению секреции проангиогенно-

го фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), плацентарного фактора роста (PIGF), факторов роста фибробластов 1, 2 (FGF1, FGF2), эндотелина 1, а также матричной металлопротеиназы 9 (MMP9), участвующей в ремоделировании внеклеточного матрикса.

Для проверки проангиогенной активности КП выполнена трансплантация конструкции на эпикардальную поверхность сердца после экспериментального инфаркта миокарда у крысы. Исследование криосрезов сердец на 7-й день после трансплантации показало, что клеточный графт плотно прилежит к поверхности сердца (рис. 2). На 7-й день эксперимента положение конструкции сохранялось, наблюдались признаки перераспределения клеток и их миграции в направлении нижележащих слоев сердечной стенки. Показано, что клетки в составе КП сохраняют жизнеспособность и способны к делению (рис. 2, a, b). Обнаружено, что число пролиферирующих клеток (CM-DIL+ Ki-67+ клеток) составляло 18 ± 12 в поле зрения ($M \pm SD$, $n = 12$), при этом в составе клеточного графта выявлены единичные CM-DIL+ клетки, содержащие маркер апоптоза – активированную каспазу 3, что указывает на низкий уровень апоптоза в трансплантате при способности к пролиферации. Сохранение миграционной активности клеток, способности к пролиферации и низкий уровень апоптоза после трансплантации КП из клеток кардиосфер, вероятно, были обусловлены васкуляризацией клеточного графта. В составе КП обнаруживались сосудистые структуры, экспрессирующие маркер CD31 (см. рис. 2, b). При этом сформированные капилляры не коэкспрессировали два маркера CM Dil и CD31, что косвенно указывает на прорастание эндогенных сосудов в клеточный графт, вероятно, за счет секреции клетками пласта ангиогенных факторов.

Морфометрические исследования показали, что интенсивное формирование сосудистых структур происходит не только в составе клеточного графта, но и зонах, расположенных в непосредственной близости от места трансплантации. После трансплантации КП плотность сосудов была в 3 раза выше в нижележащих слоях сердечной стенки, расположенных в непосредственной близости от клеточного графта, в сравнении с сердцами животных контрольной группы (см. рис. 2, d). При этом достоверных различий по содержанию сосудов в удаленных перинфарктных областях у животных обеих групп не выявлено, что указывает на локальное специфическое воздействие трансплантата.

Обсуждение

Сохранение выживаемости и возможность интеграции трансплантированных клеток являются наиболее важными факторами, обеспечивающими эффективность клеточной терапии [16]. В большинстве

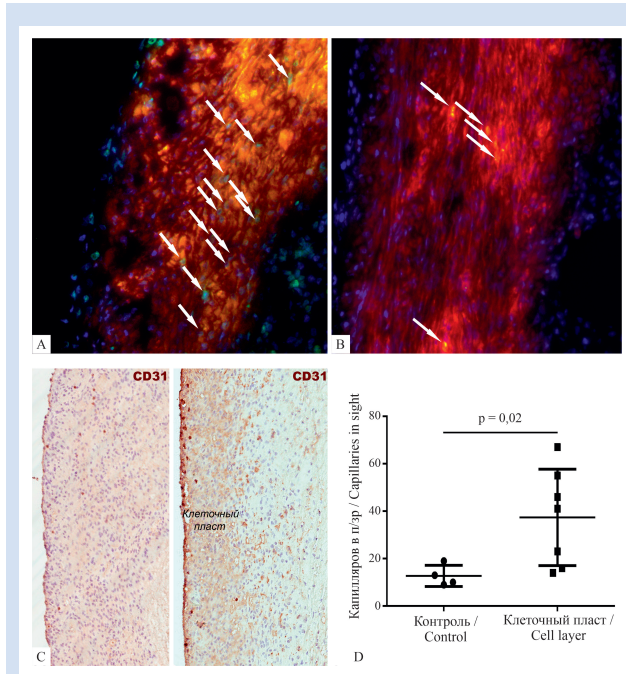


Рисунок 2. Характеристика КП, сформированных на основе клеток кардиосфер, после трансплантации на эпикардальную поверхность сердца крысы после экспериментального инфаркта. *A* – репрезентативные изображения окрашивания криосрезов сердца крысы (после трансплантации КП) антителами к маркеру Ki-67 (зеленый); клетки КП помечены красным флуоресцентным красителем CM Dil, стрелки указывают на Ki-67+ клетки в составе КП. *B* – репрезентативные изображения окрашивания криосрезов сердца крысы (после трансплантации КП) антителами к активированной каспазе 3 (зеленый); клетки КП помечены красным флуоресцентным красителем CM Dil, стрелки указывают на Ki-67+ клетки в составе КП. *C* – репрезентативные изображения окрашивания криосрезов сердца (контроль (слева), сердце после трансплантации КП (справа)) антителами к эндотелиальному маркеру CD31 (коричневый). *D* – график количественной оценки числа капилляров в области трансплантации КП и контрольных сердцах на 7-й день после моделирования инфаркта миокарда у крысы

Figure 2. Characteristics of cardiosphere-derived cell sheets after transplantation onto epicardial surface of the infarcted rat heart. *A* – Representative images of staining of cryosections of the rat heart (after CS transplantation) with antibodies to the Ki67 marker (green). The cells of the cell sheet are labeled with the red fluorescent dye CM Dil. Arrows indicate Ki67+ cells within the CS. *B* – Representative images of staining of rat heart cryosections (after CS transplantation) with antibodies to cleaved caspase 3 (green). The cells of the cell sheet are labeled with the red fluorescent dye CM Dil. Arrows indicate Ki67+ cells in the CP. *C* – Representative images of the staining of cryosections of the heart (control (left), heart after transplantation of CS (right)) with antibodies to the endothelial marker CD31 (brown). *D* – graph of the quantitative assessment of the number of capillaries in the area of CS transplantation and control hearts on day 7 after modeling myocardial infarction in a rat

исследований доставка клеток в миокард осуществлена с помощью интрамиокардиальных или интракоронарных инъекций, которые обеспечивают низкий уровень посттрансплантационной выживаемости и снижение терапевтической активности клеток вследствие отсутствия специфического микроокружения, контролирующего их функции [17, 18]. Область инфаркта характеризуется низким содержанием кислорода, содержит высокий уровень факторов воспаления, измененное соотношение компонентов внеклеточного матрикса и увеличенные показатели жесткости, что нарушает жизнеспособность трансплантированных клеток и приводит к их гибели в течение первых нескольких дней после трансплантации [19, 20]. В связи с этим возникает необходимость в создании «платформы», способной длительно поддерживать жизнеспособность, фенотипические и функциональные характеристики клеток. Относительно простым и доступным решением может служить их трансплантация в составе простейших тканеинженерных конструкций в виде КП (по типу cell sheet). В период сборки КП формируется трехмерное микроокружение, нарабатываются белки внеклеточного матрикса, развиваются межклеточные контакты, воссоздаются принципы метаболического и секреторного регулирования. Это способствует специализированному перераспределению клеток разных типов и поддержанию их жизнеспособности как в условиях *in vitro*, так и *in vivo*.

Заключение

Обнаружено, что сформированные КП продуцируют широкий спектр факторов, участвующих в ангиогенезе и, что немаловажно, их продукция существенно возрастает при гипоксии, т. е. в условиях, имитирующих микроокружение после трансплантации. Это можно объяснить стабилизацией в условиях гипоксии фактора, индуцируемого гипоксией, – HIF (hypoxia-induced factor), который способен активировать транскрипцию генов-мишеней, среди которых VEGF, PlGF, ангиопоэтин 1

(ANGPT1), ANGPT2, фактор 1 стромального происхождения (SDF1) и фактор роста тромбоцитов В (PDGFB) [21–24]. Вероятно, создание градиента проангиогенных факторов роста после трансплантации КП может служить стимулом для активации сохраненных эндотелиальных клеток и мобилизации гетерогенной популяции ангиогенных прогениторных клеток, что обеспечивает ремоделирование и сборку сосудов в зоне повреждения [25–28].

Отдельный вклад в этот процесс могут вносить экзосомы, высвобождаемые клетками кардиосфер. В ранее проведенных исследованиях Е. Marbán и соавт. введение экзосом в миокард мышей с инфарктом усиливало васкуляризацию зоны повреждения, увеличивало долю жизнеспособного миокарда, подавляло воспаление, способствовало пролиферации кардиомиоцитов и восстановлению функции сердца [29]. Все это делает КП на основе клеток кардиосфер, секретирующие ростовые факторы и внеклеточные везикулы, крайне привлекательным «инструментом» создания новых методов лечения заболеваний сердца [29–31]. С учетом данных о том, что для образования КП могут быть использованы клетки из постмортального сердца [32, 33], сохраняющие регенеративные свойства после трансплантации, открываются перспективы создания аллогенных биомедицинских клеточных продуктов.

Конфликт интересов

К.В. Дергилев заявляет об отсутствии конфликта интересов. З.И. Цоколаева заявляет об отсутствии конфликта интересов. Ю.Д. Василец заявляет об отсутствии конфликта интересов. И.Б. Белоглазова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.В. Парфенова заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ 18-015-00430 и РНФ 17-15-01368П (характеристика клеточных пластов *in vitro*).

Информация об авторах

Дергилев Константин Владимирович, кандидат медицинских наук ведущий научный сотрудник лаборатории ангиогенеза института экспериментальной кардиологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; ORCID 0000-0003-2712-4997

Цоколаева Зоя Ивановна, кандидат биологических наук старший научный сотрудник лаборатории ангиогенеза института экспериментальной кардиологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

Author Information Form

Dergilev Konstantin V., PhD, Leading Researcher at the Laboratory of Angiogenesis, Institute of Experimental Cardiology, Federal State Budgetary Institution “National Medical Research Center of Cardiology” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; ORCID 0000-0003-2712-4997

Tsokolaeva Zoya I., PhD, Senior Researcher at the Laboratory of Angiogenesis, Institute of Experimental Cardiology, Federal State Budgetary Institution “National Medical Research Center of Cardiology” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; Leading Researcher at the Laboratory of Experimental Research, V. A. Negovsky

Москва, Российская Федерация; ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальных исследований научно-исследовательского института общей реаниматологии имени В.А. Неговского федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации; **ORCID** 0000-0003-2441-6062

Василец Юлия Дмитриевна, лаборант-исследователь лаборатории ангиогенеза института экспериментальной кардиологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6367-3785

Белоглазова Ирина Борисовна, кандидат биологических наук старший научный сотрудник лаборатории ангиогенеза института экспериментальной кардиологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-2345-3681

Парфенова Елена Викторовна, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор руководитель лаборатории ангиогенеза, директор института экспериментальной кардиологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; заведующая лабораторией постгеномных технологий в медицине факультета фундаментальной медицины федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0969-5780

Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology of the Ministry of Health of the Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-2441-6062

Vasilets Yulia D., Laboratory Assistant at the Laboratory of Angiogenesis, Institute of Experimental Cardiology, Federal State Budgetary Institution “National Medical Research Center of Cardiology” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6367-3785

Beloglazova Irina B., PhD, Senior Researcher at the Laboratory of Angiogenesis, Institute of Experimental Cardiology, Federal State Budgetary Institution “National Medical Research Center of Cardiology” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-2345-3681

Parfenova Elena V., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, PhD, Professor, Head of the Laboratory of Angiogenesis, Institute of Experimental Cardiology, Federal State Budgetary Institution “National Medical Research Center of Cardiology” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; Head of the Laboratory of Postgenomic Technologies in Medicine, Faculty of Fundamental Medicine, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0969-5780

Вклад авторов в статью

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

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

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

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

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

Author Contribution Statement

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

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tomasoni D., Adamo M., Anker M.S., von Haehling S., Coats A.J.S., Metra M. Heart failure in the last year: progress and perspective. *ESC Heart Fail.* 2020;7(6):3505-30. doi: 10.1002/ehf2.13124.
2. Fattouch K., Guccione F. The Role of Surgical Treatment of Severe Functional Mitral Regurgitation in Heart Failure. *Cardiol Clin.* 2021;39(2):185-188. doi: 10.1016/j.ccl.2021.01.012.

3. Hetzer R., Javier M.F.D.M., Wagner F., Loebe M., Javier Delmo E.M. Organ-saving surgical alternatives to treatment of heart failure. *Cardiovasc Diagn Ther.* 2021;11(1):213-225. doi: 10.21037/cdt-20-285.
4. Korpela H., Järveläinen N., Siimes S., Lampela J., Airaksinen J., Valli K., Turunen M., Pajula J., Nurro J., Ylä-Herttua S. Gene therapy for ischaemic heart disease and heart

failure. *J Intern Med.* 2021;290(3):567-582. doi: 10.1111/joim.13308.

5. Zachary I., Morgan R.D. Therapeutic angiogenesis for cardiovascular disease: biological context, challenges, prospects. *Heart.* 2011;97(3):181-9. doi: 10.1136/hrt.2009.180414.

6. Дергилев К.В., Василец Ю.Д., Цоколаева З.И., Зубкова Е.С., Парфенова Е.В. Перспективы клеточной терапии инфаркта миокарда и сердечной недостаточности на основе клеток кардиосфер. *Терапевтический архив.* 2020;92(4):111-120. doi: 10.26442/00403660.2020.04.000634.

7. Mancuso A., Barone A., Cristiano M.C., Cianflone E., Fresta M., Paolino D. Cardiac Stem Cell-Loaded Delivery Systems: A New Challenge for Myocardial Tissue Regeneration. *Int J Mol Sci.* 2020;21(20):7701. doi: 10.3390/ijms21207701.

8. Wang L., Serpooshan V., Zhang J. Engineering Human Cardiac Muscle Patch Constructs for Prevention of Post-infarction LV Remodeling. *Front Cardiovasc Med.* 2021;8:621781. doi: 10.3389/fcvm.2021.621781.eCollection 2021.

9. Wu X., Wu S., Kawashima H., Hara H., Ono M., Gao C., Wang R., Lunardi M., Sharif F., Wijns W., Serruys P.W., Onuma Y. Current perspectives on bioresorbable scaffolds in coronary intervention and other fields. *Expert Rev Med Devices.* 2021;18(4):351-365. doi: 10.1080/17434440.2021.1904894.

10. Dergilev K.V., Shevchenko E.K., Tsokolaeva Z.I., Beloglazova I.B., Zubkova E.S., Boldyreva M.A., Menshikov M.Y., Ratner E.I., Penkov D., Parfyonova Y.V. Cell Sheet Comprised of Mesenchymal Stromal Cells Overexpressing Stem Cell Factor Promotes Epicardium Activation and Heart Function Improvement in a Rat Model of Myocardium Infarction. *Int J Mol Sci.* 2020;21(24):9603. doi: 10.3390/ijms21249603.

11. Boldyreva M.A., Shevchenko E.K., Molokotina Y.D., Makarevich P.I., Beloglazova I.B., Zubkova E.S., Dergilev K.V., Tsokolaeva Z.I., Penkov D., Hsu M.N., Hu Y.C., Parfyonova Y.V. Transplantation of Adipose Stromal Cell Sheet Producing Hepatocyte Growth Factor Induces Pleiotropic Effect in Ischemic Skeletal Muscle. *Int J Mol Sci.* 2019;20(12):3088. doi: 10.3390/ijms20123088.

12. Dergilev K., Tsokolaeva Z., Makarevich P., Beloglazova I., Zubkova E., Boldyreva M. E., Ratner E., Dyikanov D., Menshikov M., Ovchinnikov A., Ageev F. Parfyonova Ye. C-Kit Cardiac Progenitor Cell Based Cell Sheet Improves Vascularization and Attenuates Cardiac Remodeling following Myocardial Infarction in Rats. *Biomed Res Int.* 2018;2018:3536854. doi: 10.1155/2018/3536854.

13. Ashur C., Frishman W.H. Cardiosphere-Derived Cells and Ischemic Heart Failure. *Cardiol Rev.* 2018;26(1):8-21. doi: 10.1097/CRD.0000000000000173.

14. Дергилев К.В., Василец Ю.Д., Цоколаева З.И., Парфенова Е.В. Трансформирующий фактор роста бета 1 (TGF- β 1) регулирует сборку кардиальных сфероидов. *Клеточные технологии в биологии и медицине.* 2020;4:262-266. doi: 10.47056/1814-3490-2020-4-262-266.

15. Traktuev D.O., Tsokolaeva Z.I., Shevelev A.A., Talitskiy K.A., Stepanova V.V., Johnstone B.H., Rahmat-Zade T.M., Kapustin A.N., Tkachuk V.A., March K.L., Parfyonova Y.V. Urokinase gene transfer augments angiogenesis in ischemic skeletal and myocardial muscle. *Mol Ther.* 2007;15(11):1939-46. doi: 10.1038/sj.mt.6300262.

16. Grunewald M., Avraham I., Dor Y., Bachar-Lustig E., Itin A., Jung S., Chimenti S., Landsman L., Abramovitch R., Keshet E. VEGF-induced adult neovascularization: recruitment, retention, and role of accessory cells. *Cell.* 2006;124(1):175-89. doi: 10.1016/j.cell.2005.10.036.

17. Liu Z., Mikrani R., Zubair H.M., Taleb A., Naveed M., Baig M.M.F.A., Zhang Q., Li C., Habib M., Cui X., Sembatya K.R., Lei H., Zhou X. Systemic and local delivery of mesenchymal stem cells for heart renovation: Challenges and innovations. *Eur J Pharmacol.* 2020;876:173049. doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173049.

18. Hematti P. Role of Extracellular Matrix in Cardiac Cellular Therapies. *Adv Exp Med Biol.* 2018;1098:173-188. doi: 10.1007/978-3-319-97421-7_9.

19. Beliën H., Evens L., Hendriks M., Bito V., Bronckers A. Combining stem cells in myocardial infarction: The road to superior repair? *Med Res Rev.* 2021 Jun 11. doi: 10.1002/med.21839. Online ahead of print.

20. Zhang M., Methot D., Poppa V., Fujio Y., Walsh K., Murry C.E. Cardiomyocyte grafting for cardiac repair: graft cell death and anti-death strategies. *J Mol Cell Cardiol.* 2001;33(5):907-21. doi: 10.1006/jmcc.2001.1367.

21. Zimna A., Kurpisz M. Hypoxia-Inducible Factor-1 in Physiological and Pathophysiological Angiogenesis: Applications and Therapies. *Biomed Res Int.* 2015;2015:549412. doi: 10.1155/2015/549412.

22. Kelly B.D., Hackett S.F., Hirota K., Oshima Y., Cai Z., Berg-Dixon S., Rowan A., Yan Z., Campochiaro P.A., Semenza G.L. Cell type-specific regulation of angiogenic growth factor gene expression and induction of angiogenesis in nonischemic tissue by a constitutively active form of hypoxia-inducible factor 1. *Circ Res.* 2003;93(11):1074-81. doi: 10.1161/01.RES.0000102937.50486.1B.

23. Ceradini D.J., Kulkarni A.R., Callaghan M.J., Tepper O.M., Bastidas N., Kleinman M.E., Capla J.M., Galiano R.D., Levine J.P., Gurtner G.C. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1. *Nat Med.* 2004;10(8):858-64. doi: 10.1038/nm1075.

24. Simon M.P., Tournaire R., Pouyssegur J. The angiopoietin-2 gene of endothelial cells is up-regulated in hypoxia by a HIF binding site located in its first intron and by the central factors GATA-2 and Ets-1. *J Cell Physiol.* 2008;217(3):809-18. doi: 10.1002/jcp.21558.

25. Takahashi T., Kalka C., Masuda H., Chen D., Silver M., Kearney M., Magner M., Isner J.M., Asahara T. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med.* 1999;5(4):434-8. doi: 10.1038/7434.

26. Kinnaird T., Stabile E., Burnett M.S., Epstein S.E. Bone-marrow-derived cells for enhancing collateral development: mechanisms, animal data, and initial clinical experiences. *Circ Res.* 2004;95(4):354-63. doi: 10.1161/01.RES.0000137878.26174.66.

27. Grant M.B., May W.S., Caballero S., Brown G.A., Guthrie S.M., Mames R.N., Byrne B.J., Vaught T., Spoerri P.E., Peck A.B., Scott E.W. Adult hematopoietic stem cells provide functional hemangioblast activity during retinal neovascularization. *Nat Med.* 2002;8(6):607-12. doi: 10.1038/nm0602-607.

28. Rehman J., Li J., Orschell C.M., March K.L. Peripheral blood "endothelial progenitor cells" are derived from monocyte/macrophages and secrete angiogenic growth factors. *Circulation.* 2003;107(8):1164-9. doi: 10.1161/01.cir.0000058702.69484.a0.

29. Ibrahim A.G., Cheng K., Marbán E. Exosomes as critical agents of cardiac regeneration triggered by cell therapy. *Stem Cell Reports.* 2014;2(5):606-19. doi: 10.1016/j.stemcr.2014.04.006.

30. Hirai K., Ousaka D., Fukushima Y., Kondo M., Eitoku T., Shigemitsu Y., Hara M., Baba K., Iwasaki T., Kasahara S., Ohtsuki S., Oh H. Cardiosphere-derived exosomal microRNAs for myocardial repair in pediatric dilated cardiomyopathy. *Sci Transl Med.* 2020 Dec 9;12(573):eabb3336. doi: 10.1126/scitranslmed.abb3336.

31. Bittle G.J., Morales D., Pietris N., Parchment N., Parsell D., Peck K., Deatricks K.B., Rodriguez-Borlado L., Smith R.R., Marbán L., Kaushal S. Exosomes isolated from human cardiosphere-derived cells attenuate pressure overload-induced right ventricular dysfunction. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2021; 162(3):975-986.e6. doi: 10.1016/j.jtcvs.2020.06.154.

32. Malliaras K., Li T.S., Luthringer D., Terrovitis J., Cheng K., Chakravarty T., Galang G., Zhang Y., Schoenhoff F., Van Eyk J., Marbán L., Marbán E. Safety and efficacy of allogeneic

cell therapy in infarcted rats transplanted with mismatched cardiosphere-derived cells. *Circulation*. 2012;125(1):100-12. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.042598.

33. Chakravarty T., Henry T.D., Kittleson M., Lima J., Siegel R.J., Slipczuk L., Pogoda J.M., Smith R.R., Malliaras K., Marbán L., Ascheim D.D., Marbán E., Makkar R.R. Allogeneic

cardiosphere-derived cells for the treatment of heart failure with reduced ejection fraction: the Dilated cardiomyopathy Intervention with Allogeneic Myocardially-regenerative Cells (DYNAMIC) trial. *EuroIntervention*. 2020;16(4):e293-e300. doi: 10.4244/EIJ-D-19-00035.

REFERENCES

1. Tomasoni D., Adamo M., Anker M.S., von Haehling S., Coats A.J.S., Metra M. Heart failure in the last year: progress and perspective. *ESC Heart Fail*. 2020;7(6):3505-30. doi: 10.1002/ehf2.13124.

2. Fattouch K., Guccione F. The Role of Surgical Treatment of Severe Functional Mitral Regurgitation in Heart Failure. *Cardiol Clin*. 2021;39(2):185-188. doi: 10.1016/j.ccl.2021.01.012.

3. Hetzer R., Javier M.F.D.M., Wagner F., Loebe M., Javier Delmo E.M. Organ-saving surgical alternatives to treatment of heart failure. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2021;11(1):213-225. doi: 10.21037/cdt-20-285.

4. Korpela H., Järveläinen N., Siimes S., Lampela J., Airaksinen J., Valli K., Turunen M., Pajula J., Nurro J., Ylä-Herttua S. Gene therapy for ischaemic heart disease and heart failure. *J Intern Med*. 2021;290(3):567-582. doi: 10.1111/joim.13308.

5. Zachary I., Morgan R.D. Therapeutic angiogenesis for cardiovascular disease: biological context, challenges, prospects. *Heart*. 2011;97(3):181-9. doi: 10.1136/hrt.2009.180414.

6. Dergilev K.V., Vasilets Iu.D., Tsokolaeva Z.I., et al. Perspectives of cell therapy for myocardial infarction and heart failure based on cardiosphere cells. *Therapeutic Archive*. 2020; 92 (4): 111–120 (in Russian). doi: 10.26442/00403660.2020.04.000634.

7. Mancuso A., Barone A., Cristiano M.C., Cianflone E., Fresta M., Paolino D. Cardiac Stem Cell-Loaded Delivery Systems: A New Challenge for Myocardial Tissue Regeneration. *Int J Mol Sci*. 2020;21(20):7701. doi: 10.3390/ijms2107701.

8. Wang L., Serpooshan V., Zhang J. Engineering Human Cardiac Muscle Patch Constructs for Prevention of Post-infarction LV Remodeling. *Front Cardiovasc Med*. 2021;8:621781. doi: 10.3389/fcvm.2021.621781. eCollection 2021.

9. Wu X., Wu S., Kawashima H., Hara H., Ono M., Gao C., Wang R., Lunardi M., Sharif F., Wijns W., Serruys P.W., Onuma Y. Current perspectives on bioresorbable scaffolds in coronary intervention and other fields. *Expert Rev Med Devices*. 2021;18(4):351-365. doi: 10.1080/17434440.2021.1904894.

10. Dergilev K.V., Shevchenko E.K., Tsokolaeva Z.I., Beloglazova I.B., Zubkova E.S., Boldyreva M.A., Menshikov M.Y., Ratner E.I., Penkov D., Parfyonova Y.V. Cell Sheet Comprised of Mesenchymal Stromal Cells Overexpressing Stem Cell Factor Promotes Epicardium Activation and Heart Function Improvement in a Rat Model of Myocardium Infarction. *Int J Mol Sci*. 2020;21(24):9603. doi: 10.3390/ijms21249603.

11. Boldyreva M.A., Shevchenko E.K., Molokotina Y.D., Makarevich P.I., Beloglazova I.B., Zubkova E.S., Dergilev K.V., Tsokolaeva Z.I., Penkov D., Hsu M.N., Hu Y.C., Parfyonova Y.V. Transplantation of Adipose Stromal Cell Sheet Producing Hepatocyte Growth Factor Induces Pleiotropic Effect in Ischemic Skeletal Muscle. *Int J Mol Sci*. 2019;20(12):3088. doi: 10.3390/ijms20123088.

12. Dergilev K., Tsokolaeva Z., Makarevich P., Beloglazova I., Zubkova E., Boldyreva M. E., Ratner E., Dyikanov D., Menshikov M., Ovchinnikov A., Ageev F. Parfyonova Ye. C-Kit Cardiac Progenitor Cell Based Cell Sheet Improves Vascularization and Attenuates Cardiac Remodeling following Myocardial Infarction in Rats. *Biomed Res Int*. 2018;2018:3536854. doi: 10.1155/2018/3536854.

13. Ashur C., Frishman W.H. Cardiosphere-Derived Cells

and Ischemic Heart Failure. *Cardiol Rev*. 2018;26(1):8-21. doi: 10.1097/CRD.0000000000000173.

14. Dergilev K.V., Vasilets Yu.D., Tsokolaeva Z.I., Parfenova E.V. Transforming Growth Factor β 1 (TGF β 1) regulates the assembly of cardiac spheroids. *Cell Technologies in Biology and Medicine*. 2020;4:262-266 (in Russian). doi: 10.47056/1814-3490-2020-4-262-266.

15. Traktuev D.O., Tsokolaeva Z.I., Shevelev A.A., Talitskiy K.A., Stepanova V.V., Johnstone B.H., Rahmat-Zade T.M., Kapustin A.N., Tkachuk V.A., March K.L., Parfyonova Y.V. Urokinase gene transfer augments angiogenesis in ischemic skeletal and myocardial muscle. *Mol Ther*. 2007;15(11):1939-46. doi: 10.1038/sj.mt.6300262.

16. Grunewald M., Avraham I., Dor Y., Bachar-Lustig E., Itin A., Jung S., Chimenti S., Landsman L., Abramovitch R., Keshet E. VEGF-induced adult neovascularization: recruitment, retention, and role of accessory cells. *Cell*. 2006;124(1):175-89. doi: 10.1016/j.cell.2005.10.036.

17. Liu Z., Mikrani R., Zubair H.M., Taleb A., Naveed M., Baig M.M.F.A., Zhang Q., Li C., Habib M., Cui X., Sembatya K.R., Lei H., Zhou X. Systemic and local delivery of mesenchymal stem cells for heart renovation: Challenges and innovations. *Eur J Pharmacol*. 2020;876:173049. doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173049.

18. Hematti P. Role of Extracellular Matrix in Cardiac Cellular Therapies. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1098:173-188. doi: 10.1007/978-3-319-97421-7_9.

19. Belien H., Evens L., Hendrikx M., Bito V., Bronckers A. Combining stem cells in myocardial infarction: The road to superior repair? *Med Res Rev*. 2021 Jun 11. doi: 10.1002/med.21839. Online ahead of print.

20. Zhang M., Methot D., Poppa V., Fujio Y., Walsh K., Murry C.E. Cardiomyocyte grafting for cardiac repair: graft cell death and anti-death strategies. *J Mol Cell Cardiol*. 2001;33(5):907-21. doi: 10.1006/jmcc.2001.1367.

21. Zimna A., Kurpisz M. Hypoxia-Inducible Factor-1 in Physiological and Pathophysiological Angiogenesis: Applications and Therapies. *Biomed Res Int*. 2015;2015:549412. doi: 10.1155/2015/549412.

22. Kelly B.D., Hackett S.F., Hirota K., Oshima Y., Cai Z., Berg-Dixon S., Rowan A., Yan Z., Campochiaro P.A., Semenza G.L. Cell type-specific regulation of angiogenic growth factor gene expression and induction of angiogenesis in nonischemic tissue by a constitutively active form of hypoxia-inducible factor 1. *Circ Res*. 2003;93(11):1074-81. doi: 10.1161/01.RES.0000102937.50486.1B.

23. Ceradini D.J., Kulkarni A.R., Callaghan M.J., Tepper O.M., Bastidas N., Kleinman M.E., Capla J.M., Galiano R.D., Levine J.P., Gurtner G.C. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1. *Nat Med*. 2004;10(8):858-64. doi: 10.1038/nm1075.

24. Simon M.P., Tournaire R., Pouyssegur J. The angiopoietin-2 gene of endothelial cells is up-regulated in hypoxia by a HIF binding site located in its first intron and by the central factors GATA-2 and Ets-1. *J Cell Physiol*. 2008;217(3):809-18. doi: 10.1002/jcp.21558.

25. Takahashi T., Kalka C., Masuda H., Chen D., Silver M., Kearney M., Magner M., Isner J.M., Asahara T. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med*. 1999;5(4):434-8. doi: 10.1038/7434.

26. Kinnaird T., Stabile E., Burnett M.S., Epstein S.E. Bone-marrow-derived cells for enhancing collateral development: mechanisms, animal data, and initial clinical experiences. *Circ Res.* 2004;95(4):354-63. doi: 10.1161/01.RES.0000137878.26174.66.
27. Grant M.B., May W.S., Caballero S., Brown G.A., Guthrie S.M., Mames R.N., Byrne B.J., Vaught T., Spoerri P.E., Peck A.B., Scott E.W. Adult hematopoietic stem cells provide functional hemangioblast activity during retinal neovascularization. *Nat Med.* 2002;8(6):607-12. doi: 10.1038/nm0602-607.
28. Rehman J., Li J., Orschell C.M., March K.L. Peripheral blood "endothelial progenitor cells" are derived from monocyte/macrophages and secrete angiogenic growth factors. *Circulation.* 2003;107(8):1164-9. doi: 10.1161/01.cir.0000058702.69484.a0.
29. Ibrahim A.G., Cheng K., Marbán E. Exosomes as critical agents of cardiac regeneration triggered by cell therapy. *Stem Cell Reports.* 2014;2(5):606-19. doi: 10.1016/j.stemcr.2014.04.006.
30. Hirai K., Ousaka D., Fukushima Y., Kondo M., Eitoku T., Shigemitsu Y., Hara M., Baba K., Iwasaki T., Kasahara S., Ohtsuki S., Oh H. Cardiosphere-derived exosomal microRNAs for myocardial repair in pediatric dilated cardiomyopathy. *Sci Transl Med.* 2020 Dec 9;12(573):eabb3336. doi: 10.1126/scitranslmed.abb3336.
31. Bittle G.J., Morales D., Pietris N., Parchment N., Parsell D., Peck K., Deatrick K.B., Rodriguez-Borlado L., Smith R.R., Marbán L., Kaushal S. Exosomes isolated from human cardiosphere-derived cells attenuate pressure overload-induced right ventricular dysfunction. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2021; 162(3):975-986.e6. doi: 10.1016/j.jtcvs.2020.06.154.
32. Malliaras K., Li T.S., Luthringer D., Terrovitis J., Cheng K., Chakravarty T., Galang G., Zhang Y., Schoenhoff F., Van Eyk J., Marbán L., Marbán E. Safety and efficacy of allogeneic cell therapy in infarcted rats transplanted with mismatched cardiosphere-derived cells. *Circulation.* 2012;125(1):100-12. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.042598.
33. Chakravarty T., Henry T.D., Kittleson M., Lima J., Siegel R.J., Slipeck L., Pogoda J.M., Smith R.R., Malliaras K., Marbán L., Ascheim D.D., Marbán E., Makkar R.R. Allogeneic cardiosphere-derived cells for the treatment of heart failure with reduced ejection fraction: the Dilated cardiomyopathy iNtervention with Allogeneic Myocardially-regenerative Cells (DYNAMIC) trial. *EuroIntervention.* 2020;16(4):e293-e300. doi: 10.4244/EIJ-D-19-00035.

Для цитирования: Дергилев К.В., Цоколаева З.И., Василец Ю.Д., Белоглазова И.Б., Парфенова Е.В. Клеточные пласты на основе кардиальных прогениторных клеток продуцируют проангиогенные факторы роста и оказывают локальное стимулирующее воздействие на формирование капилляров после инфаркта миокарда. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2021;10(3): 34-43. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-34-43

To cite: Dergilev K.V., Tsokolaeva Z.I., Vasilets Yu.D., Beloglazova I.B., Parfenova E.V. Cardiac progenitor cell sheets secrete proangiogenic growth factors and locally activate capillarogenesis after infarction. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2021;10(3): 34-43. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-34-43



УДК 576.5

DOI 10.17802/2306-1278-2021-10-3-44-55

АКТИВАЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА ZBTB16 ПРИ ОСТЕОГЕННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК МЕЗЕНХИМНОГО РЯДА

Д.С. Семенова^{1, 2, 3}, А.М. Киселев², А.Б. Малашичева^{1, 2, 3}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Университетская наб., 7–9, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 199034; ² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт цитологии Российской академии наук», Тихорецкий просп., 4, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 194064; ³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Аккуратова, 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341

Основные положения

• Чрезвычайно важная задача регенеративной медицины – нахождение решения эффективного наращивания и восстановления костной ткани, в том числе при помощи остеогенной дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток. Понимание того, какие молекулярные компоненты и каким образом они принимают участие на разных стадиях остеодифференцировки, является первым шагом к возможности управлять процессами остеогенеза. Способность модуляции клеточных сигналов, в том числе за счет активации или подавления работы ZBTB16, возможно, приближит нас к умению усиливать остеогенез либо предотвращать нежелательную остеогенную дифференцировку в местах эктопической оссификации. Это станет уникальным решением для лечения множества заболеваний.

Цель

Кальцинированный стеноз аортального клапана является третьей ведущей причиной сердечно-сосудистых заболеваний. Механизмы, лежащие в основе этого процесса, остаются неясными, однако известно, что они во многом схожи с формированием костной ткани во время эмбрионального развития, а также в постнатальном периоде при регенерации. Существует множество подтверждений участия ZBTB16 в развитии скелета. При этом данные ряда исследований, проведенных на разных типах клеточных культур, свидетельствуют о противоречивом и неоднозначном влиянии ZBTB16 на экспрессию RUNX2. Понимание сходства и различий в механизмах, опосредующих остеогенную дифференцировку клеток во время физиологического формирования кости и патологической оссификации тканей может дать предпосылки для возможности управления процессами остеогенной дифференцировки в организме человека. Таким образом, цель данного исследования состояла в изучении динамической вариабельности экспрессии ZBTB16, а также его роли в кальцификации клапана аорты.

Материалы и методы

В исследовании использованы разные типы клеточных культур мезенхимального происхождения – интерстициальные клетки аортального клапана, мезенхимальные стволовые клетки пупочного канатика, стволовые клетки связок и пульпы зуба. С помощью метода ПЦР в реальном времени анализировали изменения уровней экспрессии ZBTB16 и RUNX2 под влиянием остеогенных стимулов, а также при экзогенной активации ZBTB16. В интерстициальных клетках аортального клапана проанализированы уровни экспрессии некоторых остеогенных маркеров – BMP2,4, COL1A1, IBSP, DLX2, PDK4.

Результаты

Значительное повышение экспрессии ZBTB16 наблюдается при индукции остеогенной дифференцировки различных клеточных культур – интерстициальных клеток аортального клапана, мезенхимальных стволовых клеток пупочного канатика, стволовых клеток связок и пульпы зуба. Получены данные о том, что процессы остеогенной дифференцировки интерстициальных клеток аортального клапана при использовании в среде для культивирования дексаметазона осуществляются посредством RUNX2-зависимого сигналинга, что необходимо для последующей активации остеогенных маркеров.

Для корреспонденции: Дарья Сергеевна Семенова, daria.semenova1994@gmail.com; адрес: Университетская наб., 7–9, Санкт-Петербург, Россия, 199034

Corresponding author: Daria S. Semenova, daria.semenova1994@gmail.com; address: 7-9, Universitetskaya nab., Saint Petersburg, Russia, 199034

Заключение	Изучение модуляции клеточных сигналов посредством ZBTB16 при активации либо подавлении работы транскрипционного фактора в будущем может приблизить нас к умению усиливать регенеративные способности клеток костной ткани или, напротив, предотвращать кальцификацию тканей аортального клапана.
Ключевые слова	Мезенхимальные стволовые клетки • Интерстициальные клетки клапана аорты • ZBTB16 • RUNX2 • Остеогенная дифференцировка

Поступила в редакцию: 09.07.2021; поступила после доработки: 26.08.2021; принята к печати: 05.09.2021

ACTIVATION OF TRANSCRIPTIONAL FACTOR ZBTB16 EXPRESSION DURING OSTEOGENIC DIFFERENTIATION OF MESENCHYMAL STEM CELLS

D.S. Semenova^{1, 2, 3}, A.M. Kiselev², A.B. Malashicheva^{1, 2, 3}

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Saint-Petersburg State University”, Universitetskaya nab., 7-9, Saint Petersburg, Russian Federation, 199034; ² Federal State Budgetary Institution of Science “Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences”, Tikhoretskiy Ave., 4, Saint Petersburg, Russian Federation, 194064; ³ Federal State Budgetary Institution “V.A. Almazov National Medical Research Center” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Akkuratova St., 2, Saint Petersburg, Russian Federation, 197341

Highlights

• Regenerative medicine strives to find a way to stimulate effective bone tissue regeneration with the help of osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. Comprehensive understanding of molecular components and their role in different stages of osteodifferentiation is the first step to being able to control the processes of osteogenesis. Modulating cellular signals by either activating or suppressing ZBTB16 transcriptional factor may bring us closer to the ability to enhance the regenerative abilities of bone tissue cells or, conversely, prevent calcification of the aortic valve tissues. This could be a unique treatment modality for various diseases.

Aim	Calcified aortic valve stenosis is the third leading cause of cardiovascular disease. The mechanisms underlying this process remain unclear, however, it is known that they are largely similar to the formation of bone tissue during embryonic development, as well as in the postnatal period during regeneration. There is evidence for the involvement of Zinc Finger and BTB Domain Containing 16 (ZBTB16) in skeletal development. At the same time, a number of studies carried out on different types of cell cultures indicate a contradictory and ambiguous effect of ZBTB16 on RUNX2 expression. Thus, the aim of this study was to investigate the dynamic variability of ZBTB16 expression, as well as its role in aortic valve calcification.
Methods	The study used different types of mesenchymal cells cultures – aortic valve interstitial cells, umbilical cord mesenchymal stem cells, ligament stem cells and dental pulp stem cells. Changes in ZBTB16 and RUNX2 expression levels under the influence of osteogenic stimuli, as well as during exogenous activation of ZBTB16, were analyzed using real-time PCR. Expression levels of some osteogenic markers – BMP2,4, COL1A1, IBSP, DLX2, PDK4 – were analyzed in the interstitial cells of the aortic valve.
Results	The results of the study indicate that a significant increase in the expression of ZBTB16 is observed during the induction of osteogenic differentiation of various cell cultures – interstitial cells of the aortic valve, mesenchymal stem cells of the umbilical cord, stem cells of the ligaments and dental pulp. Apparently, the processes of osteogenic differentiation of aortic valve interstitial cells, in the presence of dexamethasone in cultivation medium, are provided through RUNX2-dependent signaling for the further activation of osteogenic markers.
Conclusion	The study of modulation of cellular signals by ZBTB16, when activating or suppressing the work of a transcriptional factor, in the future may bring us closer

to the ability to enhance the regenerative abilities of bone tissue cells or, conversely, prevent calcification of the aortic valve tissues.

Keywords

Mesenchymal stem cells • Aortic valve interstitial cells • ZBTB16 • RUNX2 • Osteogenic differentiation

Received: 09.07.2021; received in revised form: 26.08.2021; accepted: 05.09.2021

Список сокращений

ИКАК – интерстициальные клетки аортального клапана человека	МСК – мезенхимальные стволовые клетки
кМСК – мезенхимальные стволовые клетки пупочного канатика	ПЦР – полимеразная цепная реакция
	СК – стволовые клетки

Введение

Кальцинированный стеноз аортального клапана входит в тройку ведущих причин сердечно-сосудистых заболеваний. Единственным существующим на сегодняшний день вариантом лечения является операция на сердце с имплантацией протеза клапана. Риск кальцификации сердечного клапана увеличивается с возрастом [1]. Главной особенностью заболевания служит прогрессивная минерализация ткани клапана. Механизмы, лежащие в основе этого процесса, остаются неясными, однако принципы, обуславливающие патологические процессы, которые опосредуют развитие кальцификации аортального клапана человека, во многом имеют сходство с формированием костной ткани скелета во время эмбрионального развития, а также в постнатальном периоде при регенерации [2]. Оссификация – процесс закладки нового костного материала, в то время как кальцификация представляет собой процесс, посредством которого соли кальция накапливаются в мягких тканях, что заставляет их затвердевать. Многие ключевые игроки, принимающие участие в кальцификации сосудов (моноциты, факторы транскрипции, костные морфогенетические белки (BMP) и т. д.), также являются регуляторами формирования костной ткани в осевом скелете [3].

На сегодняшний день мнение о пассивном процессе дегенерации, лежащем в основе развития кальцификации аортального клапана, сменилось на наличие динамического сложно регулируемого клеточно-молекулярного патологического процесса, который приводит к описываемому дефекту. Кальцификация сосудов развивается в ответ на хронические воспалительные стимулы, которые в избытке присутствуют в организме людей, страдающих диабетом, гипертонией, гиперлипидемией и хронической болезнью почек [4]. Механизмы оссификации сосудов все еще находятся на стадии исследования, но, как было показано, они варьируют в зависимости от лежащих в основе данной патофизиологии процессов кальцификации, предшествующих оссификации тканей [5].

Во множестве лабораторий по всему миру занимаются исследованиями, направленными на идентификацию молекулярных участников ранних механизмов остеогенной трансформации клеток. Существует несколько вариантов протоколов и методик моделирования прокальцифицирующих условий *in vitro* [6–9]. Однако наиболее часто используемым и стандартным подходом является добавление в среду для культивирования клеточных культур трех специфичных остеогенных факторов: аскорбиновой кислоты, бета-глицерофосфата и дексаметазона. Каждый из компонентов играет незаменимую роль в индукции остеогенной трансформации клеток мезенхимного ряда, способных к дифференцировке в данном направлении [10]. Показано, что дексаметазон индуцирует экспрессию RUNX2 посредством активации транскрипции FHL2/ β -катенина, а также повышает активность RUNX2 за счет усиления TAZ и MKP1 [11]. Применение аскорбиновой кислоты ведет к увеличению секреции коллагена I типа (COL1), что в свою очередь приводит к усилению COL1/ α 2 β 1-интегрин-опосредованной внутриклеточной передачи сигнала [12]. β -глицерофосфат служит источником фосфата в гидроксипатите и, кроме того, влияет на внутриклеточные сигнальные молекулы [13].

Осуществление остеогенной дифференцировки регулируется различными факторами транскрипции, в том числе такими как RUNX2, OSTERIX и β -катенин. RUNX состоит из runt-домена (ДНК-связывающий домен) и белка RUNX, которые образуют гетеродимеры с основным связывающим фактором β (Cbf β). Во множестве исследований показано, что RUNX2 необходим для остеогенной дифференцировки. Фактор транскрипции RUNX2 является важным регулятором образования костей и остеогенной дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток (МСК); заставляет МСК дифференцироваться в преостеобласты и подавляет адипо- и хондрогенную дифференцировку [14].

В рамках исследования молекулярно-генетических механизмов, играющих инициаторные роли

в индукции кальцификации аортального клапана, проведен транскриптомный анализ клеточных культур, полученных от пациентов с кальцинированным аортальным стенозом и здоровых людей. Выявлены данные, свидетельствующие об изменении экспрессии большого количества генов в ответ на индукцию остеогенной дифференцировки в клетках аортального клапана. Одним из наиболее ярких маркеров, экспрессия которого значимо повышалась во всех анализируемых образцах после запуска дифференцировки, являлся ген *ZBTB16*. В отличие от множества описанных в литературе генов и сигнальных путей, связанных с процессами остеогенеза, таких как *RUNX2*, *BMP2*, *BMP4*, *ALP*, *BGLAP*, *COL1A1*, *IBSP*, *OPN*, *TNFRSF11B* (*OPG*), *SPRY1*, а также многих других известных маркеров остеогенной дифференцировки, кроме того, генов, связанных с сигнальными путями Notch, Wnt/Б-катенин, роль гена *ZBTB16* в процессах остеогенной трансформации клеток остается невыясненной [15].

ZBTB16 является транскрипционным фактором с N-концевым BTV/POZ-доменом для белок-белкового взаимодействия и девятью C-концевыми доменами типа цинковый палец для связывания ДНК [16]. В литературе представлены свидетельства об участии *ZBTB16* в развитии скелета [17]. Показано, что *ZBTB16* играет роль в спецификации паттернов аксиального скелета и конечности. Кроме того, экспрессия *ZBTB16* повышена в клетках пациентов, страдающих эктопическим формированием костной ткани [18]. Известно, что *ZBTB16* модулирует экспрессию *COL1A1*, *BGLAP* и *ALP* [18]. Существует ряд исследований, проведенных на разных типах клеточных культур, результаты которых демонстрируют противоречивое влияние *ZBTB16* на экспрессию *RUNX2*. В исследованиях показана важность функциональной активности *ZBTB16* в дифференцировке стволовых клеток (СК) в остеобласты [19]. По всей видимости, *ZBTB16* работает как важный маркер на более поздних стадиях остеобластической дифференцировки СК. Работа, проведенная на МСК, полученных из костного мозга, свидетельствует о том, что экспрессия *ZBTB16* имеет решающее значение для индукции *RUNX2* и прохождения остеогенной дифференцировки [20]. Однако одновременно с этим исследования, проведенные на клетках дентальных фолликулов, показали независимые от *RUNX2* процессы остеогенеза с вовлечением индукции *ZBTB16* [15, 21]. Вероятно, *ZBTB16* необходим для активации более поздних маркеров остеогенной дифференцировки в клетках, таких как *BGLAP* и *NR4A3* [22].

Цель данного исследования состояла в изучении динамической вариабельности экспрессии *ZBTB16*, а также его роли в кальцификации клапана аорты. Понимание сходств и различий в механизмах, опосредующих остеогенную дифференци-

ровку клеток во время физиологического формирования кости и патологической оссификации тканей, может дать предпосылки для возможности управления процессами остеогенной дифференцировки в организме человека.

Таким образом, изучение динамической вариабельности и изменений в экспрессии *ZBTB16* при кальцификации клапана аорты, а также в процессах остеогенной дифференцировки СК мезенхимного ряда является новым и актуальным направлением.

Материалы и методы

Клеточные культуры. Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям.

В качестве основного материала исследования использованы четыре типа клеточных культур мезенхимального происхождения:

1. Интерстициальные клетки аортального клапана человека (ИКАК). Фрагменты аортальных клапанов пациентов с кальцифицированным аортальным стенозом ($n = 2$) получали в ходе плановых операций по замене клапана аорты, осуществляемых в ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России. Для получения интерстициальных клеток фрагмент створки аортального клапана оставляли в растворе коллагеназы IV типа при температуре 37 °C на 24 ч. После этого раствор с клапаном тщательно ресуспендировали, промывали свежим раствором PBS. Затем интерстициальные клетки перемещали в чашку Петри. Клетки культивировали до появления характерных мезенхимных колоний. Среда для рутинного культивирования интерстициальных клеток клапана содержала DMEM (Gibco, США), 15% FBS (Hyclone, США), 1% пенициллин/стрептомицин (Invitrogen, США) и 1% L-глутамин (Invitrogen, США).

2. Мезенхимальные СК пупочного канатика человека (кМСК). После забора материала – пупочный канатик, полученный от донора ($n = 2$) – осуществлялось ферментативное выделение МСК. Для подтверждения принадлежности полученных культур к МСК на проточном цитометре GuavaEasyCyte6 (Millipore, США) проводили иммунофенотипирование с использованием моноклональных антител против CD73, CD90, CD105 и CD166 (BD, США) [23]. Среда для культивирования содержала α -MEM (Панэко, Москва, Россия), 10% FBS (Hyclone), 1% пенициллин/стрептомицин (Invitrogen, США) и 1% L-глутамин (Invitrogen, США).

3. СК периодонтальной пульпы человека (СК пульпы). Первичные культуры СК пульпы зуба получали от доноров ($n = 2$) без системных заболеваний и заболеваний периодонта. Клетки выделяли ферментативным методом из фрагментов пульпы

зуба, срезаемых с удаляемых зубов (третьих моляров, показания к удалению – ретенция и/или дистопия) [24]. Среда для культивирования СК пульпы содержала α -MEM (Панэко), 10% Nyclone (Gibco), 1% пенициллин/стрептомицин (Invitrogen) и 1% L-глутамин (Invitrogen).

4. СК периодонтальных связок человека (СК связок). Первичные культуры СК связок получали от доноров ($n = 2$) без системных заболеваний и заболеваний периодонта. Клетки выделяли ферментативным методом из фрагментов периодонтальных связок, срезаемых с удаляемых зубов (третьих моляров, показания к удалению – ретенция и/или дистопия). Иммунофенотипирование клеток проводили с использованием проточного цитометра Navios (Beckman Coulter, США) с использованием полупроводниковых диодных лазеров 488 и 638 нм. Применяли следующие панели моноклональных антител (Beckman Coulter) для определения положительных и отрицательных маркеров иммунофенотипа мезенхимальных стромальных клеток, характерного и для СК связок: CD44-FITC/CD73-PE/CD9-PC5/CD105-PC7 и CD34-FITC/CD117-PE/CD14-PC5/CD45-PC7 [24]. Среда для культивирования СК связок содержала α -MEM (Панэко), 10% Nyclone (Gibco), 1% пенициллин/стрептомицин (Invitrogen) и 1% L-глутамин (Invitrogen).

Индукция остеогенной дифференцировки в клетках. Для дифференцировки в остеогенном направлении использовали клетки 2–5 пассажей, находящиеся в логарифмической фазе роста. За сутки до индукции дифференцировки клетки сеяли на 12-луночные или 24-луночные планшеты в необходимой плотности (70×10^3 клеток/см²). Для запуска остеогенной дифференцировки клеток использовали следующие факторы: 0,1 мкМ дексаметазона, 50 мкМ аскорбиновой кислоты и 10 мМ β -глицеролфосфата (Sigma, США). Кроме того, остеогенную дифференцировку запускали в отсутствие дексаметазона с внесением в среду для культивирования 50 мкМ аскорбиновой кислоты и 10 мМ β -глицеролфосфата; напротив, в отсутствие аскорбиновой кислоты и β -глицеролфосфата – с добавлением только 0,1 мкМ дексаметазона. Дифференцировка клеток проходила в течение 18–21 дня. Смену дифференцировочной среды проводили каждые 3 дня.

В качестве контроля в экспериментах использовали клетки, в которых не была запущена дифференцировка.

Клонирование гена ZBTB16. С помощью коммерческой плазмиды TetO-FUW (Addgene, <https://www.addgene.org/61543/>) с необходимой вставкой, ZBTB16, проведена наработка продукта методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием праймеров к ZBTB16, содержащих специфические рестрикционные сайты. После этого осуществлено переосаждение ПЦР-продукта. Затем проводили

рестрикцию необходимого вектора pCig3 (Addgene, <https://www.addgene.org/78264/>) с помощью рестриктаз BamHI и EcoRI. После этого выполнили лигирование вышеуказанного фрагмента в плазмиду pCIG3. В завершение проведена проверка конструкции при помощи ПЦР с использованием праймеров, специфических к вектору, рестрикция, а также секвенирование по Сэнгеру. Внедрение данной конструкции в клетки аортального клапана и МСК выполнено при помощи лентивирусной трансдукции.

Производство лентивирусных частиц. В основе метода по производству лентивирусных частиц лежит протокол, разработанный в лаборатории Д. Тронно и модифицированный в нашей лаборатории [33]. Нарботка лентивирусных частиц осуществлялась в клетках линии HEK293T. Клетки данной линии культивировали в среде DMEM (Gibco) с добавлением 10% FBS (Gibco), 1% пенициллин/стрептомицин (Invitrogen), 1% L-глутамин (Invitrogen, США) в инкубаторе с 5% CO₂ при 37 °C.

Первый этап производства лентивирусных частиц осуществлен с использованием реагента PEI. К 15 мкг векторной плазмиды, содержащей ген интереса ZBTB16, добавляли 9,73 мкг psPAX2 и 5,27 мкг pMD2.G, перемешивали и добавляли к 500 мкл DMEM с добавлением 60 мкл PEI. Инкубировали смесь 10–15 мин при комнатной температуре, затем раствор по каплям добавляли к клеткам. Клетки инкубировали в течение 12–17 ч, после чего среду меняли на 7 мл свежей. Через сутки проводили концентрирование вирусных частиц путем ультрацентрифугирования. После чего осажденные частицы ресуспендировали в 1% BSA / PBS и замораживали в аликвотах при -80 °C. Титр вируса определяли по количеству Green Fluorescent Protein (GFP) – экспрессирующих клеток в культуре при трансдукции вирусом, несущим ген, кодирующий ZBTB16, а также последовательность гена GFP в том же векторе. Эффективность трансдукции клеток составила 85–90%.

ПЦР в реальном времени. РНК из культивируемых клеток выделяли с использованием реагента ExtractRNA («Евроген», Россия). Тотальная РНК (1 мкг) была обратно транскрибирована при помощи набора MMLV RT («Евроген»). ПЦР в реальном времени проводили в термоциклере ABI 7500 (Applied Biosystems, США) со следующими температурными условиями: 10 мин при 95 °C, 15 с при 95 °C и 1 мин при 60 °C в течение 40 циклов с охлаждением в конце до 4 °C. Для проведения ПЦР использованы специфичные прямые и обратные праймеры на гены-мишени (ZBTB16, BMP2, BMP4, COL1A1, IBSP, DLX2, PDK4, последовательность праймеров предоставляется по требованию). Уровень экспрессии исследуемого гена нормализовали по уровню экспрессии гена домашнего хозяйства GAPDH. Данные проанализированы с помощью программного обеспечения 7500 Software v2.0.6,

получены значения C_t для каждого гена. Построение кривой плавления выполнено, чтобы убедиться, что продукт состоял из одного ампликона. Пороги и базовые показатели установлены в соответствии с инструкциями производителя (SABiosciences, Qiagen, США). Данные обработаны с использованием программного обеспечения Qiagen. Изменение уровней экспрессии генов (по сравнению с контрольными образцами) рассчитывали с использованием метода $\Delta\Delta C_t$. Все эксперименты выполнены в трех биологических повторах, то есть в трех независимых экспериментах.

Расчет и обработка данных. Информация, полученная при помощи метода ПЦР в реальном времени, обработана с использованием программ Microsoft Excel (Microsoft, США) и GraphPad Prism (GraphPad, США). Данные в результатах представлены в виде среднего по всем проведенным экспериментам. Также указаны показатели стандартного отклонения, рассчитанные исходя из полученных данных по трем выполненным биологическим повторам экспериментов. Таким образом, указан разброс данных вокруг среднего значения. В программе GraphPad Prism проводили расчет достоверности отличий при помощи непараметрического сравнения.

Иммуноблоттинг. Для подтверждения содержания ZBTB16 в клеточных культурах использовали стандартный метод иммуноблоттинга. Сначала клетки культивировали 96 ч, промывали PBS, затем лизировали в 75 мкл лизирующего буфера (50мМ TrisHCl (pH = 8,0), 150мМ NaCl, 1% дезоксихолат, 1% тритон, 0,1%, коктейль ингибиторов протеаз Rouch), инкубировали 30 мин на льду и осаждали на центрифуге (4 °C, 10 мин, 14 000 g). К супернатанту добавляли 25 мкл буфера для нанесения (4×SDS буфер) с меркаптоэтанолом (1,7 мкл). Далее пробы нагревали при 95 °C на термостате 5 мин и наносили на электрофорез в 10% полиакриламидном геле с использованием электрофоретической камеры (BioRad) при

режиме: 20 μ A – 10 мин, 40 μ A – >20 мин. Затем при помощи метода полусухого переноса в камере прибора BioRadTurbo пробы переносили из геля на нитроцеллюлозную мембрану с помощью электродов и буфера для переноса (трис-глициновый буфер с метанолом) при 25V 30 мин, мембрану отмывали в PBS. Все последующие отмывки проводили в растворе PBS/0,1% Tween 20. Для блокирования неспецифического окрашивания использовали раствор для забивки (5% молоко на PBS/0,1% Tween 20). Мембрану инкубировали в течение ночи на качалке при 4 °C с первичными антителами к белку ZBTB16 и В-актину – в качестве проверки успешности методики (Santa Cruz, США; 1:250) и час при комнатной температуре со вторичными антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена (BioRad; 1:10000). После окрашивания детекцию осуществляли с помощью системы усиленной хемилюминесценции (ThermoScientific, США) согласно инструкции производителя на приборе ChemiDoc (BioRad).

Результаты

Известно, что процессы, протекающие во время остеогенной дифференцировки при нормальном развитии костной ткани, близки по механизмам и молекулярным участникам с процессами формирования очагов оссификации тканей при различных патологиях. МСК различного происхождения способны к дифференцировке в остеогенное направление [26]. На первом этапе работы получены данные о том, что индукция остеогенной дифференцировки путем культивирования клеток в присутствии аскорбиновой кислоты, β -глицерофосфата и дексаметазона приводит к значительному усилению экспрессии транскрипционного фактора *ZBTB16* в различных культурах клеток мезенхимального происхождения (рис. 1). Полученные данные подтверждают гипотезу о сходствах между процессами остеогенной трансформации клеток в различных

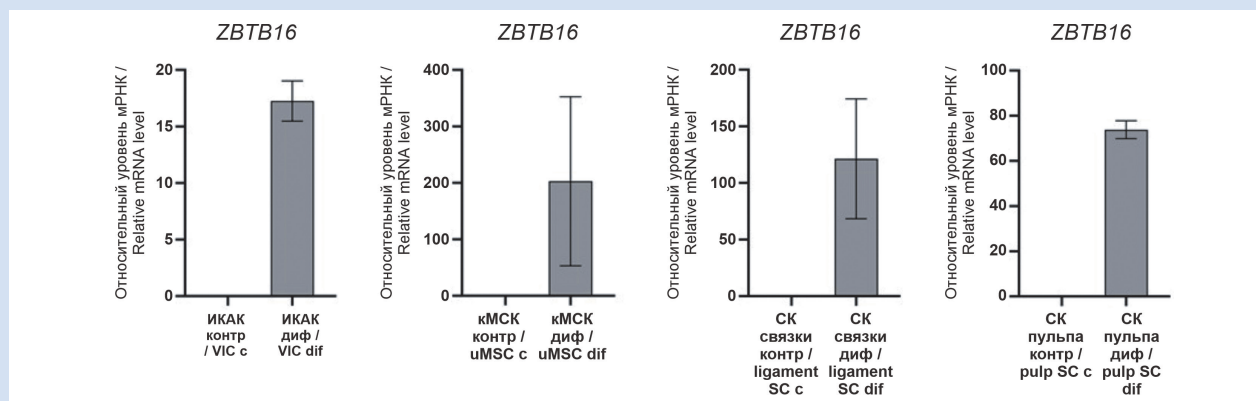


Рисунок 1. Экспрессия ZBTB16 значительно повышается через 96 ч в ответ на индукцию остеогенной дифференцировки в клеточных культурах ИКАК, кМСК, СК связки, СК пульпы

Примечание: ИКАК – интерстициальные клетки аортального клапана человека; кМСК – мезенхимальные стволовые клетки пупочного канатика; мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота; СК – стволовые клетки.

Figure 1. Expression of ZBTB16 significantly increased after 96 hours in response to the induction of osteogenic differentiation in VIC, uMSC, ligament SC, pulp SC cell cultures

Note: mRNA – messenger ribonucleic acid; SC – stem cells; uMSC – umbilical cord mesenchymal stem cells; VIC – valve interstitial cell.

тканях организма: физиологическими процессами образования кости или эктопическим формированием очагов оссификации.

Существуют данные, свидетельствующие о том, что изменения экспрессии ZBTB16 связаны с ответом на воздействие глюкокортикоидов, индуцируемое дексаметазоном в лимфоидных клетках [27]. Следующим этапом работы стояла задача выяснить, существует ли связь между воздействием на клетки дексаметазона во время индукции остеогенной дифференцировки и изменениями экспрессии транскрипционного фактора ZBTB16 именно в клетках аортального клапана человека. Кроме того, задачей эксперимента являлось изучение того, существует ли связь между активацией ZBTB16, изменением экспрессии RUNX2 и запуском остеогенной дифференцировки в клетках аортального клапана.

Это находит подтверждение в повышении экспрессии специфических остеогенных маркеров. Для более глубокого изучения вопроса необходимо было создать плазмиду, несущую ген ZBTB16, после чего был сконструирован лентивирус, кодирующий данную последовательность, для доставки экзогенного генетического материала в клеточные культуры. В результате отмечено значительное усиление продукции белка ZBTB16 через 96 ч после добавления вируса к культурам интерсти-

циальных клеток аортального клапана (рис. 2).

Полученная конструкция использована в экспериментах, направленных на изучение того, каким образом осуществляется регуляция активности одного из основных транскрипционных факторов, принимающих участие в остеогенной трансформации клеток, – RUNX2.

В данном эксперименте проанализированы уровни экспрессии ZBTB16 и RUNX2 на восьми временных точках: 12, 24, 48, 72, 96 ч и 9, 15, 19 дней после индукции остеогенной дифференцировки в интерстициальных клетках аортального клапана. Изучены изменения в уровнях экспрессии генов в трех различных условиях: 1) после индукции в клетках остеогенной дифференцировки с применением стандартного протокола, в который входит аскорбиновая кислота, дексаметазон, β -глицерофосфат (рис. 3, а);

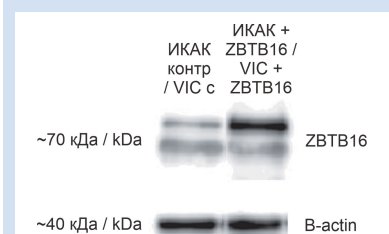


Рисунок 2. Выявление экзогенного ZBTB16 в недифференцированных ИКАК, трансдуцированных вирусом, несущим последовательность, кодирующую транскрипционный фактор ZBTB16. В качестве контроля – детекция белка В-актин

Примечание: ИКАК – интерстициальные клетки аортального клапана человека.

Figure 2. Detection of exogenous ZBTB16 in undifferentiated VIC transduced with a virus bearing the sequence encoding the transcription factor ZBTB16. Detection of B-actin protein was used as a control

Note: VIC – valve interstitial cell; ZBTB16 – Zinc Finger and BTB Domain Containing 16.

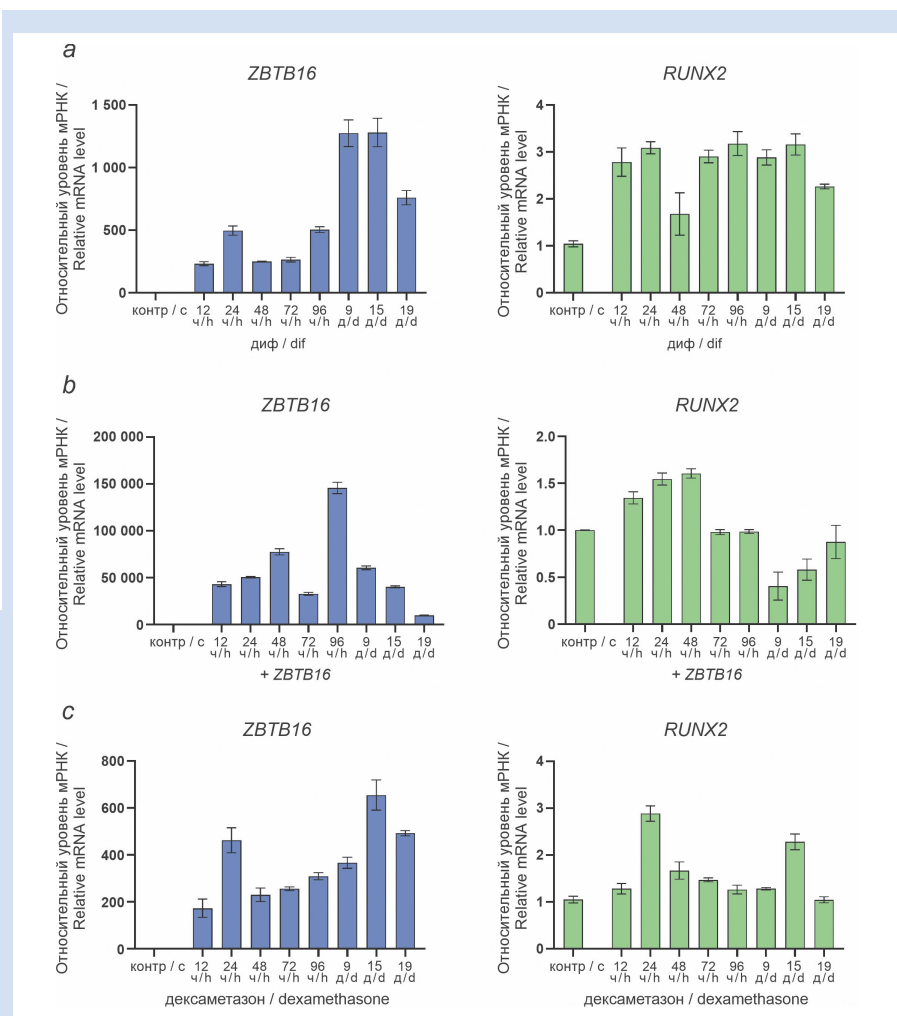


Рисунок 3. Экспрессия ZBTB16 и RUNX2 в ИКАК на разных временных точках (12, 24, 48, 72, 96 ч; 9, 15 и 19-й дни) после индукции в клетках остеогенной дифференцировки в присутствии полной остеогенной среды (аскорбиновая кислота, дексаметазон, β -глицерофосфат) (а); при индукции чрезмерной экспрессии ZBTB16 в клетках в отсутствие остеогенных индукторов (б); при добавлении в среду для культивирования только дексаметазона (с)

Примечание: мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота.

Figure 3. Expression of ZBTB16 and RUNX2 in VIC at different time points (12, 24, 48, 72, 96 hours, 9, 15 and 19 days) after induction of osteogenic differentiation in cells in the presence of a full osteogenic medium (ascorbic acid, dexamethasone, β -glycerophosphate) (a). Induction of overexpression of ZBTB16 in cells in the presence of dexamethasone in cultivation medium (c).

Note: mRNA – messenger ribonucleic acid.

2) после индукции в клетках чрезмерной экспрессии ZBTB16 (см. рис. 3, b); 3) после обработки клеток средой для культивирования, содержащей дексаметазон (см. рис. 3, c).

Отмечено значительное усиление экспрессии ZBTB16 во всех трех условиях культивирования в зависимости от временной точки. Также показано усиление экспрессии RUNX2. Полученные в данном эксперименте результаты свидетельствуют о том, что экспрессия RUNX2 связана с индукцией и повышением экспрессии ZBTB16 в интерстициальных клетках аортального клапана (см. рис. 3). ZBTB16, вероятно, является вышестоящим регулятором транскрипционного фактора RUNX2.

В свою очередь, активированный RUNX2 впоследствии приводит к индукции некоторых известных маркеров остеогенной дифференцировки и генов, ответственных за реорганизацию метаболических процессов в клетках: *BMP2*, *BMP4*, *COL1A1*, *IBSP*, *DLX2*, *PDK4* (рис. 4, a).

Следующие эксперименты подтвердили, что активация экспрессии ZBTB16 напрямую связана с ответом клеток на воздействие глюкокортикостероидов. Среда, содержащая в составе дексаметазон или лентивирусную конструкцию, непосредственно влияла на сверхэкспрессию ZBTB16, что в свою очередь приводило к индукции транскрипционного фактора RUNX2 (см. рис. 4, b) и далее – к активации специфичных для остеогенеза генов: *BMP2*, *BMP4*, *COL1A1*, *IBSP*, *DLX2*, *PDK4*.

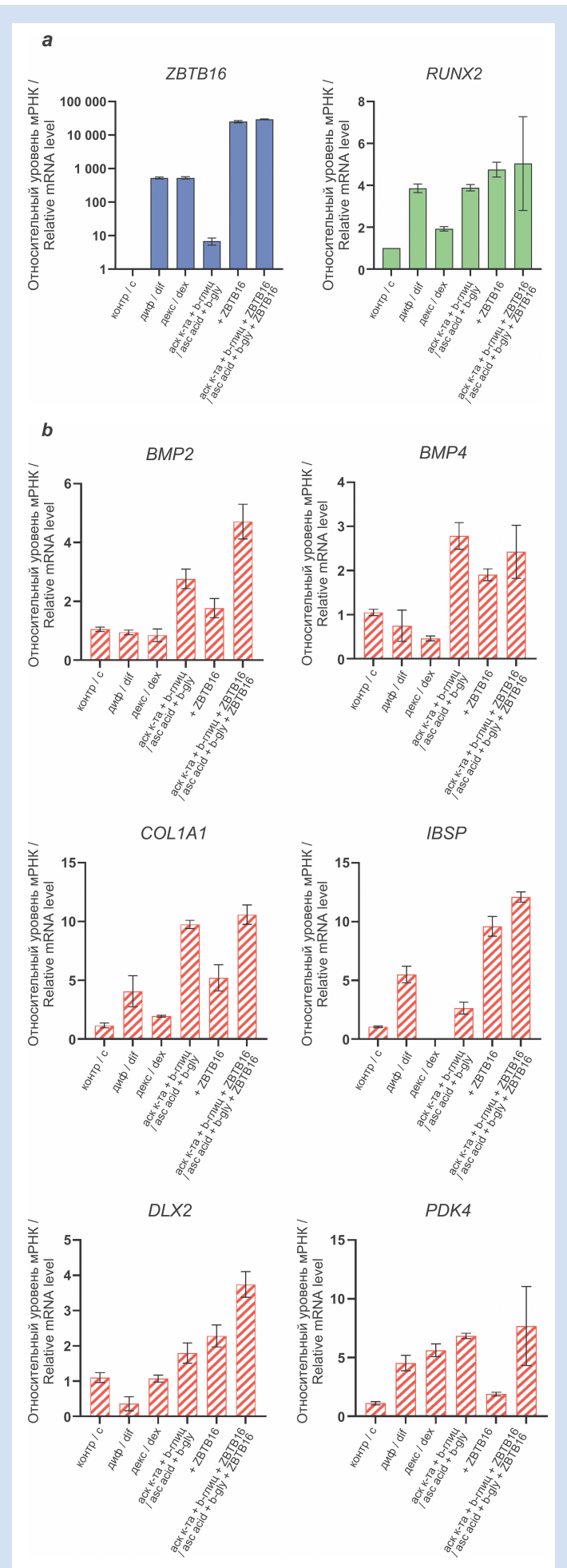
Проведенные исследования показали важность функциональной активности ZBTB16 в дифференцировке интерстициальных клеток

Рисунок 4. Изменение уровней экспрессии ZBTB16, RUNX2 (a) и остеогенных маркеров *BMP2*, *BMP4*, *COL1A1*, *IBSP*, *DLX2*, *PDK4* (b) под влиянием различных условий культивирования в ИКАК через 96 ч после начала эксперимента: 1 – культивирование с использованием полной дифференцировочной среды; 2 – культивирование с использованием дексаметазона; 3 – культивирование с использованием аскорбиновой кислоты и β-глицерофосфата; 4 – индукция сверхэкспрессии ZBTB16 в клетках после лентивирусной трансдукции; 5 – культивирование с использованием аскорбиновой кислоты, β-глицерофосфата с одновременной трансдукцией клеток лентивирусными частицами, несущими ZBTB16

Примечание: мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота.

Figure 4. Changes in the expression levels of ZBTB16, RUNX2 (a) and osteogenic markers – *BMP2*, *BMP4*, *COL1A1*, *IBSP*, *DLX2*, *PDK4* (b) various cultivation conditions in VIC 96 hours after the start of the experiment: 1. Cultivation using full differentiation medium; 2. Cultivation using dexamethasone; 3. Cultivation using ascorbic acid, β-glycerophosphate; 4. Induction of ZBTB16 overexpression in cells after lentiviral transduction; 5. Cultivation using ascorbic acid, β-glycerophosphate with simultaneous transduction of cells with lentiviral particles carrying ZBTB16

Note: mRNA – messenger ribonucleic acid.



аортального клапана человека. В частности изучена его роль в усилении работы RUNX2 при остеогенной дифференцировке клеток аортального клапана. По всей видимости, ZBTB16 функционирует как важный маркер на различных стадиях остеобластической дифференцировки клеток.

Обсуждение

Данное исследование направлено на выявление сходств и различий в механизмах, опосредующих остеогенную дифференцировку клеток во время физиологического формирования кости и патологической оссификации тканей. Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что значительное повышение экспрессии ZBTB16 наблюдается при индукции остеогенной дифференцировки различных клеточных культур – интерстициальных клеток аортального клапана, МСК пупочного канатика, СК связок и пульпы зуба. Таким образом, мы можем подтвердить мнение о том, что транскрипционный фактор ZBTB16 вовлечен в процессы остеогенной дифференцировки клеток, а также то, что эти процессы, по всей видимости, сходны в различных клеточных культурах.

Модуляция уровней экспрессии транскрипционных факторов важна для управления и регулирования экспрессии генов. Множество исследований, направленных на изучение различных физиологических процессов, протекающих в организме показали, что транскрипционный фактор ZBTB16 является важным репрессором и активатором транскрипции в зависимости от ткани, клеточного и временного контекста, при котором осуществляется его экспрессия [28]. Экспрессию ZBTB16 связывают с участием в различных онтогенетических и биологических процессах, таких как миелопоэз, сперматогенез, формирование скелетных образований задних конечностей, клеточный апоптоз, противоопухолевый эффект [29]. ZBTB16 также играет роль в регулировании судьбы и гомеостаза гемопоэтических СК [30]. Существуют доказательства того, что ZBTB16 необходим при развитии костной ткани. ZBTB16 активируется в клетках, полученных от пациентов, страдающих заболеванием, которое характеризуется эктопическим образованием оссификации тканей [18]. Кроме того, полная потеря ZBTB16 приводит к серьезной дисфункции в развитии скелета [17]. При изучении функциональ-

ной роли транскрипционного фактора ZBTB16 в дифференцировке остеобластов МСК подвергали остеобластической дифференцировке. Экспрессия ZBTB16 была значительно повышена в случае добавления к клеткам остеогенной среды или только дексаметазона. Также показано, что дексаметазон приводит к усилению экспрессии маркеров остеобластов в культурах стромальных клеток костного мозга животных и человека, однако не вызывает полноценной дифференцировки остеобластов [31]. Следовательно, экспрессия ZBTB16, по-видимому, является маркером первоначального этапа дифференцировки остеобластов.

При помощи ПЦР в реальном времени нами получены данные, свидетельствующие о том, что процессы остеогенной дифференцировки интерстициальных клеток аортального клапана при использовании в среде для культивирования дексаметазона осуществляются посредством RUNX2-зависимого сигналинга, необходимого для дальнейшей активации остеогенных маркеров.

Заключение

С одной стороны, чрезвычайно важной задачей регенеративной медицины является нахождение решения эффективного наращивания и восстановления костной ткани, в том числе при помощи остеогенной дифференцировки МСК. Понимание того, какие молекулярные компоненты и каким образом они участвуют на разных стадиях остеодифференцировки, является предпосылкой для возможности управлять процессами остеогенеза. С другой стороны, способность модуляции клеточных сигналов, в том числе управляя экспрессией ZBTB16, возможно, приблизит нас к умению предотвращать нежелательную остеогенную дифференцировку в местах эктопической оссификации.

Конфликт интересов

Д.С. Семенова заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.М. Киселев заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Б. Малашичева заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 19-315-90051.

Информация об авторах

Дарья Сергеевна Семенова, инженер-исследователь федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация; младший научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт цитологии Российской академии наук», Санкт-Петербург;

Author Information Form

Semenova Daria S., Research Engineer at the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Saint-Petersburg State University”, Saint Petersburg, Russian Federation; Junior Researcher at the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Federal State Budgetary Institution of Science “Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences”, Saint Petersburg, Russian Federation; Laboratory Assistant at the Laboratory of Molecular Cardiology and Genetics, Federal

Российская Федерация; лаборант-исследователь лаборатории молекулярной кардиологии и генетики федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-6123-8096

Артём Михайлович Киселев, научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт цитологии Российской академии наук», Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-5524-6900

Анна Борисовна Малашичева, кандидат биологических наук заведующая лабораторией регенеративной биомедицины федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт цитологии Российской академии наук»; заведующая научно-исследовательской лабораторией молекулярной кардиологии и генетики института молекулярной биологии и генетики федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; доцент кафедры эмбриологии биологического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация; руководитель лаборатории регенеративной биомедицины федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт цитологии Российской академии наук», Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0820-2913

State Budgetary Institution “V.A. Almazov National Medical Research Center” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-6123-8096

Kiselev Artem M., Researcher at the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Federal State Budgetary Institution of Science “Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences”, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-5524-6900

Malashicheva Anna B., PhD, Head of the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Federal State Budgetary Institution of Science “Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences”; Head of the Laboratory of Molecular Cardiology and Genetics, Institute of Molecular Biology and Genetics, Federal State Budgetary Institution “V.A. Almazov National Medical Research Center” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation; Associate Professor at the Department of Embryology, Faculty of Biology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Saint-Petersburg State University”, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0820-2913

Вклад авторов в статью

СДС – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение, анализ и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

КАМ – вклад в концепцию и дизайн исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

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

Author Contribution Statement

SDS – 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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Stewart B.F., Siscovick D., Lind B.K., Gardin J.M., Gottdiener J.S., Smith V.E., Kitzman D.W., Otto C.M. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol.* 1997;29:630–4.
2. Mathieu P., Boulanger M.-C. Basic Mechanisms of Calcific Aortic Valve Disease. *Can J Cardiol.* 2014;30(9):982–93. doi: 10.1016/j.cjca.2014.03.029.
3. Fuery M.A., Liang L., Kaplan F.S., Mohler E.R. Vascular ossification: Pathology, mechanisms, and clinical implications. *Bone* 2018r;109:28–34. doi: 10.1016/j.bone.2017.07.006.
4. Soor G.S., Vukin I., Leong S.W., Oreopoulos G., Butany J. Peripheral vascular disease: who gets it and why? A histomorphological analysis of 261 arterial segments from 58 cases. *Pathology* [Internet]. 2008;40:385–91. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031302516323650> [cited 2018 Feb 28]
5. Demer LL, Tintut Y. Inflammatory , metabolic , and genetic mechanisms of vascular calcification . *PubMed Commons. Arter Thromb Vasc Biol.* 2014;34:715–23.
6. Li C.J., Madhu V., Balian G., Dighe A.S., Cui Q. Cross-Talk Between VEGF and BMP-6 Pathways Accelerates Osteogenic Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells. *J Cell Physiol.* 2015;230(11):2671–82. doi: 10.1002/jcp.24983
7. Kroeze R.J., Knippenberg M., Helder M.N. Osteogenic differentiation strategies for adipose-derived mesenchymal stem cells. *Methods Mol Biol.* 2011;702:233–48. doi: 10.1007/978-1-61737-960-4_17
8. Khanna-Jain R., Vuorinen A., Sándor G.K., Suuronen R., Miettinen S. Vitamin D(3) metabolites induce osteogenic differentiation in human dental pulp and human dental follicle cells. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010t;122(4):133–41. doi: 10.1016/j.jsbmb.2010.08.001. 1
9. Elashry M.I., Baulig N., Heimann M., Bernhardt C., Wenisch S., Arnhold S. Osteogenic differentiation of equine adipose tissue derived mesenchymal stem cells using CaCl₂. *Res Vet Sci.* 2018;117:45–53. doi: 10.1016/j.rvsc.2017.11.0102/

10. Langenbach F., Handschel J. Effects of dexamethasone, ascorbic acid and β -glycerophosphate on the osteogenic differentiation of stem cells in vitro. *Stem Cell Res Ther* [Internet]. BioMed Central; 2013;4:117. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24073831> [cited 2018 Nov 21]
11. Hamidouche Z., Haÿ E., Vaudin P., Charbord P., Schüle R., Marie P.J., Fromiguet O. FHL2 mediates dexamethasone-induced mesenchymal cell differentiation into osteoblasts by activating Wnt/beta-catenin signaling-dependent Runx2 expression. *FASEB J*. 2008;22(11):3813-22. doi: 10.1096/fj.08-106302/
12. Franceschi R.T., Iyer B.S. Relationship between collagen synthesis and expression of the osteoblast phenotype in MC3T3-E1 cells. *J Bone Miner Res*;[1992;7(2):235-46. doi: 10.1002/jbmr.5650070216./
13. Fatherazi S., Matsa-Dunn D., Foster B.L., Rutherford R.B., Somerman M.J., Presland R.B. Phosphate regulates osteopontin gene transcription. *J Dent Res* [Internet]. Intern. and American Associations for Dental Research; 2009; 88(1): 39–44. doi: 10.1177/0022034508328072
14. Almalki S.G., Agrawal D.K. Key transcription factors in the differentiation of mesenchymal stem cells. *Differentiation*. 2016;92(1-2):41-51. doi: 10.1016/j.diff.2016.02.005./
15. Felthaus O., Gosau M., Morsczech C. ZBTB16 Induces Osteogenic Differentiation Marker Genes in Dental Follicle Cells Independent From RUNX2 . *J Periodontol*. 2014;85(5):e144-51. doi: 10.1902/jop.2013.130445.
16. Zhang T., Xiong H., Kan L.X., Zhang C.K., Jiao X.F., Fu G., Zhang Q.-H., L L. u., Tong J.-H., B.-W.Gu, M.Yu, Liu J.-X., Licht J., Waxman S., Zelent A., Chen E., Chen S.-J.Genomic sequence, structural organization, molecular evolution, and aberrant rearrangement of promyelocytic leukemia zinc finger gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences Sep* 1999, 96 (20) 11422-11427; DOI: 10.1073/pnas.96.20.11422
17. Fischer S., Kohlhase J., Böhm D., Schweiger B., Hoffmann D., Heitmann M., Horsthemke B., Wiczorek D. Biallelic loss of function of the promyelocytic leukaemia zinc finger (PLZF) gene causes severe skeletal defects and genital hypoplasia. *J Med Gene*. 2008;45(11):731-7. doi: 10.1136/jmg.2008.059451. 3
18. Inoue I., Ikeda R., Tsukahara S. Current topics in pharmacological research on bone metabolism: Promyelotic leukemia zinc finger (PLZF) and tumor necrosis factor- α -stimulated gene 6 (TSG-6) identified by gene expression analysis play roles in the pathogenesis of ossification of the posterior longitudinal ligament. *J. Pharmacol. Sci*. 2006;100(3):205-10. doi: 10.1254/jphs.fmj05004x5.
19. Hemming S., Cakouros D., Vandyke K., Davis M.J., Zannettino A.C.W., Gronthos S. Identification of novel EZH2 targets regulating osteogenic differentiation in mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev*. 2016;25(12):909-21. doi: 10.1089/scd.2015.0384
20. Morsczech C. Gene expression of runx2, Osterix, c-fos, DLX-3, DLX-5, and MSX-2 in dental follicle cells during osteogenic differentiation in vitro. *Calcif Tissue Int*. 2006;78(2):98-102. doi: 10.1007/s00223-005-0146-0.
21. Kato M., Patel M.S., Levasseur R., Lobov I., Chang B.H., Glass D.A. 2nd, Hartmann C, Li L, Hwang TH, Brayton CF, Lang RA, Karsenty G, Chan L. Cbfa1-independent decrease in osteoblast proliferation, osteopenia, and persistent embryonic eye vascularization in mice deficient in Lrp5, a Wnt coreceptor. *J Cell Biol*. 2002;157(2):303-14. doi: 10.1083/jcb.200201089.
22. Morsczech C., Schmalz G., Reichert T.E., Völlner F., Saugspier M., Viale-Bouroncle S., Driemel O. Gene expression profiles of dental follicle cells before and after osteogenic differentiation in vitro. *Clin Oral Investig*. 2009;13(4):383-91. doi: 10.1007/s00784-009-0260-x.
23. Bilibina A.A., Anisimov S.V., Zaritskey A.Y., Dmitrieva R.I., Minullina I.R., Tarasova O.V. Bone marrow- and subcutaneous adipose tissue-derived mesenchymal stem cells: Differences and similarities. [Internet]. *Cell Cycle*. 2012;11:1. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22189711>[cited 2020 Apr 27]
24. Семенова Д.С., Костина А.С., Мустаева А.М., Клаузен П.Е., Добрынин М.А., Боярская Н.В., Домбровская Ю.А., Малашичева А.В., Енукашвили Н.И. Notch-зависимая активация остеогенного потенциала клеток периодонта. *Трансляционная медицина*. 2020;7(2):21-32. <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2020-7-2-21-32>
25. Malashicheva A., Kanzler B., Tolkunova E., Trono D., Tomilin A. Lentivirus as a tool for lineage-specific gene manipulations. *Genesis*. 2007;45(7):456-9. doi: 10.1002/dvg.20313.
26. Heo J.S., Choi Y., Kim H.-S., Kim H.O. Comparison of molecular profiles of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, umbilical cord blood, placenta and adipose tissue. *Int J Mol Med*. 2016;37(1):115-25. doi: 10.3892/ijmm.2015.2413.
27. Wasim M., Carlet M., Mansha M., Greil R., Ploner C., Trockenbacher A., Rainer J., Kofler R. PLZF/ZBTB16, a glucocorticoid response gene in acute lymphoblastic leukemia, interferes with glucocorticoid-induced apoptosis. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2010;120(4-5):218-27. doi: 10.1016/j.jsbmb.2010.04.019.
28. Kolesnichenko M., Vogt P.K. Understanding PLZF: Two transcriptional targets, REDD1 and smooth muscle α -actin, define new questions in growth control, senescence, self-renewal and tumor suppression. *Cell Cycle*. 2011; 1;10(5):771-5. doi: 10.4161/cc.10.5.14829.
29. Felicetti F., Bottero L., Felli N., Mattia G., Labbaye C., Alvino E., Peschle C., Colombo M.P., Carè A. Role of PLZF in melanoma progression. *Oncogene*. 2004;23(26):4567-76. doi: 10.1038/sj.onc.120759 /
30. Vincent-Fabert C, Platet N, Vandevelde A, Poplineau M, Koubi M, Finetti P, et al. PLZF mutation alters mouse hematopoietic stem cell function and cell cycle progression. *Blood*. 2016;127(15):1881-5. doi: 10.1182/blood-2015-09-666974
31. Ikeda R., Yoshida K., Tsukahara S., Sakamoto Y., Tanaka H., Furukawa K., Inoue I. The promyelotic leukemia zinc finger promotes osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells as an upstream regulator of CBFA1. *J Biol Chem*. 2005;280(9):8523-30. doi: 10.1074/jbc.M409442200.

REFERENCES

1. Stewart B.F., Siscovick D., Lind B.K., Gardin J.M., Gottdiener J.S., Smith V.E., Kitzman D.W., Otto C.M. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol*. 1997;29:630–4.
2. Mathieu P., Boulanger M.-C. Basic Mechanisms of Calcific Aortic Valve Disease. *Can J Cardiol*. 2014;30(9):982-93. doi: 10.1016/j.cjca.2014.03.029.
3. Fuery M.A., Liang L., Kaplan F.S., Mohler E.R. Vascular ossification: Pathology, mechanisms, and clinical implications. *Bone* 2018;109:28-34. doi: 10.1016/j.bone.2017.07.006.
4. Soor G.S., Vukin I., Leong S.W., Oreopoulos G., Butany J. Peripheral vascular disease: who gets it and why? A histomorphological analysis of 261 arterial segments from 58 cases. *Pathology* [Internet]. 2008;40:385–91. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031302516323650> [cited 2018 Feb 28]
5. Demer LL, Tintut Y. Inflammatory , metabolic , and genetic mechanisms of vascular calcification . *PubMed Commons. Arter Thromb Vasc Biol*. 2014;34:715–23.
6. Li C.J., Madhu V., Balian G., Dighe A.S., Cui Q. Cross-Talk Between VEGF and BMP-6 Pathways Accelerates Osteogenic Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells. *J Cell Physiol*. 2015;230(11):2671-82. doi: 10.1002/jcp.24983
7. Kroeze R.J., Knippenberg M., Helder M.N. Osteogenic differentiation strategies for adipose-derived mesenchymal stem

cells. *Methods Mol Biol.* 2011;702:233-48. doi: 10.1007/978-1-61737-960-4_17

8. Khanna-Jain R., Vuorinen A., Sándor G.K., Suuronen R., Miettinen S. Vitamin D(3) metabolites induce osteogenic differentiation in human dental pulp and human dental follicle cells. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010;122(4):133-41. doi: 10.1016/j.jsbmb.2010.08.001. 1

9. Elashry M.I., Baulig N., Heimann M., Bernhardt C., Wenisch S., Arnhold S. Osteogenic differentiation of equine adipose tissue derived mesenchymal stem cells using CaCl₂. *Res Vet Sci.* 2018;117:45-53. doi: 10.1016/j.rvsc.2017.11.0102/

10. Langenbach F., Handschel J. Effects of dexamethasone, ascorbic acid and β -glycerophosphate on the osteogenic differentiation of stem cells in vitro. *Stem Cell Res Ther* [Internet]. *BioMed Central*; 2013;4:117. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24073831> [cited 2018 Nov 21]

11. Hamidouche Z., Haÿ E., Vaudin P., Charbord P., Schüle R., Marie P.J., Fromiguet O. FHL2 mediates dexamethasone-induced mesenchymal cell differentiation into osteoblasts by activating Wnt/beta-catenin signaling-dependent Runx2 expression. *FASEB J.* 2008;22(11):3813-22. doi: 10.1096/fj.08-106302/

12. Franceschi R.T., Iyer B.S. Relationship between collagen synthesis and expression of the osteoblast phenotype in MC3T3-E1 cells. *J Bone Miner Res*;[1992;7(2):235-46. doi: 10.1002/jbmr.5650070216./

13. Fatherazi S., Matsa-Dunn D., Foster B.L., Rutherford R.B., Somerman M.J., Presland R.B. Phosphate regulates osteopontin gene transcription. *J Dent Res* [Internet]. Intern. and American Associations for Dental Research; 2009; 88(1): 39–44. doi: 10.1177/0022034508328072

14. Almalki S.G., Agrawal D..K. Key transcription factors in the differentiation of mesenchymal stem cells. *Differentiation.* 2016;92(1-2):41-51. doi: 10.1016/j.diff.2016.02.005./

15. Felthaus O., Gosau M., Morscheck C. ZBTB16 Induces Osteogenic Differentiation Marker Genes in Dental Follicle Cells Independent From RUNX2 . *J Periodontol.* 2014;85(5):e144-51. doi: 10.1902/jop.2013.130445.

16. Zhang T., Xiong H., Kan L.X., Zhang C.K., Jiao X.F., Fu G., Zhang Q.-H., L L u., Tong J.-H, B.-W.Gu, M.Yu, Liu J.-X., Licht J., Waxman S., Zelent A., Chen E., Chen S.-J.Genomic sequence, structural organization, molecular evolution, and aberrant rearrangement of promyelocytic leukemia zinc finger gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences* Sep 1999, 96 (20) 11422-11427; DOI: 10.1073/pnas.96.20.11422

17. Fischer S., Kohlhasse J., Böhm D., Schweiger B., Hoffmann D., Heitmann M., Horsthemke B., Wiczorek D. Biallelic loss of function of the promyelocytic leukaemia zinc finger (PLZF) gene causes severe skeletal defects and genital hypoplasia. *J Med Gene.* 2008;45(11):731-7. doi: 10.1136/jmg.2008.059451. 3

18. Inoue I., Ikeda R., Tsukahara S. Current topics in pharmacological research on bone metabolism: Promyelotic leukemia zinc finger (PLZF) and tumor necrosis factor- α -stimulated gene 6 (TSG-6) identified by gene expression analysis play roles in the pathogenesis of ossification of the posterior longitudinal ligament. *J. Pharmacol. Sci.* 2006;100(3):205-10. doi: 10.1254/jphs.fmj05004x5.

19. Hemming S., Cakouros D., Vandyke K., Davis M.J., Zannettino A.C.W., Gronthos S. Identification of novel EZH2 targets regulating osteogenic differentiation in mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev.* 2016;25(12):909-21. doi: 10.1089/scd.2015.0384

20. Morscheck C. Gene expression of runx2, Osterix, c-fos, DLX-3, DLX-5, and MSX-2 in dental follicle cells during osteogenic differentiation in vitro. *Calcif Tissue Int.* 2006;78(2):98-102. doi: 10.1007/s00223-005-0146-0.

21. Kato M., Patel M.S., Levasseur R., Lobov I., Chang B.H., Glass D.A. 2nd, Hartmann C, Li L, Hwang TH, Brayton CF, Lang RA, Karsenty G, Chan L. Cbfa1-independent decrease in osteoblast proliferation, osteopenia, and persistent embryonic eye vascularization in mice deficient in Lrp5, a Wnt coreceptor. *J Cell Biol.* 2002;157(2):303-14. doi: 10.1083/jcb.200201089.

22. Morscheck C., Schmalz G., Reichert T.E., Völlner F., Saugspier M., Viale-Bouroncle S., Driemel O. Gene expression profiles of dental follicle cells before and after osteogenic differentiation in vitro. *Clin Oral Investig.* 2009;13(4):383-91. doi: 10.1007/s00784-009-0260-x.

23. Bilibina A.A., Anisimov S.V., Zaritskey A.Y., Dmitrieva R.I., Minullina I.R., Tarasova O.V. Bone marrow- and subcutaneous adipose tissue-derived mesenchymal stem cells: Differences and similarities. [Internet]. *Cell Cycle.* 2012;11:1. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22189711>[cited 2020 Apr 27]

24. Semenova D.S., Kostina A.S., Mustaeva A.M., Klauzen P.E., Dobrynin M.A., Boyarskaya N.V., Dombrovskaya Yu.A., Malashicheva A.B., Enukashvily N.I. Notch-dependent activation of periodontal cells osteogenic potential. *Translational Medicine.* 2020;7(2):21-32. (In Russian) <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2020-7-2-21-32>

25. Malashicheva A., Kanzler B., Tokunova E., Trono D., Tomilin A. Lentivirus as a tool for lineage-specific gene manipulations. *Genesis.* 2007;45(7):456-9. doi: 10.1002/dvg.20313.

26. Heo J.S., Choi Y., Kim H.-S., Kim H.O. Comparison of molecular profiles of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, umbilical cord blood, placenta and adipose tissue. *Int J Mol Med.* 2016;37(1):115-25. doi: 10.3892/ijmm.2015.2413.

27. Wasim M., Carlet M., Mansha M., Greil R., Ploner C., Trockenbacher A., Rainer J., Kofler R. PLZF/ZBTB16, a glucocorticoid response gene in acute lymphoblastic leukemia, intrferes with glucocorticoid-induced apoptosis. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010;120(4-5):218-27. doi: 10.1016/j.jsbmb.2010.04.019.

28. Kolesnichenko M., Vogt P.K. Understanding PLZF: Two transcriptional targets, REDD1 and smooth muscle α -actin, define new questions in growth control, senescence, self-renewal and tumor suppression. *Cell Cycle.* 2011; 1;10(5):771-5. doi: 10.4161/cc.10.5.14829.

29. Felicetti F., Bottero L., Felli N., Mattia G., Labbaye C., Alvino E., Peschle C., Colombo M.P., Carè A. Role of PLZF in melanoma progression. *Oncogene.* 2004;23(26):4567-76. doi: 10.1038/sj.onc.120759 /

30. Vincent-Fabert C, Platet N, Vandevelde A, Poplineau M, Koubi M, Finetti P, et al. PLZF mutation alters mouse hematopoietic stem cell function and cell cycle progression. *Blood.* 2016;127(15):1881-5. doi: 10.1182/blood-2015-09-666974

31. Ikeda R., Yoshida K., Tsukahara S., Sakamoto Y., Tanaka H., Furukawa K., Inoue I. The promyelotic leukemia zinc finger promotes osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells as an upstream regulator of CBFA1. *J Biol Chem.* 2005;280(9):8523-30. doi: 10.1074/jbc.M409442200.

Для цитирования: Семенова Д.С., Киселев А.М., Малашичева А.Б. Активация экспрессии транскрипционного фактора ZBTB16 при остеогенной дифференцировке стволовых клеток мезенхимного ряда. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2021;10(3): 44-55. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-44-55

To cite: Semenova D.S., Kiselev A.M., Malashicheva A.B. Activation of transcriptional factor ZBTB16 expression during osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2021;10(3): 44-55. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-44-55



УДК 614.2

DOI 10.17802/2306-1278-2021-10-3-56-64

РЕЗУЛЬТАТИВНОСТЬ СИСТЕМЫ МЕНЕДЖМЕНТА КАЧЕСТВА В УСЛОВИЯХ РИСКА НЕПРЕОДОЛИМОЙ СИЛЫ (ПАНДЕМИЯ COVID-19)

Д.В. Карась, Я.В. Данильченко, Е.А. Бацина, А.Н. Попсуйко, Д.В. Килижекова, Г.В. Артамонова

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

Основные положения

- Совершенствование системы менеджмента качества является стратегическим решением организации, которое улучшает результаты деятельности и обеспечивает основу для развития. Использование систем менеджмента качества способствует устойчивости работы учреждений здравоохранения, особенно в условиях риска непреодолимой силы (например, пандемии COVID-19).

Цель	Оценить результативность системы менеджмента качества (СМК) НИИ КПССЗ в 2020 г. и определить влияние пандемии COVID-19 на выполнение отдельных мероприятий и целей организации.
Материалы и методы	Проанализировано 11 процессов СМК НИИ КПССЗ в 2020 г. по 98 критериям результативности. В исследовании применены общенаучные методы анализа и синтеза, структурный и системный анализ.
Результаты	Результативность СМК в 2020 г. составила 83,5%, тогда как по отдельным процессам варьировала от 57 до 100%. Достижение целевых показателей по критериям отражает эффективность управления процессными рисками. В результате естественного развития системы и анализа опыта работы в необычных обстоятельствах на 2021 г. добавлено 27 критериев, 9 из которых переформулированы. По итогам 2021 г. СМК будет проанализирована по 117 параметрам результативности процессов.
Заключение	Представленный опыт функционирования системы менеджмента качества в 2020 г. свидетельствует о значимой роли мониторинга основных процессов научно-медицинской организации и анализа показателей их результативности в условиях пандемии COVID-19. Подобный анализ является базовым для принятия решений и позволяет выполнять обязательства, поддерживать условия для повышения удовлетворенности заинтересованных сторон, отслеживать риски и оценивать возможности, связанные со средой и целями организации, обеспечивать соответствие стандартам, нормативно-правовым актам.
Ключевые слова	Система менеджмента качества • Пандемия COVID-19 • Научно-исследовательская медицинская организация • Результативность деятельности

Поступила в редакцию: 05.04.2021; поступила после доработки: 02.05.2021; принята к печати: 25.05.2021

QUALITY MANAGEMENT SYSTEM PERFORMANCE UNDER FORCE MAJEURE RISK (COVID-19 PANDEMIC)

D.V. Karas, Y.V. Danilchenko, E.A. Batsina, A.N. Popsuyko, D.V. Kilizhekova, G.V. Artamonova

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

Highlights

- Continuous improvement of the quality management system is a strategic decision that helps to improve the performance of the organization and to provide a sound basis for sustainable development. Implementation of quality management systems ensures the sustainability of health care institutions, especially facing the risk of certain force majeure events (COVID-19 pandemic).

Для корреспонденции: Дмитрий Викторович Карась, karasdv@kemcardio.ru; адрес: Сосновы бульвар, 6, Кемерово, Россия, 650002

Corresponding author: Dmitrii V. Karas, e-mail: karasdv@kemcardio.ru; address: 6, Sosnoviy Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

Aim	To assess the effectiveness of QMS implemented by “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases” (NII KPSSZ) in 2020 and determine the impact of force majeure event (COVID-19 pandemic) on the achievement of the goals and objectives of the organization.
Methods	11 QMS processes of the NII KPSSZ in 2020 were analyzed according to 98 performance criteria. The following general scientific methods were used for the assessment of QMS: analysis, synthesis, structural and systems analysis.
Results	The overall effectiveness of the QMS in 2020 was 83.5%, for the individual processes it varies from 57% to 100%. Achievement of target indicators in accordance with the criteria reflects the effectiveness of risk management in QMS processes. 27 criteria were added (9 of which were reformulated) as a result of the development of the system and the analysis of work experience in unusual circumstances for year 2021. At the end of 2021, QMS will be analyzed according to 117 criteria for the processes effectiveness.
Conclusion	The presented experience of quality management system functioning in 2020 highlights the significant roles of monitoring of the main processes and performance indicators analysis of scientific and medical organization in the ongoing COVID-19 pandemic. Such analysis is a necessary for decision-making because it allows the organization to fulfill the obligations, maintain conditions for increasing stakeholder satisfaction, monitor risks and assess opportunities associated with the environment and objectives of the organization, and ensure compliance with the standard requirements, regulations and legislation.
Keywords	Quality management system • COVID-19 • Performance indicators • Research institution • Medical organization • Efficiency of organization • Planning • Monitoring

Received: 05.04.2021; received in revised form: 02.05.2021; accepted: 25.05.2021

Список сокращений

КРП – критерии результативности процессов	СМК – система менеджмента качества
СК – стратегическая карта	ЦП – целевые показатели

Введение

Пандемия COVID-19 существенно повлияла на деятельность системы здравоохранения. Министр здравоохранения Российской Федерации М.А. Мурашко на конференции «Медицина и качество 2020» 7 декабря заявил, что внедрение системы менеджмента качества (СМК) обеспечивает готовность и высокую адаптивность персонала к изменениям, его приверженность вопросам безопасности и качества медицинской деятельности [1]. СМК ориентирует учреждение на постоянное совершенствование внутренних процессов и благодаря этому позволяет добиваться положительных результатов деятельности [2]. Мониторинг принятых показателей результативности позволяет оценить функционирование системы, правильность постановки целей и возможность своевременно предупреждать появление несоответствий, особенно связанных с рисками; анализировать эффективность разрабатываемых мероприятий и тем самым поддерживать деятельность организации в стабильном состоя-

нии, а также формировать предпосылки к постоянному улучшению [2, 3].

Материалы и методы

Исследование проведено в Научно-исследовательском институте комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (НИИ КПССЗ; Кемерово, Россия), объектом исследования явилась СМК учреждения. В 2020 г. результативность системы оценена комплексно по 98 критериям в 11 процессах. Для изучения результатов исследования применены общенаучные методы анализа и синтеза, структурный и системный анализ.

Результаты

Сложившаяся неблагоприятная эпидемиологическая ситуация выступила в роли существенного стресс-фактора для организации, значительно повысив уровень неопределенности среды для функционирования процессов. В связи с этим потребовалось больше ресурсов для обеспечения

устойчивости и стабильности работы Института, сравнительно более актуальным стал вопрос управления рисками результативности процессов – обстоятельств и условий, препятствующих достижению процессами СМК запланированных результатов [4]. Таким образом, достижение целевых показателей по критериям результативности процессов СМК (КРП) свидетельствует о результативности в отношении управления процессными рисками.

Отчетный период характеризовался неравномерным развитием процессов. Обзорно остановимся на характеристике каждого из них.

Результативность *научно-исследовательского процесса* в 2020 г. определена на основе 15 критериев, 13 из которых были достигнуты. Государственное задание выполнено в полном объеме, в том числе в отношении нового показателя – комплексного балла публикационной результативности [5].

В 2020 г. с апреля по декабрь научные сотрудники работали в дистанционном формате. Учитывая, что значимая часть научных исследований выполняется на базе клинических подразделений, сложности возникли с набором материала по фундаментальным темам, поисковым научным исследованиям. В связи с ограниченностью деятельности невозможно было проводить проспективные исследования, в том числе эпидемиологические, требующие непосредственного участия пациентов. Акценты деятельности научных сотрудников были смещены на аналитическую работу уже имеющихся баз данных, подготовку заявок на гранты, образовательные программы. В 2020 г. по сравнению с 2019 г. на 21% увеличилась доля статей, опубликованных в индексируемых Web of Science/Scopus журналах, и более чем в два раза цитируемость; индекс Хирша учреждения в WoS составил 19, в РИНЦ – 46. 34,4% заявок на гранты поддержаны различными фондами, зарегистрированы 18 объектов интеллектуальной собственности (соответственно на 10% и 2 объекта больше, чем в 2019 г.), защищены 9 кандидатских и одна докторская диссертации.

В целях дальнейшего развития научно-исследовательского процесса приняты решения о необходимости коррекции критериев результативности научной деятельности (публикация статей в журналах, индексируемых международными базами данных; срок от момента направления в печать до публикации статьи), регламенте управления грантовой деятельности (планирование, экспертиза, отчетность, экономическая эффективность), интеграции научно-исследовательской и лечебно-диагностической деятельности.

Результативность управления *лечебно-диагностическим процессом* мониторируется по 18 критериям, по 14 из них достигнуты целевые значения. Неблагоприятная эпидемиологическая обстановка привела к сокращению объема плановых опера-

тивных вмешательств, пересмотрены показания к госпитализации (критерии отбора), увеличился риск появления пациентов со сложной патологией системы кровообращения и коронавирусной инфекцией. В структуре пациентов возросла доля более тяжелых и возрастных больных. В 2020 г. изменен подход к учету ряда значимых показателей качества медицинской помощи. Так, по сравнению с предыдущим периодом отмечено увеличение общей частоты инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, уровня послеоперационных осложнений и летальности.

В 2020 г. в целях оптимизации лечебно-диагностического процесса и повышения соответствия оказания медицинской помощи требованиям внутреннего контролю качества и безопасности медицинской деятельности реорганизована структура клинических отделений, в результате чего в 2021 г. необходимо завершить формирование актуальной документированной процедуры и выбор адекватных критериев результативности процесса.

В процессе *тактического планирования* НИИ КПССЗ за отчетный период по 8 из 10 показателей результативности процесса не только достигнуты, но и превышены целевые уровни (выполнение плана научно-исследовательских работ научной лабораторией). Не соответствуют целевым значениям КРП: «доля пролеченных больных, проживающих на территории других регионов» (снижение на 0,3%), «исполнение лимитов финансирования по подразделениям по категории лекарств, изделий медицинского назначения, химических реактивов, дезинфицирующих средств, расходных материалов» (увеличение на 0,05%); не выполнены планы по улучшению работы и постановления ученого совета.

В связи с изменением законодательства и актуальными экономическими обстоятельствами на 2021 г. введены дополнительные КРП: соблюдение регламента корректировок плана финансово-хозяйственной деятельности и выполнение плана комплексного балла публикационной результативности научной лабораторией.

В процессе «*Управление документами и записями*» 4 из 6 критериев достигнуты. В связи с пандемией возрос поток срочных документов из Минобрнауки и Минздрава России. Некоторые письма направлялись с уже прошедшими сроками исполнения. Из-за разницы во времени запросы приходили поздно и, соответственно, ответы предоставляли на следующий день, в результате чего происходила задержка исполнения поручений. Данное обстоятельство повлияло на показатель количества неисполненных в срок документов.

НИИ КПССЗ имеет доступ к отслеживанию прохождения исходящих документов в Минобрнауки РФ и направлению документов посредством

системы электронного документооборота. В 2021 г. необходимо максимально использовать эту возможность для обеспечения прозрачности движения исходящей/входящей документации.

В процессе «Управление информационными технологиями» 87,5% критериев результативности соответствуют целевым показателям (ЦП). Общее количество заявок, поступивших от пользователей в программном обеспечении «Сервисная служба», в сравнении с 2019 г. увеличилось на 9%. Количество заявок с оценкой «неудовлетворенно» составило 0,66% (28 заявок) общего числа выполненных заявок. За отчетный период незначительно уменьшился КРП «доля заявок с задержкой срока исполнения» (с 6,55% в 2019 г. до 6% в 2020 г.). Важный факт недостижения КРП – 77% рабочих мест оснащены персональными компьютерами, 74% которых – компьютерами старше 5 лет.

В отчетном году из-за необходимости ведения деятельности в дистанционном формате выполнены внеплановые работы: расширены возможности внутреннего медицинского портала; разработаны новые электронные медицинские документы, отчетные формы, модули для интеграции с областным регистром болезней системы кровообращения, с ГБУЗ «Кузбасский клинический кардиологический диспансер им. акад. Л.С. Барбараша». Внесены изменения в регистры данных для научных исследований, разработаны и запущены в работу два новых регистра пациентов. Платформа онлайн-обучения «Электронная информационно-образовательная среда НИИ КПССЗ» прошла экспертизу и подключена к современной цифровой образовательной среде в РФ. Служба ресурсного обеспечения подключена к системе маркировки лекарственных средств, начата активная работа по внедрению электронного документооборота по закупочной деятельности.

В 2020 г. по процессу «Управление оборудованием и средствами измерений» достигнуты все целевые КРП. В связи с проведением более частых карантинных мероприятий уменьшилось число отремонтированного оборудования на 216 единиц по сравнению с 2019 г. При этом объем технического обслуживания сокращен лишь на 11 единиц, что свидетельствует о поддержании основных фондов в рабочем состоянии в условиях высокого риска внешних факторов. С целью управляемости процесса расширен штат технического отдела, выделено помещение под склад для запасных частей к оборудованию, перераспределены обязанности между участниками, актуализирована документированная процедура. На 2021 г. с целью ослабления риска нефункционирования парка оборудования принято решение о заключении сервисных контрактов на дорогостоящую технику, проведении анализа востребованности, поиске вариантов повышения

результативности использования медицинского и научного оборудования.

В процессе «Управление инфраструктурой, управление производственной средой» 80% КРП достигнуты. Основанием для снижения показателя результативности явился инцидент нарушения электроснабжения корпуса отдела экспериментальной медицины, возникший по причине неисправности холодильной установки. В рамках реализации проекта внутреннего контроля качества и безопасности медицинской деятельности в учреждении разработан и утвержден пакет регламентирующих документов: «Положение о профилактике падений и травматизма пациентов, находящихся на лечении», «Положение о системе управления охраной труда», «Политика по охране труда, программа проведения вводного инструктажа по охране труда и пожарной безопасности для работников сторонних организаций, порядок создания и обеспечения безопасной среды», «Положение о технической эксплуатации системы электроснабжения», «Положение о технической эксплуатации системы медицинского газоснабжения».

В 2020 г. в процессе «Управление персоналом» отмечена положительная динамика по 4 из 7 КРП. Текучесть кадров находится за пределами естественного уровня (8,5%). В связи с ограничительными мероприятиями из-за пандемии не достигнуты целевые значения выполнения плана желательного обучения (42,1% при ЦП 50%), доли среднего медицинского и врачебного персонала, имеющего квалификационную категорию (ЦП более 81%). В 2021 г. целесообразно актуализировать КРП, сформировать концепцию кадровой политики, пересмотреть коллективный договор, положение об оплате труда и материальном стимулировании.

В процессе «Обеспечение ресурсами» в 2020 г. показана высокая эффективность и гибкость в организации закупок и поставок в условиях повышенной неопределенности (достигнуты 8 из 9 КРП). В связи с необходимостью оформления дополнительных закупок дезинфицирующих средств, средств индивидуальной защиты, антибиотиков и иных лекарственных средств и медицинских изделий, необходимых для поддержания стабильной работы учреждения, значительно увеличилась нагрузка на контрактную службу и службу обеспечения ресурсами. В 2020 г. не выполнен один показатель – «Своевременность подачи заявки на материально-технические ценности»: 33% общего числа заявок поданы подразделениями с задержкой, что обусловлено как необходимостью внеплановых заявок, так и недостаточным вниманием к процессу формирования планов материально-технических ценностей структурными подразделениями. Для регулирования последнего в 2021 г. в процесс тактического планирования введен новый КРП –

соблюдение регламента корректировок плана финансово-хозяйственной деятельности.

В процессе «Клинические исследования лекарственных препаратов и испытания медицинских изделий» КРП «количество вновь открытых протоколов клинических исследований» ниже ЦП. В связи с эпидемиологической ситуацией смещен фокус исследований на противокоронавирусные препараты.

Не в полной мере удалось реализовать планы по улучшению процесса «Оценка удовлетворенности потребителя», однако все КРП соответствуют целевым. В 2021 г. будут внесены изменения в программное обеспечение для оценки удовлетворенности пациентов, пересмотрены КРП, внедрен способ обработки предложений, жалоб от пациентов, получаемых из журналов отзывов и предложений в отделениях, актуализирован приказ об обращении граждан.

Таким образом, в 2020 г. из 98 КРП по 11 процессам результативность СМК НИИ КПССЗ составила 83,5%, с вариабельностью от 57 до 100%, что сопоставимо с результатами прошлых лет (рис. 1).

Результат достигнут благодаря устойчивости всех процессов модели СМК с возможностью оперативного реагирования на меняющиеся внешние условия, среди которых необходимость организации условий для оказания специализированной помощи пациентам сердечно-сосудистого профиля с подозрением на COVID-19. Это потребовало обеспечения работы в сменном режиме хирургических отделений с максимальным использованием операционных, выделением дополнительных мест хранения материальных запасов, разработки и актуализации целого комплекса нормативных актов и регламентов работы, обеспечивающих практическую реализацию повышенных требований к эпидемиологической безопасности. Кроме того, решающее значение имела возможность активного использования информационных технологий в управлении процессами, в частности внедрение электронного календаря госпитализации, лабораторной информационной системы, организация дистанционных рабочих мест и удаленных форм взаимодействия



Рисунок 1. Динамика общей результативности процессов СМК НИИ КПССЗ в 2020 г. (%)

Figure 1. Dynamics of the overall QMS process performance at NII KPSSZ (2020) (%)

сотрудников, развитие дистанционных образовательных технологий, использование инструментов электронного документооборота.

На 2021 г. установлены 27 новых критериев, 9 из которых модифицированы из числа имеющихся; всего определены 117 КРП.

В НИИ КПССЗ результативность СМК оценивается в контексте целей развития организации в целом, которые устанавливаются в рамках процесса «Стратегическое планирование». В первой стратегической карте (СК) целей в области качества в 2010 г. обозначены 4 приоритетных направления развития: потребители, финансы, внутренние процессы, обучение и развитие. С течением времени область деятельности расширялась, менялись внешние и внутренние условия, появлялись новые требования со стороны контролирующих органов и общества. СК совершенствовалась и видоизменялась, выступая основным инструментом стратегического развития. В 2020 г. в НИИ КПССЗ сформированы 8 направлений: ресурсы, финансы, информационная безопасность, благоприятная производственная среда, результаты научных исследований, качество оказания медицинской помощи, развитие компетенций и повышение удовлетворенности персонала, развитие системы менеджмента качества.

Ежегодно высшее руководство собирает данные о выполнении мероприятий СК, оценивает причины невыполнения мероприятий, корректирует работу. Наиболее высокий уровень выполнения мероприятий отмечен в 2018 г. – 93%, самый низкий в 2020 г. – 61% (рис. 2).

На рис. 3 показана взаимосвязь количества целей и мероприятий для их достижения по годам. Максимум по количеству целей зафиксирован в 2016 г. – 11, минимум в 2021 г. – 7.

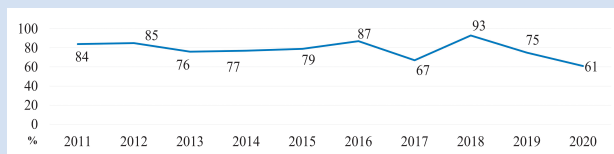


Рисунок 2. График выполнения мероприятий стратегической карты НИИ КПССЗ в 2011–2020 гг.

Figure 2. Schedule of activities in the strategy map of NII KPSSZ in 2011–2020



Рисунок 3. Количество целей и мероприятий в НИИ КПССЗ в 2011–2020 гг.

Figure 3. Number of goals and number of events at NII KPSSZ in 2011–2020

Минимальное количество мероприятий зафиксировано в 2013 и 2014 гг. – 18. Интересно отметить, что чем меньше ставится целей, тем больше планируется мероприятий: анализ показывает, что это связано с укрупнением целей и необходимостью детализации путей их достижения. К примеру, на 2021 г. запланировано максимальное количество мероприятий – 51 – в рамках 8 целей.

Из рис. 1 видно, что, несмотря на удовлетворительный уровень результативности процессов СМК, в 2020 г. отмечен минимальный за историю наблюдений показатель выполнения мероприятий СК. Таким образом, итоговая эффективность СМК, понимаемая как способность процессов СМК достигать запланированных результатов в связи с фактической реализацией приоритетных целей организации в условиях ограниченных ресурсов [6], в 2020 г. также оказалась минимальной за последние 5 лет и составила 69,6%.

Данный факт свидетельствует о том, что в условиях риска непреодолимой силы (пандемия COVID-19) доступные материальные, человеческие и организационные ресурсы были направлены на обеспечение бесперебойной работы учреждения и контроль ключевых рисков, которые, прежде всего, отражены в показателях результативности процессов СМК. Поставленные задачи развития в области качества не были выполнены в запланированном объеме ввиду значительного усложнения условий реализации лечебно-диагностического процесса, ограничений в традиционном (очном) взаимодействии сотрудников, в том числе открытой коллективной работе, недостаточности прочих ресурсов.

Необходимость спрогнозировать общие контуры внешних явлений и процессов, способных в 2021 г. повлиять на достижение целей НИИ КПССЗ, потребность в улучшении подходов формирования СК позволили внедрить новые инструменты стратегического планирования, в частности элементы методологии Rapid Foresight 0.4 [7], в которой для описания тенденций и изменений использована категория «тренд». Под трендом понимают устойчивый, развивающийся во времени процесс, влияющий на объект (область) анализа, описывают определенные ценности и поведенческие характеристики, свойства окружающей среды.

В качестве объекта анализа выбраны основные направления деятельности НИИ КПССЗ (научная, лечебно-диагностическая, образовательная), а также система управления и рабочая среда учреждения. Для оценки трендов привлечены эксперты – владельцы процессов СМК, которые одновременно являются представителями административно-управленческого аппарата НИИ КПССЗ. Организационно процесс формирования трендов был разбит на три этапа. Первый – сбор мнений экспертов о существующих трендах в основных направлени-

ях деятельности учреждения, анализ источников литературы, нормативно-правовой документации. Второй этап включал обобщение и классификацию. Третий – итоговая оценка трендов экспертами по 5-балльной шкале на основании значимости и силы влияния тренда на 2021 г. и перспективу.

Сформированные тренды в сфере научной деятельности включали: проведение фундаментальных и поисковых научных исследований (ФИ и ПНИ соответственно), направленных на решение значимых научных задач, определяющих социально-экономическое и научно-технологическое развитие РФ; формирование эффективной системы управления ФИ и ПНИ, обеспечивающей повышение результативности, значимости и востребованности результатов для развития национальной экономики и общества; увеличение роли грантово-целевого подхода к финансированию научных исследований. В лечебно-диагностической деятельности: пациентоориентированность, развитие бережливого производства, совершенствование технологий миниинвазивной хирургии при болезнях системы кровообращения. В образовательной деятельности: развитие онлайн-обучения с развернутой обратной связью, увеличение значения практикоориентированного обучения, формирование у обучающихся универсальных компетенций, совершенствование дополнительного последиplomного образования.

Обзор актуальных рисков системы управления, которые могут повлиять на достижение целей СК, проведен экспертным путем владельцами процессов СМК. Для 7 целевых направлений в области качества выделены 32 риска, из которых 18 (56%) отнесены к внешним и 14 (44%) к внутренним. Структура рисков для СМК НИИ КПССЗ отражена на рис. 4.

Среди *внешних рисков* на 2021 г. актуальны неопределенность и изменение нормативно-правовой базы, финансирования деятельности учреждения, эпидемиологические риски. *Внутренние риски* остаются традиционными (планирование, организация, управление персоналом). Специфику выявления внутренних и внешних рисков необходимо учесть при организации исполнения задач СК.

Таким образом, на основании сформулированных трендов и обозначенных рисков сформирована СК целей в области качества на 2021 г., выделены задачи, ожидаемые результаты и сроки, назначены лица, ответственные за их выполнение. Инновацией 2021 г. станет разработка дорожных карт по мероприятиям для решения задач.

При формировании новых целей СМК необходимо опираться на опыт предшествующего периода, тем самым свидетельствуя о развитии НИИ КПССЗ в выбранных стратегических направлениях и повышении полезности СМК в деятельности работников учреждения. Так, по результатам опроса

основного персонала в 2021 г., более половины респондентов видят пользу СМК для своей работы, что в 1,56 раза выше ($p = 0,00009$) в сравнении с данными 2012 г. (таблица).

Обсуждение

В литературе активно появляются сведения о влиянии пандемии на работу медицинских учреждений. Е.Ю. Башкуева в исследовании проблем управления медицинской деятельностью освещает ключевые недостатки при организации эпидемиологической безопасности и связанные с ними экономические потери [8]. В работе М.В. Луговской и Н.Н. Зубаревой рассмотрена возможность использования телемедицинских технологий как инструмента преодоления кризиса, развития и увеличения охвата населения медицинскими услугами [9].

По результатам анализа влияния пандемии на работу систем менеджмента качества А.А. Сальниковой установлено, что в организациях с внедренной СМК управляемость в условиях риска непреодолимой силы осталась на удовлетворительном уровне [10]. Опрос более чем 250 квалифицированных специалистов разных отраслей показал, что наряду с отрицательным влиянием пандемии на работу учреждений было и положительное: внедрение инноваций, повышение продуктивности и сплоченности коллектива. В частности в сфере здравооо-

ранения доля положительных эффектов пандемии была выше. Отмечены акцент на благополучии сотрудников и низкое воздействие неблагоприятной ситуации на моральный дух работников.

Среди направлений развития ряд респондентов отметили повышение маневренности персонала с помощью гибких методов работы, информационную безопасность и цифровизацию.

Заключение

Анализ результативности системы менеджмента качества НИИ КПССЗ в условиях риска непреодолимой силы (пандемия COVID-19) свидетельствует о его влиянии на выполнение отдельных мероприятий, определенных на 2020 г., но не на основные цели организации. Мониторинг КРП обеспечил управляемость главных процессов деятельности за счет смены приоритетов с развития на адаптацию и стабильность работы в новых условиях. В ходе анализа результативности СМК в 2020 г. сформированы приоритеты на 2021 г. с учетом возможных рисков для системы управления учреждением.

Конфликт интересов

Д.В. Карась заявляет об отсутствии конфликта интересов. Я.В. Данильченко заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.А. Бацина заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Н. Попсуйко заявляет об отсутствии конфликта интересов. Д.В. Килижекова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Г.В. Артамонова входит в состав редакционной коллегии журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний».

Финансирование

Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2019-0001 «Научное обоснование методов эффективного управления деятельностью

Ответы на вопрос: «Видите ли вы пользу для вашей работы от системы менеджмента качества в организации?» (%)
Responses to the question “Do you think the organization’s quality management system is beneficial to your work?” (%)

Варианты ответов / Answers	2012	2021	p
Да / Yes	36,3	56,7	0,00009
Нет / No	27,7	18,2	
Усложняет работу / Makes the work more difficult	12,5	6,9	
Затруднились ответить / Difficult to answer	23,5	18,2	

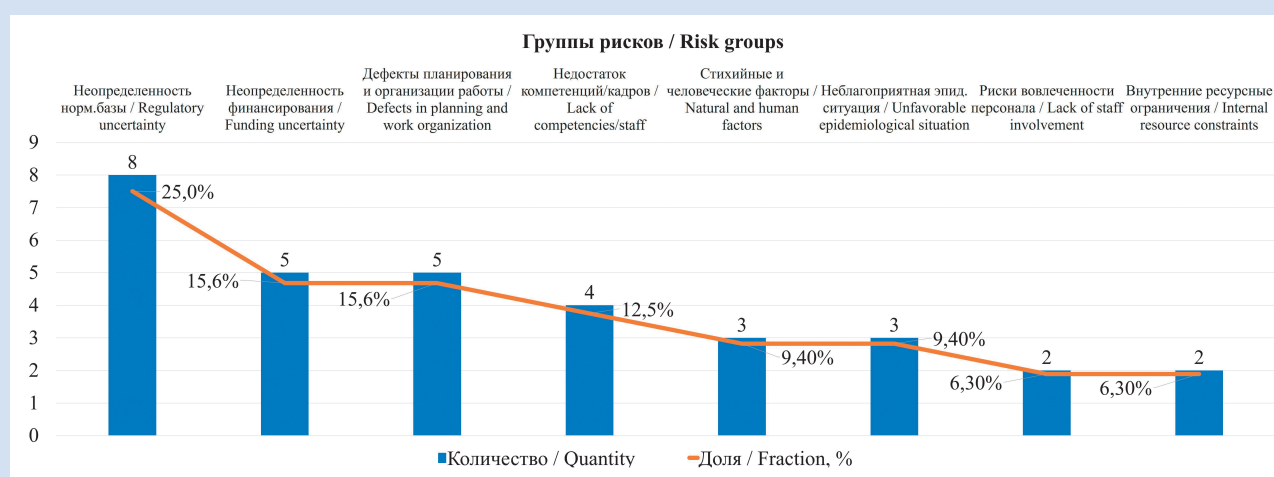


Рисунок 4. Структура распределения рисков по источникам для НИИ КПССЗ

Figure 4. Distribution of the risk sources at НИИ КПССЗ

организаций системы здравоохранения и медицинской науки, обеспечивающих реализацию мер по совершенствованию медицинской помощи населению при болезнях системы кровообращения

в современных социально-экономических условиях развития субъектов РФ» (№ государственной регистрации АААА-А16-116011910163-6 от 19.01.2016).

Информация об авторах

Карась Дмитрий Викторович, кандидат психологических наук научный сотрудник лаборатории моделирования управленческих технологий, начальник отдела качества федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6506-2769

Данильченко Яна Владимировна, научный сотрудник лаборатории моделирования управленческих технологий, врач-методист отдела качества федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-8308-8308

Бацина Екатерина Алексеевна, научный сотрудник лаборатории моделирования управленческих технологий, специалист отдела качества федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4123-006X

Попсуйко Артем Николаевич, кандидат философских наук старший научный сотрудник лаборатории моделирования управленческих технологий, специалист отдела качества федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-5162-0029

Килижекова Дарья Викторовна, младший научный сотрудник лаборатории моделирования управленческих технологий, врач-методист отдела качества федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-3469-2098

Артамонова Галина Владимировна, доктор медицинских наук, профессор заместитель директора по научной работе, заведующая отделом оптимизации медицинской помощи при сердечно-сосудистых заболеваниях федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-2279-3307

Вклад авторов в статью

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

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

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

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

Author Information Form

Karas Dmitry V., PhD in Psychology, Head of Quality Department, researcher at the Laboratory of Modeling of Management Technologies, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6506-2769

Danilchenko Yana V., methodologist at Quality Department, researcher of the Laboratory of Modeling of Management Technologies, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-8308-8308

Batsina Ekaterina A., specialist at Quality Department, researcher of the Laboratory of Modeling of Management Technologies, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4123-006X

Popsuyko Artem N., Ph.D in Philosophy, specialist at Quality Department, senior researcher at the Laboratory of Modeling of Management Technologies, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-5162-0029

Kilizhekova Darya V., research-assistant at the Laboratory of Modeling of Management Technologies, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-3469-2098

Artamonova Galina V., Ph.D, professor, Deputy Director for Science, Head of the Department of Medical Care Optimization in Cardiovascular Diseases, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-2279-3307

Author Contribution Statement

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

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

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

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

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Глава Минздрава назвал системы менеджмента качества гарантом устойчивости здравоохранения. Режим доступа: <https://medvestnik.ru/content/news/Glava-Mizdrava-nazval-sistemy-menedzhmenta-kachestva-garantom-ustoichivosti-zdravooxraneniya.html> (дата обращения 26.03.2021)
2. Левченко Е.В. Влияние цифровизации на развитие системы менеджмента качества. Вестник Саратовского государственного социально-экономического университета. 2018; 4 (73): 9-14
3. Артамонова Г.В., Данильченко Я.В., Черкасс Н.В., Крючков Д.В. Итоги развития системы менеджмента качества НИИ КПССЗ в 2014 году. Перспективы. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2015; 2:66-73.
4. Артамонова Г. В. Карась, Д. В., Крючков, Д. В., Данильченко, Я. В. Оригинальная методика оценки рисков деятельности медицинской организации. Результаты апробации. Вестник Росздравнадзора. 2018; 6: 32-39
5. Об утверждении методики расчета качественного показателя государственного задания «Комплексный балл публикационной результативности» для научных организаций подведомственных Министерству науки и высшего образования РФ, но 2020 год: письмо зам. министра Минобрнауки России от 30.12.2019 г. Режим доступа: <https://clck.ru/TvTqH>. (дата обращения 26.03.2021)
6. Карась, Д. В., Бацина, Е. А., Попсуйко, А. Н., Данильченко, Я. В., Артамонова, Г. В. Опыт оценки эффективности системы менеджмента качества научно-медицинской организации. Социальные аспекты здоровья населения. 2020; 66 (1):8. doi: 10.21045/2071-5021-2020-66-1-8
7. Агентство стратегических инициатив. Методология Rapid Foresight 0.4. Режим доступа: https://files.asi.ru/iblock/9a2/9a28c0a2a83f95c34a65378924657fe0/Forsight_0.4_2017.pdf. (дата обращения 26.03.2021)
8. Башкуева Е. Ю. Проблемы управления безопасностью медицинской деятельности в многопрофильном стационаре в условиях пандемии Covid-19: социологический и экономический анализ (по материалам республики Бурятия). Московский экономический журнал. 2020; 12:51. doi: 10.24411/2413-046X-2020-10841
9. Луговская М. В., Зубарева Н. Н. Телемедицина как инструмент дистанционных маркетинговых коммуникаций в сфере здравоохранения. Практический маркетинг. 2020; 12 (286):29-34. doi: 10.24412/2071-3762-2020-12-29-34.
10. Сальникова А. А. Влияние пандемии COVID-19 на функционирование систем менеджмента качества. Экономический вестник ИПУ РАН. 2020; 2 (1): 103-109. doi: 10.25728/econbull.2020.2.9-salnikova

REFERENCES

1. Glava Minzdrava nazval sistemy menedzhmenta kachestva garantom ustoichivosti zdravookhraneniya. Available at: <https://medvestnik.ru/content/news/Glava-Mizdrava-nazval-sistemy-menedzhmenta-kachestva-garantom-ustoichivosti-zdravooxraneniya.html> (accessed 26.03.2021) (In Russian)
2. Levchenko E.V. Vliyanie tsifrovizatsii na razvitie sistemy menedzhmenta kachestva. Vestnik Saratovskogo gosudarstvennogo sotsial'no-ekonomicheskogo universiteta. 2018; 4 (73): 9-14. (In Russ)
3. Artamonova G.V., Danilchenko Ya.V., Cherkass N.V., Kryuchkov D.V. Itogi razvitiya sistemy menedzhmenta kachestva NII KPSSZ v 2014 godu. Perspektivy. Kompleksnye problemy serdechno-sosudistyykh zabolevaniy. 2015; 2:66-73. (In Russian)
4. Artamonova G. V. Karas', D. V., Kryuchkov, D. V., Danilchenko, Ya. V. Original'naya metodika otsenki riskov deyatel'nosti meditsinskoi organizatsii. Rezul'taty aprobatsii. Vestnik Roszdravnadzora. 2018; 6: 32-39 (In Russian)
5. Ob utverzhdenii metodiki rascheta kachestvennogo pokazatelya gosudarstvennogo zadaniya «Kompleksnyi ball publikatsionnoi rezul'tativnosti» dlya nauchnykh organizatsii podvedomstvennykh Ministerstvu nauki i vysshego obrazovaniya RF, no 2020 god: pis'mo zam. ministra Minobrnauki Rossii ot 30.12.2019 g. Available at: <https://clck.ru/TvTqH>. (accessed 26.03.2021) (In Russian)
6. Karas', D. V., Batsina, E. A., Popsuiko, A. N., Danilchenko, Ya. V., Artamonova, G. V. Opyt otsenki effektivnosti sistemy menedzhmenta kachestva nauchno-meditsinskoi organizatsii. Sotsial'nye aspekty zdorov'ya naseleniya. 2020; 66 (1):8. (In Russian)
7. Agentstvo strategicheskikh initsiativ. Metodologiya Rapid Foresight 0.4. Available at: https://files.asi.ru/iblock/9a2/9a28c0a2a83f95c34a65378924657fe0/Forsight_0.4_2017.pdf. (accessed 26.03.2021) (In Russian)
8. Bashkueva E. Yu. Problemy upravleniya bezopasnost'yu meditsinskoi deyatel'nosti v mnogoprofil'nom statsionare v usloviyakh pandemii Covid-19: sotsiologicheskii i ekonomicheskii analiz (po materialam respubliki Buryatiya). Moskovskii ekonomicheskii zhurnal. 2020; 12:51. (In Russian)
9. Lugovskaya M. V., Zubareva N. N. Telemeditsina kak instrument distantsionnykh marketingovykh kommunikatsii v sfere zdravookhraneniya. Prakticheskii marketing. 2020; 12 (286):29-34 (In Russian) doi: 10.24412/2071-3762-2020-12-29-34.
10. Sal'nikova A. A. Vliyanie pandemii COVID-19 na funktsionirovanie sistem menedzhmenta kachestva. Ekonomicheskii vestnik IPU RAN. 2020; 2 (1): 103-109 (In Russian)

Для цитирования: Карась Д.В., Данильченко Я.В., Бацина Е.А., Попсуйко А.Н., Килижекова Д.В., Артамонова Г.В. Результативность системы менеджмента качества в условиях риска непреодолимой силы (пандемия COVID-19). Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2021;10(3): 56-64. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-56-64

To cite: Karas D.V., Danilchenko Ya.V., Batsina E.A., Popsuyko A.N., Kilizhekova D.V., Artamonova G.V. Quality management system performance under force majeure risk (COVID-19 pandemic). Complex Issues of Cardiovascular Diseases. 2021;10(3): 56-64. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-56-64



УДК [616.12-008.46-06:616.61]-078

DOI 10.17802/2306-1278-2021-10-3-65-71

БИОМАРКЕРЫ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ИСХОДОВ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРОЙ ДЕКОМПЕНСИРОВАННОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ И ПОЧЕЧНЫМ ПОВРЕЖДЕНИЕМ

С.Л. Глизер, О.А. Штегман, М.М. Петрова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Партизана Железняка, 1, Красноярск, Российская Федерация, 660022

Основные положения

- Представлен обзор наиболее значимых биомаркеров с учетом многомаркерной стратегии, определяющих течение и прогноз хронической сердечной недостаточности и острой декомпенсации сердечной недостаточности у больных с нарушением почечной функции.

Цель

Хроническая сердечная недостаточность занимает одно из лидирующих мест по числу летальных исходов от сердечно-сосудистых патологий. Несмотря на современные методы диагностики и лечения, нередко происходит декомпенсация заболевания. Немаловажным можно считать и то, острая декомпенсация сердечной недостаточности приводит к поражению почек, что также является предиктором летального исхода. В настоящий момент множество биомаркеров позволяют оценить прогноз заболевания на ранних стадиях. В статье представлен обзор современных биомаркеров с учетом многомаркерной стратегии, а также определены наиболее диагностически значимые параметры оценки течения острой декомпенсации хронической сердечной недостаточности и развития почечной дисфункции.

Ключевые слова

Хроническая сердечная недостаточность • Острая декомпенсация сердечной недостаточности • Биомаркеры • Многомаркерная стратегия • Острое повреждение почек • Хроническая болезнь почек

Поступила в редакцию: 19.05.2021; поступила после доработки: 28.06.2021; принята к печати: 06.07.2021

BIOMARKERS AND THE PREDICTION OF ADVERSE OUTCOMES IN PATIENTS WITH ACUTE DECOMPENSATED HEART FAILURE AND KIDNEY INJURY

S.L. Glizer, O.A. Shtegman, M.M. Petrova

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voyno-Yasenetsky", 1, P. Zheleznyaka St., Krasnoyarsk, Russian Federation, 660022

Highlights

- The article presents the multimarker assessment of the most significant biomarkers that determine the course and prognosis of chronic heart failure and acute decompensation of heart failure with worsening renal function.

Abstract

Chronic heart failure is one of the main contributors to the Global Burden of Cardiovascular Diseases. Despite advances in modern treatment, acute decompensated heart failure (ADHF) incidence is high. Moreover, patients admitted for ADHF encounter renal impairment, which is another predictor of adverse outcome. There are number of biomarkers that allow clinicians to assess the prognosis of the disease in the early stages. The article presents an overview of contemporary biomarkers (utilizing multimarker approach), and identifies the most significant biological markers for evaluating ADHF and worsening renal function.

Keywords

Chronic heart failure • Acute decompensation of heart failure • Biomarkers • Multi-marker strategy • Acute kidney injury • Chronic kidney disease

Received: 19.05.2021; received in revised form: 28.06.2021; accepted: 06.07.2021

Для корреспонденции: Софья Львовна Глизер, sofiaglizer@mail.ru; адрес: ул. Партизана Железняка, 1, Красноярск, Россия, 660022

Corresponding author: Sofia L. Glizer, sofiaglizer@mail.ru; address: 1, P. Zheleznyaka St., Krasnoyarsk, Russian Federation, 660022

Список сокращений

ДИ	– доверительный интервал	XCH	– хроническая сердечная недостаточность
ОДСН	– острая декомпенсация сердечной недостаточности	NGAL	– липокалин, ассоциированный с желатиной нейтрофилов
ОПП	– острое почечное повреждение	NT-proBNP	– N-терминальный фрагмент мозгового натрийуретического пептида
ССС	– сердечно-сосудистые события	sST2	– растворимая форма ST2-рецептора
ХБП	– хроническая болезнь почек		

Введение

Хронической сердечной недостаточностью (ХСН) страдают около 23 млн человек по всему миру. Данная патология является распространенной проблемой здравоохранения в связи с ростом заболеваемости и смерти пациентов, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями. Вместе с тем увеличивается число госпитализаций больных ХСН, причиной которых чаще всего служит острая декомпенсация сердечной недостаточности (ОДСН), что приводит к дополнительным экономическим расходам [1, 2]. При этом до сих пор не установлены предикторы развития ОДСН, что существенно усложняет возможность контроля данного осложнения.

Нарушение функции почек значительно ухудшает течение ОДСН [3]. По данным Р. Piccini и соавт., у пациентов с острым почечным повреждением (ОПП), развившимся в период госпитализации, риск летального исхода увеличен [4]. В исследовании 705 больных ОДСН нарушение функции почек определено при значениях креатинина сыворотки $\geq 1,4$ мг/дл или скорости клубочковой фильтрации < 60 мл/мин/1,73 м² по формуле СКД-ЕРІ. Изменения креатинина на ранних этапах (48–72 ч с момента госпитализации) у пациентов с почечной недостаточностью (24,7% при измерении креатинина сыворотки и 42,8% при расчете скорости клубочковой фильтрации) имели более высокую распространенность колебаний, а случаи летального исхода составили 16,2% [5]. ОПП – частое осложнение ОДСН, возникающее в 20–70% случаев и повышающее риск смертности от ССЗ до 86% [6–8]. На сегодняшний день распространены данные о том, что у большинства пациентов с ХСН и ОДСН заболевания сердца и почек часто связаны: выявленная связь закреплена термином «кардиоренальный синдром».

С учетом патофизиологии и механизмов развития сердечной и почечной дисфункции современная классификация включает пять типов кардиоренального синдрома [9]. Острый кардиоренальный синдром 1-го типа характеризуется острым повреждением почек при острых сердечно-сосудистых патологиях, таких как острая сердечная недостаточность, ОДСН, острый коронарный синдром и тромбоэмболия легочной артерии. Хронический кардиоренальный синдром 2-го типа представлен хронической почечной дисфункцией на фоне ХСН. Третий тип

назван острым ренокардиальным синдромом, проявления которого заключаются в развитии острой сердечно-сосудистой патологии на фоне острой патологии почек, такой как ишемия почки. Хронический ренокардиальный синдром 4-го типа возникает в виде ремоделирования сердца на фоне хронической болезни почек (ХБП), а вторичный ренокардиальный синдром 5-го типа – при системных заболеваниях, таких как сахарный диабет, васкулиты и амилоидоз, что приводит к одновременному поражению сердца и почек [10]. Таким образом, ранняя диагностика повреждения миокарда и нарушения функции почек позволяет своевременно установить риск возможных осложнений и перейти к профилактике.

В статье представлен анализ биомаркеров, позволяющих оценить прогноз и течение ХСН и ОДСН, а также выявить развитие ОПП на раннем этапе.

Биомаркеры в течении хронической сердечной недостаточности. Ценность многомаркерной стратегии

В настоящее время наиболее эффективной для оценки течения и осложнений ХСН считают многомаркерную стратегию [11]. При анализе статей, представленных в международных научных базах, выделены основные, наиболее информативные в рамках диагностики и прогнозирования течения ХСН биомаркеры: натрийуретические пептиды, растворимый супрессор онкогенности 2, высокочувствительный тропонин, галектин 3, проадреномедуллин среднего уровня, цистатин С, интерлейкин 6 и прокальцитонин [12]. Согласно Е. Braunwald [13], для понимания патогенетических процессов биомаркеры можно разделить на маркеры, которые отражают воспалительный процесс (С-реактивный белок, фактор некроза опухоли альфа, аполипопротеин 1, интерлейкины 1, 6 и 18); маркеры повреждения клеток миокарда (тропонин, креатинфосфокиназа МВ, белок, связывающий жирные кислоты); маркеры миокардиального стресса (натрийуретические пептиды, проадреномедуллин, растворимая форма ST2-рецептора (sST2)) и маркеры нейрорегуляции (катехоламины, ренин, альдостерон, эндотелин 1).

ХСН и ОДСН не являются однородной патологией с одинаковым механизмом развития. Нарушение функции миокарда может быть следствием перегрузки сердца, ухудшения эластических свойств

миокарда, ишемии, фиброза или воспаления сердечной мышцы. То есть в одних ситуациях будут преобладать маркеры повреждения клеток, в других – миокардиального стресса или воспаления. Таким образом, использование одного биомаркера не позволяет точно оценить выраженность процесса, а следовательно, прогноз возможных вариантов течения как ХСН, так и ОДСН.

В 12-месячном обсервационном исследовании [14] у 94 пациентов с ХСН II–IV функционального класса определены уровни фактора некроза опухоли альфа, Fas-лиганда, гомоцистеина, эндотелина 1, N-терминального фрагмента мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) и тромбоцитарного фактора роста АВ. Установлено, что уровень гомоцистеина $>18,2$ мкмоль/л являлся предиктором неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (ССС) у мужчин и женщин с ХСН, которые развились в 1,8 раза чаще, чем у пациентов с меньшим содержанием гомоцистеина ($p = 0,0026$). Риск неблагоприятных CCC также значительно увеличивался при NT-proBNP $>389,0$ фмоль/мл ($p = 0,0013$) у мужчин и $>413,0$ фмоль/мл ($p = 0,0413$) у женщин. При концентрации эндотелина 1 $>0,6$ фмоль/мл у мужчин вероятность появления неблагоприятных CCC была в 3,5 выше ($p = 0,0067$), при этом у женщин уровень эндотелина существенно не влиял на данный параметр. Уровень Fas-лиганда у женщин также не оказывал значимого влияния на риск неблагоприятных CCC, в то время как у мужчин при концентрации $>99,1$ пг/мл неблагоприятные CCC отмечались в три раза чаще ($p = 0,0041$). Кроме того, авторы исследования выявили наиболее значимые предикторы неблагоприятных CCC в течение года методом ROC-анализа, по данным которого у мужчин наибольшую ценность имели уровень гомоцистеина ($\chi^2 = 32,222$; $p < 0,0000001$) и тромбоцитарного фактора роста АВ, а включение обоих параметров позволило определить более высокую статистическую значимость ($\chi^2 = 35,376$; $p < 0,0000001$) в отличие от определения одного маркера. Для женщин так же на первом месте определен уровень гомоцистеина ($\chi^2 = 16,331$; $p = 0,00007$), вторым предиктором стал фактор некроза опухоли альфа; при включении обоих значений результат показал высокую предикторную значимость ($\chi^2 = 20,068$; $p = 0,00006$). Как следствие, многомаркерный подход продемонстрировал более высокую прогностическую значимость относительно неблагоприятных CCC в сравнении с монопараметрическим.

На сегодняшний день к одним из наиболее достоверных маркеров оценки прогноза и риска наступления летального исхода у пациентов с ХСН относят sST2, прогностическое значение которого не уступает натрийуретическим пептидам [15]. В рамках одного из исследований у 87 пациентов с ишемической болезнью сердца и ХСН с сохранен-

ной фракцией выброса с последующей запланированной реваскуляризацией определены уровни sST2 и NT-proBNP [17]. Пациенты разделены на две группы в зависимости от течения ХСН: первая группа – неблагоприятное течение заболевания, вторая – благоприятное. В первой группе средний показатель sST2 составил 46,78 нг/мл, во второй – 27,39 нг/мл; уровень NT-proBNP для больных первой и второй групп составил 189,21 и 73,58 пг/мл соответственно. По мнению авторов, определение двух биомаркеров, в отличие от каждого по отдельности, позволяет более корректно определить риск развития неблагоприятного CCC у пациентов с ишемической болезнью сердца и ХСН в течение 12 мес. после реваскуляризации.

Многомаркерная диагностика для оценки риска и прогноза острой декомпенсации сердечной недостаточности

Не менее важную роль многомаркерная стратегия играет в оценке прогноза ОДСН. В исследовании 100 пациентов, госпитализированных с тяжелой ОДСН и фракцией выброса менее 40%, 70 вошли в группу риска исходя из значений NT-proBNP ≥ 1400 пг/мл [17]. Далее больные разделены на две группы: с мониторингом концентрации NT-proBNP ($n = 35$) и без мониторинга ($n = 35$). В первой группе основной задачей было снижение концентрации NT-proBNP <1000 пг/мл и/или $\geq 50\%$ от начального уровня. При выписке, через 3 и 6 мес. всем пациентам измеряли уровень NT-proBNP, sST2, копептина, липокалина, ассоциированного с желатиной нейтрофилов (NGAL), галектина 3 и высокочувствительного тропонина Т. Риск наступления неблагоприятных CCC напрямую ассоциирован с повышением концентрации исследуемых биомаркеров. У пациентов с мониторингом концентрации NT-proBNP наблюдался наименьший риск развития неблагоприятных клинических исходов при снижении концентрации NT-proBNP $<988,5$ пг/мл через 6 мес. от начала терапии или $\geq 50\%$ от начального уровня на момент выписки. Риск возрастал при повышении концентрации NT-proBNP более чем на 50% (относительный риск, ОР, 3,8; 95% доверительный интервал, ДИ, 1,13–13,0; $p = 0,03$) и преимущественно зарегистрирован в группе без учета концентрации NT-proBNP. Помимо NT-proBNP для достижения более низкого риска развития CCC концентрация sST2 должна составлять <30 нг/мл или снижаться на 24,9% и более от начального уровня через 6 мес. после выписки (ОР 0,1; 95% ДИ 0,02–0,5; $p = 0,004$). По результатам исследования наиболее значимыми маркерами, отражающими состояние клинического и функционального статуса пациентов после перенесенной декомпенсации СН, определены NT-proBNP, копептин и sST2.

В настоящее время биомаркер копеппин рассматривают как возможный предиктор ОДСН. По данным метаанализа 5 989 пациентов с ХСН выявлено, что увеличение концентрации копеппина повышает риск летального исхода по всем причинам (ОР 1,69; 95% ДИ 1,42–2,01) [18]. В то же время по результатам российского исследования 159 больных ОДСН, которым при госпитализации и выписке измеряли уровни NT-proBNP, высокочувствительного тропонина Т и копеппина, отмечено достоверное снижение концентрации копеппина и NT-proBNP ($p < 0,0001$), в то время как уровень высокочувствительного тропонина Т сохранялся практически исходным [19]. Далее в течение года проводилось наблюдение за пациентами. Под неблагоприятным исходом понимали наступление смерти в результате сердечно-сосудистого заболевания, в том числе с успешной реанимацией; повторную госпитализацию в результате ОДСН и декомпенсацию СН с необходимостью мочегонной терапии. Неблагоприятный исход определен у 56 пациентов (35,2%) и соответствовал уровню копеппина $\geq 42,48$ пмоль/л при госпитализации и $\geq 28,31$ пмоль/л при выписке, в то же время неблагоприятный исход зарегистрирован у пациентов с NT-proBNP $\geq 3\,249,5$ пг/мл при госпитализации и $\geq 1\,696$ пг/мл при выписке. Авторы установили, что комбинация NT-proBNP и копеппина не увеличивает прогностическую значимость маркеров в отношении неблагоприятного исхода, так как параметры менялись поочередно.

Биомаркеры у пациентов с хроническими сердечной недостаточностью и болезнью почек

Хронический кардиоренальный синдром 2-го типа представляет собой сочетание заболевания сердечно-сосудистой системы и повреждения почек. Известно, что нарушение функции почек является предиктором неблагоприятного исхода у больных ХСН [20]. В исследовании [21] продемонстрировано, что С-реактивный белок значительно выше в группе пациентов, страдающих сердечной недостаточностью и нарушением функции почек ($12,3 \pm 2,3$ мг/л), в сравнении с больными сердечной недостаточностью без почечной дисфункции ($4,6 \pm 1,3$ мг/л); $p = 0,002$. Кроме того, С-реактивный белок у пациентов с ХСН и ХБП был связан с функциональным классом сердечной недостаточности ($p = 0,001$), показателем суточной экскреции белка мочи ($p < 0,001$) и имел отрицательную связь со скоростью клубочковой фильтрации, определявшуюся методом СКД-ЕРІ ($p = 0,001$), и тестом 6-минутной ходьбы ($p = 0,001$), в отличие от пациентов с ХСН без ХБП, где связь не установлена. Таким образом, автор статьи полагает, что увеличение С-реактивного белка у пациентов с ХСН и ХБП ассоциировано с более тяжелым течением сердечной недо-

статочности. В исследовании также установлено статистически значимое повышение γ -глобулина в данной группе больных ($p = 0,05$).

Биомаркеры в диагностике острых декомпенсации сердечной недостаточности и почечного повреждения

Острое почечное повреждение часто развивается при ОДСН, являясь ярким примером кардиоренального синдрома 1-го типа, и сопровождается риском летального исхода, а повышение креатинина может наступать уже в тот момент, когда функция почек значительно утрачена [22]. Таким образом, выявление маркеров, позволяющих спрогнозировать и определить поражение функции почек на начальном этапе, поможет оценить риски наступления неблагоприятного исхода среди больных ОДСН. Так, в исследовании 60 пациентов с ОДСН и сниженной фракцией выброса ОПП зарегистрировано у 48,3% больных, у которых в сыворотке крови определялись уровень липокалина, ассоциированный с NGAL, цистатина С, а также показатели молекулы повреждения почек-1 и ангиотензиногена в моче [8]. Риск развития ОПП у пациентов с ОДСН увеличивался при следующих концентрациях биомаркеров: NGAL $> 157,35$ нг/мл – в 13,1 раза (95% ДИ 1,365–126,431), молекул повреждения почек-1 $> 1,81$ нг/мл – в 20,6 раза (95% ДИ 1,802–235,524), ангиотензиногена $> 14,31$ нг/мл – в 32,8 раза (95% ДИ 2,752–390,110).

В исследовании 72 больных острой сердечной недостаточностью ОПП выявлено у 20 человек, а показатель NGAL при поступлении был значительно выше в группе ОПП по сравнению с группой без ОПП: 152 против 19,5 нг/мл ($p < 0,0001$) [23]. Также определение NGAL можно считать более эффективным в сравнении с выявлением креатинина, так как концентрация NGAL повышается на 48–72 ч раньше сывороточного креатинина [24]. Не исключено, что оценка этих биомаркеров будет способствовать раннему выявлению острого почечного повреждения.

Заключение

Исходя из проанализированных данных можно полагать, что многомаркерная стратегия определения риска осложнений при ХСН обладает более высокой диагностической значимостью по сравнению с монопараметрической. Наибольшую диагностическую ценность для пациентов с ХСН представляют такие маркеры, как гомоцистеин, NT-proBNP, копеппин и sST2; определение скорости клубочковой фильтрации и γ -глобулина у больных ХСН и ХБП помогает спрогнозировать течение ХСН, а выявление NGAL при ОДСН – риск развития ОПП или неблагоприятного исхода, что позволяет на ранних этапах провести мероприятия, направленные на профилактику ОПП. При этом необходимы дальнейшие исследования для поиска комбинации,

позволяющей наиболее эффективно спрогнозировать течение ХСН и ОДСН, а также выявления корреляции между биомаркерами острого почечного повреждения и сердечной недостаточности.

Конфликт интересов

С.Л. Глизер заявляет об отсутствии конфликтов

интересов. О.А. Штегман заявляет об отсутствии конфликтов интересов. М.М. Петрова заявляет об отсутствии конфликтов интересов.

Финансирование

Авторы заявляют об отсутствии финансирования исследования.

Информация об авторах

Глизер Софья Львовна, аспирант кафедры поликлинической терапии и семейной медицины федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красноярск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-2373-757X

Штегман Олег Анатольевич, доктор медицинских наук, доцент заведующий кафедрой мобилизационной подготовки здравоохранения, медицины катастроф, скорой помощи с курсом последипломного образования федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красноярск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-5913-7333

Петрова Марина Михайловна, доктор медицинских наук, профессор заведующая кафедрой поликлинической терапии и семейной медицины с курсом последипломного образования федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красноярск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8493-0058

Author Information Form

Glizer Sofia L., postgraduate student, Department of Hospital Therapy and Family Medicine, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F.Voino-Yasenetsky”, Krasnoyarsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-2373-757X

Shtegman Oleg A., PhD, professor, Head of Department of Mobilization Training in Healthcare, Disaster Medicine, Emergency Medical Services, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F.Voino-Yasenetsky”, Krasnoyarsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-5913-7333

Petrova Marina M., PhD, professor, Head of Department of Hospital Therapy and Family Medicine, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F.Voino-Yasenetsky”, Krasnoyarsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8493-0058

Вклад авторов в статью

ГСЛ – вклад в концепцию и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных исследования, написание статьи, коррективировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ШОА – вклад в концепцию и дизайн исследования, коррективировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ПММ – вклад в концепцию и дизайн исследования, коррективировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Author Contribution Statement

GSL – contribution to the concept and design of the study, data analysis and interpretation, manuscript writing, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Orso F., Fabbri G., Maggioni P. Epidemiology of Heart Failure. *Handp Exp Farmacol.* 2017; 243: 15-33. doi: 10.1007/164_2016_74.
2. Зарудский А.А., Шелякина Е.В., Шкилева И.Ю., Перуцкая Е.А., Перуцкий Д.Н. Эпидемиология хронической систолической сердечной недостаточности на современном этапе. *Здоровье и образование в XXI веке.* 2017; 19 (12): 167-171. <http://dx.doi.org/10.26787/nydha-2226-7425-2017-19-12-167-171>
3. Schefold J., Filippatos G., Hasenfuss G., Anker S., Haehling S. Heart failure and kidney dysfunction: epidemiology, mechanisms and management. *Nature Reviews Nephrology.* 2016; 12: 610–623. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2016.113>
4. Piccinni P., Cruz D.N., Gramaticopolo S., Garzotto F., Dal Santo M., Aneloni G., Rocco M., Alessandri E., Giunta F., Michetti V., Iannuzzi M., Belluomo Anello C., Brienza N., Carlini M., Pelaia P., Gabbanelli V., Ronco C.; NEFROINT Investigators.et.al. Prospective multicenter study on epidemiology of acute kidney injury in the ICU: a critical care nephrology Italian collaborative effort (NEFROINT). *Minerva Anesthesiol.* 2011; 77(11): 1072-83.
5. Núñez J., García S., Núñez E., Bonanad C., Bodí V., Miñana G., Santas E., Escribano D., Bayes-Genis A., Pascual-Figal D., Chorro F.J., Sanchis J. Early serum creatinine changes and outcomes in patients admitted for acute heart failure:

the cardio-renal syndrome revisited. *European Heart Journal. Acute Cardiovascular Care*. 2017; 6 (5): 430-440. <https://doi.org/10.1177/2048872614540094>

6. Doshi R., Dhawan T., Rendon C., Rodriguez MA., Al-Khafaji JF., Taha M., Win T.T., Gullapalli N. Incidence and implications of acute kidney injury in patients hospitalized with acute decompensated heart failure. *Intern Emerg Med*. 2020; 15(3): 421-428. doi: 10.1007/s11739-019-02188-z.

7. Odutayo A., Wong C.X., Farkouh M., Altman D.G., Hopewell S., Emdin C.A., Hunn B.H. AKI and Long-Term Risk for Cardiovascular Events and Mortality. *J Am Soc Nephrol*. 2017; 28 (1): 377-387. doi: 10.1681/ASN.2016010105.

8. Насонова С.Н., Жиров И.В., Ледяхова М.В., Шарф Т.В., Босых Е.Г., Масенко В.П., Терещенко С.Н. Ранняя диагностика острого почечного повреждения у пациентов с острой декомпенсацией хронической сердечной недостаточности. *Терапевтический архив*. 2019; 91(4): 67-73. doi: 10.26442/00403660.2019.04.000168

9. Ronco C., Bellasi A., Di Lullo L. Cardiorenal Syndrome: An Overview. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2018; 25 (5): 382-390. doi: 10.1053/j.ackd.2018.08.004.

10. Резник Е.В., Никитин И.Г. Кардиоренальный синдром у больных с сердечной недостаточностью как этап кардиоренального континуума (часть I): определение, классификация, патогенез, диагностика, эпидемиология (обзор литературы). *Архив внутренней медицины*. 2019; 9(1):5-22. doi: 10.20514/2226-6704-2019-9-1-5-22.

11. Копьева К.В., Гракова Е.В., Тепляков А.Т. Новые маркеры сердечной недостаточности: значение для диагностики и прогнозирования NT-PROBNP и интерлейкиновых рецепторов – членов семейства ST2. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2018; 7(1): 94-101. doi: 10.17802/2306-1278-2018-7-1-94-101

12. Chow S.L., Maisel A.S., Anand I., Bozkurt B., de Boer R.A., Felker G.M., Fonarow G.C., Greenberg B., Januzzi J.L. Jr, Kiernan M.S., Liu P.P., Wang T.J., Yancy C.W., Zile M.R.; American Heart Association Clinical Pharmacology Committee of the Council on Clinical Cardiology; Council on Basic Cardiovascular Sciences; Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; Council on Cardiopulmonary, Critical Care, Perioperative and Resuscitation; Council on Epidemiology and Prevention; Council on Functional Genomics and Translational Biology; and Council on Quality of Care and Outcomes Research. Role of Biomarkers for the Prevention, Assessment, and Management of Heart Failure: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2017; 135 (22): e1054-e1091. doi: 10.1161/CIR.0000000000000490.

13. Braunwald E. Biomarkers in Heart Failure. *The New England Journal of Medicine*. 2008; 358: 2148-2159. doi: 10.1056/NEJMr0800239

14. Тепляков А.Т., Гракова Е.В., Березикова Е.Н., Шилов С.Н., Копьева К.В., Калужин В.В. Ранние маркеры прогрессирования сердечной недостаточности и апноэ: роль в прогнозировании риска развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у больных, перенесших инфаркт миокарда. *Бюллетень сибирской медицины*. 2016;15(1):37-46. doi: 10.20538/1682-0363-2016-1-37-46.

15. Абдуллаев Т.А., Машхурова Э. Значение нового биомар-

кера ST 2 у больных с хронической сердечной недостаточностью. *Евразийский кардиологический журнал*. 2019; (2S): 251.

16. Гракова Е.В., Тепляков А.Т., Копьева К.В., Ахмедов Ш.Д., Огуркова О.Н., Солдатенко М.В. Прогностическая роль нового биомаркера ST2 в оценке риска развития неблагоприятных сердечнососудистых событий у больных с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной и промежуточной фракцией выброса, перенесших реваскуляризацию миокарда. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2018;17(5):40-46. doi: 10.15829/1728-8800-2018-5-40-46

17. Скворцов А. А., Нарусов О. Ю., Муксинова М. Д., Протасов В. Н., Протасова Д. Е., Кузнецова Т. В. , Масенко В.П., Терещенко С.Н. Клиническое значение серийного определения активности современных биомаркеров у больных после декомпенсации сердечной недостаточности: роль sST2 и NT-proBNP при длительном наблюдении. *Кардиология*. 2018;58(S12):27–41. doi:10.18087/cardio.2634

18. Peng Z., Xiaomei W., Guangxiao L., Hao S., Jingpu S. Prognostic role of copeptin with all-cause mortality after heart failure: a systematic review and meta-analysis. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2017; 13:49–58. doi <https://doi.org/10.2147/TCRM.S124689>

19. Протасов В.Н., Нарусов О.Ю., Скворцов А.А., Протасова Д.Е., Кузнецова Т.В., Петрухина А.А., Масенко В.П., Терещенко С.Н. Многомаркерный подход в стратификации риска у больных с декомпенсированной сердечной недостаточностью. *Кардиология*. 2019;59 (1S): 53-64. doi:10.18087/cardio.2637

20. House AA., Wanner C., Sarnak MJ., Piña IL., McIntyre CW., Komenda P., Kasiske B.L., Deswal A., deFilippi C.R., Cleland J.G.F., Anker S.D., Herzog C.A., Cheung M., Wheeler D.C., Winkelmayr W.C., McCullough P.A.; Conference Participants. Heart failure in chronic kidney disease: conclusions from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int*. 2019; 95(6): 1304-1317. doi: 10.1016/j.kint.2019.02.022

21. Насыбуллина А.А., Булашова О.В., Газизянова В.М., Малкова М.И., Мустафин Э.Э., Хуснутдинова Г.Р. Маркёры воспаления у пациентов с сердечной недостаточностью в коморбидности с хронической болезнью почек. *Казанский медицинский журнал*. 2016; 97 (6): 881-887. doi:10.17750/KMJ2016-881

22. Shyam R., Patel M.L., Sachan R., Kumar S., Pushkar D.K. Role of Urinary Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin as a Biomarker of Acute Kidney Injury in Patients with Circulatory Shock. *Indian Journal of Critical Care Medicine*. 2017; 21(11): 740-5. doi:10.4103/ijccm.IJCCM_315_17

23. Dankova M., Minarikova Z., Danko J., Gergel J., Pontuch P., Goncalvesova E. Novel biomarkers for prediction of acute kidney injury in acute heart failure. *Bratisl Lek Listy*. 2020; 121(5): 321-324. doi: 10.4149/BLL_2020_050

24. Ледяхова М. В., Жиров И. В., Насонова С. Н., Ускач Т. М., Масенко В. П., Терещенко С. Н. Острое повреждение почек при острой декомпенсации хронической сердечной недостаточности: возможность ранней диагностики. *Неотложная кардиология*. 2018; 4:3-13. doi: 10.25679/EMERGCARDIOLOGY.2019.82.12.001

REFERENCES

1. Orso F., Fabbri G., Maggioni P. Epidemiology of Heart Failure. *Handp Exp Farmacol*. 2017; 243: 15-33. doi: 10.1007/164_2016_74.

2. Zarudskij A.A., Sheljakina E.V., Shkileva I.Ju., Peruckaja E.A., Peruckij D.N. Epidemiology of systolic heart failure of systolic heart failure in our days. *Health and Education Millennium*. 2017; 19 (12): 167-171. (In Russian.)] <http://dx.doi.org/10.26787/nydha-2226-7425-2017-19-12-167-171>

3. Schefold J., Filippatos G., Hasenfuss G., Anker S., Haehling S. Heart failure and kidney dysfunction: epidemiology,

mechanisms and management. *Nature Reviews Nephrology*. 2016; 12: 610–623. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2016.113>

4. Piccinni P., Cruz D.N., Gramaticopolo S., Garzotto F., Dal Santo M., Aneloni G., Rocco M., Alessandri E., Giunta F., Michetti V., Iannuzzi M., Belluomo Anello C., Brienza N., Carlini M., Pelaia P., Gabbanelli V., Ronco C.; NEFROINT Investigators.et.al. Prospective multicenter study on epidemiology of acute kidney injury in the ICU: a critical care nephrology Italian collaborative effort (NEFROINT). *Minerva Anestesiol*. 2011; 77(11): 1072-83.

5. Núñez J., García S., Núñez E., Bonanad C., Bodí V., Miñana G., Santos E., Escribano D., Bayes-Genis A., Pascual-Figal D., Chorro F.J., Sanchis J. Early serum creatinine changes and outcomes in patients admitted for acute heart failure: the cardio-renal syndrome revisited. *European Heart Journal. Acute Cardiovascular Care*. 2017; 6 (5): 430-440. <https://doi.org/10.1177/2048872614540094>
6. Doshi R., Dhawan T., Rendon C., Rodriguez MA., Al-Khafaji JF., Taha M., Win T.T., Gullapalli N. Incidence and implications of acute kidney injury in patients hospitalized with acute decompensated heart failure. *Intern Emerg Med*. 2020; 15(3): 421-428. doi: 10.1007/s11739-019-02188-z.
7. Odutayo A., Wong C.X., Farkouh M., Altman D.G., Hopewell S., Emdin C.A., Hunn B.H. AKI and Long-Term Risk for Cardiovascular Events and Mortality. *J Am Soc Nephrol*. 2017; 28 (1): 377-387. doi: 10.1681/ASN.2016010105.
8. Nasonova S.N., Zhironov I.V., Ledyakhova M.V., Sharf T.V., Bosykh E.G., Masenko V.P., Tereshchenko S.N. Early diagnosis of acute renal injury in patients with acute decompensation of chronic heart failure. *Therapeutic Archive*. 2019; 91 (4): 67-73. (In Russian.) doi: 10.26442/00403660.2019.04.000168
9. Ronco C., Bellasi A., Di Lullo L. Cardiorenal Syndrome: An Overview. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2018; 25 (5): 382-390. doi: 10.1053/j.ackd.2018.08.004.
10. Reznik E.V., Nikitin I.G. Cardiorenal syndrome in patients with chronic heart failure as a stage of the cardiorenal continuum (part I): definition, classification, pathogenesis, diagnosis, epidemiology. *The Russian Archives of Internal Medicine*. 2019;9(1):5-22. (In Russian) doi: 10.20514/2226-6704-2019-9-1-5-22.
11. Kop'yeva K.V., Grakova E.V., Teplyakov A.T. New biomarkers of heart failure: NEW BIOMARKERS OF HEART diagnostic and prognostic value of NT-proBNP and interleukin receptor family members ST2. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2018;7(1):94-101. (In Russian) doi: 10.17802/2306-1278-2018-7-1-94-101
12. Chow S.L., Maisel A.S., Anand I., Bozkurt B., de Boer R.A., Felker G.M., Fonarow G.C., Greenberg B., Januzzi J.L. Jr, Kiernan M.S., Liu P.P., Wang T.J., Yancy C.W., Zile M.R.; American Heart Association Clinical Pharmacology Committee of the Council on Clinical Cardiology; Council on Basic Cardiovascular Sciences; Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; Council on Cardiopulmonary, Critical Care, Perioperative and Resuscitation; Council on Epidemiology and Prevention; Council on Functional Genomics and Translational Biology; and Council on Quality of Care and Outcomes Research. Role of Biomarkers for the Prevention, Assessment, and Management of Heart Failure: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2017; 135 (22): e1054-e1091. doi: 10.1161/CIR.0000000000000490.
13. Braunwald E. Biomarkers in Heart Failure. *The New England Journal of Medicine*. 2008; 358: 2148-2159. doi: 10.1056/NEJMr0800239
14. Teplyakov, A.T., Grakova E.V., Berezikova E.N., Shilov S.N., Kop'yeva K.V., Kaliuzhin V.K. Early markers of progression of Heart Failure and apoptosis: their role in predicting the risk of adverse cardiovascular events in patients with prior myocardial infarction. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2016; 15 (1): 37-46. (In Russian) doi: 10.20538/1682-0363-2016-1-37-46.
15. Abdullaeb T.A., Mashhurova E. The value of the new ST 2 biomarker in patients with chronic heart failure. *Eurasian Journal of Cardiology*. 2019; (2S): 251. (In Russian)
16. Grakova E.V., Teplyakov A.T., Kopieva K.V., Akhmedov S.D., Ogurkova O.N., Soldatenko M.V. Prediction role of a novel biomarker ST2 in risk assessment of adverse cardiovascular events in chronic heart failure with preserved and intermediate ejection fraction after myocardial revascularization. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2018;17(5):40-46. (In Russian) doi: 10.15829/1728-8800-2018-5-40-46
17. Skvortsov A.A., Narusov O.Yu., Muksinova M.D., Protasov V.N., Protasova D.E., Kuznetsova T.V., Masenko V.P.I., Tereshchenko S.N. Clinical significance of serial biomarkers activity determination after acute heart failure decompensation: sST2 NT-proBNP role during long-term follow-up. *Kardiologiya*. 2018; 58 (12S): 27-41. (In Russian) doi:10.18087/cardio.2634
18. Peng Z., Xiaomei W., Guangxiao L., Hao S., Jingpu S. Prognostic role of copeptin with all-cause mortality after heart failure: a systematic review and meta-analysis. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2017; 13:49-58. doi <https://doi.org/10.2147/TCRM.S124689>
19. Protasov V.N., Narusov O.Yu., Skvortsov A.A., Protasova D.E., Kuznetsova T.V., Petrukchina A.A., Masenko V.P., Tereshchenko S.N. Multimarker Approach in Risk Stratification of Patients with Decompensated Heart Failure. *Kardiologiya*. 2019; 59(1S): 53-64. (In Russian) doi:10.18087/cardio.2637
20. House AA., Wanner C., Sarnak MJ., Piña IL., McIntyre CW., Komenda P., Kasiske B.L., Deswal A., deFilippi C.R., Cleland J.G.F., Anker S.D., Herzog C.A., Cheung M., Wheeler D.C., Winkelmayer W.C., McCullough P.A.; Conference Participants. Heart failure in chronic kidney disease: conclusions from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int*. 2019; 95(6): 1304-1317. doi: 10.1016/j.kint.2019.02.022
21. Nasybullina A.A., Bulashova O.V., Gazizyanova V.M., Malkova M.I. Mustafin E.E., Husnutdinova G.R.. Markers of inflammation in patients with heart failure in association with chronic kidney disease // *Kazan medical journal*. 2016; 97 (6): 881-887. (In Russian) doi:10.17750/KMJ2016-881
22. Shyam R., Patel M.L., Sachan R., Kumar S., Pushkar D.K. Role of Urinary Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin as a Biomarker of Acute Kidney Injury in Patients with Circulatory Shock. *Indian Journal of Critical Care Medicine*. 2017; 21(11): 740-5. doi:10.4103/ijccm.IJCCM_315_17
23. Dankova M., Minarikova Z., Danko J., Gergel J., Pontuch P., Goncalvesova E. Novel biomarkers for prediction of acute kidney injury in acute heart failure. *Bratisl Lek Listy*. 2020; 121(5): 321-324. doi: 10.4149/BLL_2020_050
24. Lediakhova M. V., Zhironov I. V., Nasonova S. N., Uskach T. M., Masenko V. P., Tereshchenko S. N. Acute kidney injury in acute decompensated heart failure: possibility of early diagnosis. *Emergency Cardiology*. 2018; 4:3-13. (In Russian.) doi: 10.25679/EMERGCARDIOLOGY.2019.82.12.001

Для цитирования: Глизер С.Л., Штегман О.А., Петрова М.М. Биомаркеры в прогнозировании неблагоприятных исходов у пациентов с острой декомпенсированной сердечной недостаточностью и почечным повреждением. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2021;10(3): 65-71. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-65-71

To cite: Glizer S.L., Shtegman O.A., Petrova M.M. Biomarkers and the prediction of adverse outcomes in patients with acute decompensated heart failure and kidney injury. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2021;10(3): 65-71. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-65-71



УДК 616.1. 576.53; 576

DOI 10.17802/2306-1278-2021-10-3-72-78

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ НА ОСНОВЕ МЕЗЕНХИМНЫХ КЛЕТОК СЕРДЦА В ВОССТАНОВЛЕНИИ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ МИОКАРДА

П.М. Докшин^{1,3}, А. Бейркдар², А.Б. Малашичева^{1,2,3}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Аккуратова, 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341; ² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Университетская наб., 7–9, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 199034; ³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт цитологии Российской академии наук», Тихорецкий просп., 4, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 194064

Основные положения

• Развитие терапевтических подходов, основанных на использовании стволовых клеток сердца и/или их продуктов в лечении сердечной недостаточности, имеет ряд преимуществ и недостатков в сравнении с другими традиционными методами лечения. В обзоре обобщены последние сведения, связанные с изучением свойств данных клеток и их применения в ходе экспериментов и клинических испытаний. Еще недавно на клеточную терапию второго поколения возлагали большие надежды, но результаты исследований, в том числе опубликованных в последние годы, ставят под сомнение первоначальную концепцию и способствуют поиску новых путей к разрешению проблемы.

Цель

Современные методы лечения сердечной недостаточности лишь купируют симптомы заболевания, но не способствуют полноценному функциональному излечению сердца. Открытие резидентных стволовых клеток сердца дало толчок к развитию клеточной терапии второго поколения, которая быстро перешла от исследований на животных к клиническим испытаниям с тяжелооболочными пациентами. Идентифицировано множество популяций клеток в сердце, имеющих свойства стволовых, но обладающих индивидуальными характеристиками, как *in vitro*, так и *in vivo*. Результаты клинических исследований продемонстрировали безопасность введения данных клеток, но не доказали значимую эффективность в улучшении сердечной функции, ограничившись незначительными улучшениями систолического давления левого желудочка сердца и уменьшением площади рубца. Тем не менее это показало перспективность данных подходов в лечении сердца и способствовало развитию клеточной терапии уже нового поколения.

Ключевые слова

Клеточная терапия • Регенерация миокарда • Мезенхимные клетки сердца • Сердечная недостаточность

Поступила в редакцию: 08.07.2021; поступила после доработки: 30.07.2021; принята к печати: 10.08.2021

CURRENT STATUS, CHALLENGES AND PERSPECTIVES OF MESENCHYMAL STEM CELL-BASED THERAPY FOR CARDIAC REGENERATION

P.M. Docshin^{1,3}, A. Bairqdar², A.B. Malashicheva^{1,2,3}

¹ Federal State Budgetary Institution “V.A. Almazov National Medical Research Center” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Akkuratova St., 2, St. Petersburg, Russian Federation, 197341; ² Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Saint-Petersburg State University”, Universitetskaya nab., 7-9, St. Petersburg, Russian Federation, 199034; ³ Federal State Budgetary Institution of Science “Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences”, Tikhoretskiy Ave., 4, St. Petersburg, Russian Federation, 194064

Highlights

• Stem cell-based therapeutic approaches as a treatment modality for heart failure have a number of advantages and disadvantages in comparison with other traditional methods of treatment. The review

Для корреспонденции: Павел Михайлович Докшин, pdocshin@icloud.com; адрес: ул. Аккуратова, 2, Санкт-Петербург, Россия, 197341

Corresponding author: Pavel M. Docshin, pdocshin@icloud.com; address: 2, Akkuratova str., Saint Petersburg, Russia, 197341

summarizes the latest data on the properties of mesenchymal stem cells and their application in experimental and clinical trials. Although high hopes were placed on the second generation cell therapy, the results of studies, including the most recent ones, cast doubt on the methodology and necessitate the search for the new treatment methods.

Abstract

Modern methods of treating heart failure are similar to the palliative care, since they mostly relieve the symptoms of the disease. The discovery of resident cardiac stem cells gave impetus to the development of “second generation” cell therapy, which quickly moved from animal research to clinical trials with critically ill patients. Many cardiac side population cells have been identified to have stem cells characteristics and some additional individual characteristics, both *in vitro* and *in vivo*. The results of clinical studies demonstrated that the stem cell treatment is safe, however, this type of cell-based therapy did not restore cardiac function. Its effects were limited to mildly improving left ventricular systolic pressure and reducing the scar area. Despite that, the promising nature of these therapeutic approaches for heart diseases have contributed to the development of next-generation cell therapy.

Keywords

Cell therapy • Myocardial regeneration • Cardiac mesenchymal stem cells • Heart failure

Received: 08.07.2021; received in revised form: 30.07.2021; accepted: 10.08.2021

Список сокращений

КПК	– клетки, полученные из кардиосферы	СКС	– стволовые клетки сердца
СК	– стромальные клетки	c-Kit	– рецептор тирозинкиназы
сКОЕ-Ф	– колониеобразующие единицы фибробластов сердца	PDGFRα	– рецептор тромбоцитарного фактора роста альфа

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания до сих пор занимают лидирующее положение по причинам смертности и инвалидизации населения. Согласно последним оценкам Всемирной организации здравоохранения [1], от сердечно-сосудистых заболеваний погибают около 18 млн человек ежегодно, что составляет 32% общего количества смертей во всем мире. Одними из наиболее распространенных причин болезней системы кровообращения являются ишемическая болезнь сердца и инфаркт миокарда как наиболее грозное осложнение последней, вследствие которого происходит потеря некоторого количества кардиомиоцитов, а область некроза миокарда замещается фиброзной тканью [2, 3]. Традиционные фармацевтические и хирургические вмешательства замедляют прогрессирование заболевания, но не обеспечивают полное и функциональное восстановление миокарда [4].

В последнее время клеточная терапия на основе стволовых клеток и/или клеточных продуктов стала перспективным кандидатным методом профилактики и лечения сердечной недостаточности [5]. Достижения в этой области в перспективе смогут изменить терапевтические подходы к разрешению проблемы функционального восстановления сердечной мышцы. Все большее внимание исследователей прико-

вано к изучению резидентных стволовых клеток в тканях взрослого человека: установлено, что костному мозгу, жировой ткани и миокарду свойственно иметь в строении популяции стволовых клеток [6]. Остается вопрос, существует ли в сердце эндогенный потенциал к восстановлению миокарда.

В данном обзоре мы обобщили результаты последних исследований, связанных с изучением популяций клеток сердца, которые, как считается, проявляют некоторую степень стволовости и имеют ряд характеристик для дифференциации их от остальных клеток сердца.

Стволовые клетки сердца

Клеточная терапия второго поколения ознаменована открытием стволовых клеток сердца (СКС), обнаруженных почти 20 лет назад [7]. Это стало причиной для смены фокуса с экзогенных стволовых клеток, которые активно использовали ранее в клинических исследованиях, на изучение свойств эндогенных клеток – резидентных клеток самого органа. Первоначально взрослые СКС были идентифицированы и выделены на основании критериев, использованных для определения гемопоэтических стволовых клеток, таких как экспрессия поверхностных белков c-Kit и Sca-1 и отсутствие маркеров гемопоэтических клонов. Однако способность

данных клеток дифференцироваться в кардиомиоциты до сих пор является предметом разногласий. Даже скептики в отношении возможной функции этих клеток в сердце признают способность последних пролиферировать и дифференцировать в эндотелий-подобные клетки [8].

В последние несколько лет сотрудники лаборатории Пьера Анверзы, которые описали первые СКС, отзывались большую часть своих публикаций из-за опасений по поводу результатов. Первое исследование, в котором идентифицировали популяцию $c\text{-Kit}^+$ СКС, проведено в 2003 г. [9], по результатам чего данные клетки были характеризованы по экспрессии рецептора тирозинкиназы ($c\text{-Kit}$) и отсутствию общих маркеров гемопоэтических клонов (таких как CD45, CD34, CD3, CD14, CD16, CD19, CD20 и CD56) [9]. После этого в многочисленных исследованиях авторы пытались изучить возможное существование других клеточных популяций, демонстрирующих такие свойства, как способность к самообновлению, клоногенность и мультипотентность [9].

В сердце взрослого человека на основании различных экспериментальных методик были обнаружены многочисленные популяции клеток со свойствами стволовых и клеток-предшественников [10]. Однако данные клетки в сердце встречаются крайне редко, составляя всего 0,005–2,0% общего количества всех сердечных клеток, что является технической проблемой при изучении их роли *in vivo*. Кроме того, во многих исследованиях по трансплантации данных клеток наблюдаемое положительное влияние на восстановление сердца могло быть связано с их паракринными и ангиогенными функциями, а не размножением и дифференцировкой [11]. Исследования показывают, что в значительной степени у СКС, клеток-предшественников и стромальных клеток (СК) (также известных как сердечные фибробласты) не были до конца изучены свойства в условиях *in vivo*, не связанные с клоногенностью. Тем не менее сразу после обнаружения СКС сделано множество важных открытий и возникли новые направления исследований, направленные на изучение образуемых клетками внеклеточных везикул – экзосом и всего кардиального секрета, а также сформулирована концепция о том, что скромные механизмы эндогенного восстановления сердца могут быть усилены за счет активации эндогенного регенеративного потенциала или восстановления путем использования экзогенной клеточной терапии [12].

Из ткани миокарда можно изолировать популяцию клеток, на сегодняшний день в литературе определяемых как интерстициальные или мезенхимные клетки сердца [12]. Эти клетки могут активно размножаться и в зависимости от условий культивирования иметь несколько различных фенотипов.

Популяция клеток $c\text{-Kit}^+$

Первое упоминание об отдельной популяции клеток сердца, имеющих свойства клеток-предшественниц, было основано на экспрессии $c\text{-Kit}$, однако эта экспрессия также обнаружена в постнатальных кардиомиоцитах, во взрослых кардиомиоцитах после дедифференцировки, в коронарных эндотелиальных и эпикардиальных клетках [13]. Сильные нагрузки в сердце у взрослых мутантных мышей по $c\text{-Kit}^{W/W^v}$ способствовали изменению поведения кардиомиоцитов и вводили их вновь в клеточный цикл с последующей активацией пролиферативных процессов, в отличие от дикого типа, где наблюдалась исключительно гипертрофия кардиомиоцитов, что указывает на важность экспрессии $c\text{-Kit}$ в клетках именно в терминальной дифференцировке [14], поэтому $c\text{-Kit}$ стоит рассматривать как маркер клеточного состояния, а не названия конкретного клона клеток.

Происхождение гетерогенных $c\text{-Kit}^+$ -клеток во взрослом сердце до сих пор неясно, но некоторые экспериментальные подходы показали связь между эмбриональными и взрослыми популяциями. Мышиные эмбриональные стволовые клетки после дифференцировки *in vitro* могут давать начало незрелым мезодермальным клеткам, экспрессирующим $c\text{-Kit}$ и сердечный транскрипционный фактор NKX2-5, и способны далее дифференцироваться в кардиомиоциты и гладкомышечные клетки [13]. Однако взрослые клетки $c\text{-Kit}^+$ не обладали такими же возможностями и не были способны к кардиогенной дифференцировке, в том числе при трансплантации в здоровое или ишемизированное сердце [13]. Согласно представленным данным, $c\text{-Kit}^+$ -клетки с кардиомиогенным потенциалом редко встречаются во взрослом сердце и селективный отбор данных клеток способствует наращиванию редких самообновляющихся предшественников, обладающих мультипотентными свойствами.

В ряде доклинических исследований сообщалось о миогенной и сосудообразующей способности трансплантированных культур клеток $c\text{-Kit}^+$ на различных моделях млекопитающих. Это стало стимулом для проведения клинических испытаний, которые впоследствии продемонстрировали безопасность и положительную предварительную клиническую эффективность. Вторая фаза исследования CONCERT-HF (NCT02501811) со 125 участниками, посвященного изучению влияния мезенхимных клеток и $c\text{-Kit}^+$ как в отдельности, так и в комбинации в качестве регенеративной терапии сердечной недостаточности, началась в 2015 г. и была фактически завершена в июле 2020 г.; результаты проекта обрабатывают до сих пор [15].

Колониеобразующие единицы фибробластов сердца

В 2011 г. обнаружена популяция клеток во взрослом сердце, подобных мезенхимным стволовым клеткам, которая экспрессировала рецептор тромбоцитарного фактора роста альфа (PDGFR α) и Sca-1 и обладала свойствами стволовых клеток, включая активное образование клонов [16]. Эти клетки были названы колониеобразующими единицами фибробластов сердца (сКОЕ-Ф) в отличие от колониеобразующих единиц фибробластов, происходящих из костного мозга.

Показано, что у мышинных эмбрионов PDGFR α экспрессируется в ранней мезодерме, включая кардиальную [16], и у мышей с нокаутом к PDGFR α проявляются дефекты в выводящем тракте, перегородке, камерах сердца и коронарных сосудах, что указывает на значимость PDGFR α в раннем кардиогенезе [17]. Экспрессия PDGFR α в основном наблюдается только в проэпикарде и эпикарде и поддерживается в СК сердца (сердечных фибробластах), происходящих из эпикарда, поскольку они подвергаются эпителиально-мезенхимному переходу для проникновения в интерстициальные пространства стенок миокардиальной камеры и обеспечения формирования ткани клапана [16]. Мыши с эпикард-специфическим нокаутом по PDGFR α демонстрировали дефектный эпителиально-мезенхимный переход и уменьшенное количество сердечных стромальных фибробластов, но гладкомышечные клетки, также происходящие из эпикарда, не были затронуты. Роль передачи сигналов PDGFR α в сКОЕ-Ф и биология СК не совсем ясна, кроме того факта, что PDGFR α необходим для эпителиально-мезенхимного перехода и образования стромальных фибробластов в процессе развития, что может указывать на его значимую роль в поддержании фенотипа стволовых клеток [18].

В сердцах взрослых мышей, как и в сердце человека, была обнаружена экспрессия PDGFR α в эпикардиальных СК, занимающих как интерстициальное, так и периваскулярное пространство. Часть из них являются PDGFR α ⁺/SCA1⁺/PECAM1-(CD31) и представляют собой сКОЕ-Ф, которые формируют клональные колонии мезенхимных клеток *in vitro* и экспрессируют маркеры, типичные для мезенхимных стволовых клеток костного мозга, включая CD44, CD90, CD29 и CD105 [16]. сКОЕ-Ф и большая популяция СК также экспрессируют некоторые факторы транскрипции, участвующие в развитии сердца, включая GATA4, TBX5, HAND1 и MEF2C, что указывает на их идентичность как сердечных резидентов [19]. сКОЕ-Ф могут длительно пассироваться в культуре, что свидетельствует об их способности к самообновлению, а также обладают мультипотентностью как *in vitro*, так и *in vivo*, включая сокультивирование с эмбриональными

стволовыми клетками с образованием тератом и при трансплантации в ишемизированное сердце [19]. К сожалению, клинические исследования проводились только с использованием мезенхимных клеток, полученных из костного мозга и экспрессирующих PDGFR α , и в основном при клеточной терапии, не связанной с патологиями сердечно-сосудистой системы.

Популяция клеток Isl-1⁺

Экспрессия Isl-1 отмечена в сердечных мезодермальных предшественниках первичного и вторичного сердечных полей, но в процессе, когда предшественники мигрируют в область сердца и дифференцируются в линии клеток кардиального типа, экспрессия данного маркера сильно снижается [20]. Удаление Isl-1 влияет на выживание и пролиферацию клеток-предшественников сердца и их расположение в формирующейся сердечной трубке. Показано, что клетки Isl-1⁺ могут дифференцироваться в кардиомиоциты и гладкомышечные клетки *in vitro* [21]. Отслеживание происхождения фетальных Isl-1⁺-клеток продемонстрировало, что они действительно дают начало небольшой части кардиомиоцитов в постнатальном сердце мыши [22].

Однако клетки Isl-1⁺ редко встречаются в сердце взрослых мышей и зачастую ограничены синоартериальным узлом – до сих пор не ясно, можно ли считать клетки Isl-1⁺ популяцией стволовых клеток в сердце взрослого человека, которые можно было бы использовать для восстановления сердца. Это связано не только с их редкостью, но, исходя из некоторых наблюдений, и их безучастностью в регенеративном ответе после поражения сердца. Клетки Isl-1⁺ не обнаружены в перинфарктной области, наблюдалось исключительно локальное увеличение количества клеток после ишемического реперфузионного повреждения [13]. Тем не менее эмбриональные стволовые клетки Isl-1⁺ человека и мыши в совокупности с популяциями предшественников Isl-1⁺ были способны дифференцироваться в кардиомиоциты, эндотелиальные и гладкомышечные клетки *in vitro* [13]. В клинических испытаниях использовали только эмбриональные клетки Isl-1⁺. В 2018 г. завершено клиническое испытание первой фазы ESCORT (NCT02057900), в котором человеческие предшественники Isl-1⁺/CD15⁺, полученные из эмбриональных стволовых клеток, были встроены в фибриновый пластырь и помещены на эпикард пациентов с тяжелой дисфункцией левого желудочка. Испытание показало техническую осуществимость получения предшественников сердечно-сосудистых клеток из человеческих эмбриональных стволовых клеток, которые можно использовать в клинических испытаниях, и подтвердило их кратко- и среднесрочную безопасность [23].

Популяция клеток Sca-1⁺ и клеток, полученных из кардиосферы

Sca-1⁺-клетки и клетки, полученные из кардиосферы (КПК), описаны как резидентные популяции клеток-предшественников в сердце с клоногенным потенциалом. Происхождение этих популяций до конца не изучено, клетки Sca-1⁺, обнаруживаемые в сердце, представляют собой весьма гетерогенную популяцию и включают эндотелиальные клетки микрососудов, клетки-предшественники c-Kit⁺, PDGFR^α cKOE-Ф и СК, а также другие интерстициальные и периваскулярные клетки. Популяция Sca-1⁺ экспрессирует тканеспецифичные факторы транскрипции GATA4, MEF2C и TEF1, характерные для клеток сердца, но не имеет других маркеров кардиомиоцитов, включая NKX2-5 [13]. Сердечные интерстициальные/сосудистые фракции Sca-1⁺ у людей и мышей могут дифференцироваться в кардиомиоциты *in vitro* с использованием 5-азациитидина, что в том числе показано при трансплантации клеток инфарктным мышам, у которых при этом улучшились сердечные функции [24]. Через две недели после приживления около 18% кардиомиоцитов в перинфарктной зоне имели донорское происхождение, и примерно половина из них была образована путем слияния клеток донора с уже существующими кардиомиоцитами [25].

КПК – кардиальные экспланты, происходящие из малоадгезивных клеток, которые появляются в развивающейся сердечной ткани. Эти гетерогенные кластеры клеток рассеиваются в виде суспензии и, как считается, создают нише-подобную среду, в которой происходит размножение сердечных клеток-предшественниц c-Kit⁺ [26]. Учитывая метод, используемый для получения КПК, их происхождение трудно определить. По-видимому, они имеют кардиальное происхождение, но не являются производными кардиомиоцитов [27]. КПК могут дифференцироваться в кардиомиоциты при совместном культивировании с кардиомиоцитами новорожденных крыс [24], а при введении в миокард мышей, крыс или свиней в модели инфаркта улучшают сердечную функцию [28]. В исследовании «Кардиосферные аутологичные стволовые клетки для восстановления желудочковой дисфункции» (CADUCEUS) пациенты получали интракоронарные инъекции аутологичных КПК через 1,5–3 мес. после инфаркта миокарда [29]. Через 6 мес. после трансплантации клеток не сообщалось о каких-либо

проблемах, связанных с безопасностью процедуры, и у пациентов, которые получили данные клетки, отмечены уменьшение массы рубца, а также увеличение жизнеспособной массы и улучшение функции сердца [29]. В целом данные положительные результаты привели к переходу на следующий этап клинического исследования – ко второй фазе «Аллогенные СК для достижения регенерации миокарда» (ALLSTAR), которая завершилась в 2019 г. и не показала столь обнадеживающих результатов. Как сообщают исследователи [30], внутрикоронарная инфузия аллогенных КПК у пациентов с левожелудочковой дисфункцией после инфаркта миокарда была безопасной, но не уменьшила размер рубца по сравнению с плацебо в течение 6 мес. Тем не менее отмечено сокращение объема левого желудочка и выявлена биологическая активность данных клеток, что дает надежду на их дальнейшее изучение.

Заключение

Клеточная терапия второго поколения, основанная на применении резидентных СК для восстановления сердечной функции, не продемонстрировала критических или значимых результатов в ходе клинических испытаний, несмотря на успешные эксперименты в доклинических исследованиях на животных. Тем не менее это способствовало дальнейшему развитию регенеративных технологий, показав потенциал данных подходов в лечении сердца. Во-первых, многие исследователи сконцентрировали внимание на клеточных продуктах, образуемых мезенхимными клетками сердца, в виде внеклеточных везикул, содержащих различные сигнальные компоненты, способствующие улучшению сердечной функции [31]. Во-вторых, исследователи пришли к выводу о том, что необходимо тщательнее изучить функции данных популяций клеток в самом сердце [32] и рассмотреть возможность применения комбинированного лечения [33, 34] для достижения желаемого результата.

Конфликт интересов

П.М. Докшин заявляет об отсутствии конфликта интересов. А. Бейркдар заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Б. Малашичева заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 20-015-00574.

Информация об авторах

Докшин Павел Михайлович, младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории молекулярной кардиологии и генетики института молекулярной биологии и генетики федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская

Author Information Form

Docshin Pavel M., Junior Researcher at the Laboratory of Molecular Cardiology and Genetics, Institute of Molecular Biology and Genetics, Federal State Budgetary Institution “V.A. Almazov National Medical Research Center” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation; Junior Researcher at the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Federal State Budgetary

Федерация; младший научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт цитологии Российской академии наук», Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0182-009X

Бейрқдар Ахмад, магистр кафедры эмбриологии биологического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-7127-7793

Малашичева Анна Борисовна, кандидат биологических наук заведующая лабораторией регенеративной биомедицины федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт цитологии Российской академии наук»; заведующая научно-исследовательской лаборатории молекулярной кардиологии и генетики института молекулярной биологии и генетики федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; доцент кафедры эмбриологии биологического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация; руководитель лаборатории регенеративной биомедицины федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт цитологии Российской академии наук», Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0820-2913

Educational Institution of Higher Education “Saint-Petersburg State University”, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0182-009X

Bairqdar Ahmad, Master's student at the Department of Embryology, Faculty of Biology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Saint-Petersburg State University”, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-7127-7793

Malashicheva Anna B., PhD, Head of the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Federal State Budgetary Institution of Science “Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences”; Head of the Laboratory of Molecular Cardiology and Genetics, Institute of Molecular Biology and Genetics, Federal State Budgetary Institution “V.A. Almazov National Medical Research Center” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation; Associate Professor, Department of Embryology, Faculty of Biology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Saint-Petersburg State University”, Saint Petersburg, Russian Federation; Head of the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Federal State Budgetary Institution of Science “Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences”, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0820-2913

Вклад авторов в статью

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

БА – вклад в концепцию и дизайн исследования, корректура статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

МАБ – интерпретация данных исследования, корректура статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Author Contribution Statement

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVDs) [Internet]. 2021 Available from: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)) [cited 2021 Jun 11].
2. Vagnozzi R.J., Maillet M., Sargent M.A., Khalil H., Johansen A.K.Z., Schwanekamp J.A., York A.J., Huang V., Nahrendorf M., Sadayappan S., Molkentin J.D. An acute immune response underlies the benefit of cardiac stem cell therapy. *Nature*. 2020;577(7790):405-409. doi: 10.1038/s41586-019-1802-2.
3. Shadrin I.Y., Allen B.W., Qian Y., Jackman C.P., Carlson A.L., Juhas M.E., Bursac N. Cardiopatch platform enables maturation and scale-up of human pluripotent stem cell-derived engineered heart tissues. *Nat Commun*. 2017;8(1):1825.
4. Stehlik J., Kobashigawa J., Hunt S.A., Reichenspurner H., Kirklin J.K. Honoring 50 Years of Clinical Heart Transplantation in Circulation: In-Depth State-of-the-Art Review. *Circulation*. 2018;137(1):71-87.
5. Li L.L., T.-S. Mini Review: Recent Advances in the Cell-Based Therapies for Cardiac Regeneration. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2020;15(8):649-660. doi: 10.2174/1574888X15666200102103755.
6. Segers V.F.M., Lee R.T. Stem-cell therapy for cardiac disease. *Nature*. 2008;451(7181):937-42.
7. Orlic D., Kajstura J., Chimenti S., Jakoniuk I., Anderson S.M., Li B., Pickel J., McKay R., Nadal-Ginard B., Bodine D.M., Leri A., Anversa P. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*. 2001;410(6829):701-5. doi: 10.1038/35070587.
8. van Berlo J.H., Kanisicak O., Maillet M., Vagnozzi R.J., Karch J., Lin S.C., Middleton R.C., Marbán E., Molkentin J.D. c-kit⁺ cells minimally contribute cardiomyocytes to the heart. *Nature*. 2014;509(7500):337-41. doi: 10.1038/nature13309.
9. Beltrami A.P., Barlucchi L., Torella D., Baker M., Limana F., Chimenti S., Kasahara H., Rota M., Musso E., Urbanek K., Leri A., Kajstura J., Nadal-Ginard B., Anversa P. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*. 2003;114(6):763-76. doi: 10.1016/s0092-8674(03)00687-1.
10. Chong J.J., Yang X., Don C.W., Minami E., Liu Y.W., Weyers J.J., Mahoney W.M., Van Biber B., Cook S.M., Palpant N.J., Gantz J.A., Fugate J.A., Muskheili V., Gough G.M., Vogel K.W., Astley C.A., Hotchkiss C.E., Baldessari A., Pabon L.,

- Reinecke H., Gill E.A., Nelson V., Kiem H.P., Laflamme M.A., Murry C.E. Human embryonic-stem-cell-derived cardiomyocytes regenerate non-human primate hearts. *Nature*. 2014;510(7504):273-7. doi: 10.1038/nature13233.
11. Keith M.C.L., Bolli R. "String Theory" of c-kit⁺ Cardiac Cells. *Circ Res* [Internet]. 2015 Mar 27;116(7):1216–30. Available from: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.305557>. [cited 2021 Jun 11].
12. Gude N.A., Sussman M.A. Cardiac regenerative therapy: Many paths to repair. *Trends Cardiovasc Med*. 2020;30(6):338-343. doi: 10.1016/j.tcm.2019.08.009
13. Santini M.P., Forte E., Harvey R.P., Kovacic J.C. Developmental origin and lineage plasticity of endogenous cardiac stem cells. *Development*. 2016;143(8):1242-58. doi: 10.1242/dev.111591.
14. Li M., Naqvi N., Yahiro E., Liu K., Powell P.C., Bradley W.E., Martin D.I., Graham R.M., Dell'Italia L.J., Husain A. c-kit is required for cardiomyocyte terminal differentiation. *Circ Res*. 2008;102(6):677-85. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.107.161737.
15. Barry R.D. Combination of Mesenchymal and C-kit⁺ Cardiac Stem Cells as Regenerative Therapy for Heart Failure (CONCERT-HF). A Phase II, Randomized, Placebo-Controlled Study of the Safety, Feasibility, & Efficacy of Autologous Mesenchymal Stem Cells & C-kit⁺ Cardiac Stem Cells, Alone or in Combination, Administered Transendocardially in Subjects With Ischemic HF. 2021. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02501811>. [cited 2021 Jun 11].
16. Chong J.J., Chandrakanthan V., Xaymardan M., Asli N.S., Li J., Ahmed I., Heffernan C., Menon M.K., Scarlett C.J., Rashidianfar A., Biben C., Zoellner H., Colvin E.K., Pimanda J.E., Biankin A.V., Zhou B., Pu W.T., Prall O.W., Harvey R.P. Adult cardiac-resident MSC-like stem cells with a proepicardial origin. *Cell Stem Cell*. 2011;9(6):527-40. doi: 10.1016/j.stem.2011.10.002.
17. Soriano P. The PDGF alpha receptor is required for neural crest cell development and for normal patterning of the somites. *Development*. 1997;124(14):2691–700.
18. Ball S.G., Worthington J.J., Canfield A.E., Merry C.L.R., Kielty C.M. Mesenchymal stromal cells: Inhibiting PDGF receptors or depleting fibronectin induces mesodermal progenitors with endothelial potential. *Stem Cells*. 2014;32(3):694–705.
19. Nosedá M., Harada M., McSweeney S., Leja T., Belian E., Stuckey D.J., et al. PDGFR α demarcates the cardiogenic clonogenic Sca1⁺ stem/progenitor cell in adult murine myocardium. *Nat Commun*. 2015; 6: 6930. doi:10.1038/ncomms7930
20. Cai C.L., Liang X., Shi Y., Chu P.H., Pfaff S.L., Chen J., Evans S. Isl1 identifies a cardiac progenitor population that proliferates prior to differentiation and contributes a majority of cells to the heart. *Dev Cell*. 2003;5(6):877-89. doi: 10.1016/s1534-5807(03)00363-0.
21. Laugwitz K.L., Moretti A., Caron L., Nakano A., Chien K.R. Isl1 cardiovascular progenitors: A single source for heart lineages? *Development*. 2008; 135: 193–205. doi:10.1242/dev.001883
22. Laugwitz K.L., Moretti A., Lam J., Gruber P., Chen Y., Woodard S., Lin L.Z., Cai C.L., Lu M.M., Reth M., Platoshyn O., Yuan J.X., Evans S., Chien K.R. Postnatal Isl1⁺ cardioblasts enter fully differentiated cardiomyocyte lineages. *Nature*. 2005;433(7026):647-53. doi: 10.1038/nature03215.
23. Menasché P., Vanneaux V., Hagege A., Bel A., Cholley B., Parouchev A., et al. Transplantation of Human Embryonic Stem Cell-Derived Cardiovascular Progenitors for Severe Ischemic Left Ventricular Dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2018 Jan;71(4):429–38. doi: 10.1016/j.jacc.2017.11.047.
24. Smith R.R., Barile L., Cho H.C., Leppo M.K., Hare J.M., Messina E., et al. Regenerative potential of cardiosphere-derived cells expanded from percutaneous endomyocardial biopsy specimens. *Circulation*. 2007;115(7):896–908.
25. Oh H., Bradfute S.B., Gallardo T.D., Nakamura T., Gaussin V., Mishina Y., Pocius J., Michael L.H., Behringer R.R., Garry D.J., Entman M.L., Schneider M.D. Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(21):12313-8. doi: 10.1073/pnas.2132126100.
26. Li T.S., Cheng K., Lee S.T., Matsushita S., Davis D., Malliaras K., Zhang Y., Matsushita N., Smith R.R., Marbán E. Cardiospheres recapitulate a niche-like microenvironment rich in stemness and cell-matrix interactions, rationalizing their enhanced functional potency for myocardial repair. *Stem Cells*. 2010;28(11):2088-98. doi: 10.1002/stem.532.
27. Ye J., Boyle A.J., Shih H., Sievers R.E., Wang Z.E., Gormley M., Yeghiazarians Y. CD45-positive cells are not an essential component in cardiosphere formation. *Cell Tissue Res*. 2013;351(1):201-5. doi: 10.1007/s00441-012-1511-8.
28. Malliaras K., Makkar R.R., Smith R.R., Cheng K., Wu E., Bonow R.O., Marbán L., Mendizabal A., Cingolani E., Johnston P.V., Gerstenblith G., Schuleri K.H., Lardo A.C., Marbán E. Intracoronary cardiosphere-derived cells after myocardial infarction: evidence of therapeutic regeneration in the final 1-year results of the CADUCEUS trial (CARDiosphere-Derived aUtologous stem CELls to reverse ventricUlar dySfunction). *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(2):110-22. doi: 10.1016/j.jacc.2013.08.7
29. Makkar R.R., Smith R.R., Cheng K., Malliaras K., Thomson L.E., Berman D., Czer L.S., Marbán L., Mendizabal A., Johnston P.V., Russell S.D., Schuleri K.H., Lardo A.C., Gerstenblith G., Marbán E. Intracoronary cardiosphere-derived cells for heart regeneration after myocardial infarction (CADUCEUS): a prospective, randomised phase 1 trial. *Lancet*. 2012;379(9819):895-904. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60195-0.
30. Makkar R.R., Kereiakes D.J., Aguirre F., Kowalchuk G., Chakravarty T., Malliaras K., Francis G.S., Povsic T.J., Schatz R., Traverse J.H., Pogoda J.M., Smith R.R., Marbán L., Ascheim D.D., Ostovaneh M.R., Lima J.A.C., DeMaria A., Marbán E., Henry T.D. Intracoronary ALLogeneic heart Stem cells to Achieve myocardial Regeneration (ALLSTAR): a randomized, placebo-controlled, double-blinded trial. *Eur Heart J*. 2020;41(36):3451-3458. doi: 10.1093/eurheartj/ehaa541.
31. Balbi C., Vassalli G. Exosomes: Beyond stem cells for cardiac protection and repair. *Stem Cells*. 2020;38(11):1387-1399. doi: 10.1002/stem.3261
32. Liu C., Han D., Liang P., Li Y., Cao F. The Current Dilemma and Breakthrough of Stem Cell Therapy in Ischemic Heart Disease. *Front Cell Dev Biol*. 2021; 9: 636136. . doi: 10.3389/fcell.2021.636136
33. Rheault-Henry M, White I, Grover D, Atoui R. Stem cell therapy for heart failure: Medical breakthrough, or dead end? *World J Stem Cells*. 2021; 13(4): 236–259. doi: 10.4252/wjsc.v13.i4.236
34. Vagnozzi R.J., Maillet M., Sargent M.A., Khalil H., Johansen A.K.Z., Schwanekamp J.A., York A.J., Huang V., Nahrendorf M., Sadayappan S., Molkentin J.D. An acute immune response underlies the benefit of cardiac stem cell therapy. *Nature*. 2020;577(7790):405-409. doi: 10.1038/s41586-019-1802-2

Для цитирования: Докишин П.М., Бейрқдар А., Малашичева А.Б. Современные проблемы и перспективы развития клеточной терапии на основе мезенхимных клеток сердца в восстановлении сократительной функции миокарда. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2021;10(3): 72-78. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-72-78

To cite: Docshin P.M., Bairqdar A., Malashicheva A.B. Current status, challenges and perspectives of mesenchymal stem cell-based therapy for cardiac regeneration. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2021;10(3): 72-78. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-72-78



УДК 616-03

DOI 10.17802/2306-1278-2021-10-3-79-89

КАРДИОПРОТЕКТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ИНГИБИТОРОВ НАТРИЙ-ГЛЮКОЗНОГО КОТРАНСПОРТЕРА (ФОКУС НА ЭМПАГЛИФЛОЗИН)

И.С. Сабиров¹, И.Т. Муркамилов^{1,2}, В.В. Фомин³

¹ Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Кыргызско-Российский Славянский университет имени первого Президента Российской Федерации Б.Н. Ельцина, ул. Киевская, 44, Бишкек, Киргизская Республика, 720000; ² Учреждение «Кыргызская государственная медицинская академия имени И.К. Ахунбаева», ул. И. Ахунбаева, 92, Бишкек, Киргизская Республика, 720020; ³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), ул. Большая Пироговская, 2, Москва, Российская Федерация, 119991

Основные положения

• Ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера оказывают благоприятное влияние на сердечно-сосудистую систему через кардиопротективные механизмы у пациентов с сахарным диабетом и без него, а также с установленными сердечно-сосудистыми заболеваниями или множественными факторами сердечно-сосудистого риска.

Цель

Обзор литературы посвящен кардиопротективным возможностям представителей нового класса антигипергликемических препаратов – ингибиторов натрий-глюкозного котранспортера 2-го типа (SGLT2), которые улучшают гликемический контроль путем инсулинонезависимого механизма действия, связанного с увеличением экскреции глюкозы с мочой. В статье представлены результаты крупномасштабных клинических исследований по применению ингибиторов SGLT2 у пациентов с сахарным диабетом и без него, а также установленными сердечно-сосудистыми заболеваниями или множественными факторами сердечно-сосудистого риска. Описан ряд наиболее часто обсуждаемых кардиоспецифических механизмов, опосредованных ингибитором SGLT2, влияющим на состояние сердечно-сосудистой системы. Изложены результаты плацебо-контролируемого клинического исследования EMPA-REG OUTCOME по изучению кардиопротективных возможностей представителя ингибиторов SGLT2 – эмпаглифлозина – у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями. В статье подчеркнута важность дальнейших исследований для установления степени вклада вышеперечисленных механизмов в кардиопротективный потенциал ингибиторов SGLT2. Поиск литературы выполнен в базе данных PubMed.

Ключевые слова

Ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера 2-го типа • Факторы сердечно-сосудистого риска • Сердечно-сосудистые заболевания • Сахарный диабет 2-го типа • Кардиопротективные механизмы

Поступила в редакцию: 26.06.2021; поступила после доработки: 13.08.2021; принята к печати: 08.09.2021

POTENTIAL MECHANISMS UNDERLYING CARDIOVASCULAR PROTECTION BY SODIUM GLUCOSE COTRANSPORTER 2 INHIBITORS (EMPAGLIFLOZIN)

I.S. Sabirov¹, I.T. Murkamilov^{1,2}, V.V. Fomin³

¹ Kyrgyz Russian Slavic University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin, 44, Kiev St., Bishkek, Kyrgyz Republic, 720000; ² I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, 92, Akhunbaev St., Bishkek, Kyrgyz Republic, 720020; ³ Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Sechenovskiy University), 2, Bolshaya Pirogovskaya St., Moscow, Russian Federation, 119991

Highlights

• Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors have a beneficial effect on the cardiovascular system

Для корреспонденции: Илхом Торобекович Муркамилов, murkamilov.i@mail.ru; адрес: ул. И. Ахунбаева, 92, Бишкек, Киргизская Республика, 720020

Corresponding author: Ilhom T. Murkamilov, murkamilov.i@mail.ru; address: 92, Akhunbaev str., Bishkek, Kyrgyz Republic, 720020

via cardioprotective mechanisms in patients with and without diabetes mellitus, and with cardiovascular diseases or multiple cardiovascular risk factors.

Abstract

The presented literature review is devoted to the cardioprotective capabilities of a new class of antihyperglycemic drugs – sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors (SGLT2), which improve glycemic control through an insulin-independent mechanism of action associated with an increase in urinary glucose excretion. The article presents the results of large-scale clinical trials on the use of SGLT2 inhibitors in patients with and without diabetes, and with cardiovascular diseases or multiple cardiovascular risk factors. A number of the most frequently discussed cardiac specific mechanisms mediated by the SGLT2 inhibitor affecting the state of the cardiovascular system are presented. Moreover, the article presents the results of a placebo-controlled clinical trial entitled “Empagliflozin reduces mortality in patients with type 2 diabetes at high cardiovascular risk” (EMPA-REG OUTCOME) to analyze the cardioprotective capabilities of SGLT2 inhibitor empagliflozin in patients with type 2 diabetes and concomitant cardiovascular diseases. The article emphasizes the importance of further research to determine the degree of contribution of the above-mentioned mechanisms to the cardioprotective potential of SGLT2 inhibitors. PubMed database was used to identify relevant studies and systematic reviews.

Keywords

Sodium glucose cotransporter 2 inhibitors • Cardiovascular risk factors • Cardiovascular diseases • Type 2 diabetes mellitus • Cardioprotective mechanisms

Received: 26.06.2021; received in revised form: 13.08.2021; accepted: 08.09.2021

Список сокращений

АД	– артериальное давление	СН	– сердечная недостаточность
ДИ	– доверительный интервал	ССЗ	– сердечно-сосудистые заболевания
ОШ	– отношение шансов	ЧСС	– частота сердечных сокращений
СД	– сахарный диабет	SGLT	– натрий-глюкозный котранспортер
СКФ	– скорость клубочковой фильтрации		

Введение

В настоящее время сахарный диабет (СД) входит в десятку основных причин смерти взрослых и, по оценкам, в 2017 г. стал причиной четырех миллионов смертей во всем мире [1]. По данным P. Saedi и соавт., глобальная распространенность СД вырастет с 9,3% (463 млн человек) в 2017 г. до 10,2% (578 млн) к 2030 г. и 10,9% (700 млн) – к 2045 г. [2]. Распространенность СД в 2017 г. в возрастной группе 20–79 лет составила 8,8% (95% доверительный интервал (ДИ) 7,2–11,3) с дальнейшим ростом до 9,9% (95% ДИ 7,5–12,7) к 2045 г., а в пересчете на численность людей с СД во всем мире увеличится с 424,9 млн (95% ДИ 346,4–545,4) в 2017 г. до 628,6 млн человек (95% ДИ 477,0–808,7) в 2045 г. [3].

В современных условиях среди пациентов с СД 2-го типа, согласно исследованию TECOS, более 50% всех смертей вызваны сердечно-сосудистыми причинами, причем наиболее частой является внезапная смерть, за которой следует комбинированная смерть от инфаркта миокарда или инсульта и смерть от сердечной недостаточности (СН) [4]. При этом, по другим данным, причины смерти, связанные с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ), у паци-

ентов с СД 2-го типа достигают 80% [5]. Логически оправданным считается изучение механизмов кардиопротективных возможностей сахароснижающих лекарственных средств у больных СД или без него, а также с установленными ССЗ или множественными факторами сердечно-сосудистого риска, в том числе при развитии хронической болезни почек [6].

Механизмы терапевтического действия через ингибирование натрий-глюкозного котранспортера 1-го и 2-го типов

В последнее время значительный интерес уделяют роли почек при нарушениях углеводного обмена. Эволюционно сложившийся механизм, направленный на поддержание энергетического баланса и сохранение глюкозы, представлен ее реабсорбцией в почках. В норме у здорового человека в почках ежедневно фильтруется около 180 г глюкозы в первичную мочу, при этом наблюдается практически полная ее реабсорбция (~99,9%) в виде комплекса с ионом натрия с участием белков натрий-глюкозного котранспортера 1-го (SGLT1) и 2-го (SGLT2) типов [7]. Экспрессия SGLT1 может быть обнаружена в тонком кишечнике, печени, легких, почках и сердце,

тогда как экспрессия SGLT2 – преимущественно в почках [8]. Причем в проксимальном отделе канальца, где сконцентрирована большая часть SGLT2, реабсорбируется до 97% глюкозы, а оставшаяся часть реабсорбируется в конечной части проксимального канальца с помощью транспортеров SGLT1, расположенных на апикальной мембране, которая обладает низкой емкостью, но высокой афинностью; на одну молекулу глюкозы приходится перенос двух ионов Na^+ [9]. С помощью этого переносчика реабсорбируется оставшаяся глюкоза, и во вторичной моче обнаруживается лишь 1/1000 общего количества отфильтрованной глюкозы [7]. При превышении так называемого почечного порога гликемии (выше 10–11 ммоль/л) почки теряют способность реабсорбировать всю фильтруемую глюкозу. Однако доказано, что длительная гипергликемия, характерная для декомпенсированного СД, парадоксально увеличивает активность и экспрессию в почечных канальцах белков-котранспортеров глюкозы и натрия, повышая таким образом почечный порог и позволяя усиленно возвращать их обратно в кровоток. Это замыкает круг патогенетических нарушений на уровне почек, поддерживает и еще больше усиливает гипергликемию, повышает инсулинорезистентность и дисфункцию бета-клеток поджелудочной железы, ухудшая течение СД и затрудняя адекватный метаболический контроль [10].

Изучение новых патогенетических механизмов, ответственных за поддержание хронической гипергликемии, привело к созданию крайне перспективного класса сахароснижающих препаратов, блокирующих почечную реабсорцию глюкозы, – ингибиторов SGLT2 [7, 11, 12]. Важную роль в отведении Na^+ из внутриклеточных к внеклеточным пространствам играет универсальная натриевая помпа (натрий-калиевая аденозинтрифосфатаза), расположенная в базолатеральной мембране клетки. Подобный активный перенос Na^+ не только поддерживает его низкую внутриклеточную концентрацию, столь важную для обеспечения пассивного транспорта глюкозы из почечного канальца внутрь клетки, но также имеет важное значение в переносе Na^+ из канальцев в кровь, т. е. приводит к его реабсорбции. Механизм ингибирования SGLT2 может не только улучшать гликемический контроль, но и оказывать кардио- и нефропротективные эффекты у пациентов с СД 2-го типа и высоким кардиоваскулярным риском. Ингибиторы котранспортера SGLT2 представляют собой новый класс сахароснижающих препаратов, приводящих к глюкозурии (и натрийурезу), что тем самым снижает концентрацию глюкозы в плазме [12]. Этот механизм уникален по сравнению со всеми другими сахароснижающими средствами, поскольку не влияет на эндогенные пути инсулина или инкретина.

Особое место среди ингибиторов SGLT2 занимает эмпаглифлозин, который является обратимым высокоактивным селективным и конкурентным блокато-

ром SGLT. Фармакологические свойства молекулы эмпаглифлозина обуславливают клиническую эффективность у пациентов с СД 2-го типа: в частности, даже невысокой концентрации, 1,3 ммоль, достаточно для ингибирования 50%-ной активности белка-транспортера SGLT2. Это приводит к усилению натрийуреза, экскреции до 80 г глюкозы в сутки, снижению глюкозы крови натощак максимально на 2,01 ммоль/л и уменьшению HbA1c до 0,85%. Эмпаглифлозин отличается пролонгированным периодом полувыведения (10–19 ч), а прием пищи не влияет на фармакокинетику. Существенным обстоятельством, обеспечивающим приверженность пациентов терапии эмпаглифлозином, является возможность однократного применения препарата (1 раз в сутки) в дозе 10 или 25 мг независимо от приема пищи [7]. Эмпаглифлозин не ингибирует, не инактивирует и не индуцирует изоферменты CYP450, что позволяет применять этот препарат одновременно с другими лекарственными средствами. Активные метаболиты эмпаглифлозина отсутствуют, выводится препарат в равной степени почками и печенью. Стоит отметить, что одно из преимуществ ингибиторов SGLT2 по сравнению с другими гипогликемическими препаратами заключается в том, что они не вызывают гипогликемии за счет усиления выработки эндогенной глюкозы и повышения концентрации глюкозы в плазме [13]. Как гемодинамическое, так и метаболическое действия ингибиторов SGLT2 потенциально направлены на улучшение диабетической кардиомиопатии и в конечном итоге приводят к кардиопротекции, как показано в исследовании EMPA-REG OUTCOME. Тем не менее одних только системных механизмов может быть недостаточно, чтобы объяснить сердечно-сосудистые преимущества ингибиторов SGLT2 по сравнению с другими сахароснижающими препаратами.

Кардиопротективный потенциал ингибиторов SGLT2 и механизмы его реализации

В настоящее время во всем мире более 350 млн пациентов страдают от СД [14]. Причины смерти до 80% больных СД 2-го типа связаны с ССЗ [5]. Диабетическая кардиомиопатия – прогрессирующее заболевание, при котором поражены как структура, так и функция миокарда. Эти патологические процессы включают гипертрофию, апоптоз и некроз сердца, дилатацию желудочков и интерстициальный фиброз [15, 16], что приводит как к систолической, так и диастолической дисфункциям. Нарушения метаболизма, включая гипергликемию, инсулинорезистентность и гиперлипидемию, играют важную роль в процессе формирования диабетической кардиомиопатии, вызывая активацию ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, изменения липидного обмена, воспаление, окислительный стресс, митохондриальную дисфункцию и стресс

эндоплазматического ретикулума [17]. Хроническое воздействие этих процессов ограничивает возможности сердца к физиологической адаптации и восстановлению. В последнее время ингибиторы SGLT2 стали предметом интереса экспертов из-за преимуществ сердечно-сосудистых исходах по сравнению с другими противодиабетическими препаратами. Исследование EMPA-REG OUTCOME (2010–2015 гг.) показало кардиопротективный эффект эмпаглифлозина за счет значительного снижения смертности от сердечно-сосудистых причин (снижение относительного риска на 38%, смерти от всех причин – на 32%, госпитализаций по поводу СН – на 35% у пациентов с СД 2-го типа с установленными ССЗ) [18].

На ежегодном конгрессе Европейского кардиологического общества 29 августа 2020 г. были представлены результаты рандомизированного двойного слепого с параллельными группами плацебо-контролируемого исследования EMPEROR-Reduced (Empagliflozin Outcome Trial in Patients with Chronic Heart Failure and a Reduced Ejection Fraction) [19]. В исследовании случайным образом распределены 3 730 пациентов с СН II, III или IV функциональных классов и фракцией выброса левого желудочка 40% или менее для приема эмпаглифлозина (10 мг один раз в сутки) или плацебо в дополнение к рекомендованной терапии, которая включала диуретики, ингибиторы ренин-ангиотензиновой системы и неприлизин, бета-блокаторы, антагонисты минералокортикоидных рецепторов и при показаниях сердечные устройства. Доза эмпаглифлозина была выбрана на основании снижения риска смерти от ССЗ или госпитализации по поводу СН, о котором ранее сообщалось при применении этой дозы у пациентов с СД 2-го типа [20]. Первичный результат представлял собой совокупность установленной смерти от ССЗ или госпитализации по поводу СН, анализируемой как время до первого события. Первым вторичным исходом было возникновение всех признанных госпитализаций по поводу СН, включая первые и повторяющиеся события. Вторым вторичным исходом была скорость снижения расчетной скорости клубочковой фильтрации (СКФ) во время двойного слепого лечения. В течение в среднем 16 мес. событие первичного исхода произошло у 361 из 1 863 (19,4%) больных в группе эмпаглифлозина и у 462 из 1 867 (24,7%) пациентов в группе плацебо (соотношение рисков сердечно-сосудистой смерти или госпитализации по поводу СН – отношение шансов (ОШ) 0,75; 95% ДИ 0,65–0,86; $p < 0,001$). Эффект эмпаглифлозина на первичный результат был устойчивым у пациентов независимо от наличия или отсутствия СД. Общее количество госпитализаций по поводу СН было ниже в группе эмпаглифлозина, чем в группе плацебо (ОШ 0,70; 95% ДИ 0,58–0,85; $p < 0,001$). Годовая скорость снижения расчетной СКФ была

медленнее в группе эмпаглифлозина, чем в группе плацебо ($-0,55$ против $-2,28$ мл в минуту на $1,73 \text{ м}^2$ площади поверхности тела в год; $p < 0,001$); пациенты, получавшие эмпаглифлозин, имели более низкий риск серьезных почечных исходов.

Данные исследования с эмпаглифлозином можно сравнить с эффектами дапаглифлозина в исследовании DAPA-HF [21]. Исследование EMPEROR-Reduced было расширено для пациентов с заметно сниженной фракцией выброса левого желудочка и повышенными уровнями натрийуретических пептидов по сравнению с обследуемыми в исследовании DAPA-HF. Поэтому частота первичного исхода была примерно на 40% выше в текущем исследовании, чем в исследовании DAPA-HF. Таким образом, исследование EMPEROR-Reduced расширяет преимущества ингибиторов SGLT2 у пациентов с более поздней, но стабильной СН. В исследовании EMPEROR-Reduced, как и в DAPA-HF, преимущество ингибитора SGLT2 в отношении основного комбинированного результата было обусловлено, главным образом, сокращением количества госпитализаций по поводу СН. Риск смерти от ССЗ был на 8% ниже в группе эмпаглифлозина, чем в группе плацебо (ОШ 0,92; 95% ДИ 0,75–1,12) и на 18% ниже в группе дапаглифлозина в исследовании DAPA-HF (ОШ 0,82; 95% ДИ 0,69–0,98). Следует отметить, что в крупномасштабных исследованиях с участием пациентов с СД 2-го типа снижение риска смерти от ССЗ среди больных с аналогичным сердечно-сосудистым анамнезом (т. е. перенесших острый инфаркт миокарда) составило 41% (ОШ 0,59; 95% ДИ 0,44–0,79) для эмпаглифлозина и 8% – для дапаглифлозина (ОШ 0,92; 95% ДИ 0,69–1,23) [20, 22]. Таким образом, как отметили другие исследователи, влияние ингибиторов SGLT2 на смертность неоднородно [23], что требует изучения класс-специфичных механизмов кардиопротективного потенциала ингибиторов SGLT2.

Механизмы кардиопротективного потенциала ингибиторов SGLT2

Кардиопротективные эффекты ингибиторов SGLT2 обусловлены вторичными механизмами, находящимися за пределами гликемического контроля. Первоосновой всех последующих гемодинамических эффектов являются натрийурез и осмотический диурез. Помимо глюкозурического эффекта ингибиторы SGLT2 обладают натрийуретическим и диуретическим действием, которое проявляется увеличением объема мочи примерно на 300 мл/сут в течение первых 2–3 дней и возвращением к исходному уровню диуреза в течение нескольких недель в связи с восстановлением натрий-водного баланса. Диурез при применении SGLT2-ингибиторов усиливается как при эугликемии, так и в большей степени при гипергликемии, а также сохраняется

повышенным при хронической болезни почек 3–4-й стадий, хронической и острой СН [24]. Снижение объема плазмы при терапии SGLT2-ингибиторами происходит примерно на 7% (5–12%) к третьему месяцу лечения [25]. В норме SGLT2 отвечает за реабсорбцию ~5% натрия в канальцевой моче, тогда как при СД объем реабсорбции возрастает до 15%, что объясняется повышением экспрессии SGLT2 и SGLT1 в эпителии проксимальных канальцев.

SGLT2-ингибиторы также способны влиять на натрий-водородный обменник изоформа 3 (NHE3) в проксимальных канальцах, снижая реабсорбцию натрия [26]. Однако следует учесть тот факт, что глюкозурия и осмотический диурез, связанные с ингибированием SGLT2, зависят от концентрации глюкозы в крови, следовательно, это не объясняет аналогичных преимуществ, наблюдаемых у нормогликемических пациентов с СН при отсутствии СД [21, 27].

Помимо снижения концентрации глюкозы в плазме и последующего уменьшения глюкокотоксичности, приводящего к диабетической кардиомиопатии, снижаются вес и жировая масса за счет стимуляции окисления липидов, компенсирующего энергетическую потерю [28, 29]. Другим механизмом потери веса при терапии ингибиторами SGLT2 является повышение соотношения глюкагона – инсулина, вызывающее повышенную мобилизацию липидов, и считается одним из механизмов, участвующих в снижении смертности от СН, связанной с терапией ингибитором SGLT2 [30, 31]. У пациентов с СД 2-го типа, получавших терапию ингибиторами SGLT2, наблюдалась потеря веса до 2,7 кг, кроме того, имеются данные исследования, свидетельствующие о потере веса при наличии предиабета [32, 33]. Однако в настоящее время нет доказательств того, что ингибиторы SGLT2 могут вызывать потерю веса у пациентов с СН при отсутствии СД, что было бы аргументом против выдвижения эффекта снижения веса как основного позитивного механизма от терапии этой группы лекарственных средств. Более того, несмотря на высокую распространенность ожирения среди больных СН, имеется мало окончательных данных о влиянии потери веса на сердечную функцию, качество жизни и переносимость физических нагрузок при данной ситуации [34].

Снижение артериального давления (АД) при приеме ингибиторов SGLT2 происходит за счет как систолического, так и диастолического уровня, без компенсаторной рефлекторной активации симпатической нервной системы [35]. В исследованиях, посвященных оценке суточного профиля АД у больных СД 2-го типа, выявлено, что эмпаглифлозин снижает систолическое АД в течение всех суток, однако в ночные часы гипотензивное действие ингибиторов SGLT2 несколько ослабевает [36, 37]. По-видимому, это обусловлено снижением в ночной межпищевой период глюкозурии и натрийуреза, а также замедле-

нием почечного кровотока и/или снижением СКФ из-за горизонтального положения тела во время сна. Если раньше считалось, что антигипертензивный эффект, связанный с ингибированием SGLT2, является вторичным по отношению к диурезу и натрийурезу, то, учитывая, что этот эффект сохраняется даже при снижении СКФ, высказано предположение, что он, скорее всего, является вторичным по отношению к улучшенной функции эндотелия, снижению артериальной жесткости и активности симпатической нервной деятельности, о чем свидетельствуют последние исследования [38, 39]. Недавний мета-анализ показал весьма умеренный гипотензивный эффект ингибиторов SGLT2 – объединенная оценка снижения АД на 2,46/1,46 мм рт. ст. [40]. Такая степень снижения АД, хотя и является благотворной в контексте ССЗ, вряд ли служит причиной достоверных преимуществ в отношении кардиоваскулярной заболеваемости и смертности.

Таким образом, ингибиторы SGLT2, снижая объем циркулирующей крови, АД и жесткость сосудов, уменьшают пред- и постнагрузку на миокард, приводя к уменьшению потребления кислорода, улучшают насосную функцию левого желудочка.

В условиях гипергликемии при СД 2-го типа ингибиторы SGLT2 оказывают положительный эффект на кардиомиоциты за счет уменьшения содержания в них ионов натрия и кальция, а также ингибируя активность натриево-водородного антипортера 1 (NHE-1), что способствует восстановлению энергетического состояния миоцитов за счет активного синтеза аденозинтрифосфата в митохондриях [41].

Значительная часть хронических заболеваний – ишемическая болезнь сердца (в том числе осложненная СН), гипертоническая болезнь, СД 2-го типа, синдром обструктивного апноэ во сне – сопровождаются хронической гиперактивацией симпатической нервной системы. Гиперсимпатикотония служит основным механизмом нарушения гомеостаза натрия и воды в почках за счет повышения жесткости артерий и развития эндотелиальной дисфункции, провоцируя таким образом развитие отеочного синдрома [42].

Если предположить, что SGLT2 участвует в активации симпатической нервной системы, то ингибиторы SGLT2 будут уменьшать сенсорную нервную деятельность почек параллельно с подавлением активации центральных рефлекторных механизмов, способствующих ее системной активации. В ходе клинических исследований лузеоглифлозина в качестве монотерапии у пациентов с СД 2-го типа изучена динамика частоты сердечных сокращений (ЧСС) покоя как показателя симпатической активации до и через 12 нед. лечения [27, 28]. Показано, что при исходной ЧСС менее 70 ударов в минуту изменений по данному показателю на фоне терапии не отмечалось, однако если ЧСС превышала

указанное значение, то на фоне лечения зафиксировано ее значимое снижение [29].

Кардиопротективный потенциал ингибиторов SGLT2 можно также связать с увеличением продукции почечного эритропоэтина, массы эритроцитов и гематокрита [31]. Такие изменения могут способствовать улучшению сердечно-сосудистых исходов, хотя сообщалось об аналогичном повышении гематокрита при приеме дарбэпоэтина-альфа, а у пациентов с систолической дисфункцией левого желудочка не наблюдалось уменьшения смертности [43].

Кроме того, S. Verma и соавт. выдвинута гипотеза, согласно которой кардиопротективные преимущества терапии ингибиторами SGLT2 могут быть связаны со сдвигом сердечного метаболизма от жир-

ных кислот и окисления глюкозы в сторону более кислородно-эффективных кетонных тел, что тем самым улучшает сердечную эффективность [44]. Кроме того, ингибиторам SGLT2 за счет моделирования истощения питательных веществ с периодами повышенного катаболизма из-за постоянной глюкозурии свойственна способность к аутофагии – процессу, при котором клеточное физиологическое равновесие поддерживается за счет удаления потенциально опасных компонентов и повторного использования клеточных компонентов в качестве адаптивного ответа на метаболический стресс, включая гипоксию и голодание [45], что дает преимущества сердечно-сосудистой системе при терапии с использованием этой группы лекарственных средств.

Кардиопротективные механизмы ингибиторов SGLT2
Cardioprotective mechanisms of SGLT2 inhibitors

Влияние на миокард / Effect on the myocardium	Уменьшение ионов натрия и кальция в кардиомиоцитах с ингибированием натриево-водородного антипортера 1 (NHE-1) приводит к восстановлению энергетического состояния миоцитов за счет активного синтеза аденозинтрифосфата в митохондриях / Reductions in calcium and sodium concentration in cardiomyocytes and the inhibition of sodium/hydrogen exchanger1 (NHE-1) leads to the restoration of the myocyte energy state due to the ATP synthesis in mitochondria
Активность симпатической нервной системы / Activity of the sympathetic nervous system	Уменьшение сенсорной нервной деятельности почек параллельно с подавлением активации центральных рефлекторных механизмов, способствующих ее системной активации / Reduced renal sympathetic nerve activity and central inhibition
Гемодинамические / Hemodynamic:	
а) натрий-объемный фактор / sodium-volume factor	Вследствие блокирования SGLT2 в проксимальной части канальцев и апикальной мембране клеток кроме глюкозурии за счет переноса одной молекулой глюкозы двух ионов натрия также развиваются осмотический диурез и натрийурез / Due to inhibition of SGLT2 in the early portion of the renal proximal tubule and the apical membrane of the tubule of cells, glucosuria, osmotic diuresis and sodium diuresis develop due to the transfer of two sodium ions by one glucose molecule
б) артериальное давление / blood pressure	Снижение АД за счет улучшения функции эндотелия, уменьшения артериальной жесткости, активности симпатической нервной деятельности и натрийуреза / Decrease in BP due to the improvement of endothelial function, reduction of arterial stiffness, activity of sympathetic nervous system and natriuresis
Метаболические / Metabolic:	
а) углеводный обмен / carbohydrate metabolism	Инсулинонезависимое блокирование SGLT2 в проксимальном отделе канальца с развитием глюкозурии. Повышение мобилизации липидов за счет роста соотношения глюкагон/инсулин и их окисление / Insulin-independent mechanism of blocking the SGLT2 in the proximal tubule of the kidney and the development of glucosuria. Increased lipid mobilization due to an increase in the insulin/glucagon ratio and their oxidation
б) липидный обмен / lipid metabolism	Снижение веса и жировой массы за счет стимуляции окисления липидов, компенсирующей энергетическую потерю, а также повышения соотношения глюкагон/инсулин / Loss of weight and fat mass due to stimulation of lipid oxidation which compensates for energy loss, and an increase in the insulin/glucagon ratio
в) жировой обмен / fat metabolism	Сдвиг сердечного метаболизма от жирных кислот и окисления глюкозы в сторону более кислородно-эффективных кетонных тел / Changing from fatty acid and glucose metabolism to ketone body metabolism
г) тканевой обмен / tissue metabolism	Способность к аутофагии, при которой клеточное физиологическое равновесие поддерживается за счет удаления потенциально опасных компонентов и повторного использования клеточных компонентов в качестве адаптивного ответа на метаболический стресс / Autophagy – a process in which the cellular physiological balance is maintained by removing potentially dangerous components and reusing cellular components as an adaptive response to metabolic stress
д) цитокиновый обмен / cytokine metabolism	Влияние на уровень цитокинов, вырабатываемых исключительно адипоцитами – лептина и адипонектина: снижается уровень лептина, увеличивается концентрация адипонектина / Effect on the level of cytokines produced exclusively by adipocytes via leptin and adiponectin: if the level of leptin decreases, the concentration of adiponectin increases
Гемопоэтические / Hematopoietic	Увеличение продукции эритропоэтина, массы эритроцитов и гематокрита / Increased erythropoietin production, red blood cell mass and hematocrit

Примечание: АД – артериальное давление; SGLT – натрий-глюкозный котранспортер.

Note: BP – blood pressure; SGLT - sodium glucose cotransporter; ATP - adenosine triphosphate.

Также весьма интересным представляется вопрос влияния ингибиторов SGLT2 на уровень цитокинов, вырабатываемых исключительно адипоцитами, – лептина и адипонектина. Лептин участвует в различных ССЗ, связанных с ожирением, тогда как адипонектин считается кардиозащитным средством [46]. Отложение эпикардального жира из-за изменения регуляции адипонектина и лептина – одна из теорий, влияющих на развитие СН [47]. Повышенные концентрации лептина в сыворотке крови наблюдаются у пациентов с СН и связаны с ремоделированием сердца из-за сердечного фиброза и воспаления [48]. Ингибирование SGLT2 снижает уровень лептина в сыворотке и увеличивает концентрацию адипонектина, что потенциально обеспечивает кардиопротекцию [49].

Таким образом, сочетание системных и прямых механизмов кардиопротективного потенциала ингибиторов SGLT2 весьма многообразно (*таблица*) и требует дальнейшего изучения, что может быть ключом к пониманию преимуществ этой группы лекарственных средств в терапии ССЗ как с СД, так и без него [50].

Заключение

Ингибиторы SGLT2 обладают кардиопротективным потенциалом за счет улучшения морфологических изменений сердца, включая гипертрофию, интерстициальный фиброз, СН и размер инфаркта

миокарда. Они также улучшают систолическую и диастолическую функции левого желудочка при диабетической кардиомиопатии и предотвращают возникновение аритмии. Потенциальные механизмы, ответственные за кардиопротекторный потенциал ингибиторов SGLT2, обеспечиваются за счет прямых и системных эффектов. Системные эффекты ингибиторов SGLT2 модулируются гемодинамическими эффектами через натрийурез и метаболическими эффектами – через глюкозурию. Прямые эффекты ингибиторов SGLT2 могут потенциально опосредоваться благодаря их способности ослаблять сердечное воспаление, окислительный стресс, апоптоз, митохондриальную дисфункцию и ионный дисгомеостаз. Однако требуются дальнейшие экспериментальные и клинические исследования механизмов кардиопротективного действия ингибиторов SGLT2 и терапевтических возможностей для обоснования их применения в будущем.

Конфликт интересов

И.С. Сабиров заявляет об отсутствии конфликта интересов. И.Т. Муркамилов заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.В. Фомин заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Авторы заявляют об отсутствии финансирования исследования.

Информация об авторах

Сабиров Ибрагим Самижонович, доктор медицинских наук, профессор заведующий кафедрой терапии № 2 специальности «Лечебное дело» медицинского факультета государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования Кыргызско-Российский Славянский университет имени первого Президента Российской Федерации Б.Н. Ельцина, Бишкек, Киргизская Республика; **ORCID** 0000-0002-8387-5800

Муркамилов Илхом Торобекович, кандидат медицинских наук старший преподаватель кафедры терапии № 2 специальности «Лечебное дело» медицинского факультета государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования Кыргызско-Российский Славянский университет имени первого Президента Российской Федерации Б.Н. Ельцина, Бишкек, Киргизская Республика; и. о. доцента кафедры факультетской терапии учреждения «Кыргызская государственная медицинская академия имени И.К. Ахунбаева», Бишкек, Киргизская Республика; **ORCID** 0000-0001-8513-9279

Фомин Виктор Викторович, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор проректор по клинической работе и дополнительному профессиональному образованию, заведующий кафедрой факультетской терапии № 1 института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-2682-4417

Author Information Form

Sabirov Ibragim S., PhD, Professor, Head of the Department of Therapy No.2, Medical Faculty, State Educational Institution of Higher Professional Education Kyrgyz Russian Slavic University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin, 44, Kievskaya Str., Bishkek, Kyrgyz Republic; **ORCID** 0000-0002-8387-5800

Murkamilov Ilkhom T., PhD, Senior Lecturer, Department of Therapy No.2, Medical Faculty, State Educational Institution of Higher Professional Education Kyrgyz Russian Slavic University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin, 44, Kievskaya Str., Bishkek, Kyrgyz Republic; Acting Associate Professor, Department of Faculty Therapy, “I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy”, Bishkek, Kyrgyz Republic; **ORCID** 0000-0001-8513-9279

Fomin Viktor V., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, PhD, Professor, Vice Chancellor for Clinical and Vocational Education Programmes, Head of the Department of Faculty Therapy No.1, Institute of Clinical Medicine named after N.V. Sklifosovsky, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-2682-4417

Вклад авторов в статью

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

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

ФВВ – интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за ее содержание

Author Contribution Statement

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 8th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2017.
2. Saeedi P., Petersohn I., Salpea P., Malanda B., Karuranga S., Unwin N., Colagiuri S., Guariguata L., Motala A.A., Ogurtsova K., Shaw J.E., Bright D., Williams R.; IDF Diabetes Atlas Committee. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Res Clin Pract.* 2019;157:107843. DOI: 10.1016/j.diabres.2019.107843
3. Standl E., Khunti K., Hansen T., Schnell O. The global epidemics of diabetes in the 21st century: Current situation and perspectives. *Eur J Prev Cardiol.* 2019;26(2):7-14. DOI: 10.1177/2047487319881021
4. Sharma A., Green J., Dunning A., Lokhnygina Y., Al-Khatib S.M., Lopes R.D., Buse J.B., Lachin J.M., Van de Werf F., Armstrong P.W., Kaufman K.D., Standl E., Chan J.C.N., Distiller L.A., Scott R., Peterson E.D., Holman R.R.; TECOS Study Group. Causes of Death in a Contemporary Cohort of Patients With Type 2 Diabetes and Atherosclerotic Cardiovascular Disease: Insights From the TECOS Trial. *Diabetes Care.* 2017;40(12):1763-1770. DOI: 10.2337/dc17-1091
5. Mozaffarian D., Benjamin E., Go A.S., Arnett D.K., Blaha M.J., Cushman M., Das S.R., de Ferranti S., Després J.P., Fullerton H.J., Howard V.J. et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics—2016 update: a report from the american heart association. *Circulation.* 2016;133:447-54. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000366
6. Муркамилов И.Т., Сабиров И.С., Фомин В.В., Муркамова Ж.А., Юсупов Ф.А., Райимжанов З.Р. Современные методы замедления прогрессирования хронической болезни почек при сахарном диабете II типа. *Вестник современной клинической медицины.* 2020;13(4):76-85. DOI:10.20969/VSKM.2020.13(4).76-85
7. Салухов В.В., Демидова Т.Ю. Эмпаглитфлозин как новая стратегия управления исходами у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и высоким кардиоваскулярным риском. *Сахарный диабет.* 2016; 6(19): 494-510 DOI: 10.14341/DM8216
8. Vrhovac I., Balen Eror D., Klessen D., Burger C., Breljak D., Kraus O., Radović N., Jadrijević S., Aleksic I., Walles T., Sauvant C., Sabolić I., Koepsell H. Localizations of Na(+)-D-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2 in human kidney and of SGLT1 in human small intestine, liver, lung, and heart. *Pflugers Arch.* 2015;467(9):1881-98. DOI: 10.1007/s00424-014-1619-7
9. Rydén L., Standl E., Bartnik M., Van den Berghe G., Betteridge J., de Boer M.J., Cosentino F., Jönsson B., Laakso M., Malmberg K., Priori S., Ostergren J., Tuomilehto J., Thrainsdottir I. et al. Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases: executive summary. The Task Force on Diabetes and Cardiovascular Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Eur Heart J.* 2007;28(1):88-136. DOI: 10.1093/eurheartj/ehl260
10. Tancredi M., Rosengren A., Svensson A.M., Kosiborod M., Pivodic A., Gudbjörnsdottir S., Wedel H., Clements M., Dahlqvist S., Lind M. Excess Mortality among Persons with Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2015;373(18):1720-1732. DOI: 10.1056/NEJMoa1504347
11. Cosentino F., Grant P.J., Aboyans V., Bailey C.J., Ceriello A., Delgado V., Federici M., Filippatos G., Grobbee D.E., Hansen T.B., Huikuri H.V., Johansson L., Jüni P., Lettino M., Marx N., Mellbin L.G., Östgren C.J., Rocca B., Roffi M., Sattar N., Seferović P.M., Sousa-Uva M., Valensi P., Wheeler D.C.; ESC Scientific Document Group. 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. *Eur Heart J.* 2020;41(2):255-323. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz486
12. Айтбаев К.А., Муркамилов И.Т., Фомин В.В. Ингибирование HIF-пролил 4-гидроксилаз как перспективный подход к терапии кардиометаболических заболеваний. *Терапевтический архив.* 2018;90(8):86-94. DOI:10.26442/terarkh201890886-94
13. Ferrannini E., Muscelli E., Frascerra S., Baldi S., Mari A., Heise T., Broedl U.C., Woerle H.J. Metabolic response to sodium-glucose cotransporter 2 inhibition in type 2 diabetic patients. *J Clin Invest.* 2014;124(2):499-508. doi: 10.1172/JCI72227.
14. Lotfy M., Adeghate J., Kalasz H., Singh J., Adeghate E. Chronic complications of diabetes mellitus: a mini review. *Curr Diab Rev.* 2017;13:3-10. DOI: 10.2174/1573399812666151016101622
15. Huynh K., Bernardo B., McMullen J., Ritchie R. Diabetic cardiomyopathy: mechanisms and new treatment strategies targeting antioxidant signaling pathways. *Pharmacol Ther.* 2014;142(3):375-415. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2014.01.003
16. Schilling J., Mann D. Diabetic cardiomyopathy: bench to bedside. *Heart Fail Clin.* 2012;8(4):619-31. DOI: 10.1016/j.hfc.2012.06.007
17. Tate M., Grieve D.J., Ritchie R.H. Are targeted therapies for diabetic cardiomyopathy on the horizon? *Clin Sci (Lond).* 2017;131(10):897-915. DOI: 10.1042/CS20160491
18. Zinman B., Wanner C., Lachin J., Fitchett D.K., Bluhmki E., Hantel S., Mattheus M., Devins T., Johansen O.E., Woerle H.J., Broedl U.C., Inzucchi S.E.; EMPA-REG OUTCOME Investigators. Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2015;373(22):2117-28. DOI: 10.1056/NEJMoa1504720
19. Packer M., Anker S., Butler J., Filippatos G., Pocock S.J., Carson P., Januzzi J., Verma S., Tsutsui H., Brueckmann M., Jamal W., Kimura K., Schnee J., Zeller C., Cotton D. et al. Cardiovascular and Renal Outcomes with Empagliflozin in Heart Failure. *N Engl J Med.* 2020;383(15):1413-1424. DOI: 10.1056/NEJMoa2022190
20. Fitchett D., Inzucchi S., Cannon C., McGuire D.K., Scirica B.M., Johansen O.E., Sambeviski S., Kaspers S., Pfarr E., George J.T., Zinman B. Empagliflozin Reduced Mortality and Hospitalization for Heart Failure Across the Spectrum of Cardiovascular Risk in the EMPA-REG OUTCOME Trial. *Circulation.* 2019;139(11):1384-1395. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.037778
21. Packer M., Butler J., Filippatos G., Jamal W., Salsali A., Schnee J., Kimura K., Zeller C., George J., Brueckmann M., Anker S.D., Zannad F.; EMPEROR-Reduced Trial Committees and Investigators. Evaluation of the effect of sodium-glucose cotransporter 2 inhibition with empagliflozin on morbidity and mortality of patients with chronic heart failure and a reduced ejection fraction: rationale for and design of the EMPEROR-Reduced trial. *Eur J Heart Fail.* 2019;21(10):1270-1278. DOI: 10.1002/ehf.1536

22. Furtado R., Bonaca M., Raz I., Zelniker T.A., Mosenzon O., Cahn A., Kuder J., Murphy S.A., Bhatt D.L., Leiter L.A., McGuire D.K., Wilding J.P.H., Ruff C.T., Nicolau J.C., Gause-Nilsson I.A.M., Fredriksson M., Langkilde A.M., Sabatine M.S., Wiviott S.D. Dapagliflozin and Cardiovascular Outcomes in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus and Previous Myocardial Infarction. *Circulation*. 2019;139(22):2516-2527. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.039996
23. Zelniker T., Wiviott S., Raz I., Im K., Goodrich E.L., Bonaca M.P., Mosenzon O., Kato E.T., Cahn A., Furtado R.H.M., Bhatt D.L., Leiter L.A., McGuire D.K., Wilding J.P.H., Sabatine M.S. SGLT2 inhibitors for primary and secondary prevention of cardiovascular and renal outcomes in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cardiovascular outcome trials. *Lancet*. 2019;393(10166):31-39. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)32590-X
24. Wilcox C.S. Antihypertensive and Renal Mechanisms of SGLT2 (Sodium-Glucose Linked Transporter 2) Inhibitors. *Hypertension*. 2020;75(4):894-901. DOI:10.1161/hypertensionaha.119.11684.
25. Heerspink L.H.J., de Zeeuw D., Wie L., Leslie B., List J. . Dapagliflozin a glucose-regulating drug with diuretic properties in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Obes. Metab*. 2013;15(9):853-62. DOI:10.1111/dom.12127.
26. Silva Dos Santos D., Polidoro J.Z., Borges-Júnior F.A., Girardi A.C.C. Cardioprotection conferred by sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors: a renal proximal tubule perspective. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2020;318(2):328-36. DOI:10.1152/ajpcell.00275.2019.
27. McMurray J., Solomon S., Inzucchi S., Køber L., Kosiborod M.N., Martinez F.A., Ponikowski P., Sabatine M.S., Anand I.S., Bělohávek J. 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
28. Sano M. Hemodynamic Effects of Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitors. *J Clin Med Res*. 2017;9(6):457-460. DOI: 10.14740/jocmr3011w
29. Sano M., Chen S., Imazeki H., Ochiai H., Seino Y. Changes in heart rate in patients with type 2 diabetes mellitus after treatment with luseogliflozin: Subanalysis of placebo controlled, double-blind clinical trials. *J. Diabetes Investig*. 2018;9 (3):638-641. DOI: 10.1111/jdi.12726
30. Nakayama H., Ohtsuka Y., Kawahara M. Changes in body composition during SGLT2 inhibitor treatment and their relevance to the improvement of insulin sensitivity. *Diabetes Res Clin Pract*. 2016;120:S50–1.
31. Iemitsu K., Iizuka T., Takihata M., Takai M., Nakajima S., Minami N., Umezawa S., Kanamori A., Takeda H., Kawata T., Ito S., Kikuchi T., Amemiya H., Kaneshiro M., Mokubo A., Takuma T., Machimura H., Tanaka K., Asakura T., Kubota A., Aoyagi S., Hoshino K., Ishikawa M., Obana M., Sasai N., Kaneshige H., Miyakawa M., Tanaka Y., Terauchi Y., Matsuba I. Factors influencing changes in hemoglobin A1c and body weight during treatment of type 2 diabetes with ipragliflozin: interim analysis of the ASSIGN-K study. *J Clin Med Res* 2016;8:373–8. DOI:10.14740/jocmr2492w
32. Pinto L., Rados D., Remonti L., Caroline Kaercher Kramer,1 Cristiane Bauermann Leitao,1 and Jorge Luiz Gross1 Efficacy of SGLT2 inhibitors in glycemic control, weight loss and blood pressure reduction: a systematic review and meta-analysis. *Diabetology & metabolic syndrome*, 2015;7(S1): A58 doi:10.1186/1758-5996-7-S1-A58
33. Ramírez-Rodríguez A., González-Ortiz M., Martínez-Abundis E. Effect of dapagliflozin on insulin secretion and insulin sensitivity in patients with prediabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2020;128:506-511. DOI:10.1055/a-0664-7583
34. McDowell K., Petrie M., Raihan N., Logue J. Effects of intentional weight loss in patients with obesity and heart failure: a systematic review. *Obes Rev* 2018;19:1189–204. DOI:10.1111/obr.12707
35. Rajasekaran H., Lytvyn Y., Cherney D. Sodium-glucose cotransporter 2 inhibition and cardiovascular risk reduction in patients with type 2 diabetes: the emerging role of natriuresis. *Kidney Int*. 2016;89(3):524-6. DOI: 10.1016/j.kint.2015.12.038
36. Салухов В.В., Котова М.Е. Основные эффекты, вызываемые ингибиторами sglт2 у больных сахарным диабетом типа 2, и механизмы, которые их определяют. *Эндокринология. Новости. Мнения. Обучение*. 2019; 8(3):61-74 DOI: 10.24411/2304-9529-2019-13007
37. Tikkanen I., Narko K., Zeller C., Green A., Salsali A., Broedl U.C., Woerle H.J.; EMPA-REG BP Investigators. Empagliflozin reduces blood pressure in patients with type 2 diabetes and hypertension. *Diabetes Care*. 2015;38(3):420-8. DOI: 10.2337/dc14-1096
38. Cherney D., Perkins B., Soleymanlou N., Har R., Fagan N., Johansen O.E., Woerle H.J., von Eynatten M., Broedl U.C. The effect of empagliflozin on arterial stiffness and heart rate variability in subjects with uncomplicated type 1 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol*. 2014;13:28. DOI: 10.1186/1475-2840-13-28
39. Pfeifer M., Townsend R., Davies M., Vijapurkar U., Ren J. Effects of canagliflozin, a sodium glucose co-transporter 2 inhibitor, on blood pressure and markers of arterial stiffness in patients with type 2 diabetes mellitus: a post hoc analysis. *Cardiovasc Diabetol* 2017;16:29. DOI:10.1186/s12933-017-0511-0
40. Mazidi M., Rezaie P., Gao H., Kengne A. Effect of sodium-glucose cotransport-2 inhibitors on blood pressure in people with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of 43 randomized control trials with 22 528 patients. *Journal of the American Heart Association*, 2017;6(6):e004007. DOI:10.1161/JAHA.116.004007
41. Hamouda N.N., Sydorenko V., Qureshi M.A., Alkaabi J.M., Oz M., Howarth F.C. Dapagliflozin reduces the amplitude of shortening and Ca2+ transient in ventricular myocytes from streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol. Cell. Biochem*. 2014; 400:57-68. DOI: 10.1007/s11010-014-2262-5
42. Sano M. A new class of drugs for heart failure: SGLT2 inhibitors reduce sympathetic overactivity. *J. Cardiol*. 2018;71:471-476. DOI: 10.1016/j.jcc.2017.12.004
43. Swedberg K., Young J., Anand I., Cheng S., Desai A.S., Diaz R., Maggioni A.P., McMurray J.J., O'Connor C., Pfeffer M.A., Solomon S.D., Sun Y., Tendera M., van Veldhuisen D.J.; RED-HF Committees; RED-HF Investigators. Treatment of anemia with darbepoetin alfa in systolic heart failure. *New England Journal of Medicine*. 2013;368(13):1210-1219. DOI:10.1056/NEJMoa1214865
44. Verma S., Rawat S., Ho K. Empagliflozin increases cardiac energy production in diabetes. *JACC Basic Transl Sci*. 2018;;3(5):575-587. DOI: 10.1016/j.jacbs.2018.07.006
45. Maiuri, M., Zalckvar, E., Kimchi, A., Kroemer G. Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8:741–752. DOI:10.1038/nrm2239
46. Ghantous C., Azrak Z., Hanache S., Abou-Kheir W., Zeidan A. Differential role of leptin and adiponectin in cardiovascular system. *Int J Endocrinol*. 2015:1–13. DOI:10.1155/2015/534320
47. Iacobellis G., Ribaudo M., Zappaterreno A., Iannucci CV, Leonetti F. Relation between epicardial adipose tissue and left ventricular mass. *Am J Cardiol*. 2004;94:1084-7. DOI:10.1016/j.amjcard.2004.06.075
48. Schulze P., Kratzsch J., Linke A., Schoene N., Adams V., Gielen S., Erbs S., Moebius-Winkler S., Schuler G. Elevated serum levels of leptin and soluble leptin receptor in patients with advanced chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2003;5:33-40. DOI:10.1016/s1388-9842(02)00177-0
49. Wu P., Wen W., Li J., Xu J, Zhao M., Chen H., Sun J. Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials on the effect of SGLT2 inhibitor on blood leptin and adiponectin level in patients with type 2 diabetes. *Horm Metab Res*. 2019;51:487–94. DOI:10.1055/a-0958-2441
50. Барбараш О.Л., Гарганеева А.А., Гогалашвили Н.Г., Ефремушкина А.А., Жарский С.Л., Кашталап В.В., Кореннова О.Ю., Макаров С.А., Невзорова В.А., Протасов К.В., Устюгов С.А., Шабельникова О.Ю. Резолюция совещания экспертов Сибирского федерального округа «Эпоглифлозин и сердечная недостаточность» по результатам исследования EMPEROR-Reduced. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2021;10(1):103-108. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-1—1-103-108

REFERENCES

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 8th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2017.
2. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B., Karuranga S., Unwin N., Colagiuri S., Guariguata L., Motala A.A., Ogurtsova K., Shaw J.E., Bright D., Williams R.; IDF Diabetes Atlas Committee. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Res Clin Pract.* 2019;157:107843. DOI: 10.1016/j.diabres.2019.107843
3. Standl E., Khunti K., Hansen T., Schnell O. The global epidemics of diabetes in the 21st century: Current situation and perspectives. *Eur J Prev Cardiol.* 2019;26(2):7-14. DOI: 10.1177/2047487319881021
4. Sharma A., Green J., Dunning A., Lokhnygina Y., Al-Khatib S.M., Lopes R.D., Buse J.B., Lachin J.M., Van de Werf F., Armstrong P.W., Kaufman K.D., Standl E., Chan J.C.N., Distiller L.A., Scott R., Peterson E.D., Holman R.R.; TECOS Study Group. Causes of Death in a Contemporary Cohort of Patients With Type 2 Diabetes and Atherosclerotic Cardiovascular Disease: Insights From the TECOS Trial. *Diabetes Care.* 2017;40(12):1763-1770. DOI: 10.2337/dc17-1091
5. Mozaffarian D., Benjamin E., Go A.S., Arnett D.K., Blaha M.J., Cushman M., Das S.R., de Ferranti S., Després J.P., Fullerton H.J., Howard V.J. et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics—2016 update: a report from the american heart association. *Circulation.* 2016;133:447–54. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000366
6. Murkamilov I.T., Sabirov I.S., Fomin V.V., Murkamilova Zh.A., Yusupov F.A., Rayimzhanov Z.R. Modern methods of slowing down the progression of chronic kidney disease in type II diabetes mellitus. *The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine.* 2020; 13 (4): 7685. DOI: 10.20969/VSKM.2020.13(4).7685.(In Russian)
7. Salukhov V.V., Demidova T.Yu. Empagliflozin as a new management strategy on outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes mellitus.* 2016;19(6):494-510. <https://doi.org/10.14341/DM8216> (In Russian)
8. Vrhovac I., Balen Eror D., Klessen D., Burger C., Breljak D., Kraus O., Radović N., Jadrijević S., Aleksic I., Walles T., Sauvant C., Sabolić I., Koepsell H. Localizations of Na(+)-D-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2 in human kidney and of SGLT1 in human small intestine, liver, lung, and heart. *Pflugers Arch.* 2015;467(9):1881-98. DOI: 10.1007/s00424-014-1619-7
9. Rydén L., Standl E., Bartnik M., Van den Bergh G., Betteridge J., de Boer M.J., Cosentino F., Jönsson B., Laakso M., Malmberg K., Priori S., Ostergren J., Tuomilehto J., Thrainsdottir I. et al. Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases: executive summary. The Task Force on Diabetes and Cardiovascular Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Eur Heart J.* 2007;28(1):88-136. DOI: 10.1093/eurheartj/ehl260
10. Tancredi M., Rosengren A., Svensson A.M., Kosiborod M., Pivodic A., Gudbjörnsdottir S., Wedel H., Clements M., Dahlqvist S., Lind M. Excess Mortality among Persons with Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2015;373(18):1720-1732. DOI: 10.1056/NEJMoal504347
11. Cosentino F., Grant P.J., Aboyans V., Bailey C.J., Ceriello A., Delgado V., Federici M., Filippatos G, Grobbee D.E., Hansen T.B., Huikuri H.V., Johansson I., Jüni P., Lettino M., Marx N., Mellbin L.G., Östgren C.J., Rocca B., Roffi M., Sattar N., Seferović P.M., Sousa-Uva M., Valensi P., Wheeler D.C.; ESC Scientific Document Group. 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. *Eur Heart J.* 2020;41(2):255-323. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz486
12. Aitbaev K.A., Murkamilov I.T., Fomin V.V. Inhibition of HIF-prolyl 4-hydroxylases as a promising approach to the therapy of cardiometabolic diseases. *Terapevticheskii arkhiv.* 2018;90(8):86-94. DOI:10.26442/terarkh201890886-94 (In Russian)
13. Ferrannini E., Muscelli E., Frascerra S., Baldi S., Mari A., Heise T., Broedl U.C., Woerle H.J. Metabolic response to sodium-glucose cotransporter 2 inhibition in type 2 diabetic patients. *J Clin Invest.* 2014;124(2):499-508. doi: 10.1172/JCI72227.
14. Lotfy M., Adeghate J., Kalasz H., Singh J., Adeghate E. Chronic complications of diabetes mellitus: a mini review. *Curr Diab Rev.* 2017;13:3–10. DOI: 10.2174/1573399812666151016101622
15. Huynh K., Bernardo B., McMullen J., Ritchie R. Diabetic cardiomyopathy: mechanisms and new treatment strategies targeting antioxidant signaling pathways. *Pharmacol Ther.* 2014;142(3):375-415. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2014.01.003
16. Schilling J., Mann D. Diabetic cardiomyopathy: bench to bedside. *Heart Fail Clin.* 2012;8(4):619-31. DOI: 10.1016/j.hfc.2012.06.007
17. Tate M., Grieve D.J., Ritchie R.H. Are targeted therapies for diabetic cardiomyopathy on the horizon? *Clin Sci (Lond).* 2017 ;131(10):897-915. DOI: 10.1042/CS20160491
18. Zinman B., Wanner C., Lachin J., Fitchett D., Bluhmki E., Hantel S., Mattheus M., Devins T., Johansen O.E., Woerle H.J., Broedl U.C., Inzucchi S.E.; EMPA-REG OUTCOME Investigators. Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2015;373(22):2117-28. DOI: 10.1056/NEJMoal504720
19. Packer M., Anker S., Butler J., Filippatos G., Pocock S.J., Carson P., Januzzi J., Verma S., Tsutsui H., Brueckmann M., Jamal W., Kimura K., Schnee J., Zeller C., Cotton D. et al. Cardiovascular and Renal Outcomes with Empagliflozin in Heart Failure. *N Engl J Med.* 2020;383(15):1413-1424. DOI: 10.1056/NEJMoal2022190
20. Fitchett D., Inzucchi S., Cannon C., McGuire D.K., Scirica B.M., Johansen O.E., Sambeviski S., Kaspers S., Pfarr E., George J.T., Zinman B. Empagliflozin Reduced Mortality and Hospitalization for Heart Failure Across the Spectrum of Cardiovascular Risk in the EMPA-REG OUTCOME Trial. *Circulation.* 2019;139(11):1384-1395. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.037778
21. Packer M., Butler J., Filippatos G., Jamal W., Salsali A., Schnee J., Kimura K., Zeller C., George J., Brueckmann M., Anker S.D., Zannad F.; EMPEROR-Reduced Trial Committees and Investigators. Evaluation of the effect of sodium-glucose cotransporter 2 inhibition with empagliflozin on morbidity and mortality of patients with chronic heart failure and a reduced ejection fraction: rationale for and design of the EMPEROR-Reduced trial. *Eur J Heart Fail.* 2019;21(10):1270-1278. DOI: 10.1002/ehf.1536
22. Furtado R., Bonaca M., Raz I., Zelniker T.A., Mosenson O., Cahn A., Kuder J., Murphy S.A., Bhatt D.L., Leiter L.A., McGuire D.K., Wilding J.P.H., Ruff C.T., Nicolau J.C., Gause-Nilsson I.A.M., Fredriksson M., Langkilde A.M., Sabatine M.S., Wiviott S.D. Dapagliflozin and Cardiovascular Outcomes in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus and Previous Myocardial Infarction. *Circulation.* 2019;139(22):2516-2527. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.039996
23. Zelniker T., Wiviott S., Raz I., Im K., Goodrich E.L., Bonaca M.P., Mosenson O., Kato E.T., Cahn A., Furtado R.H.M., Bhatt D.L., Leiter L.A., McGuire D.K., Wilding J.P.H., Sabatine M.S. SGLT2 inhibitors for primary and secondary prevention of cardiovascular and renal outcomes in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cardiovascular outcome trials. *Lancet.* 2019;393(10166):31-39. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)32590-X
24. Wilcox C.S. Antihypertensive and Renal Mechanisms of SGLT2 (Sodium-Glucose Linked Transporter 2) Inhibitors. *Hypertension.* 2020;75(4):894-901. DOI:10.1161/hypertensionaha.119.11684.
25. Heerspink L.H.J., de Zeeuw D., Wie L., Leslie B., List J. Dapagliflozin a glucose-regulating drug with diuretic properties in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Obes. Metab.* 2013;15(9):853-62. DOI:10.1111/dom.12127.

26. Silva Dos Santos D., Polidoro J.Z., Borges-Júnior F.A., Girardi A.C.C. Cardioprotection conferred by sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors: a renal proximal tubule perspective. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2020;318(2):328-36. DOI:10.1152/ajpcell.00275.2019.
27. McMurray J., Solomon S., Inzucchi S., Køber L., Kosiborod M.N., Martinez F.A., Ponikowski P., Sabatine M.S., Anand I.S., Bělohávek J. 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
28. Sano M. Hemodynamic Effects of Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitors. *J Clin Med Res.* 2017;9(6):457-460. DOI: 10.14740/jocmr3011w
29. Sano M., Chen S., Imazeki H., Ochiai H., Seino Y. Changes in heart rate in patients with type 2 diabetes mellitus after treatment with luseogliflozin: Subanalysis of placebo controlled, double-blind clinical trials. *J. Diabetes Investig.* 2018;9 (3):638-641. DOI: 10.1111/jdi.12726
30. Nakayama H., Ohtsuka Y., Kawahara M. Changes in body composition during SGLT2 inhibitor treatment and their relevance to the improvement of insulin sensitivity. *Diabetes Res Clin Pract.* 2016;120:S50-1.
31. Iemitsu K., Iizuka T., Takihata M., Takai M., Nakajima S., Minami N., Umezawa S., Kanamori A., Takeda H., Kawata T., Ito S., Kikuchi T., Amemiya H., Kaneshiro M., Mokubo A., Takuma T., Machimura H., Tanaka K., Asakura T., Kubota A., Aoyagi S., Hoshino K., Ishikawa M., Obana M., Sasai N., Kaneshige H., Miyakawa M., Tanaka Y., Terauchi Y., Matsuba I. Factors influencing changes in hemoglobin A1c and body weight during treatment of type 2 diabetes with ipragliflozin: interim analysis of the ASSIGN-K study. *J Clin Med Res* 2016;8:373-8. DOI:10.14740/jocmr2492w
32. Pinto L., Rados D., Remonti L., Caroline Kaercher Kramer, I Cristiane Bauermann Leitao, I and Jorge Luiz Gross I Efficacy of SGLT2 inhibitors in glycemic control, weight loss and blood pressure reduction: a systematic review and meta-analysis. *Diabetology & metabolic syndrome*, 2015;7(S1): A58 doi:10.1186/1758-5996-7-S1-A58
33. Ramírez-Rodríguez A., González-Ortiz M., Martínez-Abundis E. Effect of dapagliflozin on insulin secretion and insulin sensitivity in patients with prediabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2020;128:506-511. DOI:10.1055/a-0664-7583
34. McDowell K., Petrie M., Raihan N., Logue J. Effects of intentional weight loss in patients with obesity and heart failure: a systematic review. *Obes Rev* 2018;19:1189-204. DOI:10.1111/obr.12707
35. Rajasekaran H., Lytvyn Y., Cherney D. Sodium-glucose cotransporter 2 inhibition and cardiovascular risk reduction in patients with type 2 diabetes: the emerging role of natriuresis. *Kidney Int.* 2016;89(3):524-6. DOI: 10.1016/j.kint.2015.12.038
36. Salukhov V.V., Kotova M.E. Main effects caused by SGLT2 inhibitors in patients with type 2 diabetes and the mechanisms that determine them. *Endokrinologiya: novosti, mneniya, obucheniye* [Endocrinology: News, Opinions, Training]. 2019; 8 (3): 61-74. doi: 10.24411/2304-9529-2019-13007 (in Russian)
37. Tikkanen I., Narko K., Zeller C., Green A., Salsali A., Broedl U.C., Woerle H.J.; EMPA-REG BP Investigators. Empagliflozin reduces blood pressure in patients with type 2 diabetes and hypertension. *Diabetes Care.* 2015;38(3):420-8. DOI: 10.2337/dc14-1096
38. Cherney D., Perkins B., Soleymanlou N., Har R., Fagan N., Johansen O.E., Woerle H.J., von Eynatten M., Broedl U.C. The effect of empagliflozin on arterial stiffness and heart rate variability in subjects with uncomplicated type 1 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol.* 2014;13:28. DOI: 10.1186/1475-2840-13-28
39. Pfeifer M., Townsend R., Davies M., Vijapurkar U., Ren J. Effects of canagliflozin, a sodium glucose co-transporter 2 inhibitor, on blood pressure and markers of arterial stiffness in patients with type 2 diabetes mellitus: a post hoc analysis. *Cardiovasc Diabetol* 2017;16:29. DOI:10.1186/s12933-017-0511-0
40. Mazidi M., Rezaie P., Gao H., Kengne A. Effect of sodium-glucose cotransport-2 inhibitors on blood pressure in people with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of 43 randomized control trials with 22 528 patients. *Journal of the American Heart Association,* 2017;6(6):e004007. DOI:10.1161/JAHA.116.004007
41. Hamouda N.N., Sydorenko V., Qureshi M.A., Alkaabi J.M., Oz M., Howarth F.C. Dapagliflozin reduces the amplitude of shortening and Ca²⁺ transient in ventricular myocytes from streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol. Cell. Biochem.* 2014; 400:57-68. DOI: 10.1007/s11010-014-2262-5
42. Sano M. A new class of drugs for heart failure: SGLT2 inhibitors reduce sympathetic overactivity. *J. Cardiol.* 2018;71:471-476. DOI: 10.1016/j.jcc.2017.12.004
43. Swedberg K., Young J., Anand I., Cheng S., Desai A.S., Diaz R., Maggioni A.P., McMurray J.J., O'Connor C., Pfeffer M.A., Solomon S.D., Sun Y., Tendera M., van Veldhuisen D.J.; RED-HF Committees; RED-HF Investigators. Treatment of anemia with darbepoetin alfa in systolic heart failure. *New England Journal of Medicine.* 2013;368(13):1210-1219. DOI:10.1056/NEJMoa1214865
44. Verma S., Rawat S., Ho K. Empagliflozin increases cardiac energy production in diabetes. *JACC Basic Transl Sci.* 2018;3(5):575-587. DOI: 10.1016/j.jacbs.2018.07.006
45. Maiuri M., Zalckvar E., Kimchi A., Kroemer G. Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007;8:741-752. DOI:10.1038/nrm2239
46. Ghanous C., Azrak Z., Hanache S., Abou-Kheir W., Zeidan A. Differential role of leptin and adiponectin in cardiovascular system. *Int J Endocrinol.* 2015:1-13. DOI:10.1155/2015/534320
47. Iacobellis G., Ribaudo M., Zappaterreno A., Iannucci CV, Leonetti F. Relation between epicardial adipose tissue and left ventricular mass. *Am J Cardiol.* 2004;94:1084-7. DOI:10.1016/j.amjcard.2004.06.075
48. Schulze P., Kratzsch J., Linke A., Schoene N., Adams V., Gielen S., Erbs S., Moebius-Winkler S., Schuler G. Elevated serum levels of leptin and soluble leptin receptor in patients with advanced chronic heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2003;5:33-40. DOI:10.1016/s1388-9842(02)00177-0
49. Wu P., Wen W., Li J., Xu J, Zhao M., Chen H., Sun J. Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials on the effect of SGLT2 inhibitor on blood leptin and adiponectin level in patients with type 2 diabetes. *Horm Metab Res.* 2019;51:487-94. DOI:10.1055/a-0958-2441
50. Barbarash O.L., Garganeeva A.A., Gogolashvili N.G., Efremushkina A.A., Zharskiy S.L., Kashtalap V.V., Korennova O.Yu., Makarov S.A., Nevzorova V.A., Protasov K.V., Ustyugov S.A., Shabelnikova O.Yu. The resolution on empagliflozin and heart failure has been adopted by the experts of the Siberian Federal District based on the results of the EMPEROR-Reduced study. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2021;10(1):103-108. (In Russian) DOI: 10.17802/2306-1278-2021-1-1-103-108

Для цитирования: Сабиров И.С., Муркамилов И.Т., Фомин В.В. Кардиопротективный потенциал ингибиторов натрий-глюкозного котранспортера (фокус на эмпаглифлозин). *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2021;10(3): 79-89. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-79-89

To cite: Sabirov I.S., Murkamilov I.T., Fomin V.V. Potential mechanisms underlying cardiovascular protection by sodium glucose cotransporter 2 inhibitors (empagliflozin). *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2021;10(3): 79-89. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-79-89



УДК 616.13: 616.77: 615.28

DOI 10.17802/2306-1278-2021-10-3-90-102

СОСУДИСТЫЕ ПРОТЕЗЫ С ПРОТИВОМИКРОБНЫМ ПОКРЫТИЕМ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РАЗРАБОТКИ И ВНЕДРЕНИЕ В КЛИНИЧЕСКУЮ ПРАКТИКУ

Е.О. Кривкина, В.Г. Матвеева, Л.В. Антонова

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

Основные положения

- Представлен обзор экспериментальных исследований по разработке противомикробного покрытия для предотвращения инфицирования сосудистых протезов в послеоперационном периоде.

Цель

Одна из проблем сердечно-сосудистой хирургии – инфицирование сосудистого протеза, сопровождающееся тяжелыми осложнениями и высокими показателями смертности. Создание сосудистых протезов с антимикробным покрытием, способным защитить имплантат от инфицирования, является очень актуальным направлением. В настоящем обзоре освещены причины возникновения антибиотикорезистентности, описаны основные существующие направления создания сосудистых протезов с противомикробным покрытием, обозначены перспективы использования антимикробных пептидов и катионных амфифилов при создании антимикробного покрытия, к которому у патогенных микроорганизмов не развивается резистентности.

Ключевые слова

Сосудистые протезы • Антибиотики • Биodeградируемые полимеры • Серебро • Электроспиннинг • Амфифилы

Поступила в редакцию: 09.04.2021; поступила после доработки: 12.05.2021; принята к печати: 01.08.2021

ANTIMICROBIAL VASCULAR GRAFTS: EXPERIMENTAL DEVELOPMENT AND IMPLEMENTATION IN CLINICAL PRACTICE

E.O. Krivkina, V.G. Matveeva, L.V. Antonova

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

Highlights

- The review presents an analysis of experimental studies on the development of an antimicrobial coating for the prevention of vascular graft infection in the postoperative period.

Abstract

Prosthetic vascular graft infections, followed by severe complications and high mortality rates, remain one of the main issues in cardiovascular surgery. Therefore, the development of antimicrobial coating for vascular prostheses that is capable of preventing the infection is a very relevant field. This review outlines the main factors of development of antibiotic-resistant bacteria, the main directions in the development of vascular prostheses with an antimicrobial coating, and the prospects for the application of antimicrobial peptides and cationic amphiphiles as antimicrobial coating to develop an infection-resistant vascular prosthesis.

Keywords

Vascular grafts • Antibiotics • Biodegradable polymers • Silver • Electrospinning • Amphiphiles

Received: 09.04.2021; received in revised form: 12.05.2021; accepted: 01.08.2021

Для корреспонденции: Евгения Олеговна Кривкина, leonora92@mail.ru; адрес: Сосновый бульвар, 6, Кемерово, Россия, 650002

Corresponding author: Evgeniya O. Krivkina, leonora92@mail.ru; address: 6, Sosnoviy Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

Список сокращений

АМП – антимикробные пептиды

МРЗС – метициллин-резистентный золотистый стафилококк

Dacron – полиэтилентерефталат

PTFE – политетрафторэтилен

Введение

Серьезной проблемой сердечно-сосудистой хирургии является инфицирование сосудистого протеза, влекущее за собой тяжелые осложнения и высокие показатели смертности [1]. Несмотря на размещение стерильного протеза в обработанном антисептиками операционном поле, около 20% шунтов инфицируются [2]. Стоит учесть, что заражение операционного поля практически неизбежно, поскольку микроорганизмы выживают на коже даже несмотря на оптимальную асептическую технику и процедуры стерилизации. Точную этиологию инфицирования сосудистого протеза установить сложно – в большинстве случаев она носит многофакторный характер. Обсеменение микроорганизмами сосудистого протеза может происходить как экзогенным, так и эндогенным путем (бактериемия) [3].

В ряде случаев патогенные бактерии способны заселять поверхность имплантированных устройств с образованием защитной биопленки. Биопленка представляет собой скопление адгезированных бактерий, окруженных полисахаридной капсулой, которая секретируется микроорганизмами самой биопленки. Полисахаридная капсула вместе с белками, нуклеиновыми кислотами и липидами образует защитное покрытие вокруг кластеров клеток – матрицу. Образование защитной биопленки также обеспечивает механическую стабильность и создание полимерной пространственной сети между отдельными бактериальными клетками. Биопленка препятствует проникновению внутрь колонии антибактериальных препаратов, при этом устойчивость бактерий к антибиотикам в биопленке может в разы превышать устойчивость одиночных бактерий. Кроме того, биопленка предохраняет колонии бактерий от взаимодействия с антителами хозяина, что тормозит запуск иммунного ответа. В клинической практике для профилактики инфицирования сосудистых протезов выполняют однократное внутривенное введение антибиотика непосредственно перед имплантацией с последующим пероральным приемом препарата и при тщательном соблюдении асептических условий [4]. Однако защитная биопленка не позволяет достичь необходимой местной концентрации препарата и такой способ профилактики становится неэффективным. Наиболее результативный метод предупреждения образования биопленки на поверхности протезного материала – предотвращение

адгезии бактериальных клеток на начальном этапе инфицирования протезного материала. Этого можно добиться путем замены привычных протезных материалов на антимикробные биосовместимые полимеры.

Противомикробная обработка сосудистых протезов

В настоящее время стандартом для замены пораженных артерий являются существующие на рынке сосудистые протезы из полиэтилентерефталата (Dacron; DuPont; США) и политетрафторэтилена (PTFE). В ряде случаев регистрируется рост инфицирования синтетических протезов с последующими тяжелыми осложнениями (фатальными кровотечениями, сепсисом, кардиальными и тромбэмболическими осложнениями, полиорганной недостаточностью), обуславливающими высокую периоперационную и позднюю летальность [5]. Учитывая столь тяжелые последствия, особую актуальность приобретают исследования, направленные на дополнительную антибактериальную обработку каркасов.

Идеальное антимикробное покрытие должно соответствовать ряду определенных критериев. Так, используемые препараты должны обладать пролонгированным действием против патогенов, наиболее часто вызывающих инфицирование протезов и места имплантации. В большинстве случаев причиной раннего (<4 мес.) инфицирования сосудистых протезов является золотистый стафилококк (*S. aureus*) (32%), тогда как этиология более позднего (>4 мес.) инфицирования с последующей хронизацией процесса часто связана с эпидермальным стафилококком (*S. epidermidis*). В последнее время выросло количество сосудистых инфекций, запущенных метициллин-резистентным золотистым стафилококком (МРЗС), особенно среди пациентов с длительной госпитализацией (23–49%). Инфекция МРЗС инвазивна, тяжело поддается лечению и часто сопровождается сепсисом [6]. Грамотрицательные микроорганизмы, *E. coli*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter* и *Proteus*, хотя и относительно редкие возбудители инфекций трансплантата, представляют особую проблему из-за высокой вирулентности и тенденции разрушать стенку сосудов. Ключевым шагом для предотвращения начального и повторного инфицирования сосудистого протеза может быть уничтожение бактерий до того,

как они успеют прикрепиться к каркасу трансплантата. Соответственно, необходимо обеспечение постоянной стандартизированной дозы препарата в протезе на этот период. При этом активность противомикробного препарата должна быть высокой в периоперационном периоде, но не превышать нескольких дней, чтобы снизить риск возникновения резистентности. Хорошо известно, что при использовании антибиотиков формируются штаммы бактерий с высокой устойчивостью, например МРЗС [7].

Метод фиксации препарата к каркасу не должен менять химическую природу субстрата. При этом концентрация, применяемая локально на поверхности протеза, должна оказывать защитное антимикробное действие, не вызывая токсических или аллергических реакций на окружающие ткани и не нарушая процесс заживления после имплантации сосудистого протеза. Помимо вышесказанного стоит учесть необходимость быстрой и адекватной васкуляризации сосудистых протезов в процессе раннего заживления. Ранняя васкуляризация является обязательной для быстрой интеграции с окружающими тканями, что снижает риск инфицирования и способствует поддержанию проходимости протеза [8].

На данный момент основные способы противомик-

робной обработки каркасов связаны с применением ионов серебра, противомикробных препаратов, в стадии разработки покрытия на основе антимикробных пептидов и катионных амфифилов (рисунк).

Противомикробная обработка протезов ионами серебра

Серебро – бактериостатическое средство широкого спектра действия, которое в отличие от антибиотиков не дает появления резистентных штаммов бактерий. Антимикробный механизм действия ионов серебра состоит в способности менять клеточный метаболизм или биологические функции бактерий путем связывания с макромолекулами, такими как мембранные фосфолипиды, лизосомальные ферменты, нуклеиновые кислоты, а также с помощью активации ионных каналов или вторичных сигнальных путей, приводящих к гибели [9]. Антимикробное действие серебра проявляется отсроченно: по опубликованным данным, спустя 24 ч и позднее после начала воздействия [10]. Отмечают лучшую эффективность ионов серебра против грамотрицательных бактерий, таких как кишечная палочка, по сравнению с грамположительным золотистым стафилококком [11]. Предполагают, что

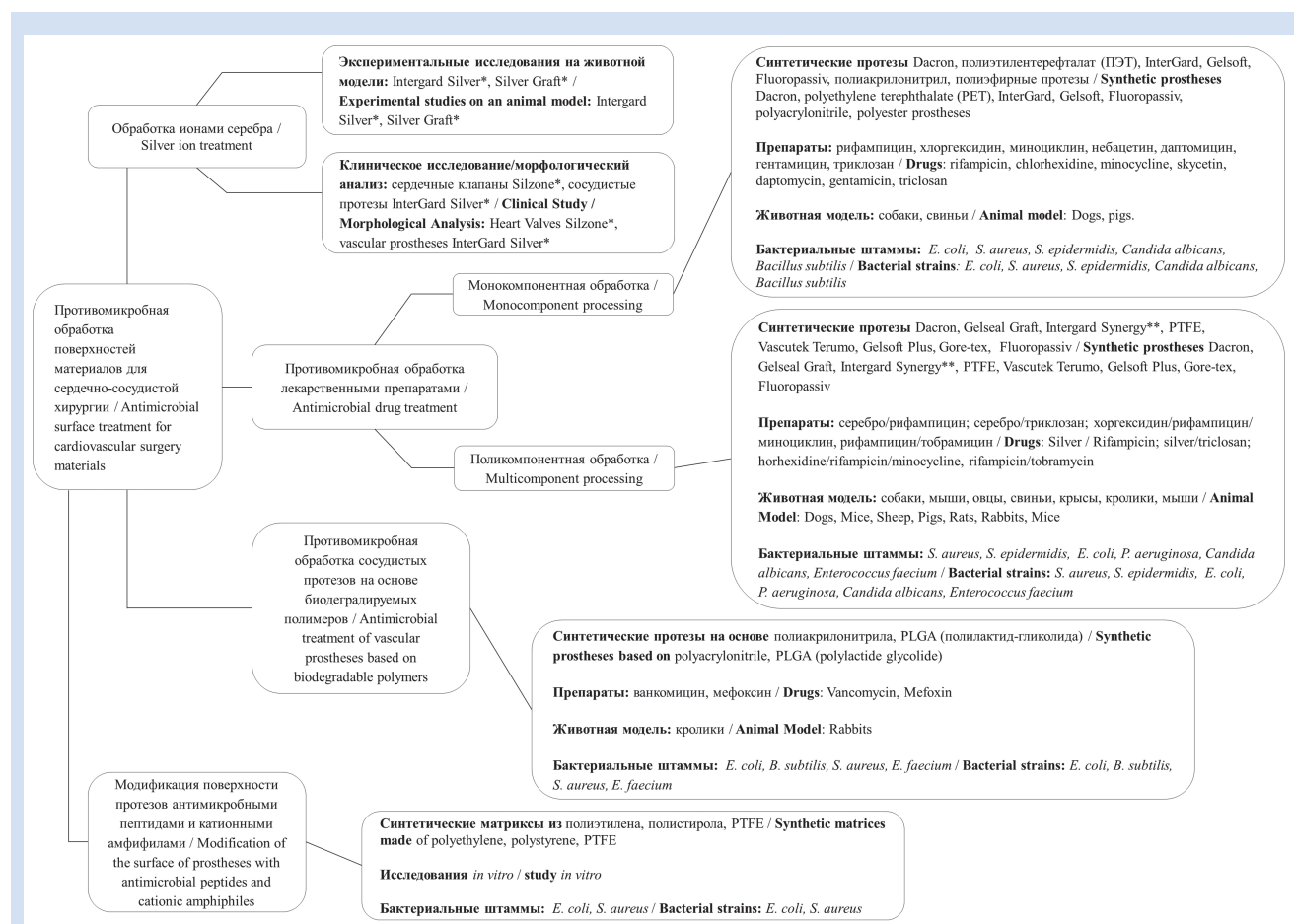


Схема основных направлений исследований антимикробной обработки различных материалов для сердечно-сосудистой хирургии
Примечание: * – коммерчески доступные материалы с обработкой ионами серебра; ** – коммерчески доступные материалы с обработкой триклозаном и серебром; ПЭТ – полиэтилентерефталат; PTFE – политетрафторэтилен.

Outline of the main lines of research related to the antimicrobial treatment of various materials for cardiovascular surgery
Note: * – commercially available materials treated with silver ions; ** – commercially available materials treated with triclosan and silver; PET – polyethylene terephthalate; PTFE – polytetrafluoroethylene.

это связано с различием в толщине слоя пептидогликана, который препятствует воздействию ионов серебра на бактериальную стенку.

На сегодняшний день в клинической практике используют два коммерческих сосудистых протеза на основе материала Dacron: с серебряным покрытием Intergard Silver (InterVascular, Франция) и дополнительно модифицированный триклозаном Intergard Synergy (Maquet, Франция). Серебро находится в ткани самого графта и коллагеновом слое, обеспечивая активное высвобождение сразу после имплантации и замедленное – в течение 30 дней. Однако результаты клинических исследований ставят под сомнение антибактериальную эффективность покрытия серебром, по крайней мере при определенных видах локализации протезов [12]. Ретроспективное сравнение результатов имплантации полиэфирного протеза Intergard Silver со стандартными протезами без покрытия показало отсутствие значимого влияния на риск инфицирования трансплантата. В то же время отмечены некоторые положительные результаты имплантации протезов с серебряным покрытием в аорто-подвздошно-бедренное положение [12].

Перед применением в клинической практике сосудистых протезов с тем или иным антимикробным покрытием необходимы предварительные экспериментальные исследования *in vitro* и *in vivo* для оценки не только антимикробных свойств, но и влияния таких покрытий на васкуляризацию протезов и биосовместимость. Помимо сомнительного антибактериального эффекта серебряного покрытия в литературе представлены противоречивые данные относительно его влияния на воспалительную реакцию окружающих тканей.

В работе P. Jeanmonod и соавт. описаны положительный эффект ацетата серебра на биосовместимость и васкуляризацию материала Dacron при подкожной имплантации мышам, а также снижение местной воспалительной реакции по сравнению с необработанными аналогами [13]. Ограничением данных работ является, с одной стороны, несудистая локализация имплантации материалов, предназначенных для сосудистой имплантации, с другой стороны, использование мелких лабораторных животных, местная и общая реакция которых значительно отличается от реакций человека. Этим можно объяснить альтернативные результаты, полученные в клиническом исследовании.

J. Butany и коллеги проанализировали биоматериал эксплантационных протезов клапанов сердца Silzone (St. Jude Medical, США), содержащих нитрат серебра. Эксплантацию проводили во время операции по поводу возникших осложнений и несостоятельности протеза, а также в случае летального исхода. На многих эксплантационных образцах в зоне пришивной манжеты определены

обширные области паннуса, грануляционной ткани и гнойного экссудата. Стимулирование местной воспалительной реакции и возможное токсическое действие протезов с серебряным покрытием на миокард подтверждено гистологической картиной стойкого лейкоцитарного воспаления в зоне имплантации, разрушением и гибелью эндотелиальных клеток [14].

Противомикробная обработка протезов антибактериальными лекарственными препаратами

Альтернативой покрытия ионами серебра в целях снижения риска постимплантационного инфицирования является иммобилизация на поверхности протезов антибиотиков [15]. Теоретически огромное количество различных антибиотиков можно использовать для создания антимикробного покрытия сосудистых протезов. Однако лекарственные препараты, применяемые для модификации графтов, должны соответствовать описанным выше требованиям. Кроме того, с коммерческой точки зрения противомикробное соединение должно быть легко доступным, недорогим, простым в обращении, способным выдерживать процесс стерилизации и иметь хорошо изученные химические и физические характеристики. При соблюдении этих критериев лишь немногие противомикробные соединения остаются потенциальными кандидатами для создания антимикробной защиты сосудистым трансплантатам. Наиболее часто используемым противомикробным препаратом в сосудистых протезах является рифампицин, который демонстрирует явное преимущество по сравнению с ионами серебра в отношении МРЗС [16], *S. aureus*, *S. epidermidis* [17].

Монокомпонентная антибактериальная обработка протезов

Для формирования каркаса протезов сосудов используют различные материалы (Dacron, PTFE, PCL, PHBV, PL и т. д.) и методы (плетение, вязание, электроспиннинг, заливка, аэродинамическое формование и т. д.). В зависимости от этого полученные продукты имеют свои особенности. Протезы Dacron состоят из полиэфирного волокна, из которого создают либо плетеные каркасы, либо вязанные. Плетеные каркасы Dacron имеют меньшую пористость, что снижает риск кровотечения при имплантации, при этом характеризуются более низким прорастанием клеток в структуру, чем вязанные Dacron. Вязанный Dacron удобен в обращении – более гибкий и меньше подвержен деградации. Однако высокая пористость вязаного Dacron способствует просачиванию крови через стенку, особенно в случаях высокого давления внутри протеза при артериальных реконструкциях. Для закрытия поверхностных пор каркасы Dacron импрегнируют

собственной плазмой пациента, коллагеном, желатином и фибрином. Подобная процедура также позволяет не только герметизировать стенку протеза, но и иммобилизовать антибиотики к поверхности каркаса. В 1983 г. T.W. Powell с соавт. одними из первых иммобилизовали рифампицин с помощью плазмы крови во время процедуры импрегирования вязаного каркаса Dacron. Полученный протез имплантировали в инфраренальный отдел аорты модельным животным. Эксплантированные протезы сохраняли антибактериальную активность против *S. aureus* более 24 ч после имплантации [18].

Кроме плазмы крови широкое распространение получили варианты иммобилизации антибиотиков на поверхности протезов с помощью желатина, коллагена и фибрина. Это связано с хорошим пропитыванием, отсутствием токсичности, предсказуемой скоростью деградации этих белков-герметиков, а также простой процедурой стерилизации. Такой вид иммобилизации способствует удержанию и пролонгированной элиминации рифампицина в протезах за счет формирования ионной связи между отрицательно заряженными карбоксильными группами белков (желатин, коллаген, фибрин) и положительно заряженными радикалами рифампицина. Следует отметить, что покрытие рифампицином не оказывало негативного влияния на раннюю васкуляризацию протезов, пролиферацию клеток и воспалительный ответ [19].

Проведен ряд успешных экспериментов на собаках с заменой аорты на коммерческие протезы Dacron, покрытые желатином с рифампицином. Протезы контаминировали культурами МРЗС или *S. epidermidis* [20, 21]. Обработанные образцы отличались устойчивостью к инфекции по сравнению с образцами без модификации. Схожее исследование по протезированию сонной артерии выполнено на овцах [22] с высокой выживаемостью животных с протезами Dacron, обработанными рифампицином.

Аналогичные результаты получены при использовании других материалов на основе каркаса. В экспериментальном исследовании были протестированы рифампицин-желатиновые протезы из полиэстера Gelseal Graft (Vascutek Ltd., Шотландия) в отношении нескольких групп вирулентных организмов (*S. epidermidis*, МРЗС и кишечной палочки *E. coli*) [23]. Рифампицин-желатиновые каркасы подавляли рост *S. epidermidis*, однако против *E. coli* и МРЗС оказались недостаточно эффективны, при этом зачастую наблюдались тромбозы. В данном исследовании невосприимчивость *E. coli* и МРЗС к рифампицину, с одной стороны, связана с особенностями антибактериального спектра препарата, с другой – относительно низкой концентрацией (1 мг/мл). В большинстве случаев для формирования антибактериального покрытия протезов используют концентрации рифампицина в диапазоне 13–60 мг/

мл [16, 19, 24, 25]. Показано, что динамика высвобождения рифампицина (30 мг/мл) из протезов на основе полиэстера обеспечивает хорошую элиминацию и высокую антимикробную активность вблизи протеза в течение 5–7 дней после имплантации [16]. Однако этого может быть недостаточно для подавления бактерий, сформировавших биопленку, вирулентных бактерий MRSA, обитающих в близлежащих тканях, которые в конечном итоге заселяют протез.

Формирование устойчивости МРЗС к рифампицину представляет собой серьезную проблему, отмеченную уже в ранних исследованиях. Еще в 1995 г. группа ученых продемонстрировала устойчивость штамма МРЗС к рифампицину (1,2 мг/мл) через 3 нед имплантации овцам сосудистого протеза Dacron. В процессе эксперимента наблюдались абсцессы, разрывы анастомоза и тромбоз, при этом все протезы были инфицированы одним и тем же штаммом МРЗС [26]. В эксперименте *in vitro* потеря противомикробной активности и формирование устойчивых к рифампицину штаммов *S. epidermidis* зарегистрировано уже через 7 дней инкубации с образцом [10].

Подводя небольшой итог, стоит отметить, что пропитывание рифампицином является наиболее популярным способом противомикробной обработки сосудистых протезов за счет лучшего связывания с поверхностью имплантата по сравнению с другими антибиотиками и отсутствия токсичности. Однако ограниченный спектр антимикробной активности (в основном грамположительные организмы) и способность формировать устойчивые штаммы микроорганизмов стимулируют к поиску других вариантов противомикробной защиты протезов.

Одно из направлений связано с изучением эффективности иммобилизации других видов антибиотиков на поверхности полимерных материалов. Проведена попытка иммобилизации ванкомицина на поверхности коммерческих материалов Dacron и expanded PTFE. Сравнение результатов подкожной имплантации образцов, обработанных ванкомицином и рифампицином, при контаминации МРЗС оказалось не в пользу ванкомицина [27].

Антимикробное покрытие небацетином показало преимущество перед рифампицином. T. Bisdas с соавт. использовали коммерческие велюровые графты двойного переплетения Unigraft (BBraun, Германия) на основе полиэфирных волокон. На протезы с помощью абсорбируемого покрытия желатином иммобилизовали рифампицин, даптамицин или небацетин. Сравнили эффективность обработки против штаммов *S. epidermidis*, *S. aureus*, синегнойной палочки (*P. aeruginosa*) и *E. coli*. Небацетин – комбинированный антибактериальный препарат, состоящий из неомицина сульфата и бацитрацина, проявил эффективность как в отношении грамположительных, так и грамотрицательных патогенов [28].

Отмечен положительный эффект использования гентамицина, включенного в состав фибринового покрытия. Обработка проведена на сосудистых протезах Dacron и протестирована на крупных лабораторных животных. Авторы отмечали высокий уровень выхода лекарства в течение недели [29]. Однако эффективность гентамицина ограничена в основном аэробными грамотрицательными микроорганизмами.

Даптомицин – относительно новый антибиотик из группы циклических липопептидов – проявляет бактерицидную активность в отношении чувствительных грамположительных микроорганизмов. Описана высокая антибактериальная активность обработки даптомицином против *S. aureus* по сравнению с немодифицированными аналогами. Эксперимент выполнен на кроликах, которым в брюшную аорту имплантировали протезы из полиэтилентерефталата, обработанные и необработанные даптомицином. Побочных эффектов от предварительной обработки протезов даптомицином в виде токсических или воспалительных реакций не обнаружено [30].

Учитывая возможность изолированной и сочетанной контаминации микроорганизмами поверхности протеза и окружающих тканей, улучшить результаты имплантации и расширить спектр антимикробного действия может сочетание местной антибактериальной обработки протеза и системного введения антибиотика [27, 31]. F.J. Lehnhardt и коллеги имплантировали протезы Dacron в инфраренальный отдел аорты собак, показав положительный эффект использования местной обработки протеза рифампицином и системной профилактики цефамандолом при инокуляции *E. coli* [31]. Аналогичные выводы представлены в эксперименте с местным применением рифампицина и системным введением ванкомицина [27].

Триклозан представляет собой синтетическое органическое соединение широкого спектра действия, обладающее не только антибактериальной, но и противогрибковой активностью. В 1996 г. S. Manouguian впервые сообщил о клиническом использовании триклозана, связанного непосредственно с полиэфирным материалом в протезе Intergard. Описана успешная замена инфицированного сосудистого протеза на протез, покрытый триклозаном [32]. Особенности иммобилизации и кинетика высвобождения триклозана представлены в работе T. Hernández-Richter и коллег [33]. Отмечена способность триклозана связываться с синтетическими материалами без использования промежуточных сшивающих или связывающих веществ, однако эффективность зависит от вида материала. Максимально эффективное связывание наблюдалось с трансплантатами Intergard, в меньшей степени с Fluoropassiv (Vascutek Ltd., Scotland), в

котором полиэфирное волокно покрыто молекулами фторполимера, и практически отсутствовало с материалом Gore-tex. Элиминацию триклозана из материала Intergard в эксперименте *in vitro* регистрировали в течение 4 нед, при этом кинетика не отличалась в статических и динамических условиях перфузии. Что касается протезов Fluoropassiv и Gore-tex, то низкий коэффициент связывания препарата приводил к быстрой элиминации в течение первого часа, что ограничивает использование триклозана в данных материалах. Триклозан в протезах Intergard активно подавляет рост *S. aureus* и *E. faecium*, слабо воздействует на *Candida albicans* (минимальная ингибирующая концентрация 10–2 г/л) и не действует на *P. aeruginosa* [33]. Однако при сравнении с рифампицином обработка триклозаном показала меньшую эффективность в отношении *S. aureus* [17]. К сожалению, в последние годы триклозан входит в состав многих моющих и чистящих средств, в том числе средств гигиены. Его повсеместное использование привело к формированию триклозан-резистентных штаммов бактерий, а также снижению восприимчивости к клинически важным противомикробным препаратам за счет механизмов перекрестной или ко-резистентности.

Комбинированная антибактериальная обработка протезов

Следующее направление повышения эффективности антимикробной защиты протезов связано с использованием одновременно комбинации различных групп антибактериальных препаратов.

Положительный эффект сочетанного покрытия рифампицином и ионами серебра вызывает сомнения, поскольку в ряде работ описано усиление антибактериального эффекта серебра, но не рифампицина [11, 34]. Например, в экспериментальной работе F. Schneider и коллег выполнена имплантация собакам модифицированных и немодифицированных протезов из полиэфира. Зарегистрировано усиление антибактериального эффекта в отношении MRSA и *E. coli* при комбинированной обработке протезов рифампицином/серебром по сравнению с серебром, однако не достигнуто статистически значимых различий с группой, имевшей покрытие одним рифампицином [34]. Схожие результаты получены группой исследователей под руководством S. Honig в краткосрочном (1 ч) эксперименте *in vitro* по отношению к стандартным штаммам *S. epidermidis*, MP3C, *P. aeruginosa* и *E. coli* [11].

Антимикробная эффективность комбинации триклозана и серебра представлена в ряде работ, выполненных *in vitro* [10, 35]. Материал Intergard обрабатывали комбинацией триклозан/серебро и сравнивали результаты с покрытием одним рифампицином [10], триклозаном или серебром [10, 35]. В краткосрочных (24 ч) и более длительных экспериментах (7 сут) [10]

со штаммами *S. epidermidis*, MRSA, *E. coli* и *Candida albicans* отмечено преимущество комбинированной обработки по сравнению с монокомпонентной. Покрытие триклозан/серебро позволило избежать появления резистентных штаммов изучаемых бактерий, а также усиливало противогрибковую активность [10]. Однако, поскольку данные работы выполнены *in vitro*, окончательный вывод можно будет сделать после проведения долгосрочных экспериментов *in vivo*. Примечательно, что для проявления антимикробных свойств серебру требуется более длительное время контакта с патогенами, при этом серебро выделяется медленнее триклозана и, соответственно, антимикробный эффект обработки отсроченный и длительный. В настоящее время комбинацию триклозан/серебро используют в коммерческих протезах Intergard Synergy.

Другим вариантом улучшения противомикробной защиты и расширения спектра воздействия на микроорганизмы является обработка несколькими антибиотиками. Положительный эффект отмечен при обработке коммерческих протезов из полиэстера Gelsoft Plus (Vascutek Ltd., Шотландия) комбинацией рифампицин/тобрамицин [25]. Протезы имплантировали в аорту собакам и контаминировали *S. aureus*. Комбинированное покрытие подавляло развитие инфекции и профилактировало осложнения, вызванные *S. aureus* (перипротезные гематомы и аневризмы) [25].

Сравнение эффективности антибактериальной обработки хлоргексидином и комбинацией хлоргексидина и метронидазола протезов из лавсана проведено группой отечественных исследователей во главе с Г.С. Авхутской. В экспериментальном исследовании использовали широкий спектр бактериальных штаммов: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Bacteroides* spp., *Fuzobacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp). Показана лучшая активность композиции хлоргексидин/метронидазол в отношении *S. aureus* и *S. epidermidis* по сравнению с монообработкой хлоргексидином [36].

Хорошие результаты получены при сочетании трех противомикробных препаратов (рифампицин, миноциклин и хлоргексидин). Исследование выполнено на протезах Dacron, которые вшивали в интрааортальный отдел брюшной аорты свиней и инокулировали *S. aureus*. Тяжелые инфекционные осложнения развивались во всех случаях имплантации протезов без лекарственного покрытия, тогда как протезы с тройным антимикробным компонентом продемонстрировали синергетический эффект, уменьшили или предотвратили прямое периоперационное бактериальное заражение [37, 38]. Эффективность данной комбинации антимикробных препаратов подтвердила другая группа исследователей, которая помимо *S. aureus* дополнила микробный спектр воздействия *P. aeruginosa*. Модифици-

рованные протезы показали хорошую полимикробную устойчивость к *S. aureus* и подавление роста *P. aeruginosa* в течение трех недель, а также лучшую проходимость и отсутствие тромбоза по сравнению с немодифицированными аналогами [24].

Особенности противомикробной обработки протезов на основе биodeградируемых полимеров

Биodeградируемые полимеры представляют альтернативу традиционным синтетическим матрицам. Возможность формировать наноразмерные волокна с помощью электроспиннинга позволяет не только имитировать структуру естественного внеклеточного матрикса и облегчать клеточные взаимодействия, но и формировать систему доставки с высокой сохранностью и стабильностью лекарственного вещества. Различные биоактивные молекулы, включая противомикробные агенты, можно локализовать внутри каркаса или иммобилизовать на его поверхности для контролируемой доставки лекарства [39].

Группа ученых во главе с D.G. Yu покрыла нановолокна полиакрилонитрила наночастицами серебра, используя модифицированный процесс коаксиального электроспиннинга, и добилась высокой антимикробной активности против сенной палочки (*Bacillus subtilis*) и *E. coli*. Авторы отметили, что использование коаксиального электроспиннинга помогло улучшить антибактериальный эффект серебра за счет изменения распределения его на поверхности нановолокон [40].

К. Kim с соавт. продемонстрировали успешное включение и пролонгированное высвобождение гидрофильного антибиотика мефоксина (цефокситин натрия, MSD, США) из нановолокнистых каркасов на основе полилактид-гликолида без изменения свойств структуры и биоактивности. Водный раствор лекарственного препарата вводили в раствор полимера, затем методом электроспиннинга изготавливали нановолокнистый протез. Результаты спектроскопии показали сохранность химической структуры мефоксина в полимере, полученного методом электроспиннинга. Встраивание антибиотика в волокна полимера замедляло процесс высвобождения, что является несомненным преимуществом. Модифицированный матрикс подавлял рост *S. aureus* в течение 48 ч как в статической, так и динамической среде [41].

Доказательства сохранности и пролонгированного высвобождения ванкомицина из полилактид-гликолида при введении антибиотика в состав полимера представлены K.S. Liu и коллегами [42]. При подкожной имплантации в течение 35 дней в подкожной клетчатке кроликов регистрировали высокие концентрации ванкомицина при низком содержании в циркулирующей крови, что свидетельствует о локальной и устойчивой доставке противомикробных агентов [42].

Применение антимикробных пептидов и катионных амфифилов

Несмотря на успехи применения фармацевтических препаратов для предотвращения инфицирования протезного материала, использование антибиотиков приводит к быстрому развитию резистентности микроорганизмов. Для преодоления проблемы лекарственной устойчивости необходимо применение новых противомикробных агентов, резистентность к которым не будет формироваться либо будет развиваться медленнее. Хорошую перспективу представляет использование антимикробных пептидов и катионных амфифилов для создания эффективного противомикробного покрытия у сосудистых протезов.

Известно, что мембраны бактериальных клеток (как грамположительные, так и грамотрицательные) образованы фосфолипидами и тейхоевыми кислотами с отрицательным суммарным поверхностным зарядом. Следовательно, полимеры, несущие положительно заряженные функциональные группы, способны лучше взаимодействовать со стенкой бактериальной клетки по сравнению с полимерами с нейтрально или отрицательно заряженной поверхностью [43]. Присутствие на поверхности четвертичных солей аммония, например поливинилбензиламмонийхлорида, продемонстрировало высокую антибактериальную активность [44]. Третичные аминогруппы, подвергающиеся протонированию в физиологических условиях, будучи введенными в структуру полимера, также придают последнему антибактериальные свойства. Выполнен синтез широкого спектра полимеров, содержащих третичные аминогруппы, на основе полистирола [45] и диметиламиноэтилметакрилата [46], материалы обладали высокой антибактериальной активностью.

Еще одним перспективным направлением борьбы с бактериальными биопленками и штаммами, устойчивыми к антибиотикам, являются антимикробные пептиды (АМП) [47]. О взрывном характере роста интереса к АМП может свидетельствовать тот факт, что количество уникальных последовательностей АМП, собранных в базе данных с открытым доступом (DRAMP, <http://dramp.cru-bioinform.org/>), содержащей общие, патентные и клинические антимикробные пептиды, увеличилось с 4,5 тыс. в 2016 г. [48] до более чем 14 тыс. к середине 2019 г. [49]. К началу сентября 2020 г. DRAMP содержит информацию о 5 877 статьях, 14 739 патентах и 76 клинических испытаний АМП.

Считается, что в основе механизма действия большинства антимикробных пептидов лежит нарушение целостности бактериальной мембраны [50]. При этом АМП, по аналогии с антибиотиками, также могут блокировать некоторые ферменты, нарушать функции РНК и ДНК, повреждать мембраны субклеточных компартментов [51, 52]. Разрушение

бактериальной стенки делает менее вероятным развитие устойчивости патогенов к АМП, чем к традиционным антибиотикам. Тем не менее описан ряд механизмов, делающих патогены устойчивыми к катионным АМП и четвертичным солям аммония, например за счет снижения общего отрицательного заряда поверхности бактерий [53].

Катионные амфифилы – молекулы с одной или несколькими положительно заряженными группами и липофильными фрагментами. Данные соединения являются синтетическими аналогами катионных природных АМП, для которых бактериальная мембрана считается основной мишенью. АМП способны вызывать нарушение трансмембранного потенциала бактериальной мембраны, утечку цитоплазматического содержимого и в конечном итоге гибель бактериальной клетки [54]. В то же время данные соединения являются четвертичными аммониевыми солями и полимерные материалы с привитыми четвертичными солями аммония можно рассматривать как частный случай катионных амфифилов, иммобилизованных на поверхность [55].

Заключение

Подводя итог проанализированной литературы, можно отметить, что все экспериментальные исследования имеют ряд ограничений.

Во-первых, при использовании мелких лабораторных животных в качестве экспериментальной модели сосудистой имплантации при оценке эффективности матриксов с лекарственным покрытием стоит учитывать, что результаты нельзя полностью экстраполировать на человеческий организм из-за серьезных функциональных и анатомических различий, к тому же эти животные более устойчивы к инфекции. В большинстве случаев эксперименты на мелких лабораторных животных ограничены подкожной имплантацией и имеют короткий временной период наблюдения, поэтому отдаленные результаты сосудистой имплантации, как правило, неизвестны. Сосудистые имплантации на крупных лабораторных животных на длительный период более репрезентативны, но все же имеют отличия от человеческих реакций организма и другую временную шкалу заживления.

Во-вторых, каждый вид иммобилизации антимикробных агентов (импрегнирование; пропитывание фибрином, коллагеном, желатином; иммобилизации на полимерах внутри полого волокна, в общей структуре с полимером или фиксация на поверхности) обладает различной скоростью высвобождения противомикробных агентов, которые необходимо определять и учитывать. Согласно большинству данных, инфицирование чаще всего происходит в течение недели после имплантации, поэтому выход препаратов должен происходить непрерывно как минимум в течение этого периода. Локализация протеза

также имеет значение, поскольку скорость кровотока в различных сосудах отличается и существенно влияет на скорость элиминации препарата. Поэтому ряд исследователей поддерживают идею сопутствующего парентерального введения антибиотиков и долгосрочное стабильное связывание антибиотика в структуре протеза для профилактики инфицирования сосудистого протеза.

В-третьих, несмотря на то что серебро, как противомикробное средство, имеет ряд преимуществ перед антибиотиками, включая широкую антимикробную активность и отсутствие развития резистентности, данные ряда исследований показывают значимо меньшую или даже сомнительную эффективность ионов серебра в защите протезов от инфицирования. При этом использование антибиотиков приводит к быстрому развитию устойчивости микроорганизмов. Для преодоления проблемы лекарственной устойчивости необходимо применение новых противомикробных агентов, устойчивость к которым не

будет формироваться либо будет развиваться медленнее. Использование антимикробных пептидов и катионных амфифилов для создания противомикробного покрытия сосудистых протезов с низким риском возникновения устойчивых штаммов является перспективной стратегией взамен стандартным антимикробным лекарственным средствам.

Конфликт интересов

Е.О. Кривкина заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.Г. Матвеева заявляет об отсутствии конфликта интересов. Л.В. Антонова заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена в рамках гранта РНФ № 20-15-00075 «Разработка биodeградируемого сосудистого протеза малого диаметра с атромбогенным и противомикробным покрытием».

Информация об авторах

Кривкина Евгения Олеговна, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-2500-2147

Матвеева Вера Геннадьевна, кандидат медицинских наук старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной медицины 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 отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8874-0788

Author Information Form

Krivkina Evgeniya O., Junior Researcher at the Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases", Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-2500-2147

Matveeva Vera G., Ph.D., Senior Researcher at the Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases", Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4146-3373

Antonova Larisa V., Ph.D., Head of the Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases", Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8874-0788

Вклад авторов в статью

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

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

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

Author Contribution Statement

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pelletier-Galarneau M., Juneau D. Vascular graft infection: Improving diagnosis with functional imaging. *J. Nucl. Cardiol.* 2020; 1–5. DOI: 10.1007/s12350-020-02269-z.

2. Phang D., Smeds M.R., Abate M., Ali A., Long B., Rahimi M., Giglia J., Bath J. Revascularization with Obturator or Hemi-neoaortoiliac System for Partial Aortic Graft Infections.

- Ann Vasc Surg. 2019; 54: 166–175 DOI: 10.1016/j.avsg.2018.06.012.
3. Gentili A., Di Pumpo M., La Milia D.I., Vallone D., Vangi G., Corbo M.I., Berloco F., Cambieri A., Damiani G., Ricciardi W., Laurenti P. A Six-Year Point Prevalence Survey of Healthcare-Associated Infections in an Italian Teaching Acute Care Hospital. *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 17(21): 7724. DOI: 10.3390/ijerph17217724.
 4. Ulloa E.R., Singh K.V., Geriak M., Haddad F., Murray B.E., Nizet V., Sakoulas G. Cefazolin and Ertapenem Salvage Therapy Rapidly Clears Persistent Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2020; 71(6): 1413–1418. DOI: 10.1093/cid/ciz995.
 5. Siracuse J.J., Nandivada P., Giles K.A., Hamdan AD, Wyers MC, Chaikof EL, Pomposelli FB, Schermerhorn ML. Prosthetic graft infections involving the femoral artery. *J Vasc Surg*. 2013; 57(3):700–705. DOI: 10.1016/j.jvs.2012.09.049.
 6. Andercou O., Marian D., Olteanu G., Stancu B., Cucuruz B., Noppeney T. Complex treatment of vascular prostheses infections. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97(27): e11350. DOI: 10.1097/MD.00000000000011350.
 7. Livermore D.M. Has the era of untreatable infections arrived? *J Antimicrob Chemother*. 2009; 64: 29–36. DOI: 10.1093/jac/dkp255.
 8. Menger M.D., Hammersen F., Messmer K. In vivo assessment of neovascularization and incorporation of prosthetic vascular biografts. *Thorac Cardiovasc Surg*. 1992; 40(1): 19–25. DOI: 10.1055/s-2007-1020105.
 9. Mouriño V., Cattalini J.P., Boccaccini A.R. Metallic ions as therapeutic agents in tissue engineering scaffolds: an overview of their biological applications and strategies for new developments. *J R Soc Interface*. 2012; 9(68): 401–419. DOI: 10.1098/rsif.2011.0611.
 10. Berard X., Puges M., Pinaquy J.B., Cazanave C., Stecken L., Bordenave L., Pereyre S., M'Zali F. In vitro Evidence of Improved Antimicrobial Efficacy of Silver and Triclosan Containing Vascular Grafts Compared with Rifampicin Soaked Grafts. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2019; 57(3):424–432. DOI: 10.1016/j.ejvs.2018.08.053.
 11. Honig S., Seeger P., Rohde H., Kölbel T., Debus E.S., Diener H. Efficacy of antiseptic impregnation of aortic endografts with rifampicin compared to silver against in vitro contamination with four bacteria that frequently cause vascular graft infections. *JVS: Vascular Science*. 2020; 1: 181–189. DOI: 10.1016/j.jvssci.2020.06.003.
 12. Larena-Avellaneda A., Russmann S., Fein M., Debus E.S. Prophylactic use of the silver-acetate-coated graft in arterial occlusive disease: a retrospective, comparative study. *J Vasc Surg*. 2009; 50(4):790–798. DOI: 10.1016/j.jvs.2009.05.003.
 13. Jeanmonod P., Laschke M.W., Gola N., von Heesen M., Glanemann M., Menger M.D., Moussavian M.R. Early host tissue response to different types of vascular prostheses coated with silver acetate or vaporized metallic silver. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2014; 47(6): 680–688. DOI: 10.1016/j.ejvs.2014.03.006.
 14. Butany J., Leask R.L., Desai N.D., Jegatheeswaran A., Silversides C., Scully H.E., Feindel C. Pathologic analysis of 19 heart valves with silver-coated sewing rings. *J Card Surg*. 2006; 21(6): 530–538. DOI: 10.1111/j.1540-8191.2006.00323.x.
 15. Qiao M., Ying G.G., Singer A.C., Zhu Y.G. Review of antibiotic resistance in China and its environment. *Environ Int*. 2018; 110:160–172. DOI: 10.1016/j.envint.2017.10.016.
 16. Schmachet D., Armstrong P., Johnson B., Pierre K., Back M., Honeyman A., Cuthbertson D., Bandyk D. Graft infectivity of rifampin and silver-bonded polyester grafts to MRSA contamination. *Vasc Endovascular Surg*. 2005; 39(5): 411–420. DOI: 10.1177/153857440503900505.
 17. Hernández-Richter T., Schardey H.M., Wittmann F., Mayr S., Schmitt-Sody M., Blasenbreu S., Heiss M.M., Gabka C., Angele M.K. Rifampin and Triclosan but not silver is effective in preventing bacterial infection of vascular Dacron graft material. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2003; 26(5): 550–557. DOI: 10.1016/s1078-5884(03)00344-7.
 18. Powell T.W., Burnham S.J., Johnson G.Jr. A passive system using rifampin to create an infection-resistant vascular prosthesis. *Surgery*. 1983; 94(5): 765–769.
 19. Moussavian M.R., Laschke M.W., Schlachtenberger G., von Heesen M., Wagner M., Glanemann M., Menger M.D. Perigraft vascularization and incorporation of implanted Dacron prostheses are affected by rifampicin coating. *J Vasc Surg*. 2016; 64(6): 1815–1824. DOI: 10.1016/j.jvs.2015.07.104.
 20. Goëau-Brissonnière O., Lepout C., Bacourt F., Lebrault C., Comte R., Pechère J.C. Prevention of vascular graft infection by rifampin bonding to a gelatin-sealed Dacron graft. *Ann Vasc Surg*. 1991; 5(5): 408–412. DOI: 10.1007/BF02133043.
 21. Gahtan V., Esses G.E., Bandyk D.F., Nelson R.T., Dupont E., Mills J.L. Antistaphylococcal activity of rifampin-bonded gelatin-impregnated Dacron grafts. *J Surg Res*. 1995; 58(1): 105–110. DOI: 10.1006/jsre.1995.1017.
 22. Avramovic J., Fletcher J.P. Prevention of prosthetic vascular graft infection by rifampicin impregnation of a protein-sealed Dacron graft
 23. Koshiko S., Sasajima T., Muraki S., Azuma N., Yamazaki K., Chiba K., Tachibana M., Inaba M. Limitations in the use of rifampicin-gelatin grafts against virulent organisms. *J Vasc Surg*. 2002; 35(4): 779–785. DOI: 10.1067/mva.2002.121850.
 24. Clemens M.S., Stull M.C., Hata K.W., Heafner T.A., Watson J.D.B., Arthurs Z.M., Propper B.W. Antimicrobial-bonded graft patency in the setting of a polymicrobial infection in swine (*Sus scrofa*). *J Vasc Surg*. 2017; 66(4): 1210–1216. DOI: 10.1016/j.jvs.2016.09.040.
 25. Javerliat I., Goëau-Brissonnière O., Sivadon-Tardy V., Coggia M., Gaillard J.L. Prevention of *Staphylococcus aureus* graft infection by a new gelatin-sealed vascular graft prebonded with antibiotics. *J Vasc Surg*. 2007; 46(5): 1026–1031. DOI: 10.1016/j.jvs.2007.06.023.
 26. Sardelic F., Ao P.Y., Fletcher J.P. Rifampicin impregnated Dacron grafts: no development of rifampicin resistance in an animal model. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 1995; 9(3): 314–318. DOI: 10.1016/s1078-5884(05)80137-6.
 27. Sacar M., Goksin I., Baltalarli A., Turgut H., Sacar S., Onem G., Ozcan V., Adali F. The prophylactic efficacy of rifampicin-soaked graft in combination with systemic vancomycin in the prevention of prosthetic vascular graft infection: an experimental study. *J Surg Res*. 2005; 129(2): 329–334. DOI: 10.1016/j.jss.2005.05.017.
 28. Bisdas T., Beckmann E., Marsch G., Burgwitz K., Wilhelmi M., Kuehn C., Haverich A., Teebken O.E. Prevention of vascular graft infections with antibiotic graft impregnation prior to implantation: in vitro comparison between daptomycin, rifampin and nebacetin. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2012; 43(4): 448–456. DOI: 10.1016/j.ejvs.2011.12.029.
 29. Haverich A., Hirt S., Karck M., Siclari F., Wahlig H. Prevention of graft infection by bonding of gentamycin to Dacron prostheses. *J Vasc Surg*. 1992; 15(1): 187–193. DOI: 10.1067/mva.1992.30301.
 30. Salmoukas C., Ruemke S., Rubalskii E., Burgwitz K., Haverich A., Kuehn C. Vascular Graft Pre-Treatment with Daptomycin Prior to Implantation Prevents Graft Infection with *Staphylococcus aureus* in an In Vivo Model. *Surg Infect (Larchmt)*. 2020; 21(2): 161–168. DOI:10.1089/sur.2019.124.
 31. Lehnhardt F.J., Torsello G., Claeys L.G., Pfeiffer M., Wachol-Drewiek Z., Grundmann R.T., Sandmann W. Systemic and local antibiotic prophylaxis in the prevention of prosthetic vascular graft infection: an experimental study. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2002; 23(2): 127–33. DOI: 10.1053/ejvs.2001.1571.
 32. Manouguian S. Clinical experience with a new antimicrobially coated InterGard-IgK/AM vascular prosthesis in surgical treatment of deep wound infection with involvement of the synthetic bypass: report of 2 cases. *Zentralblatt für Chirurgie*. 1996; 121(9): 768–772; discussion 772–773.

33. Hernández-Richter T., Schardey H.M., Löhlein F., Fleischer C.T., Walli A.K., Boos K.S., Schildberg F.W. Binding kinetics of triclosan (Irgasan) to alloplastic vascular grafts: an in vitro study. *Annals of Vascular Surgery*. 2000; 14(4): 370–375. DOI: 10.1007/s100169910065.
34. Schneider F., O'Connor S., Becquemin J.P. Efficacy of collagen silver-coated polyester and rifampin-soaked vascular grafts to resist infection from MRSA and *Escherichia coli* in a dog model. *Ann Vasc Surg*. 2008; 22(6): 815–821. DOI: 10.1016/j.avsg.2008.06.011.
35. Berard X., Stecken L., Pinaquy JB., Cazanave C., Puges M., Pereyre S., Bordenave L., M'Zali F. Comparison of the Antimicrobial Properties of Silver Impregnated Vascular Grafts with and without Triclosan. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2016; 51(2): 285–92. DOI: 10.1016/j.ejvs.2015.10.016.
36. Авхутская Г.С., Сенчик И.Ю., Кравцова И.А., Михайлова Т.С., Кузнецова О.Г., Фролова О.С. Исследование свойств протезов кровеносных сосудов из лавсана, обработанных антимикробной композицией с введением метронидазола. Ученые записки СПбГМУ им. И.П. Павлова. 2008; 4.
37. Aboshady I., Raad I., Shah A.S., Vela D., Dvorak T., Safi H.J., Buja L.M., Khalil K.G. A pilot study of a triple antimicrobial-bonded Dacron graft for the prevention of aortic graft infection. *J Vasc Surg*. 2012; 56(3): 794–801. DOI: 10.1016/j.jvs.2012.02.008.
38. Aboshady I., Raad I., Vela D., Hassan M., Aboshady Y., Safi H.J., Buja L.M., Khalil K.G. Prevention of perioperative vascular prosthetic infection with a novel triple antimicrobial-bonded arterial graft. *J Vasc Surg*. 2016; 64(6): 1805–1814. DOI: 10.1016/j.jvs.2015.09.061.
39. Yu D.G., Zhu L.M., White K., Branford-White C. Electrospun nanofiber-based drug delivery systems. *Health*. 2009; 1(02): 67. DOI: 10.4236/health.2009.12012.
40. Yu D.G., Zhou J., Chatterton N.P., Li Y., Huang J., Wang X. Polyacrylonitrile nanofibers coated with silver nanoparticles using a modified coaxial electrospinning process. *Int J Nanomedicine*. 2012; 7: 5725–5732. DOI: 10.2147/IJN.S37455.
41. Kim K., Luu Y.K., Chang C., Fang D., Hsiao B.S., Chu B., Hadjiargyrou M. Incorporation and controlled release of a hydrophilic antibiotic using poly(lactide-co-glycolide)-based electrospun nanofibrous scaffolds. *J Control Release*. 2004; 98(1): 47–56. DOI: 10.1016/j.jconrel.2004.04.009.
42. Liu K.S., Lee C.H., Wang Y.C., Liu S.J. Sustained release of vancomycin from novel biodegradable nanofiber-loaded vascular prosthetic grafts: in vitro and in vivo study. *Int J Nanomedicine*. 2015; 10: 885–891. DOI: 10.2147/IJN.S78675.
43. Matsuzaki K. Control of cell selectivity of antimicrobial peptides. *Biochim Biophys Acta*. 2009; 1788(8): 1687–92. DOI:10.1016/j.bbame.2008.09.013.
44. Ikeda T., Tazuke S. Biologically active polycations: Antimicrobial activities of Poly[trialkyl(vinylbenzyl) ammonium chloride]-type polycations. *Die Makromol. Chem. Rapid Commun*. 1983; (4): 459–461.
45. Gelman M.A., Weisblum B., Lynn D.M., Gellman S.H. Biocidal activity of polystyrenes that are cationic by virtue of protonation. *Org Lett*. 2004; 6(4): 557–60. DOI: 10.1021/ol036341+.
46. Vigliotta G., Mella M., Rega D., Izzo L. Modulating antimicrobial activity by synthesis: dendritic copolymers based on nonquaternized 2-(dimethylamino)ethyl methacrylate by Cu-mediated ATRP. *Biomacromolecules*. 2012; 13(3): 833–41. DOI: 10.1021/bm2017349.
47. Haney E.F., Mansour S.C., Hancock R.E. Antimicrobial Peptides: An Introduction. *Methods Mol Biol*. 2017; 1548: 3–22. DOI: 10.1007/978-1-4939-6737-7_1. PMID: 28013493.
48. Fan L., Sun J., Zhou M., Zhou J., Lao X., Zheng H., Xu H. DRAMP: a comprehensive data repository of antimicrobial peptides. *Sci Rep*. 2016; 6: 24482. DOI: 10.1038/srep24482.
49. Kang X., Dong F., Shi C., Liu S., Sun J., Chen J., Li H., Xu H., Lao X., Zheng H. DRAMP 2.0, an updated data repository of antimicrobial peptides. *Sci Data*. 2019; 6(1): 148. DOI: 10.1038/s41597-019-0154-y.
50. Ciumac D., Gong H., Hu X., Lu J.R. Membrane targeting cationic antimicrobial peptides. *J Colloid Interface Sci*. 2019; 537: 163–185. DOI: 10.1016/j.jcis.2018.10.103..
51. Scocchi M., Mardirossian M., Runti G., Benincasa M. Non-Membrane Permeabilizing Modes of Action of Antimicrobial Peptides on Bacteria. *Curr Top Med Chem*. 2016; 16(1): 76–88. DOI: 10.2174/1568026615666150703121009.
52. Le C.F., Fang C.M., Sekaran S.D. Intracellular Targeting Mechanisms by Antimicrobial Peptides. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017; 61(4): e02340-16. DOI: 10.1128/AAC.02340-16.
53. Andersson D.I., Hughes D., Kubicek-Sutherland J.Z. Mechanisms and consequences of bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Drug Resist Updat*. 2016; 26: 43–57. DOI: 10.1016/j.drug.2016.04.002.
54. Molchanova N., Hansen P.R., Franzyk H. Advances in Development of Antimicrobial Peptidomimetics as Potential Drugs. *Molecules*. 2017; 22(9): 1430. DOI: 10.3390/molecules22091430.
55. Xue Y., Xiao H., Zhang Y. Antimicrobial polymeric materials with quaternary ammonium and phosphonium salts. *Int J Mol Sci*. 2015; 16(2): 3626–3655. DOI: 10.3390/ijms16023626.

REFERENCES

1. Pelletier-Galarneau M., Juneau D. Vascular graft infection: Improving diagnosis with functional imaging. *J Nucl. Cardiol*. 2020; 1–5. DOI: 10.1007/s12350-020-02269-z.
2. Phang D., Smeds M.R., Abate M., Ali A., Long B., Rahimi M., Giglia J., Bath J. Revascularization with Obturator or Hemi-neoaortoiliac System for Partial Aortic Graft Infections. *Ann Vasc Surg*. 2019; 54: 166–175 DOI: 10.1016/j.avsg.2018.06.012.
3. Gentili A., Di Pumpo M., La Milia D.I., Vallone D., Vangi G., Corbo M.I., Berloco F., Cambieri A., Damiani G., Ricciardi W., Laurenti P. A Six-Year Point Prevalence Survey of Healthcare-Associated Infections in an Italian Teaching Acute Care Hospital. *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 17(21): 7724. DOI: 10.3390/ijerph17217724.
4. Ulloa E.R., Singh K.V., Geriak M., Haddad F., Murray B.E., Nizet V., Sakoulas G. Cefazolin and Ertapenem Salvage Therapy Rapidly Clears Persistent Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2020; 71(6): 1413–1418. DOI: 10.1093/cid/ciz995.
5. Siracuse J.J., Nandivada P., Giles K.A., Hamdan AD, Wyers MC, Chaikof EL, Pomposelli FB, Schermerhorn ML. Prosthetic graft infections involving the femoral artery. *J Vasc Surg*. 2013; 57(3):700–705. DOI: 10.1016/j.jvs.2012.09.049.
6. Andercou O., Marian D., Olteanu G., Stancu B., Cucuruz B., Noppeney T. Complex treatment of vascular prostheses infections. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97(27): e11350. DOI: 10.1097/MD.00000000000011350.
7. Livermore D.M. Has the era of untreatable infections arrived? *J Antimicrob Chemother*. 2009; 64: 29–36. DOI: 10.1093/jac/dkp255.
8. Menger M.D., Hammersen F., Messmer K. In vivo assessment of neovascularization and incorporation of prosthetic vascular biografts. *Thorac Cardiovasc Surg*. 1992; 40(1): 19–25. DOI: 10.1055/s-2007-1020105.
9. Mourinho V., Cattalini J.P., Boccaccini A.R. Metallic ions as therapeutic agents in tissue engineering scaffolds: an overview of their biological applications and strategies for new developments. *J R Soc Interface*. 2012; 9(68): 401–419. DOI: 10.1098/rsif.2011.0611.

10. Berard X., Puges M., Pinaquy J.B., Cazanave C., Stecken L., Bordenave L., Pereyre S., M'Zali F. In vitro Evidence of Improved Antimicrobial Efficacy of Silver and Triclosan Containing Vascular Grafts Compared with Rifampicin Soaked Grafts. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2019; 57(3):424–432. DOI: 10.1016/j.ejvs.2018.08.053.
11. Honig S., Seeger P., Rohde H., Kölbel T., Debus E.S., Diener H. Efficacy of antiseptic impregnation of aortic endografts with rifampicin compared to silver against in vitro contamination with four bacteria that frequently cause vascular graft infections. *JVS: Vascular Science.* 2020; 1: 181–189. DOI: 10.1016/j.jvssci.2020.06.003.
12. Larena-Avellaneda A., Russmann S., Fein M., Debus E.S. Prophylactic use of the silver-acetate-coated graft in arterial occlusive disease: a retrospective, comparative study. *J Vasc Surg.* 2009; 50(4):790–798. DOI: 10.1016/j.jvs.2009.05.003.
13. Jeanmonod P., Laschke M.W., Gola N., von Heesen M., Glanemann M., Menger M.D., Moussavian M.R. Early host tissue response to different types of vascular prostheses coated with silver acetate or vaporized metallic silver. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2014; 47(6): 680–688. DOI: 10.1016/j.ejvs.2014.03.006.
14. Butany J., Leask R.L., Desai N.D., Jegatheeswaran A., Silversides C., Scully H.E., Feindel C. Pathologic analysis of 19 heart valves with silver-coated sewing rings. *J Card Surg.* 2006; 21(6): 530–538. DOI: 10.1111/j.1540-8191.2006.00323.x.
15. Qiao M., Ying G.G., Singer A.C., Zhu Y.G. Review of antibiotic resistance in China and its environment. *Environ Int.* 2018; 110:160–172. DOI: 10.1016/j.envint.2017.10.016.
16. Schmach D., Armstrong P., Johnson B., Pierre K., Back M., Honeyman A., Cuthbertson D., Bandyk D. Graft infectivity of rifampin and silver-bonded polyester grafts to MRSA contamination. *Vasc Endovascular Surg.* 2005; 39(5): 411–420. DOI: 10.1177/153857440503900505.
17. Hernández-Richter T., Schardey H.M., Wittmann F., Mayr S., Schmitt-Sody M., Blasenbren S., Heiss M.M., Gabka C., Angele M.K. Rifampin and Triclosan but not silver is effective in preventing bacterial infection of vascular Dacron graft material. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2003; 26(5): 550–557. DOI: 10.1016/s1078-5884(03)00344-7.
18. Powell T.W., Burnham S.J., Johnson G.Jr. A passive system using rifampin to create an infection-resistant vascular prosthesis. *Surgery.* 1983; 94(5): 765–769.
19. Moussavian M.R., Laschke M.W., Schlachtenberger G., von Heesen M., Wagner M., Glanemann M., Menger M.D. Perigraft vascularization and incorporation of implanted Dacron prostheses are affected by rifampicin coating. *J Vasc Surg.* 2016; 64(6): 1815–1824. DOI: 10.1016/j.jvs.2015.07.104.
20. Goëau-Brissonnière O., Leport C., Bacourt F., Lebrault C., Comte R., Pechère J.C. Prevention of vascular graft infection by rifampin bonding to a gelatin-sealed Dacron graft. *Ann Vasc Surg.* 1991; 5(5): 408–412. DOI: 10.1007/BF02133043.
21. Gahtan V., Esses G.E., Bandyk D.F., Nelson R.T., Dupont E., Mills J.L. Antistaphylococcal activity of rifampin-bonded gelatin-impregnated Dacron grafts. *J Surg Res.* 1995; 58(1): 105–110. DOI: 10.1006/jsre.1995.1017.
22. Avramovic J., Fletcher J.P. Prevention of prosthetic vascular graft infection by rifampicin impregnation of a protein-sealed Dacron graft
23. Koshiko S., Sasajima T., Muraki S., Azuma N., Yamazaki K., Chiba K., Tachibana M., Inaba M. Limitations in the use of rifampicin-gelatin grafts against virulent organisms. *J Vasc Surg.* 2002; 35(4): 779–785. DOI: 10.1067/mva.2002.121850.
24. Clemens M.S., Stull M.C., Hata K.W., Heafner T.A., Watson J.D.B., Arthurs Z.M., Propper B.W. Antimicrobial-bonded graft patency in the setting of a polymicrobial infection in swine (*Sus scrofa*). *J Vasc Surg.* 2017; 66(4): 1210–1216. DOI: 10.1016/j.jvs.2016.09.040.
25. Javerliat I., Goëau-Brissonnière O., Sivadon-Tardy V., Coggia M., Gaillard J.L. Prevention of *Staphylococcus aureus* graft infection by a new gelatin-sealed vascular graft prebonded with antibiotics. *J Vasc Surg.* 2007; 46(5): 1026–1031. DOI: 10.1016/j.jvs.2007.06.023.
26. Sardelic F., Ao P.Y., Fletcher J.P. Rifampicin impregnated Dacron grafts: no development of rifampicin resistance in an animal model. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1995; 9(3): 314–318. DOI: 10.1016/s1078-5884(05)80137-6.
27. Sacar M., Goksin I., Baltalarli A., Turgut H., Sacar S., Onem G., Ozcan V., Adali F. The prophylactic efficacy of rifampicin-soaked graft in combination with systemic vancomycin in the prevention of prosthetic vascular graft infection: an experimental study. *J Surg Res.* 2005; 129(2): 329–334. DOI: 10.1016/j.jss.2005.05.017.
28. Bisdas T., Beckmann E., Marsch G., Burgwitz K., Wilhelmi M., Kuehn C., Haverich A., Teebken O.E. Prevention of vascular graft infections with antibiotic graft impregnation prior to implantation: in vitro comparison between daptomycin, rifampin and nebacetin. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2012; 43(4): 448–456. DOI: 10.1016/j.ejvs.2011.12.029.
29. Haverich A., Hirt S., Karck M., Siclari F., Wahlig H. Prevention of graft infection by bonding of gentamycin to Dacron prostheses. *J Vasc Surg.* 1992; 15(1): 187–193. DOI: 10.1067/mva.1992.30301.
30. Salmoukas C., Ruemke S., Rubalskii E., Burgwitz K., Haverich A., Kuehn C. Vascular Graft Pre-Treatment with Daptomycin Prior to Implantation Prevents Graft Infection with *Staphylococcus aureus* in an In Vivo Model. *Surg Infect (Larchmt).* 2020; 21(2): 161–168. DOI: 10.1089/sur.2019.124.
31. Lehnhardt F.J., Torsello G., Claeys L.G., Pfeiffer M., Wachol-Drewek Z., Grundmann R.T., Sandmann W. Systemic and local antibiotic prophylaxis in the prevention of prosthetic vascular graft infection: an experimental study. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2002; 23(2): 127–133. DOI: 10.1053/ejvs.2001.1571.
32. Manouguian S. Clinical experience with a new antimicrobially coated InterGard-IgK/AM vascular prosthesis in surgical treatment of deep wound infection with involvement of the synthetic bypass: report of 2 cases. *Zentralblatt für Chirurgie.* 1996; 121(9): 768–772; discussion 772–773.
33. Hernández-Richter T., Schardey H.M., Löhlein F., Fleischer C.T., Walli A.K., Boos K.S., Schildberg F.W. Binding kinetics of triclosan (Irgasan) to alloplastic vascular grafts: an in vitro study. *Annals of Vascular Surgery.* 2000; 14(4): 370–375. DOI: 10.1007/s100169910065.
34. Schneider F., O'Connor S., Becquemin J.P. Efficacy of collagen silver-coated polyester and rifampin-soaked vascular grafts to resist infection from MRSA and *Escherichia coli* in a dog model. *Ann Vasc Surg.* 2008; 22(6): 815–821. DOI: 10.1016/j.avsg.2008.06.011.
35. Berard X., Stecken L., Pinaquy JB, Cazanave C, Puges M, Pereyre S, Bordenave L, M'Zali F. Comparison of the Antimicrobial Properties of Silver Impregnated Vascular Grafts with and without Triclosan. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2016; 51(2): 285–292. DOI: 10.1016/j.ejvs.2015.10.016.
36. Avkhutskaia G.S., Senchik I.Yu., Kravtsova I.A., Mikhailova T.S., Kuznetsova O.G., Frolova O.S. Investigation of the properties of lavsan blood vessel prostheses treated with an antimicrobial composition with the introduction of metronidazole. *Scientific notes of SPbGMU im. I.P. Pavlova.* 2008; 4. (In Russian)
37. Aboshady I., Raad I., Shah A.S., Vela D., Dvorak T., Safi H.J., Buja L.M., Khalil K.G. A pilot study of a triple antimicrobial-bonded Dacron graft for the prevention of aortic graft infection. *J Vasc Surg.* 2012; 56(3): 794–801. DOI: 10.1016/j.jvs.2012.02.008.
38. Aboshady I., Raad I., Vela D., Hassan M., Aboshady Y., Safi H.J., Buja L.M., Khalil K.G. Prevention of perioperative vascular prosthetic infection with a novel triple antimicrobial-bonded arterial graft. *J Vasc Surg.* 2016; 64(6): 1805–1814. DOI: 10.1016/j.jvs.2015.09.061.
39. Yu D.G., Zhu L.M., White K., Branford-White C. Electrospun nanofiber-based drug delivery systems. *Health.* 2009; 1(02): 67. DOI: 10.4236/health.2009.12012.

40. Yu D.G., Zhou J., Chatterton N.P., Li Y., Huang J., Wang X. Polyacrylonitrile nanofibers coated with silver nanoparticles using a modified coaxial electrospinning process. *Int J Nanomedicine*. 2012; 7: 5725–5732. DOI: 10.2147/IJN.S37455.
41. Kim K., Luu Y.K., Chang C., Fang D., Hsiao B.S., Chu B., Hadjiargyrou M. Incorporation and controlled release of a hydrophilic antibiotic using poly(lactide-co-glycolide)-based electrospun nanofibrous scaffolds. *J Control Release*. 2004; 98(1): 47–56. DOI: 10.1016/j.jconrel.2004.04.009.
42. Liu K.S., Lee C.H., Wang Y.C., Liu S.J. Sustained release of vancomycin from novel biodegradable nanofiber-loaded vascular prosthetic grafts: in vitro and in vivo study. *Int J Nanomedicine*. 2015; 10: 885–891. DOI: 10.2147/IJN.S78675.
43. Matsuzaki K. Control of cell selectivity of antimicrobial peptides. *Biochim Biophys Acta*. 2009; 1788(8): 1687–92. DOI:10.1016/j.bbame.2008.09.013.
44. Ikeda T., Tazuke S. Biologically active polycations: Antimicrobial activities of Poly[trialkyl(vinylbenzyl) ammonium chloride]-type polycations. *Die Makromol. Chem. Rapid Commun*. 1983; (4): 459–461.
45. Gelman M.A., Weisblum B., Lynn D.M., Gellman S.H. Biocidal activity of polystyrenes that are cationic by virtue of protonation. *Org Lett*. 2004; 6(4): 557–60. DOI: 10.1021/ol036341+.
46. Vigliotta G., Mella M., Rega D., Izzo L. Modulating antimicrobial activity by synthesis: dendritic copolymers based on nonquaternized 2-(dimethylamino)ethyl methacrylate by Cu-mediated ATRP. *Biomacromolecules*. 2012; 13(3): 833–41. DOI: 10.1021/bm2017349.
47. Haney E.F., Mansour S.C., Hancock R.E. Antimicrobial Peptides: An Introduction. *Methods Mol Biol*. 2017; 1548: 3–22. DOI: 10.1007/978-1-4939-6737-7_1. PMID: 28013493.
48. Fan L., Sun J., Zhou M., Zhou J., Lao X., Zheng H., Xu H. DRAMP: a comprehensive data repository of antimicrobial peptides. *Sci Rep*. 2016; 6: 24482. DOI: 10.1038/srep24482.
49. Kang X., Dong F., Shi C., Liu S., Sun J., Chen J., Li H., Xu H., Lao X., Zheng H. DRAMP 2.0, an updated data repository of antimicrobial peptides. *Sci Data*. 2019; 6(1): 148. DOI: 10.1038/s41597-019-0154-y.
50. Ciumac D., Gong H., Hu X., Lu J.R. Membrane targeting cationic antimicrobial peptides. *J Colloid Interface Sci*. 2019; 537: 163–185. DOI: 10.1016/j.jcis.2018.10.103..
51. Scocchi M., Mardirossian M., Runti G., Benincasa M. Non-Membrane Permeabilizing Modes of Action of Antimicrobial Peptides on Bacteria. *Curr Top Med Chem*. 2016; 16(1): 76–88. DOI: 10.2174/1568026615666150703121009.
52. Le C.F., Fang C.M., Sekaran S.D. Intracellular Targeting Mechanisms by Antimicrobial Peptides. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017; 61(4): e02340-16. DOI: 10.1128/AAC.02340-16.
53. Andersson D.I., Hughes D., Kubicek-Sutherland J.Z. Mechanisms and consequences of bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Drug Resist Updat*. 2016; 26: 43–57. DOI: 10.1016/j.drup.2016.04.002.
54. Molchanova N., Hansen P.R., Franzky H. Advances in Development of Antimicrobial Peptidomimetics as Potential Drugs. *Molecules*. 2017; 22(9): 1430. DOI: 10.3390/molecules22091430.
55. Xue Y., Xiao H., Zhang Y. Antimicrobial polymeric materials with quaternary ammonium and phosphonium salts. *Int J Mol Sci*. 2015; 16(2): 3626–3655. DOI: 10.3390/ijms16023626.

Для цитирования: Кривкина Е.О., Матвеева В.Г., Антонова Л.В. Сосудистые протезы с противомикробным покрытием: экспериментальные разработки и внедрение в клиническую практику. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2021;10(3): 90-102. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-90-102

To cite: Krivkina E.O., Matveeva V.G., Antonova L.V. Antimicrobial vascular grafts: experimental development and implementation in clinical practice. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2021;10(3): 90-102. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-90-102



УДК 57.086.8 + 57.088.5

DOI 10.17802/2306-1278-2021-10-3-103-108

STATE-OF-THE-ART TECHNOLOGY FOR CARDIOVASCULAR RESEARCH

A.E. Yuzhalin

Department of Molecular and Cellular Oncology, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, 1515 Holcombe Boulevard, Unit 1051, Houston, Texas 77030, USA

Highlights

• This review highlights state-of-the-art technologies in cell and molecular biology. The directions of cardiovascular disease research where these technologies may lead to breakthrough discoveries are discussed.

Abstract

Heart and vascular diseases are responsible for tens of millions of deaths annually, underscoring an urgent need to improve the existing clinical practice in order to benefit patients. Advancement of basic science and technology enables understanding of disease etiology and pathogenesis at a deeper level of complexity. This mini-review article provides a summary of recent methods of cell and molecular biology applicable for current cardiovascular research. Widespread application of these approaches in cardiovascular disease research will be a key factor in the prolonged longevity and life expectancy of the general population.

Keywords

Cardiovascular disease • Method • Atherosclerosis • Single-cell sequencing • Technology

Received: 26.06.2021; received in revised form: 16.07.2021; accepted: 30.08.2021

Список сокращений

ATAC-Seq	– transposase-accessible chromatin with sequencing	LDLR	– LDL receptor
CRISPR	– clustered regularly interspaced short palindromic repeats	mRNA	– messenger ribonucleic acid
CRISPR-Cas9	– CRISPR-associated protein 9	Ribo-seq	– ribosome profiling
crRNAs	– CRISPR RNA	RNA	– ribonucleic acid
CVD	– cardiovascular disease	RNA-seq	– RNA sequencing
gRNA	– guide RNA	rRNA	– ribosomal ribonucleic acid
IMC	– imaging mass-cytometry	scRNA-seq	– single-cell RNA sequencing
LDL	– low-density lipoprotein	TOF	– tetralogy of Fallot
		TTS	– takotsubo syndrome

Introduction

Cardiovascular disease (CVD) is the leading cause of mortality and invalidization in the world. Russia is a country with one of the highest CVD deaths worldwide. In 2019, Russia showed the world's highest disability-adjusted life-years due to peripheral artery disease, alcoholic cardiomyopathy, cardiomyopathy and myocarditis, and high low-density lipoprotein (LDL) cholesterol [1]. This ominous statistic could be explained by a combination of factors including social, economic, geographical, etc. On the bright side, however, the age-standardized CVD death rates in Russia have reduced by more than 20% in the last 10 years, largely due to improvements in hospital infrastructure allowing better access to healthcare for patients in dire need.

Even though the pathophysiology of CVD is generally well studied, while CVD risk factors

are modifiable and can be controlled with altered behavior, more basic cardiovascular research is needed to improve current CVD treatment modalities and develop targeted therapies tailored to a patient's requirements. Twenty years ago, a protein serine protease proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 was found to bind LDL receptor (LDLR), which induced a conformational change in the LDLR, marking it for lysosomal degradation, which eventually led to a reduced LDL-cholesterol in the blood serum [2, 3]. This fundamental discovery made in a laboratory opened a possibility of lipid-lowering therapy for patients with statin intolerance or those with familial hypercholesterolemia, therefore offering a therapeutic niche for selective high-risk patients.

The last decade has seen a major technological development leading to the emergence of novel methods of cell and molecular biology. These new approaches

allow a deeper understanding of the occurrence and progression of diseases at unprecedented resolution. In this review article, I summarize the state-of-the-art technology applicable to current basic cardiovascular research.

Imaging Mass Cytometry

Immunostaining has been a major discovery tool for decades. This technique dates back to 1941 when Coons and colleagues developed immunofluorescence techniques for labeling antibodies [4]. While classical immunostaining is effective for both qualitative and quantitative analysis of several proteins of interest on one slide (usually 1 to 4), it does not allow the simultaneous staining of multiple (10+) antigens on the same slide. This is a major limitation in the era of big data and high-throughput technologies, and therefore immunohistochemistry and immunofluorescence (collectively termed immunostaining) are suboptimal options for use in precious clinical specimens such as tissue microarrays. In addition, conventional immunohistochemistry techniques have a number of other limitations concisely summarized by Rimm [5].

Imaging mass-cytometry (IMC) is a very recent method [6] enabling simultaneous interrogation of multiple protein markers (up to 37) on a single glass slide. Fluorescence spectra used in immunofluorescence staining have relatively broad peaks that could lead to significant signal overlaps (Figure 1A). On the contrary, the IMC technology uses metal tag spectra that are

based on mass and are detected as discrete peaks of similar intensity for similar protein expression levels (Figure 1B). Once antibodies of interest are conjugated to metal tags (usually lanthanides), they can be mixed together and applied onto a tissue in a way similar to the classical immunostaining protocol, followed by a signal detection using a high-resolution laser ablation system coupled to a mass cytometer (Figure 1C). As a result, dozens of antigens can be simultaneously evaluated on a single slide. Since rare-earth-metal isotopes used as tags do not normally occur *in vivo*, IMC images produce almost no background noise; therefore, the contrast between antigens of interest and the background is perfect for image analysis.

So far, IMC application in cardiovascular research has been very limited; nonetheless, it was used to address highly relevant scientific questions. In particular, IMC was used to identify new diagnostic targets of acute cardiac infarction [7], characterize stenotic aortic valve tissues [8], and analyze the metabolic flow in an ischemic heart [9]. These studies are all observational in nature, and it would be desirable to further apply IMC for dissecting signaling networks behind poorly studied CVDs such as, for example, Takotsubo syndrome (TTS). It remains unclear how emotional stress leads to myocardial toxicity in TTS. In some patients, TTS may lead to serious complications or even death [10]. To gain a deeper understanding of TTS at a molecular level, the in-depth IMC investigation of TTS-affected left ventricles would be a feasible approach. Another

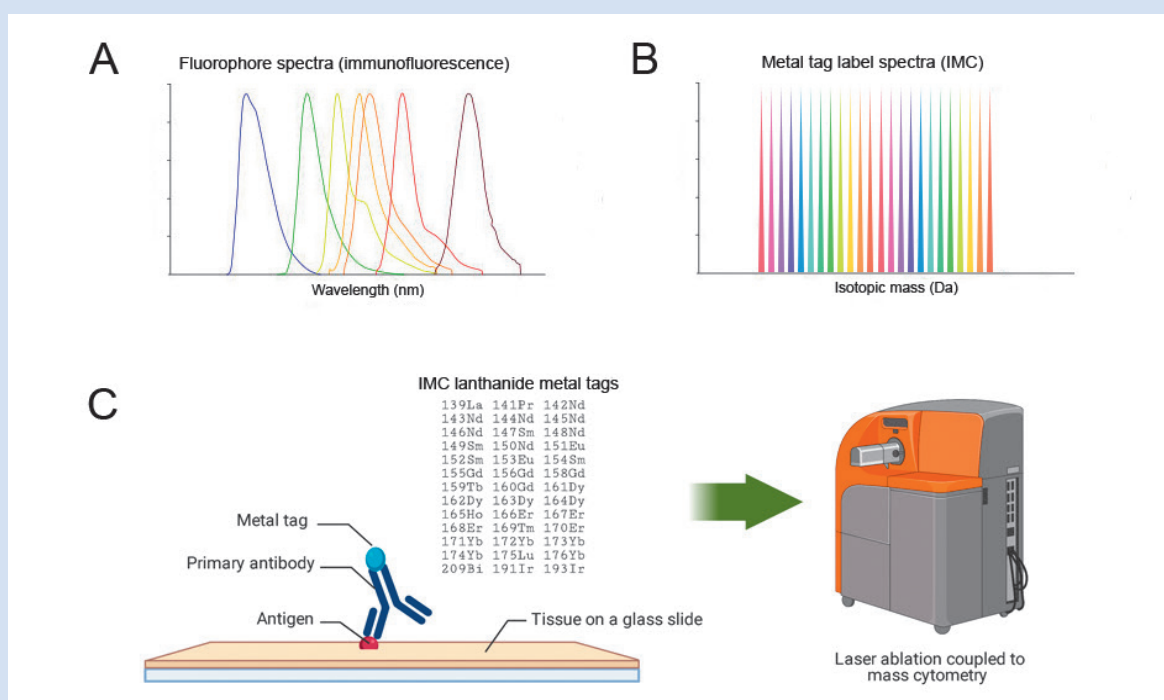


Figure 1. General principle of imaging mass cytometry. **A.** Typical emission spectra produced by fluorophores commonly used for immunostaining. Each peak corresponds to a fluorophore. Note a significant amount of overlap between the adjacent fluorophores' spectra. **B.** Isotopic mass spectra of metal tags used for imaging mass cytometry. Because each tag's molecular mass has a discrete value (rather than range), there is no overlap between dozens of tags used simultaneously. **C.** Schematic illustrating the principle of imaging mass cytometry and the list of 39 lanthanide metal tags commonly used for imaging mass cytometry. Created with BioRender.com (BioRender's Academic License).

Note: IMC – imaging mass cytometry.

example is Tetralogy of Fallot (TOF), a congenital heart defect with an unknown cause, characterized by right ventricular hypertrophy, ventricular septal defect, pulmonary stenosis, and overriding aorta [11]. Even though TOF can be treated surgically with a high rate of success, understanding molecular mechanisms of this disease at a cell level using IMC would greatly expand our knowledge about cardiovascular disorders.

Ribosome profiling

The emergence of ribonucleic acid (RNA) sequencing (RNA-seq) has revolutionized biomedical research [12]. This high-throughput method allows for counting of RNA molecules in a sample by quantifying the sequenced fragments per kilobase of the exon model per million mapped reads. RNA-seq quickly became a method of choice for those interested in understanding how particular conditions or treatments influence cells both *in vitro* and *in vivo*. Unfortunately, messenger ribonucleic acid (mRNA) concentrations do not always directly correlate with the concentration of a corresponding protein in a sample [13]. This could be due to multiple reasons, including that large amounts of mRNA are targeted for degradation and therefore never translated [14].

A more advanced RNA-seq method of ribosome profiling (Ribo-seq) represents a tool allowing to exclusively measure mRNA that is being translated at the moment [15]. The principle of Ribo-seq is the immobilization of ribosome-mRNA complexes followed by their isolation from cells. At the first step, cultured cells are pre-incubated with drugs binding to the ribosome E-site, thus blocking elongating ribosomes in their pre-translocation step. Ribosomes in the post-initiation stage can also be blocked if needed. Cells are further lysed in the presence of RNase I that digests all RNA outside the ribosome-mRNA complex (ribosomes protect mRNA from RNase I digestion). At the final step, ribosome-specific ribosomal ribonucleic acid (rRNA) is depleted and resultant mRNA fragments are converted into a deoxyribonucleic acid (DNA) library suitable for deep sequencing by a standard RNA-seq analysis protocol [16].

Ribo-seq provides an opportunity to analyze biologically meaningful transcriptomes highly relevant to a given experimental condition. In comparison with classical RNA-seq, the use of Ribo-seq may enable more accurate and reproducible results with less noise signals generally associated with irrelevant, non-translated transcripts. Cardiovascular research will greatly benefit from the widespread application of Ribo-seq technology, especially in settings where dynamic transcriptome changes in a short time period are important to gain new knowledge. For example, *in vitro* studies under flow conditions are considered a gold standard in the area of endothelial cell biology research [17–19]. However, the phenotype

of endothelial cultured under flow is highly unstable owing to sensitivity to a multitude of factors such as time spent in the flow system, flow rate, cell confluency, etc. (Kutikhin, personal communications). Thus, studies under flow supplemented by Ribo-seq translome analysis may allow the generation of more trustworthy and reproducible *in vitro* results.

Single-cell RNA sequencing

Due to the stochastic nature of biological processes, there is substantial cell-to-cell variability in the transcriptome of multicellular organisms [20]. Recent advances in microfluidics and nanotechnology have led to the boom in various single-cell sequencing techniques, including single-cell RNA sequencing (scRNA-seq). Profiling the transcriptome at a single-cell resolution has a number of advantages over classic approaches such as microarray or “bulk” RNA-seq. First, scRNA-seq reveals the diversity of phenotypes and cell states, which could provide novel insights about disease etiology or pathogenesis. Second, owing to the deconvolution of heterogeneous cell populations, scRNA-seq enables the identification of rare cell lineages within the tissue or organ of interest [21]. Third, multiple cell lineages derived from a single scRNA-seq experiment can be used to construct a trajectory inference (also called pseudotime), a quantitative measure describing how these distinct populations interact with each other in time [22].

Isolation of single cells for scRNA-seq can be achieved in a number of ways, including limiting dilution, micromanipulation, flow cytometry-activated cell sorting, microfluidic technology, negative magnetic separation, etc. These isolation methods have their own pros and cons; however, the comparison of these approaches is beyond the scope of this mini-review. Once live single cells are isolated, individual cells are lysed followed by the selection of polyadenylated mRNA molecules (e.g. mRNA) using poly[T]-primers. Thus, other RNA such as rRNA do not further proceed for sequencing. At the next step, RNA is reverse-transcribed into complementary DNA followed by its amplification by polymerase chain reaction. The resultant samples can be directly submitted for library preparation and can be further subjected to deep sequencing in accordance with standard RNA-seq protocols. During the data analysis step, single cells can be clustered into cell types and states, based on their unique gene expression signature. In addition, cells can be ordered along a predicted trajectory in pseudotime, based on computational reconstruction analysis (Figure 2). The limitation of scRNA-seq is its extremely high cost, even though it has dropped significantly in the last couple of years.

Similar to cytometry by time of flight, scRNA-seq can be used for in-depth analysis of different cell populations in a tissue. This approach could be

particularly useful to study atherosclerotic plaques that consist of multiple cell types, including endothelial cells, smooth muscle cells, infiltrating immune cells, etc. The advantage of scRNA-seq over cytometry by time of flight is that mRNA expression of each cell subpopulation can be studied in great detail. Therefore, scRNA-seq allows to study cell composition and additionally mRNA expression of each cell type. This method has proven immensely useful for a deep understanding of how the human body works both in norm and pathology; in particular, scRNAseq data is actively used to generate cardiovascular cell atlases [23].

Clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR) functional screens

CRISPR-associated protein 9 (CRISPR-Cas9) is a gene editing technology established by 2020 Nobel Prize winners Emmanuelle Charpentier and Jennifer Doudna. The mechanism underlying CRISPR-Cas9 is a prokaryote defense system against viruses, whereby bacteria store viruses' DNA fragments in their genome in order to recognize and target these viruses during subsequent infections. During their lifespan, bacteria that survive viral infections integrate new spacers into their DNA [24]. These spacers contain DNA sequences identical to certain parts of the viral genome. If the virus happens to attack the bacteria again, the latter transcribes the aforementioned spacer sequence (precursor CRISPR RNA) that further undergoes maturation, eventually generating individual CRISPR RNA (crRNAs), each composed of a repeat portion and a virus-targeting spacer. The resultant crRNAs associate with effector complexes including Cas proteins, and crRNA guides the final complex to the virus DNA, where Cas endonucleases cut the invader's

nucleic acid. Adaptation of this bacterial "adaptive immune response" machinery to the needs of gene engineering has led to the possibility of complete deletion of the gene of interest, or even replacing a gene with a customized DNA sequence [25].

For the purpose of genome editing, the bacterial system is greatly simplified and only contains two components; guide RNA (gRNA) of interest and Cas9 protein. Using the library of gRNAs, it is possible to knock out hundreds or thousands of genes in a single experiment in order to identify which genes have functional relevance in a particular *in vitro* or *in vivo* setting. In a typical experiment, a panel of gRNAs is delivered to a system in two ways: (i) positive screening, that is, selection of genes that accumulate in a population of cells due to survival advantage they confer; (ii) negative screening, which identifies genes or pathways that do not survive the selection by a drug or treatment and therefore critical for cell growth and survival. In principle, such CRISPR screens may be utilized to identify new molecular pathways associated with drug resistance and other settings. In cardiovascular research, CRISPR screening may be particularly useful for a better understanding of molecular mechanisms underlying early stages of atherosclerosis, specifically, the endothelial injury, which is a trigger of platelet aggregation and adhesion of leukocytes. Using *in vitro* models of endothelial injury, CRISPR screening may help identify genes or pathways involved in resistance to endothelial injury induced by turbulent blood flow [26] or calciprotein particles [27]. This, in turn, could lead to a better atherosclerosis prevention in the future, as subjects prone to endothelial injury or calciprotein particle formation may be subjected to tailored therapies such as potential ethylenediaminetetraacetic acid administration.

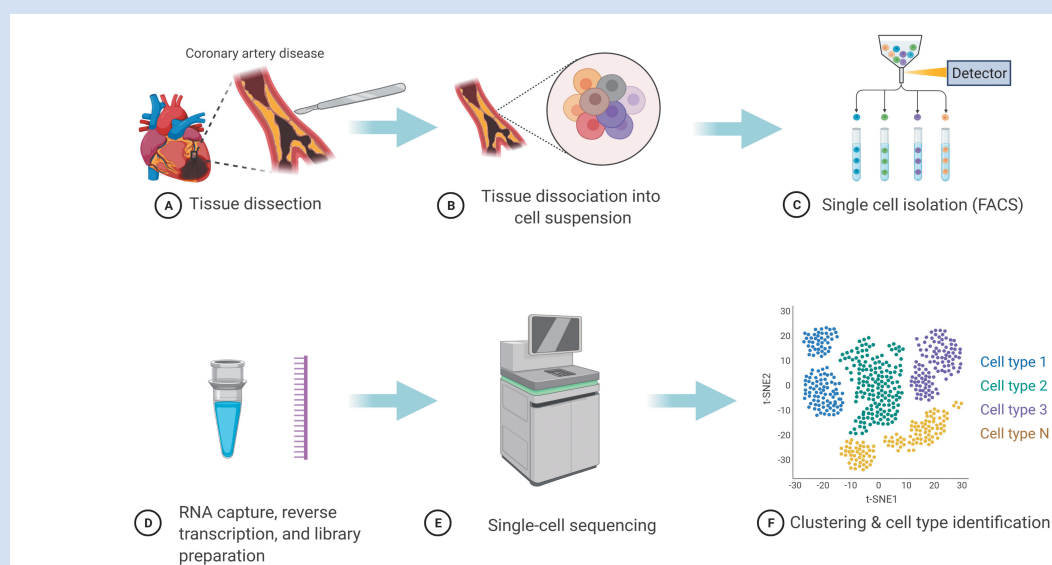


Figure 2. Single-cell RNA sequencing pipeline. Cartoon demonstrating a step-by-step protocol of single-cell RNA sequencing analysis of human atherosclerotic plaque excised from a diseased coronary artery. Adapted from “Single Cell Sequencing”, by BioRender, June 2020. Retrieved from <https://app.biorender.com/biorender-templates/t-5f2350bba193ae00b486136b-single-cell-sequencing>. Copyright 2021 by BioRender (BioRender's Academic License).

Note: FACS – fluorescence-activated cell sorting; RNA – ribonucleic acid.

ATAC-sequencing

In a cell, physical compaction of DNA into nucleosomes is tightly regulated so that only certain regions of chromatin can be transcribed at a given moment; as such, only accessible parts of the chromatin are available to transcription factors, whereas closed chromatin cannot be transcribed due to tight packaging of nucleosomes. Therefore, by defining the epigenetic landscape of living cells, chromatin accessibility acts as a major regulator of cell behavior. Transposase-accessible chromatin with sequencing (ATAC-Seq) is a recently developed method for epigenetic profiling of open chromatin. In comparison with previously developed similar methods, ATAC-Seq offers a faster experiment with a lower number of cells needed for analysis.

The principle of ATAC-Seq is specific labeling of accessible chromatin by hyperactive Tn5 Transposase, an enzyme that integrates certain sequences called next generation sequencing adapters into open chromatin DNA, whereas closed chromatin remains untagged [28]. The resulting tagged DNA can be further amplified by polymerase chain reaction followed by next generation sequencing. Sample preparation for ATAC-Seq takes several hours; in contrast, other similar methods such as formaldehyde-assisted isolation of regulatory elements and sequencing of DNase I hypersensitive sites require 3–4 days of bench work and lead to extensive washout of samples. Thus, ATAC-Seq is a user-friendly method enabling high-throughput open chromatin readout without major sample loss. The emergence of combinatorial cellular indexing methods enabled to perform ATAC-Seq at a single-cell level; for this, DNA barcoding of individual cells is required before ATAC-Seq sample preparation [29].

Development of CVDs is frequently accompanied by substantial epigenetic changes; for example, human atherosclerotic lesions display strong hypomethylation of the imprinted chromatin locus 14q32 [30], while certain epigenetic programs are activated during atrial fibrillation or heart failure [31]. Nonetheless, mechanisms of transcriptional regulation remain poorly studied. Wide-spread application of ATAC-Seq technologies in the field of CVD research will greatly advance the understanding of gene expression control during disease pathogenesis.

Conclusion

Emergence of new powerful technologies provide an outstanding opportunity for exploration of CVD's pathophysiology at both cellular and molecular levels. Approaches reviewed in this paper will undoubtedly advance our understanding of CVDs and will uncover new horizons in treatment.

Conflicts of interest

A. Yuzhalin declares no conflict of interest related to this article.

Funding

Arseniy Yuzhalin is funded by the Odyssey Fellowship Program of The University of Texas MD Anderson Cancer Center and Theodore N. Law for Scientific Achievement.

Acknowledgements

Artwork was created with biorender.com. I am also thankful to Abigail Fajardo for proofreading of this manuscript.

Author Information Form

Arseniy E. Yuzhalin, PhD, Odyssey Fellow, Department of Molecular and Cellular Oncology, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, Texas, USA; **ORCID** 0000-0001-7454-6653

REFERENCES

1. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, Addolorato G, Ammirati E, Baddour LM, et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990-2019: Update From the GBD 2019 Study. *J Am Coll Cardiol*. 2020 Dec 22;76(25):2982–3021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8121433/>
2. Lagace TA. PCSK9 and LDLR degradation: regulatory mechanisms in circulation and in cells. *Curr Opin Lipidol*. 2014 Oct;25(5):387–93.
3. Elguindy A, Yacoub MH. The discovery of PCSK9 inhibitors: A tale of creativity and multifaceted translational research. *Glob Cardiol Sci Pract*. 2013 Dec 30;2013(4):343–7.
4. Coons AH, Creech HJ, Jones RN. Immunological Properties of an Antibody Containing a Fluorescent Group. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1941 Jun 1;47(2):200–2.
5. Rimm DL. What brown cannot do for you. *Nat Biotechnol*. 2006 Aug;24(8):914–6.
6. Giesen C, Wang HAO, Schapiro D, Zivanovic N, Jacobs A, Hattendorf B, et al. Highly multiplexed imaging of tumor tissues with subcellular resolution by mass cytometry. *Nat Methods*. 2014 Apr;11(4):417–22.
7. Yajima Y, Hiratsuka T, Kakimoto Y, Ogawa S, Shima K, Yamazaki Y, Yoshikawa K, Tamaki K, Tsuruyama T. Region of Interest analysis using mass spectrometry imaging of mitochondrial and sarcomeric proteins in acute cardiac infarction tissue. *Sci Rep*. 2018 10;8(1):7493.
8. Mourino-Alvarez L, Iloro I, de la Cuesta F, Azkargorta M, Sastre-Oliva T, Escobes I, Lopez-Almodovar LF, Sanchez PL, Urreta H, Fernandez-Aviles F, Pinto A, Padial LR, Akerström F, Elortza F, Barderas MG. MALDI-Imaging Mass Spectrometry: a step forward in the anatomopathological characterization of stenotic aortic valve tissue. *Sci Rep*. 2016;6:27106.
9. Sugiura Y, Katsumata Y, Sano M, Honda K, Kajimura M, Fukuda K, Suematsu M. Visualization of *in vivo* metabolic flows reveals accelerated utilization of glucose and lactate in penumbra of ischemic heart. *Sci Rep*. 2016;6:32361.

10. Khalid N, Ahmad SA, Shlofmitz E, Chhabra L. Pathophysiology of Takotsubo Syndrome. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cited 2021 Apr 12].
11. Bailliard F, Anderson RH. Tetralogy of Fallot. *Orphanet J Rare Dis*. 2009;13;4:2.
12. Wang Z, Gerstein M, Snyder M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nat Rev Genet*. 2009 Jan;10(1):57–63.
13. Liu Y, Beyer A, Aebersold R. On the Dependency of Cellular Protein Levels on mRNA Abundance. *Cell*. 2016 Apr 21;165(3):535–50.
14. Shyu A-B, Wilkinson MF, van Hoof A. Messenger RNA regulation: to translate or to degrade. *EMBO J*. 2008 Feb 6;27(3):471–81.
15. Ingolia NT, Ghaemmighami S, Newman JRS, Weissman JS. Genome-Wide Analysis *in vivo* of Translation with Nucleotide Resolution Using Ribosome Profiling. *Science*. 2009 Apr 10;324(5924):218–23.
16. Ingolia NT, Brar GA, Rouskin S, McGeachy AM, Weissman JS. The ribosome profiling strategy for monitoring translation *in vivo* by deep sequencing of ribosome-protected mRNA fragments. *Nat Protoc*. 2012 Jul 26;7(8):1534–50.
17. Njoroge W, Hernández ACH, Musa FI, Butler R, Harper AGS, Yang Y. The Combination of Tissue-Engineered Blood Vessel Constructs and Parallel Flow Chamber Provides a Potential Alternative to *In vivo* Drug Testing Models. *Pharmaceutics*. 2021 Mar 5;13(3).
18. Shishkova D, Markova V, Sinitsky M, Tsepokina A, Velikanova E, Bogdanov L, Glushkova T, Kutikhin A. Calciprotein Particles Cause Endothelial Dysfunction under Flow. *Int J Mol Sci*. 2020;21(22):8802.
19. Ganguly A, Zhang H, Sharma R, Parsons S, Patel KD. Isolation of human umbilical vein endothelial cells and their use in the study of neutrophil transmigration under flow conditions. *J Vis Exp JoVE*. 2012 Aug 8;(66):e4032.
20. Elowitz MB, Levine AJ, Siggia ED, Swain PS. Stochastic gene expression in a single cell. *Science*. 2002 Aug 16;297(5584):1183–6.
21. Jindal A, Gupta P, Jayadeva, Sengupta D. Discovery of rare cells from voluminous single cell expression data. *Nat Commun*. 2018 Nov 9;9(1):4719.
22. Van den Berge K, Roux de Bézieux H, Street K, Saelens W, Cannoodt R, Saey Y, et al. Trajectory-based differential expression analysis for single-cell sequencing data. *Nat Commun*. 2020 Mar 5;11(1):1201.
23. Paik DT, Cho S, Tian L, Chang HY, Wu JC. Single-cell RNA sequencing in cardiovascular development, disease and medicine. *Nat Rev Cardiol*. 2020 Aug;17(8):457–73.
24. Barrangou R, Fremaux C, Deveau H, Richards M, Boyaval P, Moineau S, et al. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science*. 2007 Mar 23;315(5819):1709–12.
25. Doudna JA, Charpentier E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*. 2014;346(6213):1258096.
26. Chiu J-J, Chien S. Effects of Disturbed Flow on Vascular Endothelium: Pathophysiological Basis and Clinical Perspectives. *Physiol Rev*. 2011;91(1):327–87.
27. Kutikhin AG, Feenstra L, Kostyunin AE, Yuzhalin AE, Hillebrands J-L, Krenning G. Calciprotein Particles: Balancing Mineral Homeostasis and Vascular Pathology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2021 May 5;41(5):1607–24.
28. Buenrostro JD, Giresi PG, Zaba LC, Chang HY, Greenleaf WJ. Transposition of native chromatin for fast and sensitive epigenomic profiling of open chromatin, DNA-binding proteins and nucleosome position. *Nat Methods*. 2013 Dec;10(12):1213–8.
29. Lareau CA, Duarte FM, Chew JG, Kartha VK, Burkett ZD, Kohlway AS, et al. Droplet-based combinatorial indexing for massive-scale single-cell chromatin accessibility. *Nat Biotechnol*. 2019 Aug;37(8):916–24.
30. Aavik E, Lumivuori H, Leppänen O, Wirth T, Häkkinen S-K, Bräsen J-H, et al. Global DNA methylation analysis of human atherosclerotic plaques reveals extensive genomic hypomethylation and reactivation at imprinted locus 14q32 involving induction of a miRNA cluster. *Eur Heart J*. 2015 Apr 21;36(16):993–1000.
31. Hocker JD, Poirion OB, Zhu F, Buchanan J, Zhang K, Chiou J, et al. Cardiac cell type-specific gene regulatory programs and disease risk association. *Sci Adv*. 2021;7(20):eabf1444.

To cite: Yuzhalin A.E. State-of-the-art technology for cardiovascular research. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2021;10(3): 103-108. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-103-108



УДК 612.824

DOI 10.17802/2306-1278-2021-10-3-109-120

МОДЕЛИ ГЭБ *IN VITRO*: ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ, ТЕКУЩЕЕ ПОЛОЖЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

А.И. Мосягина¹, А.В. Моргун¹, А.Б. Салмина^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Партизана Железняка, 1, Красноярск, Российская Федерация, 660022; ² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии», Волоколамское шоссе, 80, Москва, Российская Федерация, 125367

Основные положения

• Проведен анализ имеющихся на сегодняшний день данных исследований гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) *in vitro*. Описаны предпосылки возникновения и генезис клеточных моделей ГЭБ в мировой научной практике и методы оценки их компетентности. Предложены классификация моделей ГЭБ *in vitro*, сравнительная таблица преимуществ и недостатков каждой модели и возможные области их применения; проанализированы современные тренды, проблемы и перспективы использования клеточных моделей ГЭБ.

Резюме

Все больше исследователей фокусируют внимание не на эндотелиальных клетках как отдельных единицах гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), но на сложных взаимоотношениях различных типов клеток внутри нейроваскулярной единицы, для чего широко используют различные модели ГЭБ *in vitro*. Основной точкой приложения таких моделей являются исследования проницаемости ГЭБ для различных молекул, патологических и лекарственных, в рамках изучения заболеваний и создания способов таргетной доставки терапевтических веществ в центральную нервную систему. В данной статье на основании российской и зарубежной научной литературы проведен анализ существующих моделей ГЭБ *in vitro*, их преимуществ и недостатков; освещены ключевые параметры, согласно которым оценивают релевантность модели ГЭБ *in vitro*; предложена унифицированная классификация таких моделей. По результатам анализа можно заключить, что наблюдается тенденция к переходу от 2D-моделей на полупроницаемых вставках к 3D-моделям на основе клеточных сфероидов и микрофлюидных чипов. Кроме того, использование индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека вместо первичных клеток, выделенных от животных, позволит с большей достоверностью масштабировать результаты, полученные *in vitro*, на условия *in vivo*.

Ключевые слова

Гематоэнцефалический барьер • Transwell • Матригель • Сфероиды • Микрофлюидика

Поступила в редакцию: 28.06.2021; поступила после доработки: 16.08.2021; принята к печати: 03.09.2021

OVERVIEW OF EXISTING *IN VITRO* BBB MODELS: ADVANTAGES AND DISADVANTAGES, CURRENT STATE AND FUTURE PROSPECTS

A.I. Mosiagina¹, A.V. Morgun¹, A.B. Salmina^{1,2}

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voino-Yasensky” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 1, Partizana Zheleznyaka St., Krasnoyarsk, Russian Federation, 660022; ² Research Center of Neurology, 80, Volokolamskoye Hwy, Moscow, Russian Federation, 125367

Highlights

• The review presents an analysis of the currently available data regarding the *in vitro* blood-brain barrier (BBB) models. The prerequisites for the emergence and brief history of cell-based *in vitro* BBB models in the world scientific practice and methods for assessing their competence are disclosed.

Для корреспонденции: Ангелина Ивановна Мосягина, angelina.mosiagina@gmail.com; адрес: ул. Партизана Железняка 1, Красноярск, Россия, 660022

Corresponding author: Angelina I. Mosiagina, angelina.mosiagina@gmail.com; 1, Partizana Zheleznyaka St., Krasnoyarsk, Russia, 660022

A classification of *in vitro* BBB models, a comparative table of advantages and disadvantages of each model and possible areas of their application, current trends, problems, and prospects in the use of cellular BBB models are presented.

Abstract

There is growing research focusing on endothelial cells as separate units of the blood-brain barrier (BBB), and on the complex relationships between different types of cells within a neurovascular unit. To conduct this type of studies, researches use vastly different *in vitro* BBB models. The main objective of such models is to study the BBB permeability for different molecules, and to advance the current level of understanding the mechanisms of disease and to develop methods of targeted therapy for the central nervous system. The analysis of the existing *in vitro* BBB models and their advantages/disadvantages was conducted using the clinical trial data obtained in Russian/foreign countries. In this review, the authors highlight the most relevant assessment parameters and propose a unified classification of *in vitro* BBB models. According to the performed analysis, there is a tendency to move from 2D BBB models based on semipermeable inserts to 3D BBB spheroid and microfluidic organ-on-chip models. Moreover, the use of human induced pluripotent stem cells instead of animal primary cells will make it possible to reliably scale the results obtained *in vitro* to conditions *in vivo*.

Keywords

Blood-brain barrier • Transwell • Matrigel • Spheroids • Microfluidics

Received: 28.06.2021; received in revised form: 16.08.2021; accepted: 03.09.2021

Список сокращений

ГЭБ – гематоэнцефалический барьер	ТЭС – трансэндотелиальное электрическое сопротивление
НВЕ – нейроваскулярная единица	ЦНС – центральная нервная система

Введение

Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) представляет собой сложноустроенную систему, включающую различные высокоспециализированные типы клеток, основными из которых являются эндотелиальные клетки, выстилающие сосудистую сеть головного мозга и обеспечивающие барьерную функцию [1]. Другими резидентными клетками ГЭБ являются перicytes, внедренные в аблюминальную базальную мембрану [2], астроциты, находящиеся в непосредственном контакте с другими клетками с помощью синаптических нервных окончаний [3], и нейроны [4]. Эти четыре типа клеток в совокупности с внеклеточным матриксом формируют так называемую нейроваскулярную единицу (НВЕ) [5]. Барьерная функция ГЭБ заключается в регуляции обмена элементов между кровью и мозгом и контролируется различными механизмами. Так, особенностями эндотелиального слоя микрососудов головного мозга являются наличие плотных и адгезивных контактов между эндотелиальными клетками (рис. 1) и почти полное отсутствие фенестраций, что обеспечивает высокую электрическую резистентность клеточного монослоя и контролируемую парацеллюлярную проницаемость. Следующим механизмом служит способность специфических транспортных систем и рецепторов, таких как Р-гликопротеин, белок устойчивости рака молочной железы (BCRP), белки множественной лекарствен-

ной резистентности (MRPs) и др., в просвете микрососуда и вне него регулировать межклеточный транспорт [6]. Кроме того, ключевым фактором, определяющим дифференцировку и функционирование эндотелиальных клеток, является локальное мультиклеточное микроокружение внутри ГЭБ [7].

Первые модели ГЭБ начали появляться еще в 1970-х гг. и представляли собой культуры изолированных микрососудов головного мозга [8]. В дальнейшем усовершенствование технологий выделения и культивирования микрососудов позволило получать культуры первичных эндотелиальных клеток [9]. Возможность получать чистые культуры клеток значительно способствовала развитию исследований в области ГЭБ *in vitro*, поскольку позволила избирательно создавать условия для моделирования НВЕ и точно влиять на ее компоненты. Следующим этапом в моделировании ГЭБ стало сокультивирование эндотелиальных клеток с астроцитами, в результате которого было доказано влияние астроцитов на выполнение эндотелиальными клетками барьерной функции: отмечалось значимое увеличение количества плотных контактов и уровня их организации [10]. Впоследствии при создании мультиклеточных моделей ГЭБ стали использовать и перicytes, при этом показатели трансэндотелиального электрического сопротивления (ТЭС) в трехклеточных моделях ГЭБ, содержащих в составе эндотелиальные клетки, перicytes и

астроциты, были выше, чем в моделях сокультивирования эндотелиоцитов только с перicyтами или только с астроцитами [11]. Исследования, проводимые на клеточных культурах головного мозга, стали фундаментом для создания более простых, экономически выгодных, гибких и контролируемых моделей ГЭБ *in vitro*.

Цель настоящего литературного анализа – ознакомление читателя с современными моделями ГЭБ *in vitro*, оценка их преимуществ и недостатков, освещение ключевых параметров релевантности, а также предложение унифицированной классификации таких моделей. Для решения поставленной цели проведен поиск литературных данных с использованием баз данных: PubMed/MEDLINE, Scopus, WoS, РИНЦ. При литературном анализе в 38% случаев использованы источники старше 5 лет.

Классификация моделей ГЭБ *in vitro*

На сегодняшний день разработано и исследовано множество моделей ГЭБ *in vitro*. В данной статье предлагается классифицировать их в зависимости от: 1) взаиморасположения клеток; 2) клеточного состава; 3) наличия или отсутствия тока жидкости. Таким образом, все имеющиеся модели условно можно разделить на: 1) 2D-модели и 3D-модели; 2) одно-, дву- и трехклеточные, мультикомпонентные; 3) статические и динамические. В зависимости от способа сокультивирования клеток 2D-модели, включающие два и более типа клеток, подразделяются на контактные, если разные типы клеток находятся в прямом контакте посредством разделяющей их полупроницаемой мембраны, и неконтактные, где клетки разных типов разобщены.

Ключевые параметры оценки моделей ГЭБ *in vitro*

Ключевые параметры, которыми должны обладать релевантные модели ГЭБ *in vitro*, включают: 1) физиологичный ответ клеток на биомеханические стимулы; 2) имитацию ламинарного тока жидкости и резистентности внеклеточного матрикса; 3) прямое взаимодействие клеток [12].

Трансэпителиальное/трансэндотелиальное электрическое сопротивление (ТЭС) принято научным сообществом в качестве универсального показателя целостности клеточного монослоя, с помощью которого можно оценить его барьерные функции. Оценка ТЭС широко применяется не только в базовых моделях на полупроницаемых вставках, но и более сложных моделях, как например орган-на-чипе [13]. Подробное описание технологии измерения ТЭС представлено в статье В. Srinivasan и др. (2019) [14]. В среднем показатели ТЭС в ГЭБ человека составляют $1500\text{--}8000\ \Omega \times \text{см}^2$, у крыс этот показатель колеблется от $5\ 900$ до $8\ 000\ \Omega \times \text{см}^2$. Чем глубже в модели отражаются физиологические

параметры ГЭБ, тем более высоких значений ТЭС можно достигнуть. Так, сокультивирование эндотелиальных клеток с клетками других типов или имитация тока жидкости увеличивают ТЭС [14].

Другим широко распространенным методом исследования проницаемости является использование молекул различного размера и полярности, таких как маннитол (молекулярная масса 182 кДа), инулин (5 500 кДа), сахароза (342 кДа) или флуоресцентно меченые декстраны (варьирует до 10 млн) [15]. Этим методом можно исследовать периваскулярную систему вывода, необходимую для элиминации крупных полярных молекул, для которых нет специфических транспортеров.

С помощью иммуноцитохимического окрашивания определяют экспрессию белков плотных и адгезивных контактов. К системе плотных контактов относятся: интегральные мембранные белки клаудин-1/3/5/12, окклюдин и молекулы клеточной адгезии JAM-1/2/3, а также вспомогательные (акцессорные) белки ZO-1/2/3, сингулин и другие. Адгезивные контакты представлены кадгерин-катениновым комплексом и ассоциированными белками: α -, β - и γ -катенин, N- и VE-кадгерин [16]. Основными эффлюксными транспортерами являются

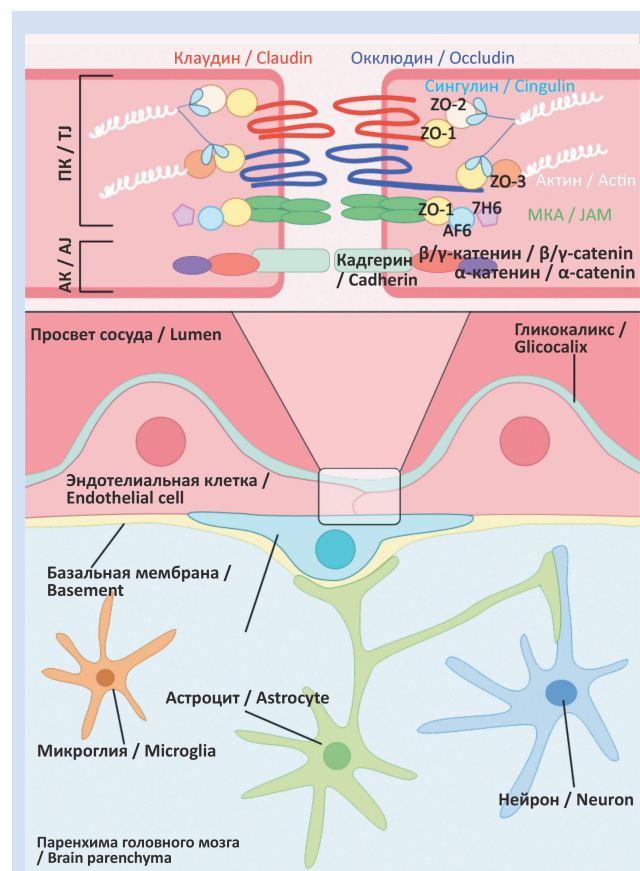


Рисунок 1. Схематическое изображение плотных и адгезивных контактов на поверхности эндотелиальных клеток

Примечание: АК – адгезивные контакты; МКА – молекулы клеточной адгезии; ПК – плотные контакты.

Figure 1. Schematic representation of tight and adherent junctions on the surface of endothelial cells

Note: AJ – adherent junctions; JAM – junction adhesion molecules; TJ – tight junctions.

Р-гликопротеин, BCRP, белки семейства MRP [17]. К ключевым представителям белков транспортных систем относят многочисленные белки семейства SLC (транспортёры растворенных веществ), например белок-переносчик глюкозы GLUT, белок-переносчик нейтральных аминокислот LAT, белок-переносчик органических анионов OATP, инсулиновый рецептор IR, рецептор трансферрина TfR, рецептор липопротеинов низкой плотности LDLR и ассоциированный с ним белок LPR и другие [18].

2D-модели ГЭБ *in vitro*

Монокультуры эндотелиальных клеток

Первыми разработанными и одновременно наиболее примитивными моделями ГЭБ *in vitro* считаются монокультуры эндотелиальных клеток микрососудов головного мозга (рис. 2, а). Однако нельзя считать данные модели неоправданными, поскольку показано, что ГЭБ может выполнять барьерную функцию и без присутствия астроцитарного компонента, как это происходит у амфибий [19]. Кроме того, недостаток барьерной функции в монокультурах можно компенсировать. Так, например, продемонстрировано, что использование питательной среды, кондиционированной астроцитами, способствует увеличению показателей ТЭС и снижению проницаемости эндотелиального монослоя для декстранов и пропиций йодида [20]. Кроме того, возможно культивировать эндотелиальные клетки в астроцит-кондиционированном внеклеточном матриксе, что также будет способствовать уменьшению проницаемости [21]. Монокультура эндотелиальных клеток использована нами при моделировании нейровоспаления. Выявлено, что воздействие индукторов нейровоспаления вирусного и бактериального генеза приводит к снижению секреции и транспорта лактата эндотелиальными клетками, а также уменьшению уровня экспрессии белков плотных контактов ZO-1 [22].

*Transwell-модели ГЭБ *in vitro**

Первой моделью ГЭБ *in vitro* с использованием фильтра для обеспечения прямого контакта между клетками, расположенными в виде монослоя на обеих его сторонах, считается модель M.P. Dehouck и др. (1990) на примере сокультуры эндотелиальных клеток и астроцитов [23]. В подобной модели значения ТЭС были выше, чем в моно- или сокультурах клеток НВЕ, и составляли примерно $660 \Omega \times \text{см}^2$, что обусловлено более обширным представительством плотных контактов на поверхности клеток эндотелия. На сегодняшний день двумерные модели на полупроницаемых вставках, так называемые Transwell systems (см. рис. 2, б), являются наиболее часто встречаемыми и широко используемыми в исследованиях ГЭБ *in vitro*. Transwell-модель представляет собой вставку с полупроницаемой мембраной из полистирола или поликарбоната толщиной 10 мкм и

порами размером 400 нм и плотностью 108 пор/мм², помещенную в лунку культурального планшета таким образом, что сформированы две камеры: наружная (люминальная), расположенная сверху вставки, и внутренняя (аблюминальная), расположенная между вставкой и дном лунки. Наружная камера имитирует пространство со стороны просвета сосуда, поэтому с этой стороны мембраны, как правило, культивируют монослой эндотелиальных клеток. Таким образом, при добавлении в лунку планшета различных молекул, патологических или лекарственных, возможно исследовать механизмы проницаемости ГЭБ и моделировать заболевания центральной нервной системы (ЦНС), например болезнь Альцгеймера [24], гипоксическое повреждение ЦНС [25] и др. Внутренняя камера имитирует паренхиму головного мозга, для ее имитации используют астроциты, нейроны или перициты, культивируемые в трех вариациях: с нижней стороны вставки, на дне лунки или комбинируя оба способа [26]. Кроме того, с использованием Transwell-моделей возможно моделирование так называемых нейрогенных ниш – областей головного мозга, в которых протекает нейрогенез. Данная технология использована нами для определения влияния адресной фотоактивации астроцитов, подвергнутых воздействию бета-амилоидного пептида, на клетки, входящие в состав нейрогенных ниш. Показано, что оптогенетическая стимуляция астроцитов способствует восстановлению процессов нейрогенеза, нарушенных действием амилоида [27].

Хотя Transwell-модель ГЭБ *in vitro* и разработана в 1990 г., она обладает рядом преимуществ по сравнению с остальными моделями, что обуславливает ее наиболее широкую представленность в исследованиях ГЭБ *in vitro*. К преимуществам использования можно отнести простоту воспроизведения, что экономит время- и трудозатраты, а также обеспечивает дешевизну и высокую контролируемость. Данная модель удобна для последующего применения таких методов, как оценка ТЭС, иммуноцитохимическое окрашивание, оценка проницаемости с использованием декстранов и флуоресцентных красителей, например Lucifer Yellow. Однако существует и ряд значительных ограничений. Так, в двумерных моделях ГЭБ *in vitro* эндотелиальные клетки спонтанно дифференцируют и быстро теряют свои ГЭБ-подобные функции, приобретая более общий эндотелиальный фенотип, что носит название фенотипического сдвига [28]. В дополнение к этому многие из современных моделей ГЭБ *in vitro* не позволяют достичь трехмерной организации клеток, требующейся для правильной клеточной дифференцировки, позиционных эффектов и поляризации. Таким образом, 2D-модели не учитывают важность межклеточных взаимодействий, что объясняет расхождение в изучении ГЭБ в условиях *in vitro* и *in vivo* [29]. Например, в случае когда используют

относительно высокие концентрации компонентов *in vitro*, где современные клеточные модели не способны рассчитать показатели активного транспорта из-за бедной экспрессии рецепторов [30]. Соответственно, недостаточность внутриклеточного транспорта и экспрессии поверхностных рецепторов делает исследования рецептор-зависимых транспортных механизмов *in vitro* менее значимыми в существующих 2D-моделях ГЭБ. Таким образом, изучение ГЭБ *in vitro* требует создания новых экспериментальных систем, которые бы обладали ключевыми характеристиками HBE *in vivo*. Это идея привела к созданию 3D-моделей ГЭБ.

3D-модели ГЭБ *in vitro*

Модели ГЭБ in vitro на основе внеклеточного матрикса

Как известно, в головном мозге клетки расположены в трехмерной организации, что обуславливает сложность и множественность межклеточных взаимодействий. Поэтому одной из актуальных и требующих решения проблем современных моделей ГЭБ *in vitro* является необходимость создания условий для свободного и трехмерного взаимодействия клеток. Первым шагом в этом направлении стали модели на основе коллагеновых гелевых матриксов (см. рис. 2, *b*). Коллаген является универсальным компонентом соединительной ткани и выступает в роли опорного субстрата для клеток, поддерживая их пространственную организацию, а следовательно, может служить искусственным скаффолдом в исследованиях *in vitro*. Первые работы с использованием коллагена в качестве матрикса для клеток различного типа проведены еще в 1930-х гг. [31], в последующих исследованиях на эндотелиальных клетках показано, что гелевые матрицы индуцируют ангиогенез, выполняя роль скаффолда, в котором клетки способны свободно мигрировать, пролиферировать и дифференцироваться, самоорганизуясь в трубчатые структуры [32]. В современных исследованиях чаще всего используют модели на основе внеклеточного матрикса «Матригель» [33]. К преимуществам таких моделей можно отнести простоту в использовании, экономическую доступность, способность имитировать морфологию ГЭБ *in vivo*. Тем не менее у данной технологии есть ряд значимых ограничений. Несмотря на то что матрикс обеспечивает трехмерную пространственную организацию клеток, крайне сложно воспроизвести состав матрицы, схожий с реальными условиями, причем пропуск даже незначительных компонентов внеклеточного матрикса может изменить его свойства, а значит, и особенности самоорганизации микрососудов. Кроме того, матриксные модели не воспроизводят условия тока крови, что также влияет на морфологию клеток и их сигнальные функции. Важным фактором является и сложность в доставке питательных компонентов клеткам, находящимся

в матриксе. Вследствие перечисленных факторов вкупе с нестабильной воспроизводимостью данные модели имеют низкую трансляционную и фармацевтическую привлекательность [34].

Сфероидные модели ГЭБ in vitro

Первая сфероидная модель ГЭБ *in vitro* создана группой исследователей под руководством E. Urich (2013) [35]. Представленная модель состояла из смешанной культуры клеток: первичных эндотелиальных клеток человека, первичных пери- и астроцитов человека. Стоит отметить, что образование мультিকлеточной сфероидной модели ГЭБ не зависело от поддержки скаффолда, так как три типа клеток самостоятельно определяли все межклеточные взаимодействия. В результате сокультивирования эндотелиальные клетки, астро- и перициты самоорганизовывались в сфероидные структуры, где эндотелиальные клетки представляли внешний слой, ядро состояло из астроцитов, а перициты располагались в среднем слое (см. рис. 2, *c*).

В модели C. Cho и др. (2017) проведено сравнение Transwell-технологии и сфероидной мультিকлеточной модели ГЭБ [36]. Так, сфероидная модель является более выгодной для воспроизведения условий, схожих с *in vivo*, поскольку отличается более высоким уровнем экспрессии белков плотных и адгезивных контактов (ZO-1, окклюдин, клаудин-5), эффлюксных насосов (P-гликопротеин, β -катенин) и транспортеров (LRP-1). Следующая модель, представляющая интерес для рассмотрения, разработана G. Nzou и коллегами (2018) и включала шесть типов клеток, полученных от человека: эндотелиальные клетки микрососудов головного мозга, перициты, астроциты, клетки микроглии, олигодендроциты и нейроны [37]. По результатам исследования сфероиды также характеризовались высоким уровнем экспрессии белков плотных и адгезивных контактов (ZO-1, клаудин-5, VE-кадгерин, β -катенин), эффлюксных насосов (P-гликопротеин) и транспортеров (GLUT-1).

Сфероидные модели относительно просты в использовании, воспроизводимы, обладают характеристиками, близкими к условиям *in vitro*, и демонстрируют релевантный ответ в меняющихся физиологических условиях. Важной особенностью сфероидных моделей является их способность сохранять жизнеспособность до 21 сут, благодаря чему возможно изучение долгосрочных эффектов токсичности различных веществ [37]. Все это делает их перспективным инструментом исследования проницаемости ГЭБ, нейротоксичности, разработки механизмов таргетной доставки лекарственных веществ в головной мозг и моделирования патологий ЦНС [38]. К недостаткам подобных моделей можно отнести их статичность, невозможность измерения ТЭС, техническую сложность в проведении иммуноцитохимического окрашивания и определении

проницаемости, недостаточность питания «ядра» сфероидов из-за гипоксии [35]. С подробным протоколом формирования сфероидов ГЭБ *in vitro* можно ознакомиться в статье S. Bergmann и др. (2018) [39].

Микрофлюидные модели ГЭБ *in vitro*

На сегодняшний день модели на основе микрофлюидных чипов являются наиболее перспективными, так как выполняют сразу ряд важнейших функций: обеспечивают трехмерную организацию клеток, прямое взаимодействие между клетками разных типов и имитируют поток крови. Ламинарный поток крови в просвете микрососудов головного мозга обеспечивает постоянное давление на стенки эндотелиальных клеток, называемое напряжением сдвига. Последнее активирует апикальные механорецепторы (интегрины, кавеолы, G-белок, ионные каналы), что приводит к запуску механотрансдукционных сигнальных путей и является пусковым механизмом для фенотипических изменений в эндотелиальных клетках [40]. Эндотелиальные клетки, подверженные давлению тока жидкости, становятся более крупными и плоскими и имеют большее количество эндотелиальных пузырьков, микрофиламентов и клатрин-покрытых ямок, что напоминает эндоте-

лиальные клетки ГЭБ *in vivo* [41]. Кроме того, напряжение сдвига индуцирует продукцию активных форм кислорода и оксида азота (II) NO, увеличивает экспрессию белков плотных и адгезивных контактов у эндотелиальных клеток, а также экспрессию ассоциированных с ними генов [17].

Микрофлюидный чип представляет собой сеть микроканалов, вытравленных или полученных методом мягкой литографии в материале подложки из стекла, окисленного кремния или полидиметилсилоксана. Внутри чипа располагается проницаемая мембрана, разделяющая люминальный и аблюминальный слои. Мембрана является платформой для сокультивирования клеток по обеим сторонам – эндотелиальных клеток со стороны просвета и других клеток со стороны паренхимы (рис. 2, *d*). Важными факторами являются толщина мембраны, плотность пор и их размер, поскольку они могут влиять на сигнальную трансдукцию между клетками. Чаще всего используют следующие параметры: толщина мембраны 10 мкм, размер пор 0,2–0,4 мкм, плотность пор 108/мм² [42].

Первые микрофлюидные чипы разработаны в начале 1990-х гг. из стекла или окисленного кремния и

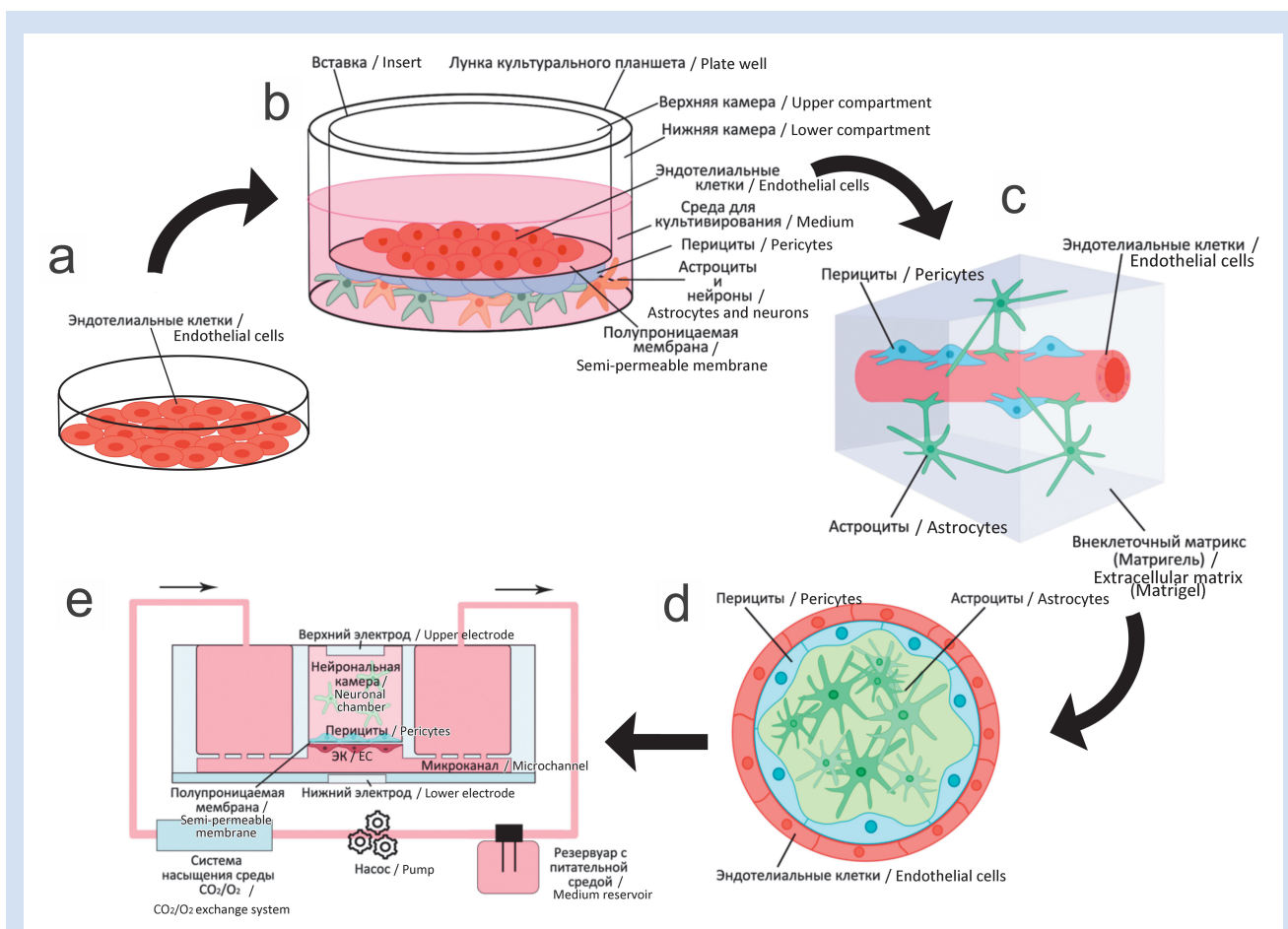


Рисунок 2. Эволюция и схематическое изображение моделей гематоэнцефалического барьера *in vitro*: *a* – монокультуры эндотелиальных клеток; *b* – Transwell-модели; *c* – модели на основе внеклеточного матрикса; *d* – сфероидные модели; *e* – микрофлюидные модели

Примечание: ЭК – эндотелиальные клетки.

Figure 2. Evolution and schematic representation of the blood-brain barrier models *in vitro*: *a* – monocultures of endothelial cells; *b* – transwell-models; *c* – models based on extracellular matrix; *d* – spheroidal models; *e* – microfluidic models

Note: EC – endothelial cells.

были использованы в микромеханических и разделительных системах. Одной из первых работ по применению микрофлюидных технологий в биомедицине является исследование M.D. Frame и соавт. (1995), в котором эндотелиальные клетки были культивированы внутри микроканала и подвергались перфузии культуральной среды на протяжении 24 ч [43]. Следующей работой, приведшей к созданию первой полноценной микрофлюидной системы, стало исследование K.A. Stanness и др. (1996), где были сокультивированы эндотелиальные клетки аорты быка и астроциты глиомы С6 крысы [44]. Модель состояла из камеры с микрокапилляром, стенки которого представляли собой мембрану из полого полиэфирного волокна. Эндотелиальные клетки культивировали на люминальной стороне мембраны, а астроциты на аблюминальной, ток жидкости обеспечивался насосом, закачивающим культуральную среду в камеру. Последующие модели усложнялись как в клеточном составе, так и устройстве. Значительным шагом вперед стало использование полидиметилсилоксана в микрофлюидике. Благодаря прозрачности полидиметилсилоксан позволяет визуализировать происходящие внутри микроканалов события в реальном времени. Также в силу эластичности он невероятно прочен и, что более важно, удобен для воспроизведения таких органов-на-чипе, в которых клетки подвергаются постоянному механическому воздействию. Классическим и наиболее известным подобным примером является модель легкие-на-чипе [45]. Отдельного внимания заслуживает технология 3D-печати в микрофлюидике, постепенно вымещающая метод мягкой литографии благодаря простоте, возможности воспроизводить сложные пространственные структуры и использовать широкий спектр материалов. Метод 3D-печати заключается в использовании 3D-модели для ее послойного и высокоточного конструирования с помощью систем автоматизированного проектирования.

Примером современной микрофлюидной системы является модель В.М. Маоз и коллег (2018) [46], в которой инкорпорированы три микрофлюидных чипа: один чип моделировал паренхиму головного мозга, а два остальных – инфлюкс/эффлюкс в пределах ГЭБ. Мозг-на-чипе был представлен нейральными стволовыми клетками человека и астроцитами, а ГЭБ-на-чипе включал монослой эндотелиальных клеток в «сосудистой» (нижней) камере и перициты с астроцитами в «периваскулярной» (верхней) камере. Больше микрофлюидных моделей рассмотрено в статье М.И. Теixeira и соавт. (2020) [47].

Современные возможности 3D-печати позволяют исследователям быть невероятно гибкими в дизайне чипа и интегрировать мультифункциональные биосенсоры, микроэлектроды и системы визуализации для мониторинга в режиме реального времени. Также микрофлюидные модели за счет

постоянного ламинарного тока жидкости по микроканалам обеспечивают автоматизированное питание клеток, снижают риск контаминации и создают напряжение сдвига, что обуславливает клеточную морфологию, приближенную к условиям *in vivo*. К недостаткам микрофлюидных моделей относятся отсутствие стандартизированных параметров, сложность оценки ТЭС и показателей напряжения сдвига. Данные модели трудоемки в воспроизведении и использовании, требуют специальной подготовки исследователей и наличия специализированного оборудования, что лимитирует их доступность среди научного сообщества.

Заключение

У каждой из существующих моделей ГЭБ *in vitro* есть преимущества и недостатки (таблица), однако ни одна из них не является идеальной, так как не воспроизводит барьерные функции *in vivo*, такие как высокие показатели ТЭС, экспрессия белков транспортных и эффлюксных систем и межклеточных контактов. Модель ГЭБ должна представлять собой динамическую систему, чувствительную к питательным, воспалительным, гемодинамическим и фармакологическим стимулам, а также учитывать трехмерную организацию ГЭБ и ламинарный поток жидкости. И последнее, но немаловажное условие: модель должна быть интуитивно понятной и простой в использовании, эффективной по экономическим и временным затратам, масштабируемой и контролируемой.

Решением многих исследовательских задач может стать создание компьютерных моделей ГЭБ *in silico* [48]. В перспективе именно компьютерные модели будут являться наиболее удобными для прогнозирования воздействия лекарственных веществ и их биодоступности в ЦНС с точки зрения времени и трудозатрат, а также экономической выгоды. Так, многие фармацевтические компании уже внедрили эту технологию в ранние этапы разработки препаратов [49]. Однако качество компьютерных моделей полностью зависит от вводимых параметров. Тогда как многие физико-химические характеристики лекарственного вещества могут быть предсказаны по его химической структуре, информации относительно транспортных механизмов и метаболической трансформации в ГЭБ крайне мало.

Другим перспективным направлением является использование индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека. Клетки, выделенные от животных, отличаются по характеристикам от клеток человека, а потому модели ГЭБ на животных клетках нельзя напрямую масштабировать на условия *in vivo*, что затрудняет их применение в исследованиях фармацевтических препаратов и механизмов заболеваний ЦНС [50]. С другой стороны, получение первичных культур клеток лимитировано

Преимущества и недостатки моделей ГЭБ *in vitro*
Advantages and disadvantages of the BBB models *in vitro*

Модели ГЭБ <i>in vitro</i> / BBB model <i>in vitro</i>	Преимущества / Advantages	Недостатки / Disadvantages
Монокультуры эндотелиальных клеток / Monocultures of endothelial cells	• Простота / Simplicity • Экономическая доступность / Affordability	• Отсутствие напряжения сдвига / No «shear stress» • Двумерная организация / 2D-organization • Отсутствие других клеток / Lack of other cell types • Низкая масштабируемость / Low scalability
Transwell-модели / Transwell-models	• Простота / Simplicity • Экономическая доступность / Affordability • Контролируемость / Controllability • Спектр методов исследования / Range of research methods	• Отсутствие напряжения сдвига / No «shear stress» • Двумерная организация / 2D-organization • Фенотипический сдвиг / «Phenotypic drift» • Низкая масштабируемость / Low scalability
Модели на основе внеклеточного матрикса / ECM-based models	• Простота / Simplicity • Экономическая доступность / Affordability • Трехмерная организация / 3D-organization	• Отсутствие напряжения сдвига / No «shear stress» • Низкая воспроизводимость состава матрицы / Low reproducibility of ECM composition • Недостаточность питания / Lack of nutrition
Сфероидные модели / Spheroids	• Простота / Simplicity • Экономическая доступность / Affordability • Трехмерная организация / 3D-organization • Отсутствие скаффолда / No need in a scaffold • Высокая масштабируемость / High scalability	• Отсутствие напряжения сдвига / No «shear stress» • Гипоксия «ядра» сфероида / Hypoxia of a spheroid's «core» • Невозможность оценки ТЭС / Impossibility of TEER measurement • Сложность проведения ИЦХ / Difficulty in ICC
Микрофлюидные модели ГЭБ <i>in vitro</i> / Microfluidic BBB models <i>in vitro</i>	• Гибкость / Flexibility • Трехмерная организация / 3D-organization • Напряжение сдвига / «Shear stress» • Постоянное питание клеток / Constant nutrition of cells • Низкий риск контаминации / Reduced risk of contamination • Высокая масштабируемость / High scalability	• Сложность / Complexity • Отсутствие стандартизированных параметров / Lack of standardized parameters • Сложность оценки ТЭС и напряжения сдвига / Difficulty in TEER and «shear stress» measurement

Примечание: ГЭБ – гематоэнцефалический барьер; ИЦХ – иммуноцитохимия; ТЭС – трансэндотелиальное электрическое сопротивление.
Note: BBB – blood-brain barrier; ECM – extracellular matrix; ICC – immunocytochemistry; TEER – transendothelial electrical resistance.

в силу биоэтических причин. Решением данной проблемы могут стать и уже становятся индуцированные плюрипотентные стволовые клетки человека, основным преимуществом которых является возможность создания персонализированной модели патологии конкретного пациента, от которого они выделены.

За последние пятьдесят лет спектр существующих моделей ГЭБ *in vitro* значительно расширился. Можно подвести итог и охарактеризовать следующую тенденцию: несмотря на то что двумерные модели остаются незаменимым инструментом в исследованиях проницаемости ГЭБ, они не отвечают запросам времени и проигрывают трехмерным моделям в значимости результатов. Использование сфероидов и полученных с помощью 3D-печати микрофлюидных моделей набирает популярность среди лабораторий по всему миру. В перспективе широкая доступность трехмерных моделей не только в лабораториях экономически развитых,

но и развивающихся стран обеспечит прогресс в понимании механизмов функционирования ГЭБ, патофизиологии таких состояний, как острая и хроническая нейродегенерация, нейровоспаление, ишемическое повреждение головного мозга; даст толчок развитию персонализированной медицины и алгоритмов таргетной доставки лекарственных веществ в ЦНС.

Конфликт интересов

А.И. Мосягина заявляет об отсутствии конфликтов интересов. А.В. Моргун заявляет об отсутствии конфликтов интересов. А.Б. Салмина входит в редакционную коллегию журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний».

Финансирование

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Информация об авторах

Мосягина Ангелина Ивановна, очный аспирант кафедры биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, младший научный сотрудник научно-исследовательского института молекулярной медицины и патобиохимии федерального государственного

Author Information Form

Mosiagina Angelina I., MD, PhD student at the Department of Biological Chemistry, Junior Researcher at the Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Krasnoyarsk State Medical University named after

бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красноярск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-7344-7925

Моргун Андрей Васильевич, доктор медицинских наук, доцент кафедры педиатрии института последипломного образования, декан педиатрического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красноярск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-9644-5500

Салмина Алла Борисовна, доктор медицинских наук, профессор главный научный сотрудник научно-исследовательского института молекулярной медицины и патобиохимии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красноярск, Российская Федерация; главный научный сотрудник и заведующая лабораторией экспериментальной нейрцитологии отдела исследований мозга федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-4012-6348

Professor V.F. Voino-Yasenetsky” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-7344-7925

Morgun Andrey V., MD, PhD, Associate Professor at the Department of Pediatrics, Institute of Postgraduate Education, Chair, Department of Pediatrics, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voino-Yasenetsky” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-9644-5500

Salmina Alla B., MD, PhD, Professor, Leading Researcher at the Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voino-Yasenetsky” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation; Leading Researcher, Head of the Laboratory of Experimental Neurocytology, Department of Brain Research, Research Center of Neurology, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-4012-6348

Вклад авторов в статью

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

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

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

Author Contribution Statement

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Langen U.H., Ayloo S., Gu C. Development and Cell Biology of the Blood-Brain Barrier. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2019; 35: 591–613. doi:10.1146/annurev-cellbio-100617-062608
2. Mäe M.A., He L., Nordling S., Vazquez-Liebanas E., Nahar K., Jung B., Li X., Tan B.C., Chin F.J., Cazenave-Gassiot A., Wenk M.R., Zarb Y., Lavina B., Quaggin S.E., Jeansson M., Gu C., Silver D.L., Vanlandewijck M., Butcher E.C., Keller A., Betsholtz C. Single-Cell Analysis of Blood-Brain Barrier Response to Pericyte Loss. *Circ Res.* 2021; 128 (4): e46–e62. doi:10.1161/CIRCRESAHA.120.317473
3. Heithoff B.P., George K.K., Phares A.N., Zuidhoek I.A., Munoz-Ballester C., Robel S. Astrocytes are necessary for blood-brain barrier maintenance in the adult mouse brain. *Glia.* 2021; 69 (2): 436–472. doi:10.1002/glia.23908
4. Kaplan L., Chow B.W., Gu C. Neuronal regulation of the blood-brain barrier and neurovascular coupling. *Nat Rev Neurosci.* 2020; 21 (8): 416–432. doi:10.1038/s41583-020-0322-2
5. Iadecola C. The Neurovascular Unit Coming of Age: A Journey through Neurovascular Coupling in Health and Disease. *Neuron.* 2017; 96 (1): 17–42. doi:10.1016/j.neuron.2017.07.030
6. Sweeney M.D., Zhao Z., Montagne A., Nelson A.R., Zlokovic B.V. Blood-Brain Barrier: From Physiology to Disease and Back. *Physiol Rev.* 2019; 99 (1): 21–78. doi:10.1152/physrev.00050.2017
7. Villabona-Rueda A., Erice C., Pardo C.A., Stins M.F. The Evolving Concept of the Blood Brain Barrier (BBB): From a Single Static Barrier to a Heterogeneous and Dynamic Relay Center. *Front Cell Neurosci.* 2019; 405. doi:10.3389/fncel.2019.00405
8. Joó F., Karnushina I. A procedure for the isolation of capillaries from rat brain. *Cytobios.* 1973; 8 (29): 41–48
9. Bowman P.D., Ennis S.R., Rarey K.E., Betz A.L., Goldstein G.W. Brain microvessel endothelial cells in tissue culture: a model for study of blood-brain barrier permeability. *Ann Neurol.* 1983; 14 (4): 396–402. doi:10.1002/ana.410140403
10. Tao-Cheng J.H., Nagy Z., Brightman M.W. Tight junctions of brain endothelium in vitro are enhanced by astroglia. *J Neurosci.* 1987; 7 (10): 3293–3299. doi:10.1523/JNEUROSCI.07-10-03293.1987
11. Hatherell K., Couraud P.-O., Romero I.A., Weksler B., Pilkington G.J. Development of a three-dimensional, all-human in vitro model of the blood-brain barrier using mono-, co-,

and tri-cultivation Transwell models. *J Neurosci Methods*. 2011; 199 (2): 223–229. doi:10.1016/j.jneumeth.2011.05.012

12. Liu Y., Gill E., Huang Y.Y.S. Microfluidic on-chip biomimicry for 3D cell culture: a fit-for-purpose investigation from the end user standpoint. *Futur Sci OA*. 2017; 3 (2): FSO173. doi:10.4155/fsoa-2016-0084

13. van der Helm M.W., Odijk M., Frimat J.-P., van der Meer A.D., Eijkel J.C.T., van den Berg A., Segerink L.I. Direct quantification of transendothelial electrical resistance in organs-on-chips. *Biosens Bioelectron*. 2016; 85: 924–929. doi:10.1016/j.bios.2016.06.014

14. Srinivasan B., Kolli A.R. Transepithelial/Transendothelial Electrical Resistance (TEER) to Measure the Integrity of Blood-Brain Barrier. Humana Press, New York, NY: Springer New York; c2019. 99–114p. (Barichello T., editor. Blood-Brain Barrier. Neuromethods; vol 142). doi:10.1007/978-1-4939-8946-1_6

15. Hladky S.B., Barrand M.A. Elimination of substances from the brain parenchyma: efflux via perivascular pathways and via the blood-brain barrier. *Fluids Barriers CNS*. 2018; 15 (1): 30. doi:10.1186/s12987-018-0113-6

16. Bayir E., Sendemir A. Role of Intermediate Filaments in Blood-Brain Barrier in Health and Disease. *Cells*. 2021; 10 (6): 1400. doi:10.3390/cells10061400

17. Kadry H., Noorani B., Cucullo L. A blood-brain barrier overview on structure, function, impairment, and biomarkers of integrity. *Fluids Barriers CNS*. 2020; 17 (1): 69. doi:10.1186/s12987-020-00230-3

18. Abdul Razzak R., Florence G.J., Gunn-Moore F.J. Approaches to CNS Drug Delivery with a Focus on Transporter-Mediated Transcytosis. *Int J Mol Sci*. 2019; 20 (12): 3108. doi:10.3390/ijms20123108

19. Crone C., Olesen S.P. Electrical resistance of brain microvascular endothelium. *Brain Res*. 1982; 241 (1): 49–55. doi:10.1016/0006-8993(82)91227-6

20. Siddharthan V., Kim Y. V., Liu S., Kim K.S. Human astrocytes/astrocyte-conditioned medium and shear stress enhance the barrier properties of human brain microvascular endothelial cells. *Brain Res*. 2007; 1147: 39–50. doi:10.1016/j.brainres.2007.02.029

21. Hartmann C., Zozulya A., Wegener J., Galla H.-J. The impact of glia-derived extracellular matrices on the barrier function of cerebral endothelial cells: an in vitro study. *Exp Cell Res*. 2007; 313 (7): 1318–1325. doi:10.1016/j.yexcr.2007.01.024

22. Бойцова Е.Б., Моргун А.В., Осипова Е.Д., Мартынова Г.П., Салмина А.Б. Изменение рецепции и транспорта лактата церебральным эндотелием под воздействием индуктора вирусного и бактериального воспаления *in vitro*. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2020; 5 (1): 8-14. doi:10.23946/2500-0764-2020-5-1-8-14

23. Dehouck M.P., Méresse S., Delorme P., Fruchart J.C., Cecchelli R. An easier, reproducible, and mass-production method to study the blood-brain barrier in vitro. *J Neurochem*. 1990; 54 (5): 1798–1801. doi:10.1111/j.1471-4159.1990.tb01236.x

24. Cenini G., Hebisch M., Iefremova V., Flitsch L.J., Breitzkreuz Y., Tanzi R.E., Kim D.Y., Peitz M., Brüstle O. Dissecting Alzheimer's disease pathogenesis in human 2D and 3D models. *Mol Cell Neurosci*. 2021; 110: 103568. doi:10.1016/j.mcn.2020.103568

25. Моргун А.В., Кувачева Н.В., Хилажева Е.Д., Таранушенко Т.Е., Салмина А.Б. Особенности экспрессии коннексинов клетками нейроваскулярной единицы в норме и при гипоксии в условиях эксперимента. *Бюллетень сибирской медицины*. 2014; 13 (6): 5-9. doi:10.20538/1682-0363-2014-6-5-9

26. Modarres H.P., Janmaleki M., Novin M., Saliba J., El-Hajj F., RezayatiCharan M., Seyfoori A., Sadabadi H., Vandal M., Nguyen M.D., Hasan A., Sanati-Nezhad A. In vitro models and systems for evaluating the dynamics of drug delivery to the healthy and diseased brain. *J Control Release*. 2018; 273: 108-130. doi:10.1016/j.jconrel.2018.01.024

27. Моргун, А. В., Осипова, Е. Д., Бойцова, Е. Б., Шуваев, А. Н., Комлева, Ю. К., Труфанова, Л. В., Вайс, Е. Ф.,

Салмина, А. Б. Астроцит-опосредованные механизмы регуляции нейрогенеза в модели нейрогенной ниши *in vitro* при действии Аβ1-42. *Биомедицинская химия*. 2019; 65 (5): 366-373. doi:10.18097/PBMC20196505366

28. Urich E., Lazic S.E., Molnos J., Wells I., Freskgård P.-O. Transcriptional profiling of human brain endothelial cells reveals key properties crucial for predictive in vitro blood-brain barrier models. *PLoS One*. 2012; 7 (5): e38149. doi:10.1371/journal.pone.0038149

29. Neuwelt E., Abbott N.J., Abrey L., Banks W.A., Blakley B., Davis T., Engelhardt B., Grammas P., Nedergaard M., Nutt J., Pardridge W., Rosenberg G.A., Smith Q., Drewes L.R. Strategies to advance translational research into brain barriers. *Lancet Neurol*. 2008; 7 (1): 84–96. doi:10.1016/S1474-4422(07)70326-5

30. Hakkarainen J.J., Jalkanen A.J., Kääriäinen T.M., Keski-Rahkonen P., Venäläinen T., Hokkanen J., Mönkkönen J., Suhonen M., Forsberg M.M. Comparison of in vitro cell models in predicting in vivo brain entry of drugs. *Int J Pharm*. 2010; 402 (1–2): 27–36. doi:10.1016/j.ijpharm.2010.09.016

31. Ehrmann R.L., Gey G.O. The Growth of Cells on a Transparent Gel of Reconstituted Rat-Tail Collagen2. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 1956; 16 (6): 1375–1403. doi:10.1093/jnci/16.6.1375

32. Davis G.E., Koh W., Stratman A.N. Mechanisms controlling human endothelial lumen formation and tube assembly in three-dimensional extracellular matrices. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2007; 81 (4): 270–285. doi:10.1002/bdrc.20107

33. Wang H., Yang H., Shi Y., Xiao Y., Yin Y., Jiang B., Ren H., Chen W., Xue Q., Xu X. Reconstituting neurovascular unit with primary neural stem cells and brain microvascular endothelial cells in three-dimensional matrix. *Brain Pathol*. 2021; 31 (5): e12940. doi:10.1111/bpa.12940

34. Bhalerao A., Sivandzade F., Archie S.R., Chowdhury E.A., Noorani B., Cucullo L. In vitro modeling of the neurovascular unit : advances in the field. *Fluids Barriers CNS*. 2020; 1–20. doi:10.1186/s12987-020-00183-7

35. Urich E., Patsch C., Aigner S., Graf M., Iacone R., Freskgård P.O. Multicellular self-assembled spheroidal model of the blood brain barrier. *Sci Rep*. 2013; 3: 1500. doi:10.1038/srep01500

36. Cho C., Wolfe J.M., Fadzen C.M., Calligaris D., Hornburg K., Chiocca E.A., Agar N.Y.R., Pentelute B.L., Lawler A.E. Blood-brain-barrier spheroids as an in vitro screening platform for brain-penetrating agents. *Nat Commun*. 2017; 8: 1–14. doi:10.1038/ncomms15623.

37. Nzou G., Wicks R.T., Wicks E.E., Seale S.A., Sane C.H., Chen A., Murphy S.V., Jackson J.D., Atala A.J. Human Cortex Spheroid with a Functional Blood Brain Barrier for High-Throughput Neurotoxicity Screening and Disease Modeling. *Sci Rep*. 2018; 8 (1): 7413. doi:10.1038/s41598-018-25603-5

38. Sokolova V., Nzou G., Meer S.B. Van Der, Ruks T., Heggen M., Loza K., Hagemann N., Murke F., Giebel B., Hermann D.M., Atala A.J., Epple M. Acta Biomaterialia Ultrasmall gold nanoparticles (2 nm) can penetrate and enter cell nuclei in an in vitro 3D brain spheroid model. *Acta Biomater*. 2020; 111: 349–362. doi:10.1016/j.actbio.2020.04.023

39. Bergmann S., Lawler S.E., Qu Y., Fadzen C.M., Wolfe J.M., Regan M.S., Pentelute B.L., Agar N.Y.R., Cho C.-F. Blood-brain-barrier organoids for investigating the permeability of CNS therapeutics. *Nat Protoc*. 2018; 13 (12): 2827–2843. doi:10.1038/s41596-018-0066-x

40. Ando J., Yamamoto K. Vascular mechanobiology: endothelial cell responses to fluid shear stress. *Circ J*. 2009; 73 (11): 1983–1992. doi:10.1253/circj.cj-09-0583

41. Rochfort K.D., Cummins P.M. In Vitro Cell Models of the Human Blood-Brain Barrier: Demonstrating the Beneficial Influence of Shear Stress on Brain Microvascular Endothelial Cell Phenotype. Humana Press, New York, NY: Springer New York; 2019. 71–98p. doi:10.1007/978-1-4939-8946-1_5

42. Jiang L., Li S., Zheng J., Li Y., Huang H. Recent Progress in Microfluidic Models of the Blood-Brain Barrier. *Micromachines*. 2019; 10 (6): 375. doi:10.3390/mi10060375

43. Frame M.D., Sarelus I.H. A system for culture of endothelial cells in 20–50-microns branching tubes. *Microcirculation*. 1995; 2 (4): 377–385. doi:10.3109/10739689509148282.

44. Stanness K.A., Guatteo E., Janigro D. A dynamic model of the blood-brain barrier “in vitro”. *Neurotoxicology*. 1996; 17 (2): 481–496.

45. Huh D., Leslie D.C., Matthews B.D., Fraser J.P., Jurek S., Hamilton G.A., et al. A human disease model of drug toxicity-induced pulmonary edema in a lung-on-a-chip microdevice. *Sci Transl Med*. 2012; 4 (159): 159ra147. doi:10.1126/scitranslmed.3004249

46. Maoz B.M., Herland A., FitzGerald E.A., Grevesse T., Vidoudez C., Pacheco A.R., Sheehy S.P., Park T.-E., Dauth S., Mannix R., Budnik N., Shores K., Cho A., Nawroth J.C., Segrè D., Budnik B., Ingber D.E., Parker K.K. A linked organ-on-chip model of the human neurovascular unit reveals the metabolic

coupling of endothelial and neuronal cells. *Nat Biotechnol*. 2018; 36 (9): 865–874. doi:10.1038/nbt.4226

47. Teixeira M.L., Amaral M.H., Costa P.C., Lopes C.M., Lamprou D.A. Recent Developments in Microfluidic Technologies for Central Nervous System Targeted Studies. *Pharmaceutics*. 2020; 12 (6): 542. doi:10.3390/pharmaceutics12060542

48. Shityakov S., Förster C.Y. Computational simulation and modeling of the blood-brain barrier pathology. *Histochem Cell Biol*. 2018; 149 (5): 451–459. doi:10.1007/s00418-018-1665-x

49. Alqahtani S. In silico ADME-Tox modeling: progress and prospects. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2017; 13 (11): 1147–1158. doi:10.1080/17425255.2017.1389897

50. Essayan-Perez S., Zhou B., Nabet A.M., Wernig M., Huang Y.A. Modeling Alzheimer's disease with human iPSC cells: advancements, lessons, and applications. *Neurobiol Dis*. 2019; 130: 104503. doi:10.1016/j.nbd.2019.104503

REFERENCES

1. Langen U.H., Ayloo S., Gu C. Development and Cell Biology of the Blood-Brain Barrier. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2019; 35: 591–613. doi:10.1146/annurev-cellbio-100617-062608

2. Mäe M.A., He L., Nordling S., Vazquez-Liebanas E., Nahar K., Jung B., Li X., Tan B.C., Chin F.J., Cazenave-Gassiot A., Wenk M.R., Zarb Y., Lavina B., Quaggin S.E., Jeansson M., Gu C., Silver D.L., Vanlandewijck M., Butcher E.C., Keller A., Betsholtz C. Single-Cell Analysis of Blood-Brain Barrier Response to Pericyte Loss. *Circ Res*. 2021; 128 (4): e46–e62. doi:10.1161/CIRCRESAHA.120.317473

3. Heithoff B.P., George K.K., Phares A.N., Zuidhoek I.A., Munoz-Ballester C., Robel S. Astrocytes are necessary for blood-brain barrier maintenance in the adult mouse brain. *Glia*. 2021; 69 (2): 436–472. doi:10.1002/glia.23908

4. Kaplan L., Chow B.W., Gu C. Neuronal regulation of the blood-brain barrier and neurovascular coupling. *Nat Rev Neurosci*. 2020; 21 (8): 416–432. doi:10.1038/s41583-020-0322-2

5. Iadecola C. The Neurovascular Unit Coming of Age: A Journey through Neurovascular Coupling in Health and Disease. *Neuron*. 2017; 96 (1): 17–42. doi:10.1016/j.neuron.2017.07.030

6. Sweeney M.D., Zhao Z., Montagne A., Nelson A.R., Zlokovic B.V. Blood-Brain Barrier: From Physiology to Disease and Back. *Physiol Rev*. 2019; 99 (1): 21–78. doi:10.1152/physrev.00050.2017

7. Villabona-Rueda A., Erice C., Pardo C.A., Stins M.F. The Evolving Concept of the Blood Brain Barrier (BBB): From a Single Static Barrier to a Heterogeneous and Dynamic Relay Center. *Front Cell Neurosci*. 2019; 405. doi:10.3389/fncel.2019.00405

8. Joó F., Karnushina I. A procedure for the isolation of capillaries from rat brain. *Cytobios*. 1973; 8 (29): 41–48

9. Bowman P.D., Ennis S.R., Rarey K.E., Betz A.L., Goldstein G.W. Brain microvessel endothelial cells in tissue culture: a model for study of blood-brain barrier permeability. *Ann Neurol*. 1983; 14 (4): 396–402. doi:10.1002/ana.410140403

10. Tao-Cheng J.H., Nagy Z., Brightman M.W. Tight junctions of brain endothelium in vitro are enhanced by astroglia. *J Neurosci*. 1987; 7 (10): 3293–3299. doi:10.1523/JNEUROSCI.07-10-03293.1987

11. Hatherell K., Couraud P.-O., Romero I.A., Weksler B., Pilkington G.J. Development of a three-dimensional, all-human in vitro model of the blood-brain barrier using mono-, co-, and tri-cultivation Transwell models. *J Neurosci Methods*. 2011; 199 (2): 223–229. doi:10.1016/j.jneumeth.2011.05.012

12. Liu Y., Gill E., Huang Y.Y.S. Microfluidic on-chip biomimicry for 3D cell culture: a fit-for-purpose investigation from the end user standpoint. *Futur Sci OA*. 2017; 3 (2): FSO173. doi:10.4155/fsoa-2016-0084

13. van der Helm M.W., Odijk M., Frimat J.-P., van der Meer A.D., Eijkel J.C.T., van den Berg A., Segerink L.I. Direct quantification of transendothelial electrical resistance

in organs-on-chips. *Biosens Bioelectron*. 2016; 85: 924–929. doi:10.1016/j.bios.2016.06.014

14. Srinivasan B., Kolli A.R. Transepithelial/Transendothelial Electrical Resistance (TEER) to Measure the Integrity of Blood-Brain Barrier. Humana Press, New York, NY: Springer New York; c2019. 99–114p. (Barichello T., editor. Blood-Brain Barrier. Neuromethods; vol 142). doi:10.1007/978-1-4939-8946-1_6

15. Hladky S.B., Barrand M.A. Elimination of substances from the brain parenchyma: efflux via perivascular pathways and via the blood-brain barrier. *Fluids Barriers CNS*. 2018; 15 (1): 30. doi:10.1186/s12987-018-0113-6

16. Bayir E., Sendemir A. Role of Intermediate Filaments in Blood-Brain Barrier in Health and Disease. *Cells*. 2021; 10 (6): 1400. doi:10.3390/cells10061400

17. Kadry H., Noorani B., Cucullo L. A blood-brain barrier overview on structure, function, impairment, and biomarkers of integrity. *Fluids Barriers CNS*. 2020; 17 (1): 69. doi:10.1186/s12987-020-00230-3

18. Abdul Razzak R., Florence G.J., Gunn-Moore F.J. Approaches to CNS Drug Delivery with a Focus on Transporter-Mediated Transcytosis. *Int J Mol Sci*. 2019; 20 (12): 3108. doi:10.3390/ijms20123108

19. Crone C., Olesen S.P. Electrical resistance of brain microvascular endothelium. *Brain Res*. 1982; 241 (1): 49–55. doi:10.1016/0006-8993(82)91227-6

20. Siddharthan V., Kim Y. V., Liu S., Kim K.S. Human astrocytes/astrocyte-conditioned medium and shear stress enhance the barrier properties of human brain microvascular endothelial cells. *Brain Res*. 2007; 1147: 39–50. doi:10.1016/j.brainres.2007.02.029

21. Hartmann C., Zozulya A., Wegener J., Galla H.-J. The impact of glia-derived extracellular matrices on the barrier function of cerebral endothelial cells: an in vitro study. *Exp Cell Res*. 2007; 313 (7): 1318–1325. doi:10.1016/j.yexcr.2007.01.024

22. Boytsova E.B., Morgun A.V., Osipova E.D., Martinova G.P., Salmina A.B. Change of reception and lactate transport by cerebral endothelium under the influence of viral and bacterial inflammation in vitro. *Fundamental'naya i klinicheskaya meditsina - Fundamental and Clinical Medicine*. 2020; 5 (1): 8–14. (In Russian). doi:10.23946/2500-0764-2020-5-1-8-14

23. Dehouck M.P., Méresse S., Delorme P., Fruchart J.C., Cecchelli R. An easier, reproducible, and mass-production method to study the blood-brain barrier in vitro. *J Neurochem*. 1990; 54 (5): 1798–1801. doi:10.1111/j.1471-4159.1990.tb01236.x

24. Cenini G., Hebisch M., Iefremova V., Flitsch L.J., Breitkreuz Y., Tanzi R.E., Kim D.Y., Peitz M., Brüstle O. Dissecting Alzheimer's disease pathogenesis in human 2D and 3D models. *Mol Cell Neurosci*. 2021; 110: 103568. doi:10.1016/j.mcn.2020.103568

25. Morgun A.V., Kuvacheva N.V., Khilazheva Y.D., Taranushenko T.Y., Salmina A.B. The features of connexins

expression in the cells of neurovascular unit in normal conditions and hypoxia in vitro. Byulleten' sibirskoy meditsiny - Bulletin of Siberian Medicine. 2014; 13 (6): 5-9 (In Russian). doi:10.20538/1682-0363-2014-6-5-9

26. Modarres H.P., Janmaleki M., Novin M., Saliba J., El-Hajj F., RezayatiCharan M., Seyfoori A., Sadabadi H., Vandal M., Nguyen M.D., Hasan A., Sanati-Nezhad A. In vitro models and systems for evaluating the dynamics of drug delivery to the healthy and diseased brain. J Control Release. 2018; 273: 108-130. doi:10.1016/j.jconrel.2018.01.024

27. Morgun A.V., Osipova E.D., Boytsova E.B., Shuvaev A.N., Komleva Yu.K., Trufanova L.V., Vais E.F., Salmina A.B. Astroglia-mediated regulation of cell development in the model of neurogenic niche in vitro treated with Abeta1-42. Biomeditsinskaya Khimiya - Biomedical Chemistry. 2019; 65 (5): 366-373 (in Russian). doi:10.18097/PBMC20196505366

28. Urich E., Lazic S.E., Molnos J., Wells I., Freskgård P.-O. Transcriptional profiling of human brain endothelial cells reveals key properties crucial for predictive in vitro blood-brain barrier models. PLoS One. 2012; 7 (5): e38149. doi:10.1371/journal.pone.0038149

29. Neuwelt E., Abbott N.J., Abrey L., Banks W.A., Blakley B., Davis T., Engelhardt B., Grammas P., Nedergaard M., Nutt J., Pardridge W., Rosenberg G.A., Smith Q., Drewes L.R. Strategies to advance translational research into brain barriers. Lancet Neurol. 2008; 7 (1): 84-96. doi:10.1016/S1474-4422(07)70326-5

30. Hakkarainen J.J., Jalkanen A.J., Kääriäinen T.M., Keski-Rahkonen P., Venäläinen T., Hokkanen J., Mönkkönen J., Suhonen M., Forsberg M.M. Comparison of in vitro cell models in predicting in vivo brain entry of drugs. Int J Pharm. 2010; 402 (1-2): 27-36. doi:10.1016/j.ijpharm.2010.09.016

31. Ehrmann R.L., Gey G.O. The Growth of Cells on a Transparent Gel of Reconstituted Rat-Tail Collagen2. JNCI J Natl Cancer Inst. 1956; 16 (6): 1375-1403. doi:10.1093/jnci/16.6.1375

32. Davis G.E., Koh W., Stratman A.N. Mechanisms controlling human endothelial lumen formation and tube assembly in three-dimensional extracellular matrices. Birth Defects Res C Embryo Today. 2007; 81 (4): 270-285. doi:10.1002/bdrc.20107

33. Wang H., Yang H., Shi Y., Xiao Y., Yin Y., Jiang B., Ren H., Chen W., Xue Q., Xu X. Reconstituting neurovascular unit with primary neural stem cells and brain microvascular endothelial cells in three-dimensional matrix. Brain Pathol. 2021; 31 (5): e12940. doi:10.1111/bpa.12940

34. Bhalerao A., Sivandzade F., Archie S.R., Chowdhury E.A., Noorani B., Cucullo L. In vitro modeling of the neurovascular unit : advances in the field. Fluids Barriers CNS. 2020; 1-20. doi:10.1186/s12987-020-00183-7

35. Urich E., Patsch C., Aigner S., Graf M., Iacone R., Freskgård P.O. Multicellular self-assembled spheroidal model of the blood brain barrier. Sci Rep. 2013; 3: 1500. doi:10.1038/srep01500

36. Cho C., Wolfe J.M., Fadzen C.M., Calligaris D., Hornburg K., Chiocca E.A., Agar N.Y.R., Pentelute B.L., Lawler A.E. Blood-brain-barrier spheroids as an in vitro screening platform for brain-penetrating agents. Nat Commun. 2017; 8: 1-14. doi:10.1038/ncomms15623.

37. Nzou G., Wicks R.T., Wicks E.E., Seale S.A., Sane C.H., Chen A., Murphy S.V., Jackson J.D., Atala A.J. Human Cortex Spheroid with a Functional Blood Brain Barrier for High-Throughput Neurotoxicity Screening and Disease Modeling. Sci Rep. 2018; 8 (1): 7413. doi:10.1038/s41598-018-25603-5

38. Sokolova V., Nzou G., Meer S.B. Van Der, Ruks T., Heggen M., Loza K., Hagemann N., Murke F., Giebel B., Hermann D.M., Atala A.J., Epple M. Acta Biomaterialia Ultrasmall gold nanoparticles (2 nm) can penetrate and enter cell nuclei in an in vitro 3D brain spheroid model. Acta Biomater. 2020; 111: 349-362. doi:10.1016/j.actbio.2020.04.023

39. Bergmann S., Lawler S.E., Qu Y., Fadzen C.M., Wolfe J.M., Regan M.S., Pentelute B.L., Agar N.Y.R., Cho C.-F. Blood-brain-barrier organoids for investigating the permeability of CNS therapeutics. Nat Protoc. 2018; 13 (12): 2827-2843. doi:10.1038/s41596-018-0066-x

40. Ando J., Yamamoto K. Vascular mechanobiology: endothelial cell responses to fluid shear stress. Circ J. 2009; 73 (11): 1983-1992. doi:10.1253/circj.cj-09-0583

41. Rochfort K.D., Cummins P.M. In Vitro Cell Models of the Human Blood-Brain Barrier: Demonstrating the Beneficial Influence of Shear Stress on Brain Microvascular Endothelial Cell Phenotype. Humana Press, New York, NY: Springer New York; 2019. 71-98p. doi:10.1007/978-1-4939-8946-1_5

42. Jiang L., Li S., Zheng J., Li Y., Huang H. Recent Progress in Microfluidic Models of the Blood-Brain Barrier. Micromachines. 2019; 10 (6): 375. doi:10.3390/mi10060375

43. Frame M.D., Sarelius I.H. A system for culture of endothelial cells in 20-50-microns branching tubes. Microcirculation. 1995; 2 (4): 377-385. doi:10.3109/10739689509148282.

44. Stanness K.A., Guatteo E., Janigro D. A dynamic model of the blood-brain barrier "in vitro". Neurotoxicology. 1996; 17 (2): 481-496.

45. Huh D., Leslie D.C., Matthews B.D., Fraser J.P., Jurek S., Hamilton G.A., et al. A human disease model of drug toxicity-induced pulmonary edema in a lung-on-a-chip microdevice. Sci Transl Med. 2012; 4 (159): 159ra147. doi:10.1126/scitranslmed.3004249

46. Maoz B.M., Herland A., FitzGerald E.A., Grevesse T., Vidoudez C., Pacheco A.R., Sheehy S.P., Park T.-E., Dauth S., Mannix R., Budnik N., Shores K., Cho A., Nawroth J.C., Segrè D., Budnik B., Ingber D.E., Parker K.K. A linked organ-on-chip model of the human neurovascular unit reveals the metabolic coupling of endothelial and neuronal cells. Nat Biotechnol. 2018; 36 (9): 865-874. doi:10.1038/nbt.4226 47. Teixeira M.I., Amaral M.H., Costa P.C., Lopes C.M., Lamprou D.A. Recent Developments in Microfluidic Technologies for Central Nervous System Targeted Studies. Pharmaceutics. 2020; 12 (6): 542. doi:10.3390/pharmaceutics12060542

48. Shityakov S., Förster C.Y. Computational simulation and modeling of the blood-brain barrier pathology. Histochem Cell Biol. 2018; 149 (5): 451-459. doi:10.1007/s00418-018-1665-x

49. Alqahtani S. In silico ADME-Tox modeling: progress and prospects. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2017; 13 (11): 1147-1158. doi:10.1080/17425255.2017.1389897

50. Essayan-Perez S., Zhou B., Nabet A.M., Wernig M., Huang Y.A. Modeling Alzheimer's disease with human iPSC cells: advancements, lessons, and applications. Neurobiol Dis. 2019; 130: 104503. doi:10.1016/j.nbd.2019.104503

Для цитирования: Мосягина А.И., Моргун А.В., Салмина А.Б. Модели ГЭБ in vitro: преимущества и недостатки, текущее положение и перспективы развития. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2021;10(3): 109-120. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-109-120

To cite: Mosiagina A.I., Morgun A.V., Salmina A.B. Overview of existing in vitro BBB models: advantages and disadvantages, current state and future prospects. Complex Issues of Cardiovascular Diseases. 2021;10(3): 109-120. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-109-120



УДК 616.12-008.46-08

DOI 10.17802/2306-1278-2021-10-3-121-129

**РЕЗОЛЮЦИЯ ОНЛАЙН-СОВЕЩАНИЯ ЭКСПЕРТОВ СИБИРСКОГО,
ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО И ЮЖНОГО ФЕДЕРАЛЬНЫХ ОКРУГОВ
ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИССЛЕДОВАНИЯ EMPEROR-REDUCED
«ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ
СО СНИЖЕННОЙ ФРАКЦИЕЙ ВЫБРОСА:
ОТ ИССЛЕДОВАНИЯ EMPA-REG OUTCOME К EMPEROR-REDUCED»**

**О.Л. Барбараш^{1,2}, В.В. Кашталап^{1,2}, А.А. Гарганеева³, К.В. Протасов⁴, О.Ю. Кореннова⁵,
Н.Г. Гоголашвили^{6,7}, А.С. Саласюк⁸, А.А. Ефремушкина⁹, С.Л. Жарский¹⁰, С.А. Зенин¹¹,
С.А. Макаров¹², В.А. Невзорова¹³, Л.Б. Содномова¹⁴, С.А. Устюгов¹⁵, О.Г. Цыганкова¹⁶,
О.Ю. Шабельникова¹⁷**

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Сосновый бульвар, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002; ² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Ворошилова, 22а, Кемерово, Российская Федерация, 650070; ³ Научно-исследовательский институт кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», ул. Киевская, 111а, Томск, Российская Федерация, 634012; ⁴ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, мкр-н Юбилейный, 100, Иркутск, Российская Федерация, 664049; ⁵ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Ленина, 12, Омск, Российская Федерация, 644099; ⁶ Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», ул. Академгородок, 50, Красноярск, Российская Федерация, 660036; ⁷ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Партизана Железняка, 1, Красноярск, Российская Федерация, 660022; ⁸ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, площадь Павших борцов, 1, Волгоград, Российская Федерация, 400131; ⁹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, пр. Ленина, 40, Барнаул, Российская Федерация, 656038; ¹⁰ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Муравьева-Амурского, 35, Хабаровск, Российская Федерация, 680000; ¹¹ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Новосибирской области «Новосибирский областной клинический кардиологический диспансер», ул. Залесского, 6, корп. 8, Новосибирск, Российская Федерация, 630047; ¹² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Кузбасский клинический кардиологический диспансер имени академика Л.С. Барбараша», Сосновый бульвар, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002; ¹³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, пр. Острякова, 2, Владивосток, Российская Федерация, 690002; ¹⁴ Государственное автономное учреждение здравоохранения «Республиканская клиническая больница им. Н.А. Семашко» Министерства здравоохранения Республики Бурятия, ул. Павлова, 12, Улан-Удэ, Республика Бурятия, 670031; ¹⁵ Краевое государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Краевая клиническая больница», ул. Партизана Железняка, 3а, Красноярск, Российская Федерация, 660022; ¹⁶ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Краевая клиническая больница № 2», ул. Русская, 55, Владивосток, Российская Федерация, 690105; ¹⁷ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Новосибирской области «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», ул. Немировича-Данченко, 130, Новосибирск, Российская Федерация, 630087

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

Резюме

На состоявшемся 24 апреля 2021 г. онлайн-совещании экспертов рассмотрены итоги международного многоцентрового исследования EMPEROR-Reduced. Принимая во внимание убедительные сердечно-сосудистые и почечные эффекты эмпаглифлозина у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и сниженной фракцией выброса левого желудочка (<40%), а также доказанное улучшение выживаемости больных при приеме этого препарата приняты предложения и рекомендации по широкому внедрению результатов исследования в клиническую практику лечения больных хронической сердечной недостаточностью.

Ключевые слова

Эмпаглифлозин • Хроническая сердечная недостаточность • Сахарный диабет • Сердечно-сосудистая смертность • Хроническая болезнь почек • Исследование • EMPEROR-Reduced

Поступила в редакцию: 16.08.2021; принята к печати: 10.09.2021

RESOLUTION OF AN ONLINE MEETING OF THE SIBERIAN, FAR EASTERN AND SOUTHERN FEDERAL DISTRICTS EXPERTS ON THE RESULTS OF THE EMPEROR-REDUCED TRIAL “THERAPEUTIC APPROACHES IN HEART FAILURE WITH REDUCED EJECTION FRACTION: THE EMPA-REG OUTCOME TRIAL AND THE EMPEROR-REDUCED TRIAL”

O.L. Barbarash^{1,2}, V.V. Kashtalap^{1,2}, A.A. Garganeeva³, K.V. Protasov⁴, O.Yu. Korennova⁵, N.G. Gogolashvili^{6,7}, A.S. Salasyuk⁸, A.A. Efremushkina⁹, S.L. Zharskiy¹⁰, S.A. Zenin¹¹, S.A. Makarov¹², V.A. Nevzorova¹³, L.B. Sodnomova¹⁴, S.A. Ustyugov¹⁵, O.G. Tsygankova¹⁶, O.Yu. Shabelnikova¹⁷

¹ Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, 6, Sosnoviy Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002; ² Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kemerovo State Medical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation, 22a, Voroshilova St., Kemerovo, Russian Federation, 650070; ³ Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, 111a, Kievskaya St., Tomsk, Russian Federation, 634012; ⁴ Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education “Russian Medical Academy of Continuing Professional Education” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 100, mkr. Yubilejnyj, Irkutsk, Russian Federation, 664049; ⁵ Omsk State Medical University, 12, Lenina St., Omsk, Russian Federation, 644099; ⁶ Research Institute of Medical Problems of the North, Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences”, 50, Akademgorodok St., Krasnoyarsk, Russian Federation, 660036; ⁷ Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, 1, Partizana Zheleznyaka St., Krasnoyarsk, Russian Federation, 660022; ⁸ Federal State Government-Financed Educational Institution of Higher Education “Volgograd State Medical University” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russian Federation, 400131; ⁹ Altai State Medical University, 40, Lenina Ave., Barnaul, Russian Federation, 656038; ¹⁰ Far-Eastern State Medical University, 35, Muravyov-Amursky St., Khabarovsk, Russian Federation, 680000; ¹¹ Novosibirsk Regional Clinical Cardiological Dispensary, Zalesskogo St., 6. Building 8, Novosibirsk, Russian Federation, 630047; ¹² State Budgetary Healthcare Institution “Kuzbass Clinical Cardiology Dispensary named after academician L.S. Barbarash”, 6, Sosnoviy Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002; ¹³ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Pacific State Medical University” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 2, Ostryakova Ave., Vladivostok, Russian Federation, 690002; ¹⁴ State Autonomous Healthcare Institution “Republican Clinical Hospital named after Nikolai Alexandrovich Semashko” of the Ministry of Health of the Republic of Buryatia, 12 Pavlova St., Ulan-Ude, Republic of Buryatia, 670031; ¹⁵ Regional Government-Owned Publicly Funded Healthcare Institution “Regional Clinical Hospital”, 3a, Partizana Zheleznyaka St., Krasnoyarsk, Russian Federation, 660022; ¹⁶ State Budgetary Institution of Health Care “Regional Clinical Hospital № 2”, 55, Russkaya St., Vladivostok, Russian Federation, 690105; ¹⁷ State Budgetary Healthcare Institution of the Novosibirsk Region “State Novosibirsk Regional Clinical Hospital”, 130, Nemirovicha-Danchenko St., Novosibirsk, Russian Federation, 630087

Abstract

At the online meeting of experts held on April 24, 2021, the results of the international multicenter trial EMPEROR-Reduced were considered. Taking into account the beneficial cardiovascular and renal outcomes in patients with chronic

heart failure and reduced left ventricular ejection fraction (<40%), and improvement in patient survival rates, a number of proposals and recommendations for widespread implementation of the trial results into practice of treating patients with chronic heart failure were adopted.

Keywords

Empagliflozin • Chronic heart failure • Diabetes mellitus • Cardiovascular mortality • Chronic kidney disease • EMPEROR-Reduced trial

Received: 16.08.2021; accepted: 10.09.2021

Список сокращений

АРНИ	– ангиотензиновых рецепторов и неприлизина ингибитор	РКИ	– рандомизированные клинические исследования
ДИ	– доверительный интервал	СД	– сахарный диабет
иНГЛТ-2	– ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера 2-го типа	СКФ	– скорость клубочковой фильтрации
ОР	– относительный риск	ССЗ	– сердечно-сосудистые заболевания
РААС	– ренин-ангиотензин-альдостероновая система	ХБП	– хроническая болезнь почек
		ХСН	– хроническая сердечная недостаточность

Введение

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) – одна из наиболее частых причин сердечно-сосудистой смертности и госпитализаций пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, приводит к серьезным медицинским и социальным потерям и является значительным бременем для систем здравоохранения в индустриально развитых странах [1, 2]. К увеличению количества больных ХСН приводят успехи в лечении острого коронарного синдрома за счет применения технологий коронарной реваскуляризации [3, 4], а также оптимизация подходов первичной и вторичной профилактики сердечно-сосудистых патологий [5].

Однако значимой проблемой остается низкая приверженность врачей назначению базовой трехкомпонентной терапии больным ХСН со сниженной фракцией выброса левого желудочка. Несмотря на убедительные доказательства позитивного влияния на выживаемость пациентов с ХСН бета-блокаторов; блокаторов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), включая новый класс препаратов альдостероновых рецепторов и неприлизина ингибиторов (АРНИ), представленный надмолекулярным комплексом сакубитрила и валсартана; антагонистов минералокортикоидных рецепторов, смертность при данной патологии остается высокой [2].

При сахарном диабете (СД) 2-го типа ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера 2-го типа (иНГЛТ-2) доказанно уменьшают риск сердечно-сосудистых исходов и госпитализаций по поводу ХСН, а также снижают частоту прогрессирования хронической болезни почек (ХБП). Такие эффекты для иНГЛТ-2 не воспроизведены более ни одним из других классов сахароснижающих препаратов. Неоднократно подтверждено целой серией

крупных рандомизированных клинических исследований (РКИ), включая EMPA-REG Outcome, что риск госпитализаций по поводу ХСН у пациентов с СД 2-го типа на фоне приема иНГЛТ-2 снижается на 30–35% по сравнению с группами плацебо (стандартного лечения СД) [6]. Кроме того, частота прогрессирования ХБП (в том числе смерть от ренальных причин, время до начала процедур диализа или трансплантации почки) была на 35–50% ниже у пациентов, получавших иНГЛТ-2, при сравнении с группами плацебо [6].

Такая уникальная кардиоренальная протекция не может быть объяснена только сахароснижающим эффектом этого класса препаратов, поскольку другие сахароснижающие препараты ранее не демонстрировали столь убедительной органопротекции [7, 8]. Ключевой гипотезой, позволившей обсуждать перспективы применения иНГЛТ-2 не только у пациентов с СД 2-го типа, является самостоятельное улучшение прогноза при ХСН и органопротективное влияние всего класса иНГЛТ-2 и эмпаглифлозина в частности, не зависящие от противодиабетических эффектов препаратов этой группы [8]. Первым исследованием, подтвердившим серьезные перспективы использования нового класса препаратов в лечении ХСН, было РКИ DAPA-HF [9]. У пациентов с ХСН и сниженной фракцией выброса левого желудочка выявлено уменьшение риска достижения первичной конечной точки (сердечно-сосудистая смертность, госпитализация по причине сердечной недостаточности, экстренное обращение за помощью в связи с ухудшением течения ХСН) на 26% при приеме дапаглифлозина. При этом больные ХСН могли иметь СД 2-го типа в качестве коморбидной патологии.

Завершившееся РКИ EMPEROR-Reduced (результаты были триумфально представлены на Европейском конгрессе кардиологов 29 августа 2020 г.)

продемонстрировало, что у пациентов с ХСН и фракцией выброса левого желудочка менее 40% назначение эмпаглифлозина дополнительно к базовой терапии снижает риск наступления первичной конечной точки (подтвержденная сердечно-сосудистая смерть или госпитализация по причине ХСН) на 25% независимо от наличия СД 2-го типа в качестве коморбидного заболевания. Это же исследование убедительно продемонстрировало позитивные эффекты эмпаглифлозина на качество жизни пациентов с ХСН и сниженной фракцией выброса левого желудочка: значимое повышение среднего балла по опроснику KCCQ через 52 нед терапии по сравнению с группой плацебо. При этом большинство участников исследования получали прогнозулущающую трехкомпонентную базовую терапию ХСН: бета-блокаторы, различные блокаторы РААС, включая препарат сакубитрил/валсартан, антагонисты минералокортикоидных рецепторов [10].

Результаты совещания

24 апреля 2021 г. состоялось онлайн-совещание экспертов Сибирского, Дальневосточного и Южного федеральных округов «Подходы к терапии сердечной недостаточности со сниженной фракцией выброса: от исследования EMPA-REG Outcome к EMPEROR-Reduced».

Член-корр. РАН, профессор О.Л. Барбараш, профессор А.А. Гарганеева и К.В. Протасов отметили сохраняющуюся высокую актуальность и медико-социальную значимость проблемы ХСН в XXI столетии, привели результаты оценки влияния эмпаглифлозина на сердечно-сосудистую смертность и показатели госпитализации, прогрессирование ХБП, качество жизни больных ХСН, полученные в исследованиях EMPA-REG Outcome и EMPEROR-Reduced, при наличии СД 2-го типа и в отсутствие такового. В частности подчеркнуто, что в рандомизированное двойное слепое с параллельными группами плацебо-контролируемое исследование EMPEROR-Reduced было включено 3 730 больных ХСН с фракцией выброса менее 40%, 1 863 из них распределены в группу эмпаглифлозина, 1 867 пациентам назначено плацебо. Средняя продолжительность лечения составила 16 мес. По результатам РКИ подтверждены все гипотезы об эффектах эмпаглифлозина при ХСН вне зависимости от наличия СД 2-го типа, различия между группами были статистически значимыми. Показано 25% снижение риска первичной комбинированной конечной точки (сердечно-сосудистая смертность и число госпитализаций по поводу сердечной недостаточности – относительный риск (ОР) 0,75; 95% доверительный интервал (ДИ) 0,65–0,86; $p < 0,001$), что сопоставимо с данными исследования DAPA-HF. В группе эмпаглифлозина, по сравнению с груп-

пой плацебо, на 30% было меньшим количество госпитализаций по поводу ХСН. Частота госпитализаций при приеме эмпаглифлозина составила 13,2 против 18,3% в группе плацебо (ОР 0,69; 95% ДИ 0,59–0,81), что также сопоставимо с результатами исследования DAPA-HF (ОР 0,70; 95% ДИ 0,59–0,83). Общая частота госпитализаций по поводу ХСН (первичных и повторных) в группе эмпаглифлозина была значимо ниже, чем в группе плацебо (ОР 0,70; 95% ДИ 0,58–0,85; $p < 0,001$). Снижение риска сердечно-сосудистой смерти составило 8% на терапии эмпаглифлозином по сравнению с группой плацебо (ОР 0,92; 95% ДИ 0,75–1,12) [11].

Профессора О.Ю. Кореннова и Н.Г. Гоголашвили убедительно показали, что выявленная закономерность позитивных клинико-прогностических эффектов эмпаглифлозина наблюдалась у всех пациентов независимо от исходной терапии ХСН, включая АРНИ, а также независимо от наличия СД 2-го типа и тяжести ХБП. Ограничением для включения пациентов в исследование EMPEROR-Reduced было значение расчетной скорости клубочковой фильтрации (СКФ) ниже 20 мл/мин/1,73 м² [7]. У больных ХСН через 45 дней после окончания исследования в группе плацебо СКФ снизилась в среднем на 4,2 против 0,9 мл/мин/1,73 м² в группе эмпаглифлозина (95% ДИ 1,8–4,9; $p < 0,001$). Терапия эмпаглифлозином у пациентов с ХСН снижала риск развития комбинированной конечной почечной точки (начало заместительной почечной терапии, трансплантация почки или выявление стабильного снижения расчетной СКФ более чем на 40% от исходной) – ОР 0,50 (95% ДИ 0,32–0,77).

В сообщении доцента А.С. Саласюк были представлены результаты фармакоэкономического анализа, обосновавшие высокую медико-социальную эффективность применения иНГЛТ-2 и эмпаглифлозина, в частности для лечения пациентов с ХСН и сниженной фракцией выброса, что позволяет избежать дополнительных затрат системы здравоохранения на новые случаи экстренных госпитализаций, а также неизбежных социальных потерь из-за развития фатальных сердечно-сосудистых конечных точек.

В ходе состоявшейся дискуссии эксперты обсудили следующие вопросы, заданные член-корр. РАН, профессором О.Л. Барбараш.

1. Где вы видите место эмпаглифлозина в схеме лечения больных ХСН со сниженной фракцией выброса?

Все эксперты выступили за пересмотр статуса эмпаглифлозина, который на данный момент является гипогликемическим медикаментозным препаратом, что указано в инструкции к медицинскому применению. Мнение основано на результатах РКИ EMPA-REG Outcome и EMPEROR-Reduced,

результаты которых убедительно обосновали и доказали целесообразность применения эмпаглифлозина у больных ХСН со сниженной фракцией выброса вне зависимости от наличия СД 2-го типа. Все участники обсуждения посчитали обоснованной имплементацию класса иНГЛТ-2 в рубрику базовой терапии ХСН со сниженной фракцией выброса наряду с тремя существующими классами препаратов (блокаторами РААС, бета-блокаторами и антагонистами минералокортикоидных рецепторов). Эксперты указали, что следует рекомендовать назначение иНГЛТ-2 всем пациентам с ХСН со сниженной фракцией выброса независимо от степени клинической тяжести на амбулаторном этапе лечения. Расширение базовой терапии ХСН со сниженной фракцией выброса за счет включения иНГЛТ-2 в перспективе может позволить более эффективно улучшать качество жизни и прогноз больных ХСН.

2. Какие клинические выводы можно сделать из субанализов исследования EMPEROR-Reduced?

Участники совещания единогласно отметили клинические и прогностические эффекты эмпаглифлозина в отношении риска прогрессирования ХСН и ХБП, которые не зависели от наличия/отсутствия СД 2-го типа, применения компонентов стандартной базовой терапии ХСН и тяжести исходной ХБП. Эксперты высказались в поддержку возможности рекомендовать эмпаглифлозин к применению не только с формулировкой «для снижения сердечно-сосудистой смертности и госпитализаций по причине сердечной недостаточности», но и по показанию «для замедления прогрессирования ХБП» для назначения эмпаглифлозина с учетом значительной эффективности данного препарата среди пациентов с ХСН независимо от предшествующей ХБП при высокой безопасности данного лечения.

3. Считаете ли вы целесообразным снижение границы расчетной СКФ для применения эмпаглифлозина у пациентов с ХСН со сниженной фракцией выброса до 20 мл/мин/1,73 м²?

Все эксперты высказали мнение о том, что действующую инструкцию к эмпаглифлозину необходимо изменить вследствие снижения порога ограничения расчетной СКФ для использования препарата до (не ниже!) 20 мл/мин/1,73 м².

4. Как мы можем использовать данные по фармакоэкономике применения эмпаглифлозина?

Все эксперты выразили мнение, что иНГЛТ-2, эмпаглифлозин в частности, в соответствии с показаниями к применению и доступными данными фармакоэкономического анализа, могут быть назначены как можно раньше врачом-терапевтом, вра-

чом-кардиологом или врачом-эндокринологом для лечения ХСН со сниженной фракцией выброса с учетом зарегистрированных показаний в актуальных инструкциях к применению препаратов и в интересах пациента в дополнение к уже назначенной базовой терапии либо при инициации медикаментозной терапии у этих больных в качестве одного из четырех компонентов базовой терапии.

По результатам заслушанных на совещании научных докладов и дискуссий эксперты пришли к следующему мнению:

Принимая во внимание результаты, полученные в РКИ EMPA-REG Outcome и EMPEROR-Reduced, а также с учетом представленных субанализов и данных фармакоэкономического анализа применения иНГЛТ-2 при ХСН предложить расширить список препаратов для лечения ХСН со сниженной фракцией выброса за счет класса иНГЛТ-2 (дапаглифлозин, эмпаглифлозин) и включить эмпаглифлозин в клинические рекомендации и стандарты по лечению ХСН после официальной регистрации данного показания в инструкции по применению препарата. Рекомендовать внесение класса иНГЛТ-2 (дапаглифлозин, эмпаглифлозин) в список болезней-модифицирующей (базовой) терапии ХСН с возможностью одновременного назначения другими препаратами (бета-блокаторами, блокаторами РААС и АРНИ, антагонистами минералокортикоидных рецепторов) для лечения ХСН.

Рекомендовать внести изменения в инструкцию к препарату эмпаглифлозин: разрешить применение эмпаглифлозина по показанию «для замедления прогрессирования ХБП». Противопоказанием к началу терапии эмпаглифлозином считать расчетную СКФ менее 20 мл/мин/1,73 м².

Конфликт интересов

О.Л. Барбараш, В.В. Кашталап, А.А. Гарганеева, С.А. Макаров входят в редакционную коллегию журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний». К.В. Протасов заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.Ю. Кореннова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Н.Г. Гоголашвили заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.С. Саласюк заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.А. Ефремушкина заявляет об отсутствии конфликта интересов. С.Л. Жарский заявляет об отсутствии конфликта интересов. С.А. Зенин заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.А. Невзорова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Л.Б. Содномова заявляет об отсутствии конфликта интересов. С.А. Устюгов заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.Г. Цыганкова заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.Ю. Шабельникова заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Мероприятие проведено при поддержке ООО «Берингер Ингельхайм».

Разработка подходов к оптимизации лечения пациентов с хронической сердечной недостаточностью проводится в рамках фундаментальной темы

НИИ КПССЗ «Мультифокальный атеросклероз и коморбидные состояния. Особенности диагностики, управления рисками в условиях крупного промышленного региона Сибири» и при информационной поддержке Научно-образовательного центра мирового уровня «Кузбасс».

Информация об авторах

Барбараш Ольга Леонидовна, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор 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

Капиталан 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; 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** 0000-0003-3729-616X

Гарганеева Алла Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор заведующая отделением патологии миокарда Научно-исследовательского института кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-9488-6900

Протасов Константин Викторович, доктор медицинских наук, профессор заместитель директора по науке и развитию, заведующий кафедрой кардиологии и функциональной диагностики Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования – филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иркутск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6516-3180

Кореннова Ольга Юрьевна, доктор медицинских наук профессор кафедры внутренних болезней и семейной медицины дополнительного профессионального образования федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Омск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-8047-5521

Гоголашвили Николай Гамлетович, доктор медицинских наук главный научный сотрудник, заведующий кардиологическим отделением Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный

Author Information Form

Barbarash Olga L., Ph.D., Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of the Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; Chief, Division of Cardiology and Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kemerovo State Medical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4642-3610

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

Garganeeva Alla A., MD, Ph.D., Professor, Head of the Department of Myocardial Pathology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-9488-6900

Protasov Konstantin V., Ph.D., Professor, Deputy Director of Scientific Development, Head of the Department of Cardiology and Functional Diagnostics, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education “Russian Medical Academy of Continuing Professional Education” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Irkutsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6516-3180

Korennova Olga Y., MD, Ph.D., Professor, Division of Internal Diseases and Family Medicine, Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-8047-5521

Gogolashvili Nikolai H., MD, Ph.D., Principal Researcher, Head of the Department of Cardiology, Research Institute of Medical Problems of the North - Division of Federal Research Center “Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences”, Krasnoyarsk, Russian Federation; Professor, Division of Cardiology and Functional

центр Сибирского отделения Российской академии наук», Красноярск, Российская Федерация; профессор кафедры кардиологии, функциональной и клиничко-лабораторной диагностики института последипломного образования федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красноярск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-5328-0910

Саласюк Алла Сергеевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры терапии и эндокринологии факультета усовершенствования врачей федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Волгоград, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6611-9165

Ефремушкина Анна Александровна, доктор медицинских наук профессор кафедры терапии и общей врачебной практики с курсом дополнительного профессионального образования федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Барнаул, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-4688-0739

Жарский Сергей Леонидович, доктор медицинских наук, профессор заведующий кафедрой факультетской и поликлинической терапии с курсом эндокринологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Хабаровск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-2115-1890

Зенин Сергей Анатольевич, доктор медицинских наук, главный внештатный кардиолог Министерства здравоохранения Новосибирской области, руководитель Новосибирского областного центра хирургической и интервенционной аритмологии государственного бюджетного учреждения здравоохранения Новосибирской области «Новосибирский областной клинический кардиологический диспансер», Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-1272-560X

Макаров Сергей Анатольевич, доктор медицинских наук, главный кардиолог Кемеровской области, главный врач государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Кузбасский клинический кардиологический диспансер имени академика Л.С. Барбараша», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-4649-2947

Невзорова Вера Афанасьевна, доктор медицинских наук, профессор директор института терапии и инструментальной диагностики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Владивосток, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0117-0349

Содномова Лариса Балдановна, кандидат медицинских наук, врач-кардиолог кардиологического отделения № 1 государственного автономного учреждения здравоохранения «Республиканская клиническая больница им. Н.А. Семашко» Министерства здравоохранения Республики Бурятия, Улан-Удэ, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-8669-7010

Diagnostics, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-5328-0910

Salasyuk Alla Sergeevna, Ph.D., Associate Professor, Department of Therapy and Endocrinology, Faculty of Advanced Medical Studies, Federal State Government-Financed Educational Institution of Higher Education “Volgograd State Medical University” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Volgograd, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6611-9165

Efremushkina Anna A., MD, Ph.D., Professor, Division of Therapy and General Medical Practice, Altai State Medical University, Barnaul, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-4688-0739

Zharskiy Sergey L., MD, Ph.D., Professor, Chief, Division of Faculty and Polyclinic Therapy, Far-Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-2115-1890

Zenin Sergey A., Ph.D., Chief Freelance Cardiologist of the Ministry of Health of the Novosibirsk Region, Head of the Novosibirsk Regional Center for Surgical and Interventional Arrhythmology of the Novosibirsk Regional Clinical Cardiological Dispensary, Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-1272-560X

Makarov Sergey A., MD, Ph.D., Chief Cardiologist of the Kemerovo region, Chief Physician at the State Budgetary Healthcare Institution “Kuzbass Clinical Cardiology Dispensary named after academician L.S. Barbarash”, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-4649-2947

Nevzorova Vera A., MD, PhD, Professor, Director of Institute of Therapy and Instrumental Diagnostic, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Pacific State Medical University” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Vladivostok, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0117-0349

Sodnomova Larisa B., Ph.D., cardiologist at the Department of Cardiology No. 1, State Autonomous Healthcare Institution “Republican Clinical Hospital named after Nikolai Alexandrovich Semashko” of the Ministry of Health of the Republic of Buryatia, **ORCID** 0000-0001-8669-7010

Устюгов Сергей Александрович, кандидат медицинских наук, доцент главный кардиолог Красноярского края, заведующий отделением кардиологии № 3 краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница», Красноярск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-3105-1946

Цыганкова Ольга Григорьевна, главный эндокринолог министерства здравоохранения Приморского края, заведующая отделением эндокринологии № 1 государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница № 2», Владивосток, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-2947-6075

Шабельникова Олеся Юрьевна, кандидат медицинских наук главный эндокринолог Новосибирской области, заведующая эндокринологическим отделением государственного бюджетного учреждения здравоохранения Новосибирской области «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-3906-4784

Ustyugov Sergey A., MD, PhD, Associate Professor, Chief Cardiologist of the Krasnoyarsk region, Head of the Department of Cardiology No. 3, Regional Government-Owned Publicly Funded Healthcare Institution "Regional Clinical Hospital", Krasnoyarsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3105-1946

Tsygankova Olga G., Chief Endocrinologist of the Ministry of Health of Primorsky Krai, Head of the Department of Endocrinology No. 1, State Budgetary Institution of Health Care "Regional Clinical Hospital № 2", Vladivostok, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-2947-6075

Shabelnikova Olesya Y., MD, PhD, Chief Endocrinologist of the Novosibirsk Region, Head of the Department of Endocrinology, State Budgetary Healthcare Institution of the Novosibirsk Region "State Novosibirsk Regional Clinical Hospital", Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3906-4784

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Koudstaal S., Pujades-Rodriguez M., Denaxas S., Gho J.M.I.H., Shah A.D., Yu N., Patel R.S., Gale C.P., Hoes A.W., Cleland J.G., Asselbergs F.W., Hemingway H. Prognostic burden of heart failure recorded in primary care, acute hospital admissions, or both: a population-based linked electronic health record cohort study in 2.1 million people. *Eur J Heart Fail.* 2017;19(9):1119-1127. doi: 10.1002/ehf.709.
2. Jones N.R., Roalfe A.K., Adoki I., Hobbs F.D.R., Taylor C.J. Survival of patients with chronic heart failure in the community: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Heart Fail.* 2019;21(11):1306-1325. doi: 10.1002/ehf.1594.
3. Барбараш О.Л., Кашталап В.В. Место фармакоинвазивной тактики ведения пациентов с острым коронарным синдромом с подъемом сегмента ST в России. *Кардиология* 2014; 9: 79-85 doi: 10.18565/cardio.2014.9.79-85.
4. Кашталап В.В., Завырылина И.Н., Барбараш О.Л. Креативная кардиология 2015; 3:5-15 doi: 10.15275/kreatkard.2015.03.01.
5. Барбараш О.Л., Кашталап В.В., Быкова И.С., Эрлих А.Д., Грацианский Н.А. Особенности клинического течения и стационарного этапа лечения пациентов с острым коронарным синдромом с подъемом сегмента ST в зависимости от пола (по данным Российского регистра острого коронарного синдрома «РЕКОРД-3») *Российский кардиологический журнал* 2017, 6 (146): 122–131 doi: 10.15829/1560-4071-2017-6-122-131.
6. Zelniker T.A., Wiviott S.D., Raz I., Im K., Goodrich E.L., Bonaca M.P., Mosenzon O., Kato E.T., Cahn A., Furtado R.H.M., Bhatt D.L., Leiter L.A., McGuire D.K., Wilding J.P.H., Sabatine M.S. SGLT2 inhibitors for primary and secondary prevention of cardiovascular and renal outcomes in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cardiovascular outcome trials. *Lancet.* 2019;393(10166):31-39. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32590-X.
7. Kato E.T., Silverman M.G., Mosenzon O., Zelniker T.A., Cahn A., Furtado R.H.M., Kuder J., Murphy S.A., Bhatt D.L., Leiter L.A., McGuire D.K., Wilding J.P.H., Bonaca M.P., Ruff C.T., Desai A.S., Goto S., Johansson P.A., Gause-Nilsson I., Johanson P., Langkilde A.M., Raz I., Sabatine M.S., Wiviott S.D. Effect of Dapagliflozin on Heart Failure and Mortality in Type 2 Diabetes Mellitus. *Circulation.* 2019;139(22):2528-2536. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.040130.
8. Packer M. SGLT2 Inhibitors Produce Cardiorenal Benefits by Promoting Adaptive Cellular Reprogramming to Induce a State of Fasting Mimicry: A Paradigm Shift in Understanding Their Mechanism of Action. *Diabetes Care.* 2020;43(3):508-511. doi: 10.2337/dci19-0074.
9. McMurray J.J.V., DeMets D.L., Inzucchi S.E., Køber L., Kosiborod M.N., Langkilde A.M., Martinez F.A., Bengtsson O., Ponikowski P., Sabatine M.S., Sjöstrand M., Solomon S.D.; DAPA-HF Committees and Investigators. A trial to evaluate the effect of the sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor dapagliflozin on morbidity and mortality in patients with heart failure and reduced left ventricular ejection fraction (DAPA-HF). *Eur J Heart Fail.* 2019;21(5):665-675. doi: 10.1002/ehf.1432.
10. Packer M., Anker S.D., Butler J., Filippatos G., Pocock S.J., Carson P., Januzzi J., Verma S., Tsutsui H., Brueckmann M., Jamal W., Kimura K., Schnee J., Zeller C., Cotton D., Bocchi E., Böhm M., Choi D.J., Chopra V., Chuquiure E., Giannetti N., Janssens S., Zhang J., Gonzalez Juanatey J.R., Kaul S., Brunner-La Rocca H.P., Merkely B., Nicholls S.J., Perrone S., Pina I., Ponikowski P., Sattar N., Senni M., Seronde M.F., Spinier J., Squire I., Taddei S., Wanner C., Zannad F.; EMPEROR-Reduced Trial Investigators. Cardiovascular and Renal Outcomes with Empagliflozin in Heart Failure. *N Engl J Med.* 2020;383(15):1413-1424. doi: 10.1056/NEJMoa2022190.
11. Барбараш О.Л., Гарганеева А.А., Гоголашвили Н.Г., Ефремушкина А.А., Жарский С.Л., Кашталап В.В., Кореннова О.Ю., Макаров С.А., Невзорова В.А., Протасов К.В., Устюгов С.А., Шабельникова О.Ю. Резолюция совещания экспертов Сибирского федерального округа «Эмпаглифлозин и сердечная недостаточность» по результатам исследования EMPEROR-Reduced. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2021;10(1):103-108. <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2021-10-1-103-108>.

REFERENCES

1. Koudstaal S., Pujades-Rodriguez M., Denaxas S., Gho J.M.I.H., Shah A.D., Yu N., Patel R.S., Gale C.P., Hoes A.W., Cleland J.G., Asselbergs F.W., Hemingway H. Prognostic burden of heart failure recorded in primary care, acute hospital admissions, or both: a population-based linked electronic health record cohort study in 2.1 million people. *Eur J Heart Fail.* 2017;19(9):1119-1127. doi: 10.1002/ehf.709.
2. Jones N.R., Roalfe A.K., Adoki I., Hobbs F.D.R., Taylor C.J.

Survival of patients with chronic heart failure in the community: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Heart Fail.* 2019;21(11):1306-1325. doi: 10.1002/ejhf.1594.

3. Barbarash O.L., Kashtalap V.V. The Place of Pharmacoinvasive Management in Patients With ST-Elevation Acute Coronary Syndrome in Russia. *Kardiologiya* 2014; 9: 79-85 (in Russian).

4. Kashtalap V.V., Zavyrylina I.N., Barbarash O.L. Endovascular revascularization for ST-elevation acute coronary syndrome in Russia: problems and prospects for the further development. *Kreativnaya kardiologiya* 2015; 3:5-15 (in Russian).

5. Barbarash O.L., Kashtalap V.V., Bykova I.S., Erlikh A.D., Gratsiansky N.A. on behalf of the workgroup of RECORD-3. Gender specifics of clinical course and in-patient stage of management in ST-elevation acute coronary syndrome patients (by the Russian Registry of Acute Coronary Syndrome «RECORD-3»). *Russ J Cardiol* 2017, 6 (146): 122–131 (in Russian).

6. Zelniker T.A., Wiviott S.D., Raz I., Im K., Goodrich E.L., Bonaca M.P., Mosenzon O., Kato E.T., Cahn A., Furtado R.H.M., Bhatt D.L., Leiter L.A., McGuire D.K., Wilding J.P.H., Sabatine M.S. SGLT2 inhibitors for primary and secondary prevention of cardiovascular and renal outcomes in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cardiovascular outcome trials. *Lancet.* 2019;393(10166):31-39. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32590-X.

7. Kato E.T., Silverman M.G., Mosenzon O., Zelniker T.A., Cahn A., Furtado R.H.M., Kuder J., Murphy S.A., Bhatt D.L., Leiter L.A., McGuire D.K., Wilding J.P.H., Bonaca M.P., Ruff C.T., Desai A.S., Goto S., Johansson P.A., Gause-Nilsson I., Johanson P., Langkilde A.M., Raz I., Sabatine M.S., Wiviott S.D. Effect of Dapagliflozin on Heart Failure and Mortality in Type 2 Diabetes Mellitus. *Circulation.* 2019;139(22):2528-

2536. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.040130.

8. Packer M. SGLT2 Inhibitors Produce Cardiorenal Benefits by Promoting Adaptive Cellular Reprogramming to Induce a State of Fasting Mimicry: A Paradigm Shift in Understanding Their Mechanism of Action. *Diabetes Care.* 2020;43(3):508-511. doi: 10.2337/dci19-0074.

9. McMurray J.J.V., DeMets D.L., Inzucchi S.E., Køber L., Kosiborod M.N., Langkilde A.M., Martinez F.A., Bengtsson O., Ponikowski P., Sabatine M.S., Sjöstrand M., Solomon S.D.; DAPA-HF Committees and Investigators. A trial to evaluate the effect of the sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor dapagliflozin on morbidity and mortality in patients with heart failure and reduced left ventricular ejection fraction (DAPA-HF). *Eur J Heart Fail.* 2019;21(5):665-675. doi: 10.1002/ejhf.1432.

10. Packer M., Anker S.D., Butler J., Filippatos G., Pocock S.J., Carson P., Januzzi J., Verma S., Tsutsui H., Brueckmann M., Jamal W., Kimura K., Schnee J., Zeller C., Cotton D., Bocchi E., Böhm M., Choi D.J., Chopra V., Chuquiere E., Giannetti N., Janssens S., Zhang J., Gonzalez Juanatey J.R., Kaul S., Brunner-La Rocca H.P., Merkely B., Nicholls S.J., Perrone S., Pina I., Ponikowski P., Sattar N., Senni M., Seronde M.F., Spinier J., Squire I., Taddei S., Wanner C., Zannad F.; EMPEROR-Reduced Trial Investigators. Cardiovascular and Renal Outcomes with Empagliflozin in Heart Failure. *N Engl J Med.* 2020;383(15):1413-1424. doi: 10.1056/NEJMoa2022190.

11. Barbarash O.L., Garganeeva A.A., Gogolashvili N.G., Efremushkina A.A., Zharskiy S.L., Kashtalap V.V., Korennova O.Yu., Makarov S.A., Nevzorova V.A., Protasov K.V., Ustyugov S.A., Shabelnikova O.Yu. The resolution on empagliflozin and heart failure has been adopted by the experts of the Siberian Federal District based on the results of the EMPEROR-Reduced study. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2021;10(1):103-108. (In Russian).

Для цитирования: Барбараш О.Л., Кашталап В.В., Гарганеева А.А., Протасов К.В., Кореннова О.Ю., Гоголашвили Н.Г., Саласюк А.С., Ефремушкина А.А., Жарский С.Л., Зенин С.А., Макаров С.А., Невзорова В.А., Содномова Л.Б., Устюгов С.А., Цыганкова О.Г., Шабельникова О.Ю. Резолюция онлайн-совещания экспертов Сибирского, Дальневосточного и Южного федеральных округов по результатам исследования EMPEROR-Reduced «Подходы к терапии сердечной недостаточности со сниженной фракцией выброса: от исследования EMPA-REG Outcome к EMPEROR-Reduced». *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2021;10(3): 121-129. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-121-129

To cite: Barbarash O.L., Kashtalap V.V., Garganeeva A.A., Protasov K.V., Korennova O.Yu., Gogolashvili N.G., Salasyuk A.S., Efremushkina A.A., Zharskiy S.L., Zenin S.A., Makarov S.A., Nevzorova V.A., Sodnomova L.B., Ustyugov S.A., Tsygankova O.G., Shabelnikova O.Yu. Resolution of an online meeting of the Siberian, Far Eastern and Southern Federal Districts experts on the results of the EMPEROR-Reduced trial “Therapeutic approaches in heart failure with reduced ejection fraction: the EMPA-REG OUTCOME trial and the EMPEROR-Reduced trial”. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2021;10(3): 121-129. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-121-129

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.niikpssz.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 передовую 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 аннотации 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 раза. 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 раза). 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 (CHN₂DS₂-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 раздельными). 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 мочеочника после трансплантации почки. Урология и нефрология. 1994; 3: 42-45 [Trapeznikova M.F., Filiptsev P.Ya., Perlin D.V., Kulachkov S.M. Lechenie striktur mochetchnika 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/globalnaya_farmaceuticheskaya_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/globalnaya_farmaceuticheskaya_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



journal_kpssz



edit.office



nii-kpssz.com

Подписано в печать 16.09.2021 г. Дата выхода в свет: 25.09.2021 г. Формат 62 x 94/8. Бумага мелованная матовая. Усл. печ. л. 19.5. Тираж 1 000 экз. Заказ № 43183. 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

