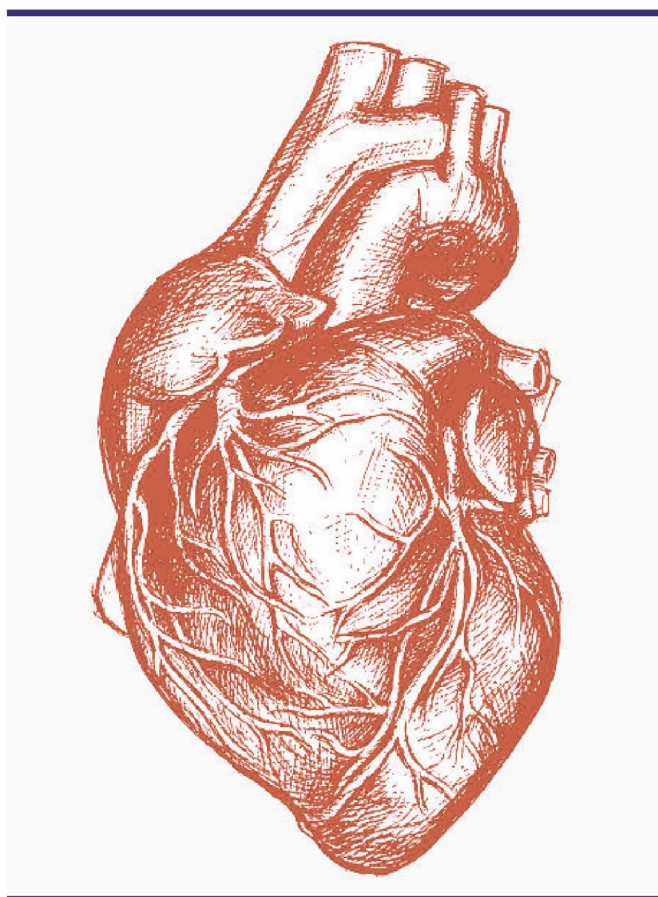




Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний



Complex Issues of Cardiovascular Diseases

16+

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

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

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

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

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР

д-р мед. наук В. В. Кашталап (Кемерово, РФ)
д-р мед. наук А. Н. Сумин (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)
д-р мед. наук Т. Н. Брескина (Москва, РФ)
академик РАН М. И. Воевода (Новосибирск, РФ)
д-р мед. наук Е. А. Воронина (Кемерово, 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, проф. РАН О. В. Груздева (Кемерово, РФ)
д-р мед. наук, проф. И. М. Давидович (Хабаровск, РФ)
д-р мед. наук С. В. Иванов (Кемерово, РФ)
д-р мед. наук А. Н. Ильницкий (Москва, РФ)
академик РАН Р. С. Карпов (Томск, РФ)
чл.-корр. РАН М. Ю. Киров (Архангельск, РФ)
д-р мед. наук А. В. Концевая (Москва, 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)
д-р мед. наук А. Г. Кутихин (Кемерово, РФ)
д-р мед. наук О. В. Куш (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)
д-р мед. наук, профессор К. И. Прошаев (Москва, 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 Р. С. Тарасов (Кемерово, РФ)
д-р мед. наук, проф. А. Т. Тепляков (Томск, РФ)
академик РАН И. Е. Чазова (Москва, РФ)
чл.-корр. РАН 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. Виджейрагхан (Тируванантапурам, Индия)
кан. мед. наук А. Е. Южалин (Хьюстон, США)
д-р мед. наук Е. Л. Калмыков (Бранденбург, Германия)

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, бульвар академика Л.С. Барбараша, стр. 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: 3.1.20. Кардиология, 3.1.15. Сердечно-сосудистая хирургия, 3.1.18. Внутренние болезни, 3.2.3. Общественное здоровье, организация и социология здравоохранения, 3.3.3. Патологическая физиология. 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>. Подписка по каталогу «Урал-пресс»: индекс подписки – 25217.

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

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

ASSOCIATE EDITORS

PhD, Prof. G. V. Artamonova (Kemerovo, RF)

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

PUBLISHING EDITOR

PhD V. V. Kashtalap (Kemerovo, RF)

PhD A. N. Sumin (Kemerovo, RF)

EDITORIAL BOARD

- | | |
|---|--|
| RAS academician B. G. Alekyan (Moscow, RF) | PhD O. V. Kushch (Kemerovo, RF) |
| PhD, Prof. O. Yu. Aleksandrova (Moscow, RF) | PhD A.G. Kutikhin (Kemerovo, RF) |
| RAS academician L. I. Aftanas (Novosibirsk, RF) | RAS cor. member Yu. B. Lishmanov (Tomsk, RF) |
| PhD, Prof. S. A. Berns (Kemerovo, Moscow, RF) | RAS cor. member V. V. Lomivorotov (Novosibirsk, RF) |
| RAS academician S. A. Boytsov (Moscow, RF) | PhD S. A. Makarov (Kemerovo, RF) |
| PhD T. N. Breskina (Moscow, RF) | PhD S. E. Mamchur (Kemerovo, RF) |
| RAS academician I. E. Chazova (Moscow, RF) | PhD, Prof. L. N. Maslov (Tomsk, RF) |
| RAS cor. member A. M. Chernyavsky (Novosibirsk, RF) | RAS academician S. V. Popov (Tomsk, RF) |
| PhD, Prof. G. A. Chumakova (Barnaul, RF) | PhD, Prof. K. I. Proshchayev (Moscow, RF) |
| PhD, Prof. S. P. Chumakova (Tomsk, RF) | RAS academician V. P. Puzyrev (Tomsk, RF) |
| PhD, Prof. I. M. Davidovich (Khabarovsk, RF) | PhD, Prof. V. A. Rudnov (Yekaterinburg, RF) |
| PhD, Prof. A. N. Ilnickij (Moscow, RF) | PhD, Prof. A. B. Salmina (Moscow, RF) |
| PhD V. I. Ganyukov (Kemerovo, RF) | PhD, Prof. I. V. Samorodskaya (Moscow, RF) |
| PhD, Prof. A. A. Garganeeva (Tomsk, RF) | PhD, Prof. E. Yu. Sherstoboev (Tomsk, RF) |
| PhD, Prof. A. I. Grican (Krasnoyarsk, RF) | PhD, Prof. V. M. Shipulin (Tomsk, RF) |
| PhD, RAS Prof. O. V. Gruzdeva (Kemerovo, RF) | RAS academician E. V. Shlyakhto (Saint Petersburg, RF) |
| PhD S. V. Ivanov (Kemerovo, RF) | PhD D. L. Shukevich (Kemerovo, RF) |
| RAS academician R. S. Karpov (Tomsk, RF) | PhD, Prof. I. I. Staroverov (Moscow, RF) |
| RAS cor. member M. Yu. Kirov (Arkhangelsk, RF) | PhD R. S. Tarasov (Kemerovo, RF) |
| PhD A. V. Koncevaya (Moscow, RF) | PhD, Prof. A. T. Teplyakov (Tomsk, RF) |
| PhD O. V. Korpacheva (Omsk, RF) | RAS academician M. I. Voevoda (Novosibirsk, RF) |
| PhD., Prof. E. D. Kosmacheva (Krasnodar, RF) | PhD E. A. Voronina (Kemerovo, RF) |
| PhD Yu. A. Kudryavtseva (Kemerovo, RF) | |

INTERNATIONAL ADVISORY BOARD

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

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, Academician Barbarash blvd., 650002).

The journal is recommended by the Russian Highest Certifying Commission for publication of the results of degree theses on the following disciplines: 3.1.20 Cardiology, 3.1.15 Cardiovascular Surgery, 3.1.18 Internal diseases, 3.2.3. Public health, organization and sociology of healthcare, 3.3.3. Pathological Physiology. 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>. The subscription index in the catalog «Ural-press» – 25217.

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

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

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ		ORIGINAL STUDIES	
КАРДИОЛОГИЯ / CARDIOLOGY			
Е.А. Захарьян, А.В. Ушаков, П.Е. Григорьев Клинико-патогенетическая связь сывороточных концентраций эндокана и эндоглина с лабораторными и клинико-функциональными показателями у пациентов с ишемической болезнью сердца	6	E.A. Zakharyan, A.V. Ushakov, P.E. Grigoriev Clinical and pathogenetic association between serum endocan and endoglin levels and clinical and instrumental characteristics in patients with coronary artery disease	
О.М. Разумникова, И.В. Тарасова, И.Н. Кухарева, Д.С. Куприянова, А.С. Соснина, О.А. Трубникова Роль компонентов эмоционального интеллекта в эффективности многозадачного тренинга у пациентов кардиохирургического профиля	17	O.M. Razumnikova, I.V. Tarasova, I.N. Kukhareva, D.S. Kupriyanova, A.S. Sosina, O.A. Trubnikova Importance of emotional intelligence in the effectiveness of multitasking training in cardiac surgery patients	
КАРДИОЛОГИЯ / ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ CARDIOLOGY / PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY			
М.А. Асанов, А.О. Поддубняк, А.В. Понасенко Связь длины теломера с маркерами метаболизма и воспаления в пре- и послеоперационном периоде у пациентов с ишемической болезнью сердца	28	M.A. Asanov, A.O. Poddubnyak, A.V. Ponasenko Relationship between telomere length and markers of inflammation in the pre- and postoperative period of patients with coronary artery disease	
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТАЯ ХИРУРГИЯ / CARDIOVASCULAR SURGERY			
И.В. Суслов, С.Е. Пекарский, А.Е. Баев, М.Г. Тарасов, Е.С. Гергерт, Р.М. Громовой, Ю.И. Богданов, С.М. Султанов, А.А. Гороховский, Д.О. Ивашков Оптическая когерентная томография при сложных чрескожных коронарных вмешательствах: влияние асимметрии просвета артерии на раскрытие стента	37	I.V. Suslov, S.E. Pekarsky, A.E. Baev, M.G. Tarasov, E.S. Hergert, R.M. Gromovoy, S.M. Sultanov, A.A. Gorokhovskiy, D.O. Ivashkov Pitfalls in using intravascular imaging during PCI: sizing the stent according to mean arterial lumen diameter may result in stent underexpansion	
ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ / PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY			
Н.А. Орехов, Т.В. Кириченко, В.А. Мясоедова, А.В. Омельченко, А.Н. Орехов, И.А. Собенин Оценка значимости уровня холестерина в циркулирующих иммунных комплексах в диагностике и прогнозировании развития каротидного атеросклероза	47	N.A. Orekhov, T.V. Kirichenko, V.A. Myasoedova, A.V. Omelchenko, A.N. Orekhov, I.A. Sobenin Significance assessment of LDL-containing circulating immune complexes in diagnostics and prognostication of carotid atherosclerosis	
А.Е. Костюнин, Т.В. Глушкова, К.Ю. Клышников, М.А. Резвова, Т.Н. Акентьева, П.С. Онищенко, Е.А. Овчаренко Влияние циклической нагрузки на резистентность модифицированного поливиниловым спиртом эпоксиобработанного бычьего перикарда к кальцификации и протеолитической деградации	54	A.E. Kostyunin, T.V. Glushkova, K.Yu. Klyshnikov, M.A. Rezvova, T.N. Akentyeva, P.S. Onishchenko, E.A. Ovcharenko Impact of cyclic loading on the resistance of epoxy-treated bovine pericardium modified with polyvinyl alcohol to calcification and proteolytic degradation	
ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ / ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY / TRANSPLANTOLOGY AND ARTIFICIAL ORGANS			
К.Ю. Клышников, Т.В. Глушкова, А.Е. Костюнин, М.А. Резвова, П.С. Онищенко, Т.Н. Акентьева, А.В. Батранин, Е.А. Овчаренко Неразрушающий метод оценки степени кальцификации биопротезов клапанов сердца	63	K.Yu. Klyshnikov, T.V. Glushkova, A.E. Kostyunin, M.A. Rezvova, P.S. Onishchenko, T.N. Akentyeva, A.V. Batranin, E.A. Ovcharenko Non-destructive method for assessing the degree of calcification in bioprosthetic heart valves	
Н.В. Боярская, О.С. Качанова, А.А. Шишкова, В.Е. Успенский, А.А. Филиппов, Д.С. Толпыгин, А.А. Лобов, А.Б. Малашичева Влияние различных композитных покрытий титанового матрикса на остеогенную дифференцировку интерстициальных клеток аортального клапана человека	73	N.V. Boyarskaya, O.S. Kachanova, A.A. Shishkova, V.E. Uspenskij, A.A. Filippov, D.S. Tolpygin, A.A. Lobov, A.B. Malashicheva The effect of various composite coatings of titanium matrix on osteogenic differentiation of interstitial cells of the human aortic valve	
ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ / PUBLIC HEALTH			
В.Ю. Семенов, О.А. Коваленко Динамика операций коронарного шунтирования в некоторых федеральных округах Российской Федерации в 2019–2021 годах	83	V.Yu. Semenov, O.A. Kovalenko Changes in the number of coronary bypass surgery in some regions of the Russian Federation in 2019–2021	
АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР		REVIEW	
КАРДИОЛОГИЯ / ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ CARDIOLOGY / INTERNAL MEDICINE			
Д.П. Голубовская, Т.Б. Печерина, О.Л. Барбараш Транстиретиновая (ATTR) амилоидная кардиомиопатия в наши дни. Распространенное заболевание с открытыми проблемами	92	D.P. Golubovskaya, T.B. Pecherina, O.L. Barbarash Transtiretinic (ATTR) amyloid cardiomyopathy nowadays. A common disease with open problems	
ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ / PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY			
А.А. Слепцов Роль клеточной пластичности клеток сосудистой стенки и кроветворной системы в атерогенезе	105	A.A. Slepsov The role of cellular plasticity of vascular wall cells and hematopoietic system in atherogenesis	

В.Е. Милуков, В.А. Брюханов, Х.М. Шарифова, К.К. Нгуен Роль гребенчатых мышц в формировании условий гемодинамики в полостях сердца человека	111	V.E. Milyukov, V.A. Bryukhanov, K.M. Sharifova, C.C. Nguyen Role of pectinate muscles in hemodynamics in the cavities of the human heart	
Д.К. Шишкова, А.В. Фролов, В.Е. Маркова, Ю.О. Маркова, А.И. Лазебная, А.Г. Кутихин Актуальные проблемы методологии изучения нормальной и патологической физиологии эндотелиальных клеток в культуре	118	D.K. Shishkova, A.V. Frolov, V.E. Markova, Y.O. Markova, A.I. Lazebnaya, A.G. Kutikhin Improving methodology of endothelial cell research: synopsis and prospects	
ОНЛАЙН		ONLINE	
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ		ORIGINAL STUDIES	
КАРДИОЛОГИЯ / CARDIOLOGY			
Л.Г. Евлампиева, В.Е. Харац, О.А. Гуськова, О.И. Сергейчик, Н.Е. Широков, А.Д. Сталлингс, Е.А. Горбатенко, Е.И. Ярославская Прогнозирование приверженности СИПАП-терапии у пациентов кардиологического профиля	130	L.G. Evlampieva, V.E. Kharats, O.A. Guskova, O.I. Sergeichik, N.E. Shirokov, A.D. Stallings, E.A. Gorbatenko, E.I. Yaroslavskaya Prediction of adherence to CPAP therapy in cardiac patients	
Е.А. Шмидт, С.А. Бернс, О.А. Ложкина, В.Н. Каретникова, Т.Б. Печерина, О.Л. Барбараш Клинико-anamnestические особенности и тактика ведения пациентов с тромбоэмболией легочной артерии в Кемеровской области в сравнении с результатами российского регистра «СИРЕНА»	144	E.A. Shmidt, S.A. Berns, O.A. Lozhkina, V.N. Karetnikova, T.B. Pecherina, O.L. Barbarash Clinical and anamnestic features and management of patients with pulmonary embolism in the Kemerovo region in comparison with the results of the "SIRENA" Russian registry	
ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ / PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY			
А.Д. Акино, А.А. Рубинштейн, И.А. Головкин, П.В. Тирикова, А.С. Трулев, И.В. Кудрявцев, А.С. Головкин Особенности продукции внеклеточных везикул клетками линии THP-1 при стимуляции <i>in vitro</i>	154	A.D. Akino, A.A. Rubinshtein, I.A. Golovkin, P.V. Tirikova, A.S. Trulyov, I.V. Kudryavtsev, A.S. Golovkin Features of extracellular vesicle production by THP-1 cells during <i>in vitro</i> stimulation	
Д.К. Шишкова, В.Е. Маркова, Ю.О. Маркова, Е.А. Великанова, А.В. Сеницкая, М.Ю. Сеницкий, А.Е. Тюрина, А.Д. Степанов, Ю.А. Дылева, В.Г. Матвеева, А.Г. Кутихин Исследование патологического воздействия ионизированного кальция, кальципротеиновых мономеров и кальципротеиновых частиц на первичные артериальные эндотелиальные клетки	167	D.K. Shishkova, V.E. Markova, Y.O. Markova, E.A. Velikanova, A.V. Sinitskaya, M.Yu. Sinitsky, A.E. Tyurina, A.D. Stepanov, Yu.A. Dyleva, V.G. Matveeva, A.G. Kutikhin Pathological effects of ionized calcium, calciprotein monomers and calciprotein particles on arterial endothelial cells	
Е.И. Перепёлкин, А.В. Зубко, Д.В. Бритиков, И.С. Чашин, Н.П. Бакулева, К.М. Джиджихия Исследование влияния обработки алло- и ксеногенных биоматериалов в суб- и сверхкритическом диоксиде углерода на способность к подавлению кальциноза	182	E.I. Perepelkin, A.V. Zubko, D.V. Britikov, I.S. Chashchin, N.P. Bakuleva, K.M. Dzhihiya Investigation of the effect of processing allogeneic and xenogenic biomaterials in sub- and supercritical carbon dioxide on the ability to suppress calcification	
ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ / TRANSPLANTOLOGY AND ARTIFICIAL ORGANS			
Е.А. Сенокосова, Е.О. Кривкина, Т.Н. Акентьева, Т.В. Глушкова, В.А. Кошелев, М.Ю. Ханова, Л.В. Антонова Тканеинженерный протез кровеносного сосуда: оценка качества материала и функциональной активности атромбогенного лекарственного покрытия	193	E.A. Senokosova, E.O. Krivkina, T.N. Akentyeva, T.V. Glushkova, V.A. Koshelev, M.Yu. Khanova, L.V. Antonova Tissue-engineered vascular graft: assessment of material quality and activity of anti-trombogenic coating	
АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР		REVIEW	
ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ / PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY			
И.В. Кудрявцев, А.С. Головкин, А.А. Тотолян Диагностическая значимость определения отдельных субпопуляций внеклеточных везикул в клинической практике	202	I.V. Kudryavtsev, A.S. Golovkin, A.A. Totolyan Diagnostic potential of determining individual extracellular vesicles subsets in clinical practice	

УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!

Третий номер журнала по традиции посвящен фундаментальным и трансляционным исследованиям, призванным обеспечить прорыв в различных областях сердечно-сосудистой медицины. Одним из глобальных вызовов, стоящих перед современной цивилизацией, является прогрессирующее старение населения, связанное с синхронным снижением рождаемости и увеличением продолжительности жизни. В связи с этим в популяции увеличивается частота синдрома старческой астении, связанного с возраст-ассоциированной провоспалительной дисфункцией эндотелия. Поиску ее маркеров, а также анализу патогенетической роли отдельных субпопуляций внеклеточных везикул посвящено сразу несколько статей этого номера, подготовленных петербургскими, сибирскими и крымскими исследователями. Другим патологическим последствием старения артерий и системных биохимических нарушений служит атеросклероз, перспективные средства борьбы с которым изучены в статьях авторов из НИИ общей патологии и патофизиологии и НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ. Эффективный способ лечения клинических последствий атеросклероза включает реваскуляризацию, осуществляемую посредством чрескожного коронарного вмешательства и коронарного шунтирования. Проблемные хирургические аспекты этих операций освещены в работах авторов из НМИЦ сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева и НИИ кардиологии Томского НИМЦ. Одной из ключевых предпосылок достижения благоприятных исходов при кардиохирургических вмешательствах является успешная профилактика когнитивной дисфункции, чему немало способствуют регулярные научные работы коллектива лаборатории нейрососудистой патологии НИИ КПССЗ во главе с О.А. Трубниковой (в том числе представленное в этом номере исследование).

Повышение эффективности хирургического лечения ряда болезней системы кровообращения немислимо без разработки новых биоматериалов. С этой точки зрения интерес представляет сочтанная работа химиков и патофизиологов из НИИ КПССЗ по созданию композитного материала на основе бычьего перикарда и поливинилового спирта, а также разработанный в данном учреждении новый неинвазивный метод оценки степени кальцификации биопротезов клапанов сердца. Все более активно для работы с биоматериалами и медицинскими изделиями применяется техно-

логия обработки суб- и сверхкритическим диоксидом углерода, полезным свойствам которого в отношении подавления кальциноза посвящена совместная статья ученых из Института элементо-органических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН и НМИЦ сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева. Несомненную ценность представляет работа коллег из НМИЦ им. В.А. Алмазова и Института цитологии РАН, впервые исследовавших влияние различных композитных покрытий титанового матрикса на остеогенную дифференцировку интерстициальных клеток аортального клапана человека. Отдельно стоит отметить исследование тканевых инженеров из лаборатории клеточных технологий НИИ КПССЗ, продолжающих долгую и кропотливую работу по созданию тканеинженерного сосудистого протеза малого диаметра и подготовке к его регистрации в качестве медицинского изделия для сердечно-сосудистой хирургии.

Приверженность пациентов СИПАП-терапии (лечению обструктивного ночного апноэ), а также клинично-anamнестические особенности и тактика ведения лиц с тромбоэмболией легочной артерии в Кемеровской области и других регионах России (по результатам регистра «СИРЕНА») рассмотрены в статье авторов из Тюменского кардиологического научного центра и НИИ КПССЗ. Особого внимания читателей заслуживают аналитические обзорные статьи, посвященные транстиретиновой амилоидной кардиомиопатии и роли гребенчатых мышц в формировании условий гемодинамики в полостях сердца человека.

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

Редакторы номера

Антон Геннадьевич Кутихин, д.м.н. заведующий отделом экспериментальной медицины НИИ КПССЗ

Юлия Александровна Кудрявцева, д.б.н. главный научный сотрудник отдела экспериментальной медицины НИИ КПССЗ

Научный редактор

Евгений Валерьевич Григорьев, д.м.н., профессор РАН заместитель директора НИИ КПССЗ по научной и лечебной работе

Главный редактор

Ольга Леонидовна Барбараш, академик РАН, д.м.н., профессор директор НИИ КПССЗ



УДК 616.13-004.6

DOI 10.17802/2306-1278-2024-13-3-6-16

КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ СВЯЗЬ СЫВОРОТОЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЭНДОКАНА И ЭНДОГЛИНА С ЛАБОРАТОРНЫМИ И КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Е.А. Захарьян¹, А.В. Ушаков¹, П.Е. Григорьев^{2,3}

¹ Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт им. С.И. Георгиевского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», бул. Ленина 5/7, Симферополь, Российская Федерация, 295051; ² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Севастопольский государственный университет», ул. Университетская, 33, Севастополь, Российская Федерация, 299053; ³ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республики Крым «Академический научно-исследовательский институт физических методов лечения Ялта, медицинской климатологии и реабилитации имени И.М. Сеченова», ул. Мухина, 10/3, Российская Федерация, 298650

Основные положения

- Выявлена корреляционная связь разной силы и значимости между сывороточными значениями эндокана и эндоглина и рядом клинико-инструментальных характеристик пациентов с ишемической болезнью сердца.

Цель

Изучение связи концентрации эндокана и эндоглина в сыворотке крови с клинико-инструментальными характеристиками пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС).

Материалы и методы

В исследование включены 264 человека (161 мужчина и 103 женщины), из них 220 – пациенты с диагнозом ИБС. Пациентам выполнены антропометрические измерения, коронароангиография, эхокардиографическое исследование и дуплексное ультразвуковое сканирование внечерепных отделов брахиоцефальных артерий. Проведено исследование уровня эндокана (нг/мл), эндоглина (нг/мл), глюкозы (ммоль/л) в сыворотке крови. Пациенты были разделены на группы согласно полученным баллам по шкале SYNTAX: 1-я группа – ≤ 22 баллов (124 человека), 2-я группа – 23–32 балла (53 человека), 3-я группа – > 33 баллов (43 человека). Группа контроля представлена здоровыми добровольцами (44 человека). Все группы были сопоставимы по возрасту и полу.

Результаты

Обнаружена корреляционная связь между концентрацией эндокана и выраженностью поражения коронарных артерий ($r = 0,32$, $p < 0,001$). В группе 1 медиана эндокана составила 14,40 [10,19; 19,91] нг/мл, в группе 2 – 20,31 [12,75; 24,12] нг/мл, в группе 3 – 32,10 [22,12; 38,21] нг/мл, в группе контроля – 5,97 [4,38; 8,25] нг/мл ($p < 0,0001$). При изучении концентрации сывороточного эндоглина не выявлено статистически значимых различий между группами пациентов ($p > 0,05$). Определена корреляционная связь разной силы и значимости между значением эндокана и рядом клинико-инструментальных характеристик пациентов. Показана статистическая значимость различий уровня эндокана между группами пациентов с мультифокальным атеросклерозом ($p < 0,01$), стенокардией ($p < 0,0001$), наличием инфаркта миокарда в анамнезе ($p < 0,0001$) и ожирением ($p < 0,05$) в сравнении с лицами без данных признаков. При изучении концентрации эндоглина в сыворотке крови отмечена статистическая значимость различий его концентрации между группами пациентов с мультифокальным атеросклерозом и лицами с поражением только коронарных артерий ($p < 0,0001$), а также между больными постоянной формой фибрилляции предсердий и пациентами с синусовым ритмом ($p < 0,05$).

Заключение

Полученные данные демонстрируют потенциальную роль эндокана и эндоглина как многообещающих биомаркеров для диагностики выраженности эндотелиальной дисфункции у пациентов с ИБС.

Для корреспонденции: Елена Аркадьевна Захарьян, locren@yandex.ru; адрес: бул. Ленина 5/7, Симферополь, Российская Федерация, 295051

Corresponding author: Elena A. Zakharyan, locren@yandex.ru; address: 5/7, Lenin St., Simferopol, Russian Federation, 295051

Ключевые слова Эндокан • Эндоглин • Атеросклероз • Ишемическая болезнь сердца

Поступила в редакцию: 24.04.2024; поступила после доработки: 04.06.2024; принята к печати: 17.07.2024

CLINICAL AND PATHOGENETIC ASSOCIATION BETWEEN SERUM ENDOCAN AND ENDOGLIN LEVELS AND CLINICAL AND INSTRUMENTAL CHARACTERISTICS IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE

E.A. Zakharyan¹, A.V. Ushakov¹, P.E. Grigoriev^{2,3}

¹ Order of the Red Banner of Labor S.I. Georgievsky Medical Institute of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "V.I. Vernadsky Crimean Federal University", 5/7, Lenina St., Simferopol, Russian Federation, 295051; ² Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Sevastopol State University", 33, Universitetskaya St., Sevastopol, Russian Federation, 299053; ³ State Budgetary Institution of Healthcare of the Republic of Crimea "Academic Research Institute of Physical Methods of Treatment Yalta, Medical Climatology and Rehabilitation named after I.M. Sechenov", 10/3, Mukhina St., Russian Federation, 298650

Highlights

- There is an association of varying strength and significance between serum endocan and endoglin levels and a number of clinical and instrumental characteristics of patients with coronary artery disease.

Aim

To assess the relationship between serum endocan and endoglin levels with clinical and instrumental characteristics of patients with coronary artery disease (CAD).

Methods

The study included 264 people (161 men and 103 women), of whom 220 were patients with CAD. The patients underwent anthropometric measurements; coronary angiography; echocardiographic examination; duplex ultrasound scanning of the extracranial sections of the brachiocephalic arteries. We studied serum endocan (ng/mL), endoglin (ng/mL) and glucose (mmol/L) levels. The patients were divided into groups according to the SYNTAX score: group 1 – ≤ 22 points (124 people); group 2 – 23–32 points (53 people); group 3 – > 33 points (43 people). The control group was represented by healthy volunteers (44 people). All groups were comparable in age and gender. The differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results

We found an association between endocan level and severity of coronary artery (CA) lesions ($r = 0.32$, $p < 0.001$). In the group 1, the median endocan level was 14.40 ng/mL [10.19; 19.91], in the group 2 it was 20.31 ng/mL [12.75; 24.12], in the group 3 it was 32.10 ng/mL [22.12; 38.21], and in the control group it was 5.97 ng/mL [4.38; 8.25] ($p < 0.0001$). While studying serum endoglin levels, we did not find any statistical differences between the patient groups ($p > 0.05$). However, we found an association of varying strength and significance between the serum endocan and endoglin levels and a number of clinical and instrumental characteristics of patients. The results showed statistically significant differences in endocan levels between the groups of patients with multivessel disease ($p < 0.01$), angina pectoris ($p < 0.0001$), myocardial infarction in history ($p < 0.0001$) and obesity ($p < 0.05$) compared with patients without these diseases. While studying serum endoglin levels, we noted statistically significant differences in endoglin levels between the groups of patients with multivessel disease and patients with CA lesions only ($p < 0.0001$), as well as between patients with persistent atrial fibrillation and patients with sinus rhythm ($p < 0.05$).

Conclusion

The data obtained demonstrate the potential role of endocan and endoglin as promising biomarkers for diagnosing the severity of endothelial dysfunction in patients with CAD.

Keywords

Endocan • Endoglin • Atherosclerosis • Coronary artery disease

Received: 24.04.2024; received in revised form: 04.06.2024; accepted: 17.07.2024

Список сокращений

АГ – артериальная гипертензия	ЛЖ – левый желудочек
ИБС – ишемическая болезнь сердца	МФА – мультифокальный атеросклероз
ИМ – инфаркт миокарда	ТИМ – толщина комплекса интима-медиа
КА – коронарные артерии	ЭД – эндотелиальная дисфункция

Введение

Эндотелий играет ключевую роль в поддержании гомеостаза сердечно-сосудистой системы. Эндотелиальная дисфункция (ЭД) предшествует развитию морфологических атеросклеротических изменений и считается одним из основных патогенетических этапов, приводящих к ишемической болезни сердца (ИБС), инфаркту миокарда (ИМ), инсульту и заболеваниям периферических артерий. Таким образом, оценка ЭД является актуальной для выявления атеросклеротических процессов на ранней стадии, стратификации риска сердечно-сосудистых заболеваний, мониторинга ответа на лечение и разработки новых терапевтических подходов [1]. При этом лабораторные биомаркеры ЭД представляют альтернативу традиционным методам диагностики и оценки рисков. Более того, они могут быть более надежным, специфичным, точным, простым и недорогим способом оценки ЭД [1].

Обнаруженный более двух десятилетий назад, эндокан по-прежнему представляет собой активно изучаемый биомаркер, связанный с воспалением и ЭД [2]. Также известный как специфическая молекула эндотелиальных клеток 1 (ESM1), эндокан является растворимым протеогликаном дерматансульфата, секретируемым эндотелиальными клетками. Его экспрессия наблюдается в активно пролиферирующих тканях и была обнаружена в культивируемых эндотелиальных клетках кожи, жировой клетчатке, гепатоцитах, легочных, коронарных артериях (КА) и др. [3]. Роль эндокана изучена при многих заболеваниях, тесно связанных с воспалением и ЭД, таких как сахарный диабет 2-го типа [4], гипертония [5], атеросклеротические сердечно-сосудистые заболевания [3], заболевания почек [6], ожирение [6], синдром поликистозных яичников [7] и метаболический синдром [4].

В свою очередь эндоглин, или CD105, представляет собой гомодимерный трансмембранный рецептор для трансформирующего фактора роста $\beta 1$ и $\beta 3$ (TGF- $\beta 1$ и TGF- $\beta 3$) и в основном обнаруживается в пролиферирующих эндотелиальных клетках сосудистой стенки [1]. Описаны две изоформы эндоглина: длинная (L-эндоглин) и короткая (S-эндоглин), которые отличаются друг от друга длиной их цитоплазматических хвостов и уровнями фосфорилирования [1]. Растворимая форма эндоглина (sEng), которая образуется путем расщепления внеклеточного домена его мембраны с помощью

матриксной металлопротеазы 14-го мембранного типа, была обнаружена в крови и моче пациентов с различными заболеваниями [1]. Так, гипоксия, воспаление, окислительный стресс и проатерогенные медиаторы считаются триггерами высвобождения эндоглина, который действует как рецептор-ловушка для специфических лигандов семейства TGF- β , связывая и нейтрализуя их действие [8]. Однако конкретные механизмы действия эндоглина пока изучены недостаточно.

Учитывая вышеизложенное, представляется актуальным изучение взаимосвязи сывороточных концентраций эндокана и эндоглина у пациентов с ИБС в контексте их клинико-инструментальных характеристик.

Целью исследования явилось изучение связи концентрации эндокана и эндоглина в сыворотке крови с клинико-инструментальными характеристиками пациентов с ИБС.

Материалы и методы

Критерием включения больных в исследование явилось наличие верифицированной (клинически и инструментально) ИБС. Критериями невключения были: перенесенные менее 6 нед. назад ИМ либо острое нарушение мозгового кровообращения; любые острые и хронические воспалительные заболевания, способные повлиять на сывороточные концентрации эндокана и эндоглина; хроническая болезнь почек \geq III стадии (скорость клубочковой фильтрации < 60 мл/мин/1,73 м²); сахарный диабет обоих типов при уровне гликированного гемоглобина $> 11\%$ или уровне глюкозы в течение суток $\geq 11,0$ ммоль/л; первичные и вторичные кардиомиопатии, воспалительные заболевания сердца; онкологические заболевания, заболевания крови и иммунной системы; беременность или период лактации, психические расстройства, препятствующие контакту с больным в период наблюдения; нарушение протокола и отказ пациента от участия в исследовании.

Настоящее исследование проведено в отделениях кардиохирургии и хирургического лечения сложных нарушений ритма сердца и электрокардиостимуляции многопрофильного республиканского медицинского центра ГБУЗ РК «РКБ им. Н.А. Семашко» в 2021–2023 гг. В исследование включены 264 человека (161 мужчина и 103 женщины), из них 220 – пациенты с установленным диагнозом ИБС,

44 – здоровые добровольцы (группа контроля). Исследование одобрено этическим комитетом ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» (протокол № 5 от 19.05.2022). Пациенты дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Всем пациентам была выполнена коронароангиография на ангиографической установке General Electric Optima IGS 330 (GE HealthCare, США). Для объективной количественной оценки выраженности атеросклеротического поражения КА использована шкала SYNTAX в виде онлайн-калькулятора (<https://officialsyntaxscore.com>). Учитывая, что данная шкала является надежным инструментом определения тяжести атеросклероза КА, все пациенты были разделены на следующие группы: 1-я группа – с умеренным атеросклеротическим поражением КА со значением по шкале SYNTAX менее или равным 22 баллам (124 человека); 2-я группа – с выраженным атеросклерозом КА – с показателем 23–32 балла (53 человека); 3-я группа – с крайне тяжелым поражением КА – с количеством баллов по шкале более 33 (43 человека). Среди пациентов с ИБС были выделены подгруппы больных после раннее перенесенного чрескожного коронарного вмешательства (стентирования) в сроки от 4 мес. до 6 лет (45 человек), с мультифокальным атеросклерозом (МФА) (46 человек), наличием ИМ в анамнезе (110 человек), стенокардией (152 человека) и ожирением (14 человек). Группа 4 была представлена здоровыми добровольцами, у которых сердечно-сосудистая патология исключалась на основании отсутствия клинических, анамнестических и электрокардиографических признаков заболевания сердца (44 человека). Все группы были сопоставимы по возрасту и полу.

Диагноз артериальной гипертензии (АГ) устанавливался согласно клиническим рекомендациям Российского кардиологического общества (2020). Эхокардиографическое исследование проводили с помощью ультразвукового сканера Samsung Accuix A30 (АМЕ, в двухмерном режиме, с доплерографией в импульсном режиме и режиме непрерывной волны, цветным доплеровским сканированием). Оценивали стандартные структурные параметры желудочков и предсердий, сократительную и диастолическую функцию левого желудочка (ЛЖ), состоятельность клапанного аппарата. Расчет массы миокарда ЛЖ (ММЛЖ) проводили в соответствии с рекомендациями Американского общества эхокардиографии по формуле: $ММЛЖ = 0,8 \times [1,04 \times (КДР + ТЗСд + ТМЖПд)^3 - КДР^3] + 0,6$ г, где КДР – конечный диастолический размер, ТЗСд – толщина задней стенки ЛЖ в диастолу, ТМЖПд – толщина межжелудочковой перегородки в диастолу.

МФА представляет собой гемодинамически значимое атеросклеротическое поражение нескольких

магистральных сосудистых бассейнов, а также наличие утолщения комплекса интима-медиа (ТИМ) сонных артерий и зачастую определяет тяжесть состояния и дальнейший прогноз пациентов. В настоящем исследовании ТИМ исследовали с помощью дуплексного ультразвукового сканирования внечерепных отделов брахиоцефальных артерий на ультразвуковом сканере Samsung UGEO H60 (Samsung Medison, Южная Корея).

Всем пациентам проводили стандартное обследование с измерением роста и веса, окружности талии, расчетом индекса массы тела (кг/м²). Также нами исследованы концентрация глюкозы в сыворотке крови, а также уровень эндокана и растворимого эндоглина в сыворотке крови. Для этого до коронарографии выполнен забор венозной крови натощак. Уровень эндокана (нг/мл) определяли с помощью прямого иммуноферментного анализа с использованием аналитического набора human endothelial cell specific molecule 1 (ESM1) (AvisceraBioscience, США), эндоглина (нг/мл) – Human Endoglin ELISA Kit (RayBiotech, Inc., США) согласно инструкциям производителя.

Статистический анализ

Для статистической обработки данных, выраженных в дихотомической шкале, в качестве описательных статистик использовали абсолютные и относительные частоты. Для данных, представленных в порядковой или количественной шкалах, в качестве описательных статистик использовали медиану (Me) и интерквартильный размах [Q25; Q75]. Для оценки статистической значимости различий между двумя группами по каким-либо параметрам использовали критерий Манна – Уитни. Для оценки статистической связи между двумя признаками применяли коэффициент ранговой корреляции Спирмена с оценкой его значимости – статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Для множественных сравнений центральных тенденций в независимых выборках в случаях количественных или порядковых данных использовали критерий Краскела – Уоллиса; в качестве апостериорного критерия для последующих попарных сравнений использовали критерий Данна. Статистические сравнения долей номинальных признаков проводили с помощью критерия хи-квадрат Пирсона. Критическую область во всех случаях полагали двусторонней. Для расчета критериев Краскела – Уоллиса и Данна использовали статистический пакет Past (разработчики P.D. Ryan, D.A.T. Harper и J.S. Whalley), для всех остальных расчетов – Statistica (Stat Soft, США).

Результаты

Клинико-анамнестическая и лабораторно-инструментальная характеристика пациентов, вклю-

ченных в исследование, представлена в табл. 1.

Выявлен более высокий уровень эндокана в группе пациентов с ИБС в сравнении с группой контроля ($p < 0,0001$): 18,95 [11,51; 26,13] против 5,97 [4,38; 8,25] нг/мл (рисунк).

При изучении концентрации эндокана в сыворотке крови у пациентов трех групп согласно баллам по шкале SYNTAX обнаружена статистически значимая умеренная корреляционная связь между его значениями и выраженностью поражения КА ($r = 0,474$, $p < 0,0001$). При этом в группе 1 медиана его уровня составила 14,40 [10,19; 19,91] нг/мл, в группе 2 – 20,31 [12,75; 24,12] нг/мл, а в группе 3 – 32,10 [22,12; 38,21] нг/мл ($p < 0,0001$).

Статистически значимой корреляции уровня концентрации сывороточного эндоглина и баллов

по шкале SYNTAX не определено ($p > 0,05$). Между исследованными группами данный показатель также не продемонстрировал статистически значимой разницы: 5,393 [4,9; 6,724], 5,348 [4,378; 6,732] и 5,732 [5,213; 7,192] соответственно ($p > 0,05$).

Обнаружена корреляционная связь разной силы и значимости между концентрациями эндокана и эндоглина в сыворотке крови и рядом клинико-инструментальных характеристик пациентов (табл. 2).

Необходимо отметить полученную статистическую значимость различий концентрации эндокана в сыворотке крови между группами пациентов с МФА и пациентами с поражением только КА ($p < 0,01$), наличием ИМ и без острых коронарных событий в анамнезе ($p < 0,0001$), со стенокардией

Таблица 1. Клинико-anamnestическая и лабораторно-инструментальная характеристика пациентов
Table 1. Clinical, anamnestic and laboratory characteristics of patients

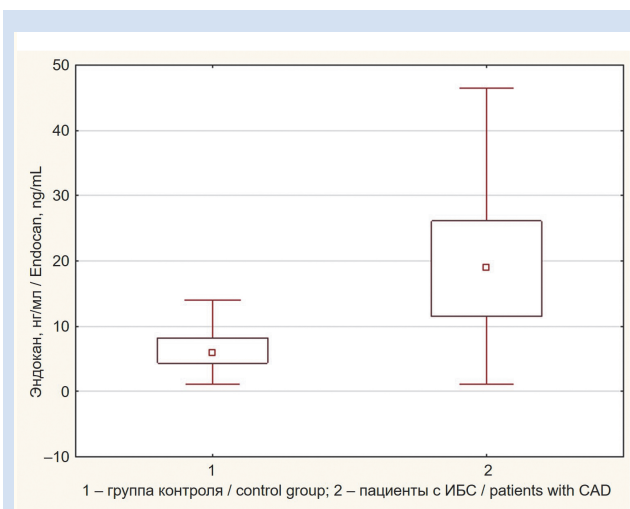
Показатель / Parameter	Группа 1 / Group 1, n = 124	Группа 2 / Group 2, n = 53	Группа 3 / Group 3, n = 43	p
Возраст, лет / Age, years, Me [Q25; Q75]	64,0 [58,0; 69,0]	66,0 [60,0; 70,0]	66,0 [60,0; 70,0]	0,882
SYNTAX, баллы / SYNTAX, score, Me [Q25; Q75]	12,25 [5,0; 17,0]	27,5 [24,0; 29,5]	36,25 [34,0; 40,5]	< 0,0001
МФА / Multivessel disease, n (%)	20 (16,1)	11 (20,8)	15 (34,9)	0,034
ФВ ЛЖ / LV EF, %, Me [Q25; Q75]	57,0 [49,0; 62,0]	54,0 [47,0; 59,0]	52,0 [44,0; 59,0]	0,063
Стенокардия / Angina, n (%)	72 (58,1)	41 (77,4)	35 (81,4)	0,004
II ФК стенокардии / Angina pectoris class II, n (%)	25 (20,2)	12 (22,6)	6 (14)	0,547
III ФК стенокардии / Angina pectoris class III, n (%)	49 (39,5)	29 (54,7)	27 (62,8)	0,016
IV ФК стенокардии / Angina pectoris class IV, n (%)	–	–	4 (9,3)	0,0008
ИМ в анамнезе / MI in history, n (%)	45 (36,3)	41 (77,4)	25 (58,1)	< 0,0001
МЖП, см / IVSd, cm, Me [Q25; Q75]	1,2 [1,1; 1,3]	1,2 [1,0; 1,3]	1,2 [1,1; 1,3]	0,234
ЗСЛЖ, см / LVPWd, cm, Me [Q25; Q75]	1,1 [1,0; 1,2]	1,0 [1,0; 1,2]	1,1 [1,0; 1,2]	0,285
ЛП, см / LA, cm, Me [Q25; Q75]	4,3 [3,9; 4,8]	4,2 [3,8; 4,6]	4,2 [3,9; 4,8]	0,200
ММЛЖ, г / LV mass, g, Me [Q25; Q75]	217,27 [184,85; 285,49]	229,08 [195,76; 256,12]	234,45 [203,45; 265,29]	0,807
АГ I степени / AH I degree, n (%)	12 (9,7)	10 (18,9)	4 (9,3)	0,189
АГ II степени / AH II degree, n (%)	83 (66,9)	34 (64,2)	32 (74,4)	0,023
АГ III степени / AH III degree, n (%)	18 (14,5)	5 (9,4)	3 (7)	0,356
Постоянная форма ФП / Persistent AF, n (%)	11 (8,9)	3 (5,7)	1 (2,3)	0,317
ТИМ сонных артерий, см / Carotid arteries IMT, cm, Me [Q25; Q75]	0,8 [0,8; 0,9]	1,05 [0,9; 1,1]	0,9 [0,8; 1,0]	0,024
Ожирение / Obesity, n (%)	8 (6,5)	5 (9,4)	1 (2,3)	0,365
Уровень глюкозы в сыворотке крови, ммоль/л / Serum glucose level, mmol/L, Me [Q25; Q75]	5,55 [4,66; 6,52]	5,7 [5,2; 6,5]	5,8 [5,29; 6,79]	0,374

Примечание: данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха – Me [Q25; Q75], количество пациентов – n (%). АГ – артериальная гипертензия; ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка; ИМ – инфаркт миокарда; ЛП – левое предсердие; МЖП – межжелудочковая перегородка; ММЛЖ – масса миокарда левого желудочка; МФА – мультифокальный атеросклероз; ТИМ – толщина комплекса интима-медиа; ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка; ФК – функциональный класс; ФП – фибрилляция предсердий. Для данных, выраженных в %, сравнение долей проведено посредством критерия хи-квадрат Пирсона; для количественных и порядковых данных использован критерий Краскела – Уоллиса.

Note: Data are presented as median and interquartile range – Me [Q25; Q75], number of patients – n (%); AH – arterial hypertension; AF – atrial fibrillation; IVSd – interventricular septum thickness at end-diastole; IMT – intima-media thickness; LA – left atrium; LV EF – left ventricular ejection fraction; LV mass – left ventricle mass; MI – myocardial infarction; LVPWd – left ventricular posterior wall thickness at end-diastole. The proportion comparisons were carried out using the Pearson chi-squared test for the data expressed in %; for the quantitative and ordinal data proportion comparisons were carried out using the Kruskal–Wallis test.

и без ангинозных приступов ($p < 0,0001$), а также между группами пациентов с ожирением и без метаболических нарушений ($p < 0,05$) (табл. 3). При этом из 45 пациентов, ранее перенесших чрескожные коронарные вмешательства (стентирование), у 29 развились рестенозы КА: медиана уровня эндокана у пациентов с рестенозами составила 24,75 [18,225; 31,91] нг/мл, а в группе без рестенозов – 19,28 [13,76; 30,92] нг/мл, что, однако, не показало статистически значимых различий между указанными группами ($p > 0,05$) (см. табл. 3).

При изучении концентрации эндоглина в сыворотке крови отмечена статистическая значимость



Концентрация эндокана в сыворотке крови в группах контроля (1) и пациентов с ишемической болезнью сердца (2) ($p < 0,0001$)

Serum endocan levels in the control group (1) and in the group of patients with coronary artery disease (2) ($p < 0,0001$)

различий его концентрации между группами пациентов с МФА и пациентами с поражением только КА ($p < 0,0001$), а также между лицами с постоянной формой фибрилляции предсердий и пациентами с синусовым ритмом ($p = 0,0126$) (см. табл. 3). Схожая с эндоканом картина наблюдалась при изучении концентрации сывороточного эндоглина в зависимости от развития рестенозов КА: 6,008 [4,937; 7,317] нг/мл в группе с рестенозами против 5,142 [4,178; 5,983] нг/мл в группе без рестенозов ($p = 0,1213$) (см. табл. 3).

Обсуждение

Согласно данным литературы, эндокан принимает участие в регуляции процессов пролиферации и неоваскулогенеза, а также является суррогатным маркером воспаления и ЭД, лежащих в основе многих заболеваний сердечно-сосудистой системы [1].

Важно отметить работы S. Balta и соавт. (2014) и S.F. Oktar и соавт. (2019), в которых у пациентов на ранних стадиях АГ была выявлена положительная корреляционная связь между концентрацией эндокана в крови и ТИМ сонных артерий, а также значениями высокочувствительного С-реактивного белка [2, 5]. В настоящем исследовании не обнаружено взаимосвязи сывороточной концентрации эндокана и уровня артериального давления, однако показана умеренная прямая высоко значимая корреляционная связь уровня эндокана и ТИМ сонных артерий ($r = 0,45$, $p < 0,01$).

Известно, что ЭД не только участвует в патогенезе атеросклероза, но и влияет на исход пациентов с ИБС. Пациенты с нарушенной вазомоторной ре-

Таблица 2. Оценка связи клинико-инструментальных показателей и значений эндокана и эндоглина с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена
Table 2. Assessment of relationship between clinical and instrumental indicators and endocan and endoglin levels using Spearman's rank correlation coefficient

Показатель / Parameter	r ESM1	p	r sEng	p
Возраст / Age	0,2299	0,0003	0,009	0,8885
Количество баллов по шкале SYNTAX / SYNTAX score	0,4738	< 0,0001	0,07	0,3041
ТИМ / Carotid arteries IMT	0,4362	0,0007	0,3776	0,0038
ФК стенокардии / Angina pectoris class	0,4426	< 0,0001	-0,037	0,5511
ФВ ЛЖ / LV EF	-0,1969	0,0034	-0,0909	0,1799
МЖП / IVSd	-0,0754	0,2653	0,1555	0,0211
ЗСЛЖ / PWD	0,0179	0,7913	0,1738	0,0098
ЛП / LA	0,0043	0,9498	0,1627	0,0157
ММЛЖ / LV mass	0,0014	0,9849	0,1727	0,016
Степень АГ / AH degree	-0,0096	0,93509	0,2756	0,00006
Уровень глюкозы / Glucose level	0,1886	0,005	0,1238	0,0669

Примечание: АГ – артериальная гипертензия; ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка; ЛП – левое предсердие; МЖП – межжелудочковая перегородка; ММЛЖ – масса миокарда левого желудочка; ТИМ – толщина комплекса интима-медиа; ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка; ФК – функциональный класс; ESM1 – эндокан; sEng – эндоглин.
Note: AH – arterial hypertension; ESM-1 – endocan; IVSd – interventricular septum thickness at end-diastole; IMT – intima-media thickness; LA – left atrium; LV EF – left ventricular ejection fraction; LV mass – left ventricle mass; PWD – left ventricular posterior wall thickness at end-diastole; sEng – endoglin.

акцией эндотелия, включая аномальную констриктивную реакцию на ацетилхолин в КА, подвержены повышенному риску развития коронарных осложнений. Кроме того, развитие функции эндотелия у пациентов с ИБС позволяет улучшить их общие исходы за счет усиления перфузии миокарда и сокращения продолжительности и тяжести его транзиторной ишемии, что уменьшает выраженность ангинозных приступов и снижает риск сердечно-сосудистых осложнений [1, 9]. В нескольких исследованиях изучена роль эндокана в качестве потенциального биомаркера при ИБС. Так, отмечены более высокие концентрации эндокана в сыворотке крови у пациентов с хроническими формами ИБС в сравнении со здоровыми представителями контрольных групп, в том числе при наличии АГ [3] и сахарного диабета [4]. Также выявлено повышение его значений в группе пациентов с рестенозом коронарного стента [10].

В данной работе определен более высокий уровень эндокана в группе пациентов с ИБС в сравнении с группой контроля ($p < 0,001$). Более того, отмечена прямая умеренная корреляционная связь значений данного маркера с функциональным классом стенокардии ($r = 0,4426$; $p < 0,0001$). Также продемонстрировано, что высокие сывороточные концентрации эндокана ассоциированы с наличием МФА ($p < 0,01$), ожирения ($p = 0,05$), стенокардии ($p < 0,0001$) и ИМ в анамнезе ($p < 0,0001$).

В нескольких исследованиях также изучена роль эндокана в качестве биомаркера для прогно-

зирования тяжести ИБС с помощью шкал Gensini и SYNTAX, позволяющих оценить анатомию, морфологию и тяжесть стеноза КА и широко используемых в клинической практике для выбора оптимального вида лечения и прогнозирования общего сердечно-сосудистого риска. Получены противоречивые результаты в отношении корреляции эндокана с обеими шкалами: в некоторых исследованиях сообщалось о значительных, независимых и положительных корреляциях, в других – не обнаружено каких-либо значимых ассоциаций [11]. При этом нами установлена прямая умеренная высоко значимая корреляционная связь концентрации эндокана в сыворотке крови с количеством баллов по шкале SYNTAX ($r = 0,4738$, $p < 0,0001$), что позволяет рассматривать данный показатель как возможный лабораторный маркер выраженности атеросклеротического поражения коронарного русла.

В настоящее время работы по изучению взаимосвязи эндокана и особенностей течения сердечной недостаточности крайне малочисленны. Так, G. Kosir и соавт. (2019) показали, что повышение уровня данного маркера на 1 нг/мл ассоциируется со значительным увеличением риска госпитализаций, требующих инотропной поддержки, и летальных исходов, связанных с сердечной недостаточностью [12]. M. Reina-Couto и коллеги (2022) при изучении пациентов с острой сердечной недостаточностью отметили отрицательную связь концентрации эндокана и значений фракции выброса ЛЖ [13]. S. Ahmed и коллеги (2020) обнаружили, что его концентрация

Таблица 3. Значения эндокана и эндоглина у пациентов в зависимости от наличия некоторых клинических признаков
Table 3. The values of endocan and endoglin in patients, depending on the presence of certain clinical signs

Пациенты / Patients	ESM1 Me [Q25; Q75]	P	sEng Me [Q25; Q75]	P
Пациенты с МФА / Patients with multivessel disease, n = 46	21,725 [15,32; 32,53]	0,0026	7,265 [6,795; 7,932]	< 0,0001
Пациенты без МФА / Patients without multivessel disease, n = 174	17,005 [11,05; 24,1]		5,324 [4,573; 5,876]	
Пациенты с рестенозом КА / Patients with coronary artery restenosis, n = 29	25,15 [18,96; 32,12]	0,3023	6,008 [4,937; 7,317]	0,1213
Пациенты без рестенозов КА / Patients without coronary artery restenosis, n = 16	19,28 [13,76; 30,92]		5,142 [4,178; 5,983]	
Пациенты с ИМ в анамнезе / Patients with MI in history, n = 110	20,605 [14,78; 30,10]	< 0,0001	5,394 [4,621; 6,795]	0,2111
Пациенты без ИМ в анамнезе / Patients without MI in history, n = 150	12,105 [6,78; 19,21]		5,759 [4,998; 6,938]	
Пациенты со стенокардией / Patients with angina pectoris, n = 152	20,05 [13,38; 29,57]	< 0,0001	5,438 [4,805; 6,942]	0,4605
Пациенты без стенокардии / Patients without angina pectoris, n = 68	13,29 [9,23; 20,05]		5,348 [4,931; 6,640]	
Пациенты с постоянной формой ФП / Patients with persistent AF, n = 14	20,84 [10,75; 27,62]	0,8131	6,835 [5,276; 7,928]	0,0126
Пациенты с синусовым ритмом / Patients with sinus rhythm, n = 206	18,825 [11,83; 25,91]		5,393 [4,810; 6,795]	
Пациенты с ожирением / Patients with obesity, n = 14	22,825 [17,12; 31,72]	0,0464	5,925 [4,957; 8,921]	0,2227
Пациенты без ожирения / Patients without obesity, n = 206	18,41 [11,07; 25,15]		5,398 [4,876; 6,840]	

Примечание: ИМ – инфаркт миокарда; КА – коронарные артерии; МФА – мультифокальный атеросклероз; ФП – фибрилляция предсердий; ESM1 – эндокан; sEng – эндоглин.
Note: AF – atrial fibrillation; ESM-1 – endocan; MI – myocardial infarction; sEng – endoglin.

была повышена у пациентов с терминальной стадией сердечной недостаточности и снижалась после трансплантации сердца [14]. В настоящем исследовании обнаружена отрицательная корреляционная связь между сывороточной концентрацией эндокана и фракцией выброса ЛЖ ($r = 0,1969$, $p < 0,01$).

Поскольку ожирение считается состоянием, связанным с низкоинтенсивным персистирующим воспалением, которое лежит в основе атерогенеза [15], ожидается, что уровень эндокана в сыворотке крови как провоспалительного медиатора будет повышен у данной категории лиц, что подтверждается полученными нами данными, демонстрирующими статистическую значимость различий его концентрации между группами пациентов с ожирением и без метаболических нарушений ($p < 0,05$). Однако представленные в литературе данные о характере указанной связи весьма неоднозначны: в то время как в одних исследованиях также показаны более высокие уровни эндокана при ожирении и положительная корреляция между антропометрическими измерениями как общего, так и абдоминального ожирения [11], в других сообщалось о более низких его уровнях при данной патологии и отрицательной связи с антропометрическими показателями [7]. Такие противоречия могут быть объяснены различными фенотипами, продолжительностью и степенью ожирения, размером выборки, этнической принадлежностью, а также различиями по возрасту и полу [6].

В обсервационном исследовании А. Klisic и коллег (2019) показано, что уровни эндокана в сыворотке крови были значительно выше в когорте пациентов с сахарным диабетом 2-го типа в сравнении с группами с преддиабетом и контрольной группой [16]. Примечательно, что многомерный логистический порядковый регрессионный анализ показал, что увеличение уровня эндокана в сыворотке крови на одну единицу приводило к двукратному увеличению вероятности повышения уровня гликированного гемоглобина [16], что позволяет предположить связь между этим биомаркером ЭД и плохим гликемическим контролем. В другом исследовании показано, что эндокан может являться прогностическим маркером снижения функции β -клеток и развития нарушенной толерантности к глюкозе и сахарного диабета 2-го типа [17]. Полученные в настоящей работе данные демонстрируют статистически значимую прямую корреляционную связь уровня эндокана с концентрацией глюкозы в сыворотке крови ($r = 0,1886$, $p < 0,01$) у обследованных пациентов.

Известно, что как L-эндоглин, так и S-эндоглин обладают способностью модулировать различные сигнальные пути TGF- β , регулируя баланс между про- и антиангиогенными реакциями TGF- β : L-эндоглин играет проангиогенную, S-эндоглин – анти-

ангиогенную роль [1]. Также показано, что L-эндоглин увеличивает уровень белка Smad2, улучшая вазодилатацию, в свою очередь S-эндоглин ухудшает NO-зависимую вазодилатацию, хотя участвующие в этом процессе молекулярные механизмы изучены недостаточно. Растворимый эндоглин (sEng), аналогично S-эндоглину, усиливает атерогенез за счет ингибирования экспрессии eNOS и сигнализации TGF- β [1].

Так, A.D. Blann и соавт. в 1996 г. впервые продемонстрировали повышение уровня растворимого эндоглина у пациентов с атеросклерозом, который положительно коррелировал с уровнем общего холестерина [18]. Авторы показали, что снижение активного TGF- β происходит за счет образования комплексов с растворимой формой эндоглина, который ингибирует связывание и передачу сигналов эндотелиальным клеткам [18]. S. Stefoni и коллеги показали, что снижение уровня TGF- β 1 в сыворотке крови является фактором риска развития атеросклероза у пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности [19]. Кроме того, в недавних исследованиях продемонстрировано, что эндоглин способствует воспалительной реакции в эндотелиальных клетках и нарушению NO-зависимой вазодилатации в присутствии такого фактора риска сердечно-сосудистых заболеваний, как гиперхолестеринемия [20].

Однако важно подчеркнуть, что в разных исследованиях полученные результаты не были согласованы и интерпретировались различным образом. Так, C.G. Li и соавт. (2000) предположили, что эндоглин является ранним показателем сосудистых изменений, который уменьшается по мере развития заболевания [21]. Авторы обнаружили более высокие уровни растворимой его формы у пациентов со стенокардией и положительными пробами с физической нагрузкой, но с нормальными данными коронароангиографии в сравнении с пациентами с ИБС и положительной коронарографией. Более того, в данной группе концентрация данного маркера была ниже, чем в группе контроля. Считается, что это снижение частично вызвано повышенным образованием комплексов sEng/TGF- β 1, что угнетает функции TGF- β 1 и способствует прогрессированию атеросклероза [21]. Кроме того, в поперечном исследовании с участием подростков с сахарным диабетом 1-го типа наблюдалось относительное снижение уровня эндоглина с развитием микроальбуминурии, являющейся показателем генерализованной ЭД, что свидетельствовало о том, что он может явиться ранним маркером сосудистых изменений [22]. В другом исследовании показано, что у пациентов с острым ИМ уровни эндоглина были ниже, чем у здоровых людей, что может быть связано с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек, склонных к разрыву и образованию

тромбов, а также выявлена ассоциация снижения его уровней с более высокой смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний [23].

В то же время у взрослых пациентов со стабильной ИБС установлено, что эндоглин является независимым предиктором будущих сердечно-сосудистых осложнений, особенно у больных хронической сердечной недостаточностью [24]. Так, у пациентов со сниженной фракцией выброса была обнаружена сильная корреляционная связь между более высокими его уровнями и такими предикторами смертности, как высокое конечное диастолическое давление в ЛЖ, низкая фракция выброса ЛЖ и высокий функциональный класс сердечной недостаточности [24]. Несмотря на отсутствие в настоящем исследовании статистически значимых различий концентрации эндоглина между пациентами трех групп согласно полученным баллам по шкале SYNTAX, нами обнаружена значимо большая его концентрация у пациентов с МФА в сравнении с группой с поражением только КА ($p < 0,0001$).

Как упоминалось выше, уровни эндоглина повышаются при гиперхолестеринемии и гипергликемии, которые являются факторами риска развития системной АГ. В литературе представлен ряд работ по изучению концентрации эндоглина и выраженности легочной гипертензии либо тяжести преэклампсии у беременных. Однако нами обнаружены единичные работы, в которых описана взаимосвязь уровня эндоглина и системной АГ, гипертрофии ЛЖ и ЭД [8]. В работе Q. Zhang и соавт. отмечена положительная корреляционная связь концентрации данного маркера с ТИМ сонных артерий [25].

В нашем исследовании обращает внимание наличие прямой статистически значимой корреляционной связи между концентрацией сывороточного эндоглина и степенью АГ ($r = 0,2756$, $p < 0,0001$), межжелудочковой перегородкой ($r = 0,1555$, $p < 0,05$), задней стенкой ЛЖ ($r = 0,1738$, $p < 0,01$), левым предсердием ($r = 0,1627$, $p < 0,05$), массой миокарда ЛЖ ($r = 0,1727$, $p < 0,05$), а также ТИМ сонных артерий ($r = 0,3776$, $p < 0,01$). Более того, впервые показана статистическая значимость различий уровня данного лабораторного показателя между группами с постоянной формой фибрилляции предсердий и синусовым ритмом с более высокими значениями в группе с нарушением ритма ($p < 0,05$).

Ограничения исследования

Ограничением настоящего исследования является малое количество случаев рестенозов после раннее перенесенной коронарной реваскуляриза-

ции миокарда, мультифокального атеросклероза и ожирения, что может послужить затруднением при интерпретации полученных данных.

Заключение

В настоящее время поиск новых лабораторных биомаркеров является весьма многообещающим направлением развития современной кардиологии и необходим для лучшего понимания патогенетических основ сердечно-сосудистых заболеваний, их профилактики и определения прогноза, несмотря на внутреннюю биологическую вариабельность свойств сосудистого эндотелия у разных контингентов больных. Валидный эндотелиальный биомаркер должен быть специфичным для эндотелия, репрезентативным для основного заболевания, воспроизводимым, понятным для выработки клинического суждения и количественно определяться простыми и недорогостоящими методами. В последние годы становится популярной стратегия мультимаркерного подхода: результаты исследований подтверждают, что одновременное количественное определение нескольких лабораторных показателей может быть более мощным инструментом стратификации риска сердечно-сосудистых заболеваний и мониторинга эффективности терапии, поскольку позволяет более точно оценивать многочисленные аспекты ЭД, что неопределимо для фундаментальных и клинических исследований. В нашей работе при изучении концентрации эндокана в сыворотке крови у пациентов с ИБС продемонстрировано статистически значимое повышение его уровня по мере нарастания выраженности атеросклеротического поражения КА. Также выявлены корреляционные связи различной силы между значениями эндокана и растворимого эндоглина и рядом клинико-инструментальных и лабораторных показателей. Полученные данные позволяют предположить возможное использование эндокана и растворимого эндоглина в качестве диагностических маркеров выраженности эндотелиальной дисфункции у пациентов с ишемической болезнью сердца.

Конфликт интересов

Е.А. Захарьян заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.В. Ушаков заявляет об отсутствии конфликта интересов. П.Е. Григорьев заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Авторы заявляют об отсутствии финансирования исследования.

Информация об авторах

Захарьян Елена Аркадьевна, кандидат медицинских наук доцент кафедры внутренней медицины № 1 Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института

Author Information Form

Zakharyan Elena A., PhD, Associate Professor at the Department of Internal Medicine No. 1, the Order of the Red Banner of Labor S.I. Georgievsky Medical Institute

им. С.И. Георгиевского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», Симферополь, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-7384-9705

Ушаков Алексей Витальевич, доктор медицинских наук, профессор заведующий кафедрой внутренней медицины № 1 Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С.И. Георгиевского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», Симферополь, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-7020-4442

Григорьев Павел Евгеньевич, доктор биологических наук, доцент профессор кафедры «Психология» федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Севастопольский государственный университет», Симферополь, Российская Федерация; ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела физиотерапии, медицинской климатологии и курортных факторов государственного бюджетного учреждения здравоохранения Республики Крым «Академический научно-исследовательский институт физических методов лечения, медицинской климатологии и реабилитации имени И.М. Сеченова», Ялта, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-7390-9109

of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education “V.I. Vernadsky Crimean Federal University”, Simferopol, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-7384-9705

Ushakov Alexey V., PhD, Professor, Head of the Department of Internal Medicine No. 1 of the Order of the Red Banner of Labor S.I. Georgievsky Medical Institute of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education “V.I. Vernadsky Crimean Federal University”, Simferopol, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-7020-4442

Grigoriev Pavel E., PhD, Associate Professor, Professor at the Department of Psychology, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education “Sevastopol State University”, Simferopol, Russian Federation; Leading Researcher at the Research Department of Physiotherapy, Medical Climatology and Resort Factors, State Budgetary Institution of Healthcare of the Republic of Crimea “Academic Research Institute of Physical Methods of Treatment Yalta, Medical Climatology and Rehabilitation named after I.M. Sechenov”, Yalta, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-7390-9109

Вклад авторов в статью

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

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

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

Author Contribution Statement

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Leite AR, Borges-Canha M, Cardoso R, Neves JS, Castro-Ferreira R, Leite-Moreira A. Novel Biomarkers for Evaluation of Endothelial Dysfunction. *Angiology*. 2020 May;71(5):397-410. doi:10.1177/0003319720903586.
- Balta S, Balta I, Mikhailidis DP. Endocan: a new marker of endothelial function. *Curr Opin Cardiol*. 2021;1;36(4):462-468. doi:10.1097/HCO.0000000000000867.
- Chen J, Jiang L, Yu XH, Hu M, Zhang YK, Liu X, et al. Endocan: A Key Player of Cardiovascular Disease. *Front Cardiovasc Med*. 2022;5;8:798699. doi:10.3389/fcvm.2021.798699.
- Klasic A, Patoulis D. The Role of Endocan in Cardiometabolic Disorders. *Metabolites*. 2023;8;13(5):640. doi:10.3390/metabo13050640.
- Oktar SF, Guney I, Eren SA, Oktar L, Kosar K, Buyukterzi Z, et al. Serum endocan levels, carotid intima-media thickness and microalbuminuria in patients with newly diagnosed hypertension. *Clin Exp Hypertens*. 2019;41:787-94. doi:10.1080/10641963.2019.1652632
- Klisić A, Kavarić N, Spasojević-Kalimanovska V, Kotur-Stevuljević J, Ninić A. Serum endocan levels in relation to traditional and non-traditional anthropometric indices in adult population. *J Med Biochem*. 2021;26;40(1):41-48. doi:10.5937/jomb0-25170.
- Delibas IB, Yapca OE, Laloglu E. Does endocan level increase in women with polycystic ovary syndrome? A case - control study. *Ginekol Pol*. 2018;89(9):500-505. doi:10.5603/GP.a2018.0085.
- Vicen M, Igreja Sá IC, Tripská K, Vitverová B, Najmanová I, Eissazadeh S, Micuda S, Nachtigal P. Membrane and soluble endoglin role in cardiovascular and metabolic disorders related to metabolic syndrome. *Cell Mol Life Sci*. 2021 Mar;78(6):2405-2418. doi:10.1007/s00018-020-03701-w.
- Balta S. Endothelial Dysfunction and Inflammatory Markers of Vascular Disease. *Curr Vasc Pharmacol*. 2021;19(3):243-249. doi:10.2174/1570161118666200421142542.
- Küp A, Toprak C, Bayam E, İzci S, Uslu A, Çelik M, et al. Serum Endocan Levels Predict Drug-Eluting Stent Restenosis in Patients with Stable Angina Pectoris. *Acta Cardiol Sin*. 2020;36(2):111-117. doi:10.6515/ACS.202003_36(2).20190731A.
- Qiu CR, Fu Q, Sui J, Zhang Q, Wei P, Wu Y, et al. Serum Endothelial Cell-Specific Molecule 1 (Endocan) Levels in Patients With Acute Myocardial Infarction and Its Clinical Significance. *Angiology*. 2017;68(4):354-359. doi:10.1177/0003319716651349.
- Kosir G, Jug B, Novakovic M, Mijovski MB, Ksela J. Endocan Is an Independent Predictor of Heart Failure-Related Mortality and Hospitalizations in Patients with Chronic Stable Heart Failure. *Dis Markers*. 2019 Apr 4;2019:9134096. doi:10.1155/2019/9134096.
- Reina-Couto M, Silva-Pereira C, Pereira-Terra P, et al.

Endothelitis profile in acute heart failure and cardiogenic shock patients: Endocan as a potential novel biomarker and putative therapeutic target. *Front Physiol.* 2022;13:965611. doi:10.3389/fphys.2022.965611.

14. Ahmed S, Ahmed A, Bouzina H, et al. Elevated plasma endocan and BOC in heart failure patients decrease after heart transplantation in association with improved hemodynamics. *Heart Vessels.* 2020;35(11):1614-28. doi:10.1007/s00380-020-01656-3.

15. Maksimovic M, Vlajinac H, Radak D, Marinkovic J, Maksimovic J, Jorga J. Association of overweight and obesity with cardiovascular risk factors in patients with atherosclerotic diseases. *J Med Biochem.* 2020;23;39(2):215-223. doi:10.2478/jomb-2019-0027.

16. Klisic A, Kavarić N, Stanisic V, Vujcic S, Spasojevic-Kalimanovska V, Ninic A, et al. Endocan and a novel score for dyslipidemia, oxidative stress and inflammation (DOI score) are independently correlated with glycated hemoglobin (HbA1c) in patients with prediabetes and type 2 diabetes. *Arch Med Sci.* 2019;27;16(1):42-50. doi:10.5114/aoms.2019.87541.

17. Belongie KJ, Ferrannini E, Johnson K, Andrade-Gordon P, Hansen MK, Petrie JR. Identification of novel biomarkers to monitor β -cell function and enable early detection of type 2 diabetes risk. *PLoS One.* 2017;28;12(8):e0182932. doi:10.1371/journal.pone.0182932.

18. Blann AD, Wang JM, Wilson PB, Kumar S. Serum levels of the TGF- β receptor are increased in atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 1996 Feb;120(1-2):221-6. doi:10.1016/0021-9150(95)05713-7.

19. Stefoni S, Cianciolo G, Donati G, Dormi A, Silvestri MG, Coli L, De Pascalis A, Iannelli S. Low TGF- β 1 serum levels are a risk factor for atherosclerosis disease in ESRD patients. *Kidney Int.* 2002 Jan;61(1):324-35. doi:10.1046/j.1523-1755.2002.00119.x.

20. Vitverova B, Blazickova K, Najmanova I, Vicen M, Hyšpler R, Dolezelova E, Nemeckova I, Tebbens JD, Bernabeu C, Pericacho M, Nachtigal P. Soluble endoglin and hypercholesterolemia aggravate endothelial and vessel wall dysfunction in mouse aorta. *Atherosclerosis.* 2018 Apr;271:15-25. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2018.02.008.

21. Li CG, Bethell H, Wilson PB, Bhatnagar D, Walker MG, Kumar S. The significance of CD105, TGF β and CD105/TGF β complexes in coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2000 Sep;152(1):249-56. doi:10.1016/s0021-9150(99)00476-1.

22. Emeksiz HC, Bideci A, Damar Ç, Derinkuyu B, Çelik N, Döğ er E, Yüce Ö, Özmen MC, Çamurdan MO, Cinaz P. Soluble Endoglin Level Increase Occurs Prior to Development of Subclinical Structural Vascular Alterations in Diabetic Adolescents. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2016 Sep 1;8(3):313-20. doi:10.4274/jcrpe.2906.

23. Cruz-Gonzalez I, Pabón P, Rodríguez-Barbero A, Martín-Moreiras J, Pericacho M, Sánchez PL, Ramirez V, Sánchez-Ledesma M, Martín-Herrero F, Jiménez-Candil J, Maree AO, Sánchez-Rodríguez A, Martín-Luengo C, López-Novoa JM. Identification of serum endoglin as a novel prognostic marker after acute myocardial infarction. *J Cell Mol Med.* 2008 Jun;12(3):955-61. doi:10.1111/j.1582-4934.2008.00156.x.

24. Ikemoto T, Hojo Y, Kondo H, Takahashi N, Hirose M, Nishimura Y, Katsuki T, Shimada K, Kario K. Plasma endoglin as a marker to predict cardiovascular events in patients with chronic coronary artery diseases. *Heart Vessels.* 2012 Jul;27(4):344-51. doi:10.1007/s00380-011-0163-z.

25. Zhang Q, Wang C, Cannavici A, Faughnan ME, Kutryk MJB. Endoglin deficiency impairs VEGFR2 but not FGFR1 or TIE2 activation and alters VEGF-mediated cellular responses in human primary endothelial cells. *Transl Res.* 2021 Sep;235:129-143. doi:10.1016/j.trsl.2021.04.005.

Для цитирования: Захарьян Е.А., Ушаков А.В., Григорьев П.Е. Клинико-патогенетическая связь сывороточных концентраций эндокана и эндоглина с лабораторными и клинико-функциональными показателями у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2024;13(3): 6-16. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-6-16

To cite: Zakharyan E.A., Ushakov A.V., Grigoriev P.E. Clinical and pathogenetic association between serum endocan and endoglin levels and clinical and instrumental characteristics in patients with coronary artery disease. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2024;13(3): 6-16. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-6-16

УДК 616.12-089-06:616.89-008.4]: 615.84

DOI 10.17802/2306-1278-2024-13-3-17-27

РОЛЬ КОМПОНЕНТОВ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО ИНТЕЛЛЕКТА В ЭФФЕКТИВНОСТИ МНОГОЗАДАЧНОГО ТРЕНИНГА У ПАЦИЕНТОВ КАРДИОХИРУРГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

О.М. Разумникова¹, И.В. Тарасова², И.Н. Кухарева², Д.С. Куприянова², А.С. Соснина²,
О.А. Трубникова²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный технический университет», пр. К. Маркса, 20, Новосибирск, Российская Федерация, 630073; ² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Основные положения

- Впервые показано, что эффективность когнитивной реабилитации (отсутствие послеоперационной когнитивной дисфункции) связана с особенностями эмоциональной регуляции поведения и частотно-пространственной организации активности мозга.
- Установлено, что положительному результату когнитивной реабилитации способствует «преднастройка» фоновой активности коры головного мозга на частотах тета-ритма, связанная с такими компонентами эмоционального интеллекта, как внимание к эмоциям и использование эмоций при принятии решения, тогда как отличительной особенностью группы с неуспешной реабилитацией является связь эмпатии и высокочастотного бета2-ритма.

Цель

Изучить связь компонентов эмоционального интеллекта (ЭИ) и электрической активности мозга, отражающих влияние когнитивной реабилитации, с применением многозадачного тренинга у кардиохирургических пациентов.

Материалы и методы

В проспективном когортном исследовании участвовали 83 пациента, подвергшихся прямой реваскуляризации миокарда, из них 42 пациента прошли многозадачный тренинг в раннем послеоперационном периоде. Клиническое, инструментальное и расширенное нейрофизиологическое обследование выполнено до и на 11–12-е сут. после операции.

Результаты

Показано, что эффективность когнитивной реабилитации (отсутствие послеоперационной когнитивной дисфункции) связана с особенностями эмоциональной регуляции поведения, отраженными в соотношении компонентов ЭИ и частотно-пространственной организации активности мозга. Группа пациентов с положительным результатом когнитивной реабилитации (отсутствие послеоперационной когнитивной дисфункции) характеризовалась «преднастройкой» фоновой активности коры головного мозга на частотах тета-ритма, связанной с такими компонентами ЭИ, как внимание к эмоциям и использование эмоций при принятии решения, тогда как отличительной особенностью группы с диагностированной послеоперационной когнитивной дисфункцией являлась связь эмпатии и высокочастотного бета2-ритма.

Заключение

Регионарные особенности обнаруженных паттернов связи ЭИ и активности мозга позволяют предположить, что эффективность применения когнитивной реабилитации с использованием многозадачного тренинга определяется степенью сохранности контролирующих функций коры при развитии ишемической болезни сердца, отраженных в особенностях эмоциональной регуляции поведения таких пациентов.

Ключевые слова

Эмоциональный интеллект • ЭЭГ • Когнитивная реабилитация • Многозадачный тренинг • Кардиохирургические вмешательства

Поступила в редакцию: 19.04.2024; поступила после доработки: 22.05.2024; принята к печати: 15.06.2024

Для корреспонденции: Ирина Валерьевна Тарасова, taraiv@kemcardio.ru; адрес: бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Россия, 650002

Corresponding author: Irina V. Tarasova, taraiv@kemcardio.ru; address: 6, Acad. L.S. Barbarash blvd., Kemerovo, Russia, 650002

IMPORTANCE OF EMOTIONAL INTELLIGENCE IN THE EFFECTIVENESS OF MULTITASKING TRAINING IN CARDIAC SURGERY PATIENTS

O.M. Razumnikova¹, I.V. Tarasova², I.N. Kukhareva², D.S. Kupriyanova², A.S. Sosina²,
O.A. Trubnikova²

¹ Novosibirsk State Technical University, 20, K. Marx Ave., Novosibirsk, Russian Federation, 630070; ² Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases", 6, Acad. L.S. Barbarash Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

Highlights

- The effectiveness of cognitive rehabilitation (the absence of the postoperative cognitive dysfunction (POCD) is associated with the emotional regulation of behavior and frequency-spatial organization of brain activity.
- The positive outcome of cognitive rehabilitation is promoted by «pre-tuning» background theta activity associated with the components of emotional intelligence: «attention to emotions» and «use of emotions in decision making». The distinctive feature of the group with unsuccessful rehabilitation is the link between empathy and high-frequency beta 2 rhythm.

Aim	To study the relationship between the components of emotional intelligence (EI) and electrical activity of the brain (EEG), reflecting the effects of cognitive rehabilitation using multitasking training in cardiac surgery patients.
Methods	The prospective cohort study included 83 patients who had undergone direct myocardial revascularization, 42 of whom underwent multitasking training in the early postoperative period. Physical, laboratory, and extended neurophysiological examinations were performed before cardiac surgery and 11–12 days after the intervention.
Results	The effectiveness of cognitive rehabilitation (absence of postoperative cognitive dysfunction (POCD)) is related to peculiarities of emotional regulation of behavior, reflected in the ratio of components of EI and frequency-spatial organization of brain activity. The group of patients with positive cognitive rehabilitation (absence of POCD) is characterized by «pre-tuning» background theta activity associated with the components of emotional intelligence: «attention to emotions» and «use of emotions in decision making». The distinctive feature of the group with unsuccessful rehabilitation is the link between empathy and high-frequency beta 2 rhythm.
Conclusion	Regional features of detected coupling patterns of EI and brain activity suggest that the effectiveness of cognitive rehabilitation using multitasking training is determined by the degree of preservation of cortical control functions during the development of cardiac artery disease, reflected in the peculiarities of emotional regulation of behavior of the patients.
Keywords	Emotional intelligence • EEG • Cognitive rehabilitation • Multitasking training • Cardiac surgery

Received: 19.04.2024; received in revised form: 22.05.2024; accepted: 15.06.2024

Список сокращений

ИБС – ишемическая болезнь сердца	ЭИ – эмоциональный интеллект
ПОКД – послеоперационная когнитивная дисфункция	ЭЭГ – электроэнцефалограмма

Введение

Негативные эмоции как реакция на стресс и их последующее длительное переживание рассматриваются одним из основных психологических факторов развития сердечно-сосудистых заболеваний [1, 2]. Эффективность регуляции эмоций, их контроль и переоценка признается основой благополучия и успешного решения проблем для эффектив-

ной адаптации в стрессовых ситуациях [3, 4]. Для психометрической оценки выражения и самоконтроля эмоций используют показатели эмоционального интеллекта (ЭИ) [5, 6].

ЭИ – это способность понимать эмоциональное состояние, свое и других людей, и регулировать эмоциональные реакции [5, 6]. Для измерения ЭИ используют два подхода: личностной самооценки

переживаемых эмоций и тестирование эмоций как когнитивных способностей [7]. Прогностическое значение компонентов ЭИ, в частности самоконтроля эмоций и внимания к эмоциям, показано при анализе самооценки состояния здоровья [8, 9]. Также обнаружено, что лучшим показателем самооценки здоровья соответствует доминирование положительных эмоций при определении ЭИ как субъективной оценки эмоциональной экспрессии или восприятия эмоций респондентами разного возраста [10]. Пациенты с ишемической болезнью сердца (ИБС) характеризовались более выраженным влиянием соотношения экспрессии положительных и отрицательных эмоций на интегральный показатель физического здоровья, чем психического [11].

Возраст являет одним из хорошо известных факторов риска развития ИБС [12–14], а также послеоперационного когнитивного дефицита [15–17]. При этом относительно изменений эмоциональной регуляции при старении существуют разные точки зрения: 1) усиление склонности к депрессивному состоянию, страху и тревоге [18], 2) нелинейная связь возраста и негативного аффекта [19] или 3) рост оптимизма при соответствующей переоценке положительных эмоций [20]. Среди пожилых людей были выделены подгруппы, отличающиеся и самым позитивным, и самым негативным настроением при восприятии эмоциогенных или нейтральных лиц в сравнении с молодыми, причем «негативная» группа демонстрировала более медленную скорость обработки информации при большей тревоге и нейротизме [21]. Повышенная изменчивость траекторий настроения с возрастом может являться отражением адаптивного функционирования или, напротив, потенциальным предвестником его дисфункции [22]. Разнообразие полученных данных стимулирует дальнейшее исследование характеристик аффективного профиля, необходимых и/или достаточных для поддержания позитивного настроения в пожилом возрасте, несмотря на повышение вероятности ослабления деятельности разных функциональных систем организма, в том числе развития ИБС или хронической ишемии головного мозга.

Представление о возрастном увеличении эмоциональной позитивности интерпретируются в контексте теории социально-эмоциональной избирательности, приводящей к улучшению регуляции эмоций в пожилом возрасте. С нейробиологических позиций такой эффект может быть следствием возрастного снижения активности амигдалы или большего внимания и контроля в регуляции эмоций с вовлечением активности префронтальной коры [23]. Самоконтроль и субъективная оценка регуляции негативных эмоций коррелируют с индивидуальными показателями функци-

ональной связи префронтальной коры с амигдалой и стриатумом [24]. В качестве критических для усиления положительных эмоций выделяют левые и медиальные области префронтальной и орбитофронтальной коры, а также дорсомедиальную префронтальную кору [25].

Эти результаты свидетельствуют о тесной связи когнитивного контроля и аффективных возрастных изменений со склонностью к доминированию положительных либо негативных эмоций. Причем префронтальная кора рассматривается не только как структура, ответственная за снижение эффективности исполнительных и контролирующих функций при старении, но и как компенсаторный ресурс успешной регуляции когнитивных изменений в пожилом возрасте [26–28].

Изменения эмоциональной регуляции при патологическом старении, отягощенном сердечно-сосудистым заболеванием, могут иметь специфические особенности. Хронические нарушения мозгового кровотока у пациентов с ИБС ведут к развитию не только эмоциональных, но и когнитивных нарушений [29, 30]. Лечение ИБС с применением хирургических методов реваскуляризации миокарда также может внести свой негативный вклад, приводя к острому ишемическому повреждению мозга. Электроэнцефалографическое исследование (ЭЭГ) головного мозга пациентов, перенесших коронарное шунтирование, показало сопутствующее когнитивному дефициту увеличение спектральной мощности низкочастотных ритмов преимущественно в задних отделах коры [15].

Выполненный нами анализ литературы [31, 32] свидетельствует о продуктивности сочетания когнитивной и физической нагрузки для когнитивной реабилитации пациентов с ИБС. Эти данные, как и сведения о роли ЭИ в процессах контроля эффективности когнитивных функций [6, 33], позволяют предположить влияние индивидуальных особенностей эмоциональной регуляции поведения на изменения частотно-пространственной организации активности мозга, связанные с его хронической ишемией, и, соответственно, на эффективность использования многозадачных тренингов в раннем послеоперационном периоде кардиохирургического вмешательства. Проверка этой гипотезы и стала целью настоящей работы. Соотношение разных компонентов ЭИ и показателей мощности биопотенциалов ЭЭГ исследовано при сравнении групп кардиохирургических пациентов, прошедших многозадачный тренинг, и контрольной группы с учетом наличия или отсутствия послеоперационной когнитивной дисфункции (ПОКД).

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 83 пациента,

включенных при поступлении в НИИ КПССЗ для выполнения коронарного шунтирования. Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом учреждения и выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации ВМА (пересмотр 2013 г.). Критерии включения и исключения указаны в предыдущей публикации [34]. Пациенты были разделены на две группы методом конвертов: 41 больной составил контрольную группу, 42 больных – группу когнитивной реабилитации с применением многозадачного тренинга, включающего моторную и когнитивную деятельность (подробнее описание задач приведено ранее [15, 35]). В послеоперационном периоде коронарного шунтирования, на 11–12-й день, выполняли диагностику ПOKД с применением критерия 20–20 согласно соотношению когнитивных показателей в до- и послеоперационном периоде [36].

Клинико-anamnestические характеристики и интраоперационные параметры исследованных пациентов приведены в табл. 1.

Для определения показателей ЭИ использовали личностный подход, согласно которому по 5-балльной шкале участники исследования оценивали свою эмоциональную реактивность по 7 шкалам: позитивная экспрессивность (ЭИ1), негативная экспрессивность (ЭИ2), внимание к эмоциям

(ЭИ3), принятие решений на основе эмоций (ЭИ4), сопереживание радости (ЭИ5), сопереживание несчастьям (ЭИ6) и эмпатия (ЭИ7) [37]. Показатели ЭИ определяли однократно, сразу после включения в исследование.

Многоканальную регистрацию электроэнцефалограммы (ЭЭГ) (62 канала; полоса пропускания 0,1–50,0 Гц, частота дискретизации 1 000 Гц) и ее последующую обработку выполняли с применением системы Neuvo SynAmps 2 и программы Scan 4.5 (Compumedics, США) для всех пациентов за 3–5 дней до операции. Мощность ЭЭГ вычисляли с использованием быстрого преобразования Фурье для 30 безартефактных эпох длительностью 2 сек в 6 частотных диапазонах: тета1 (4–6 Гц) и тета2 (6–8 Гц), альфа1 (8–10 Гц), альфа2 (10–13 Гц), бета1 (13–20 Гц), бета2 (20–30 Гц). Более подробно методика регистрации и обработки ЭЭГ описана ранее [15, 35].

Статистический анализ компонентов ЭИ и мощности ритмов ЭЭГ, зарегистрированной в предоперационный период, выполняли для четырех групп пациентов: две группы контроля (с ПOKД и без ПOKД) и две группы, в которых выполнен когнитивный тренинг (с ПOKД и без ПOKД). Полученные результаты обрабатывали с применением пакета программ Statistica 13.3 (SN: JPZ912J057923CNET2ACD-K).

Результаты

Сравнение показателей возраста и ЭИ не пока-

Таблица 1. Исходные клинико-anamnestические показатели пациентов в зависимости от наличия многозадачного тренинга
Table 1. Baseline clinical and anamnestic indicators of groups of patients with and without multitasking training

Показатель / Variable	Группа контроля / Controls, n = 41	Группа когнитивной реабилитации / Group with training, n = 42	p
Возраст, лет / Age, years, Me [25; 75]	65 [61; 69]	63 [59; 69]	0,78
Мужчины / Женщины / Men / Women, n	30/11	26/6	0,22
Образование, лет / Education, years, Me [25; 75]	12 [11; 15]	11 [10; 15]	0,27
Фракция выброса левого желудочка / Left ventricular ejection fraction, %, Me [25; 75]	64 [55; 67]	63,5 [55; 68]	0,53
Длительность ИБС, лет / CAD history, years, Me [25; 75]	3 [1; 9]	4 [1; 6]	0,25
Функциональный класс стенокардии / Angina functional class, n (%): I–II III	36 (88) 5 (12)	31 (79) 9 (21)	0,23
Артериальная гипертензия, лет / Arterial hypertension, years, Me [25; 75]	15 [5; 20]	7 [3; 15]	0,22
Функциональный класс по NYHA / NYHA functional class, n (%): I–II III	40 (98) 1 (2)	40 (95) 2 (5)	0,63
Стенозы сонных артерий < 50% / Carotid artery stenoses < 50%, n (%)	13 (32)	27 (64)	0,01
Сахарный диабет 2-го типа / Type 2 diabetes, n (%)	14 (34)	8 (19)	0,27
Продолжительность операции, мин / Surgery time, min, Me [25; 75]	205 [168; 245]	213 [183; 248]	0,33
Продолжительность искусственного кровообращения, мин / Time of cardiopulmonary bypass, min, Me [25; 75]	69 [58; 101]	82 [70; 102]	0,07

Примечание: ИБС – ишемическая болезнь сердца; NYHA – Нью-Йоркская кардиологическая ассоциация.
Note: CAD – coronary artery disease; NYHA – New York Heart Association.

зало значимых различий между группами контроля и группами когнитивного тренинга. При этом в группе тренинга с ПОКД, в сравнении с группой контроля с ПОКД, обнаружена тенденция меньших значений ЭИ2, а в группе тренинга без ПОКД, в сравнении с таковой с ПОКД, отмечено повышение этого компонента ЭИ (рис. 1). Компонент ЭИ6 оказался значимо ниже в группе тренинга с ПОКД при сравнении как с группой контроля с ПОКД, так и группой тренинга без ПОКД. Количественный и возрастной состав пациентов исследованных групп, а также средние значения по шкалам ЭИ с указанием значимых или близким к ним межгрупповых различий приведены в табл. 2.

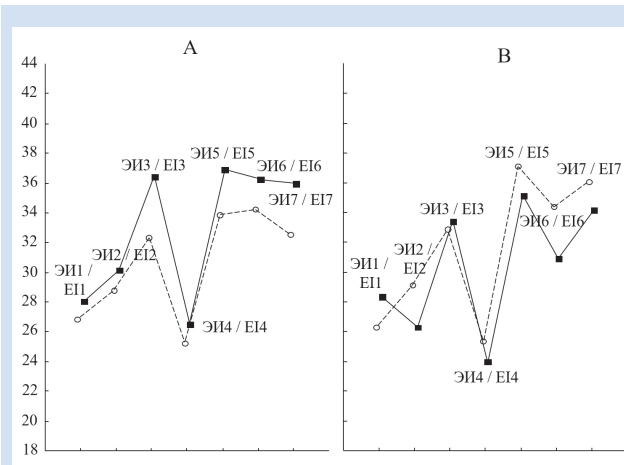


Рисунок 1. Профиль компонентов эмоционального интеллекта в группах без послеоперационной когнитивной дисфункции (А) и с ее наличием (В); пунктир – контроль, сплошная линия – тренировка. Обозначения ЭИ1–ЭИ7 даны в табл. 2

Figure 1. Profile of emotional intelligence components in groups without postoperative cognitive dysfunction (A) and with it (B), dotted line – controls, solid line – group with training. Designations of EI1–EI7 are as in table 2

Связь компонентов ЭИ и суммарных значений мощности ЭЭГ в экспериментальной и контрольной группах в зависимости от выраженности ПОКД

Корреляционный анализ компонентов ЭИ и мощности ритмов ЭЭГ в контрольной группе и у пациентов, выполнивших многозадачный тренинг, показал их разное соотношение в зависимости от наличия ПОКД. В группе тренинга без ПОКД выявлены положительные связи ЭИ4 и мощности биопотенциалов низкочастотных тета- и альфа-ритмов и негативные – между ЭИ3 и тета1 и между ЭИ2 и бета1, 2 (табл. 3). Пример корреляции между ЭИ4 и мощностью тета1-ритма показан на рис. 2.

В группе тренинга с ПОКД обнаружены негативные связи между компонентами ЭИ5, ЭИ6, ЭИ7 и мощностью высокочастотных ритмов бета1 и бета2 (см. табл. 3). В группе контроля с ПОКД

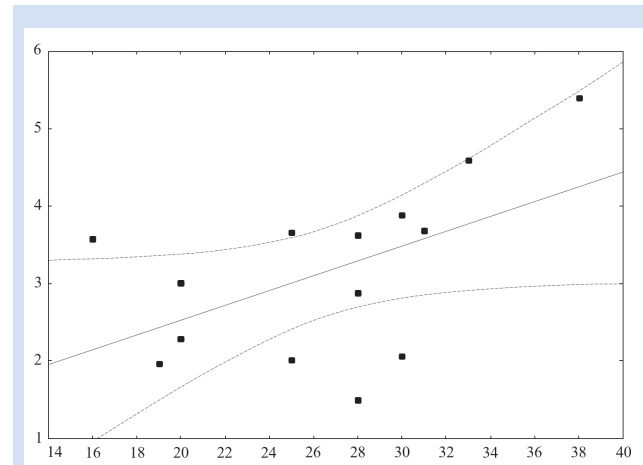


Рисунок 2. Пример связи ЭИ4 (ось X) и суммарных показателей мощности биопотенциалов тета1-ритма в группе пациентов, прошедших многозадачный тренинг

Figure 2. An example of an E4 (X-axis) relationship and total theta1 power in the group of patients with multitasking training

Таблица 2. Показатели компонентов эмоционального интеллекта в исследованных группах пациентов
Table 2. The indicators of emotional intelligence (EI) components in the study groups of patients

Показатель / Variable	Группа контроля с ПОКД / Controls with POCD	Группа контроля без ПОКД / Controls without POCD	Группа тренинга с ПОКД / Group with training with POCD	Группа тренинга без ПОКД / Group with training without POCD
Мужчины / Женщины Men / Women, n	26 (16/10)	15 (14/1)	28 (27/1)	14 (9/5)
ЭИ1 / EI1	26,0	26,9	28,4	28,1
ЭИ2 / EI2	29,3#	28,8	26,3*#	30,1*
ЭИ3 / EI3	32,8	32,4	33,4	36,4
ЭИ4 / EI4	25,3	25,3	23,8	26,5
ЭИ5 / EI5	37,2	33,9	35,2	36,9
ЭИ6 / EI6	34,4###	34,3	30,9**###	36,3**
ЭИ7 / EI7	36,1	32,5	34,2	36,0

Примечание: * $p < 0,1$ и ** $p < 0,01$ при сравнении групп когнитивного тренинга; # $p < 0,1$ и ## $p < 0,05$ при сравнении групп контроля по критерию Манна – Уитни; ПОКД – послеоперационная когнитивная дисфункция; ЭИ1 – позитивная экспрессивность; ЭИ2 – негативная экспрессивность; ЭИ3 – внимание к эмоциям; ЭИ4 – принятие решений на основе эмоций; ЭИ5 – сопереживание радости; ЭИ6 – сопереживание несчастьям; ЭИ7 – эмпатия.

Note: * $p < 0.1$ and ** $p < 0.01$ when comparing cognitive training groups; # $p < 0.1$ and ## $p < 0.05$ when comparing control groups using the Mann-Whitney test; EI1 – positive expressiveness; EI2 – negative expressiveness; EI3 – attention to emotions; EI4 – decision making based on emotions; EI5 – positive empathy; EI6 – negative empathy and EI7 – empathy; POCD – postoperative cognitive dysfunction.

значимых связей компонентов ЭИ и общих показателей мощности ЭЭГ в 6 частотных диапазонах не обнаружено, для группы контроля без ПОКД значимой была негативная корреляция ЭИ6 и альфа1 при положительной связи этого компонента с бета2-ритмом (см. табл. 3), что свидетельствует о повышении активации коры при переживании негативных эмоций совместно с окружающими людьми. Сравнение коэффициентов корреляции ЭИ6 и бета2 в группе тренинга с ПОКД и группе контроля без ПОКД показало их статистически значимое двухстороннее различие при $p < 0,005$.

Регионарные особенности связи компонентов ЭИ и мощности ЭЭГ в экспериментальной и контрольной группах в зависимости от выраженности ПОКД

Анализ регионарных особенностей обнаруженных связей компонентов ЭИ и осцилляторной активности мозга продемонстрировал, что в группе тренинга без ПОКД негативные связи для ЭИ3, но положительные для ЭИ4 и мощности тета1-ритма представлены фронтоокципитальной осью передних отделов правого полушария, а задних – левого (рис. 3, А, В). Наиболее устойчивые корреляции ЭИ3 характерны для заднефронтальных и центральных отведений (см. рис. 3, А), а ЭИ4 – для центрально-париетальных (см. рис. 3, В). Группа тренинга с ПОКД характеризовалась негативными корреляциями между ЭИ7 и левополушарной мощностью бета2-ритма (см. рис. 3, С), остальные связи, обнаруженные для суммарных показателей мощности ЭЭГ (ЭИ6 и бета1, 2 ритма и ЭИ7 и бета 1 ритма), представлены, по-видимому, пространственно диффузно, поэтому не имеют значимой регионарной специфики.

Аналогично выполненный анализ регионарной специфики связи ЭИ6 и ЭЭГ в бета2-диапазоне для группы контроля без ПОКД, в том числе пример корреляции параметров для отведения С5, показан на рис. 4; для альфа1 выраженного регионарно специфичного эффекта не обнаружено.

Обсуждение

Проведенное исследование продемонстрировало взаимосвязь компонентов ЭИ и показателей мощности биопотенциалов ЭЭГ, связанных с эффективностью многозадачных тренингов в раннем послеоперационном периоде кардиохирургического вмешательства.

Установлен повышенный уровень компонентов ЭИ2 (негативная экспрессивность) и ЭИ6 (сопереживание несчастьям) в группе тренинга без ПОКД в сравнении с таковой с ПОКД, что кажется парадоксальным, так как ранее отмечено, что лучшей само-

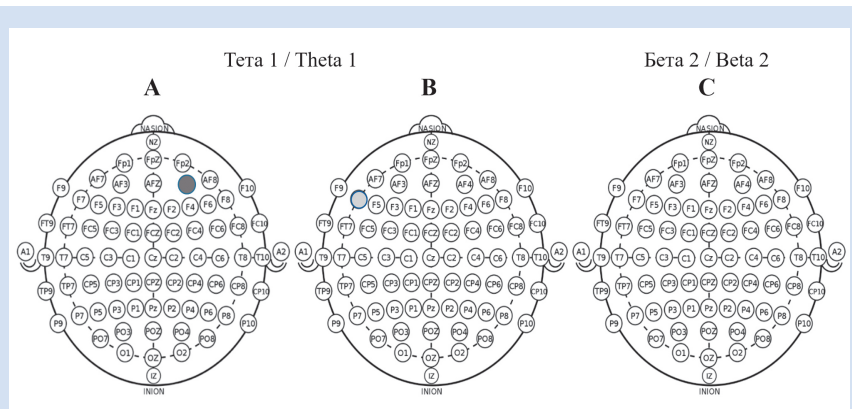


Рисунок 3. Регионарные особенности связи ЭИ3 и ЭИ4 с мощностью тета1-ритма в группе тренинга без ПОКД и ЭИ7 с мощностью бета2-ритма в группе тренинга с ПОКД

Примечание: черные кружки соответствует отведениям, для которых обнаружены негативные корреляции, светлые – положительные, размер кружков соответствует уровню $0,0001 < p < 0,05$ по критерию Спирмена.

Figure 3. Regional features of the EI3 and EI4 relationships with theta-1 rhythm power in Group with training without POCD and between EI7 and beta-2 rhythm power in Group with training with POCD

Note: The black circles correspond to the leads for which negative correlations are found, light – positive, the size of the circles corresponds to the level of $0.0001 < p < 0.05$ according to the Spearman criterion.

Таблица 3. Коэффициенты корреляции компонентов эмоционального интеллекта и мощности ЭЭГ-ритмов в группах многозадачного тренинга и контроля с учетом наличия или отсутствия ПОКД

Table 3. The correlation coefficients of emotional intelligence components and EEG in the multitasking training group and the control, with and without POCD

Показатель / Variable	Тета1-ритм / Theta1 rhythm	Альфа1-ритм / Alpha1 rhythm	Бета1-ритм / Beta1 rhythm	Бета2-ритм / Beta2 rhythm
Многозадачный тренинг / Multitasking training				
Группа тренинга с ПОКД / Group with training with POCD, n = 28				
ЭИ5 / EI5				-0,40*
ЭИ6 / EI6			-0,50**	-0,42*
ЭИ7 / EI7			-0,40*	-0,62*
Группа тренинга без ПОКД / Group with training without POCD, n = 14				
ЭИ2 / EI2			-0,54*	-0,62*
ЭИ3 / EI3	-0,55*			
ЭИ4 / EI4	0,58*	0,57*		
Контроль / Controls				
Группа контроля без ПОКД / Controls without POCD, n = 15				
ЭИ6 / EI6		-0,51*		0,53*

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ по критерию Спирмена; ПОКД – послеоперационная когнитивная дисфункция. Обозначения ЭИ2–ЭИ7 как в табл. 2. **Note:** * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ by Spearman's test; POCD – postoperative cognitive dysfunction. Group designations as in Table 2.

оценке состояния здоровья у пациентов с ИБС соответствует преобладание позитивных эмоций [11]. Для объяснения этого влияния, по-видимому, требуется сравнительный анализ эмоционального состояния пациентов в до- и послеоперационном периоде, а также выравнивание соотношения мужчин и женщин в группах, так как фактор пола может влиять на профиль компонентов ЭИ [37, 38].

Показано, что в группе тренинга без ПОКД усиление использования эмоций при принятии решений сопровождается снижением активации коры согласно синхронизации биопотенциалов в диапазоне 4–10 Гц, а повышение внимания к эмоциям – активацией в тета1-диапазоне, при этом усиление негативной экспрессивности связано с десинхронизацией бета1-ритма.

Обнаруженные взаимосвязи компонентов ЭИ и мощности фоновой активности ЭЭГ в зависимости от принадлежности пациентов групп тренинга можно рассматривать как разную предрасположенность к эффективности когнитивной реабилитации, обусловленную спецификой эмоциональной регуляции поведения в рассмотренных группах. В том случае когда «преднастройка» активности мозга связана с компонентами ЭИ3 и ЭИ4 (внимание к эмоциям и использование эмоций при принятии решения), т. е. интернально организованной регуляции эмоционального состояния, применение когнитивной реабилитации с использованием многозадачного тренинга приводит к положительному результату при оценке состояния когнитивного статуса пациентов. В группе с диагностированной ПОКД наиболее выраженным компонентом ЭИ, связанным с индивидуальной активностью мозга в высокочастотном бета-диапазоне, оказывается другой компонент ЭИ – эмпатия, отражающая эмоцио-

нальную реакцию на чувства других людей. Следовательно, можно заключить, что индивидуальные особенности эмоциональной регуляции поведения пациентов, отраженные в психометрически оцененных компонентах ЭИ, могут оказывать влияние на эффективность применения когнитивной реабилитации с использованием многозадачного тренинга, что необходимо учитывать для повышения его результативности.

Примечательно, что связанные с ЭИ изменения частотно-пространственной организации активности коры, обнаруженные в группе тренинга без ПОКД, относятся к фронто-окципитальному градиенту тета-активности у пациентов, перенесших коронарное шунтирование, как это отмечено ранее при оценке результативности такого тренинга [31, 32]. Негативные связи тета-ритма и внимания к эмоциям (ЭИ3) и положительные – тета-ритма и использования эмоций при принятии решения (ЭИ4) – в группе тренинга без ПОКД можно рассматривать как проявление успешной эмоциональной регуляции и прогностический фактор в развитии ПОКД, ослабляющий послеоперационное увеличение мощности тета-осцилляций [31] у лиц, успешно дифференцирующих и контролируемых эмоции, т. е. способных к эффективной адаптации в условиях стресса [3, 4, 8]. В свою очередь наиболее выраженная связь эмпатии и фоновой «преднастройки» активности мозга группе тренинга с ПОКД отражает, по-видимому, наличие эмоционального сопереживания, но вне его переоценки и рационального контроля.

Группа контроля без ПОКД характеризовалась левополушарной высокочастотной бета2-активацией, усиливающейся при повышении сопереживания несчастьям (ЭИ6), что соответствует представлениям о связи риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и негативного эмоционального состояния [1, 2]. Причем отсутствие в группе контроля с ПОКД значимых связей любых компонентов ЭИ с показателями фоновой активности мозга можно рассматривать как следствие сопутствующей ПОКД дезорганизации функциональных нейронных сетей, предназначенных для эмоциональной регуляции в последующей обработке поступающей информации и контроле поведения.

Заключение

Анализ компонентов ЭИ в группах пациентов, различающихся частотой диагностики ПОКД после когнитивной реабилитации, показал разные формы «преднастройки» частотно-пространственной организации активности коры головного мозга. Сравнительно низкая частота ПОКД характерна при условии модуляции низкочастотного тета-ритма такими компонентами ЭИ, как внимание к эмоциям и использование эмоций при принятии решения, тогда как группа с проявлением ПОКД отлича-

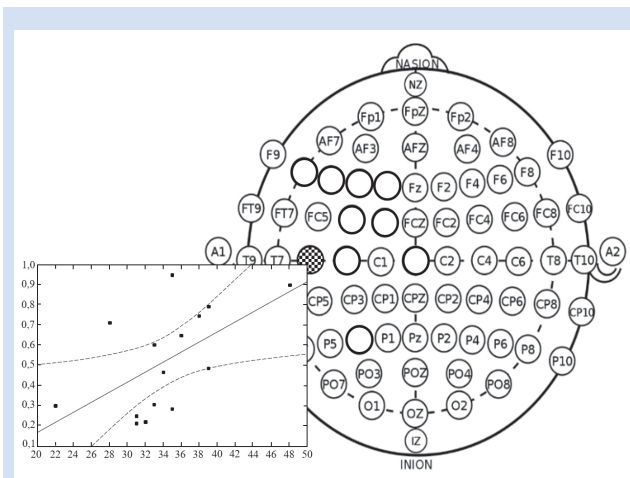


Рисунок 4. Регионарные особенности положительной связи ЭИ6 и мощности бета2-ритма в группе контроля без ПОКД и пример этой корреляции в отведении C5. Размер кружков соответствует уровню $0,0001 < p < 0,05$ по критерию Спирмена

Figure 4. Regional features of positive EI6 relationship and beta 2 power in Controls without POCD and an example of this correlation in C5 lead. The size of the circles corresponds to the level of $0.0001 < p < 0.05$ according to the Spearman criterion

лась связью высокочастотного бета2-ритма и эмпатии. Следовательно, индивидуальные особенности эмоциональной регуляции поведения влияют на эффективность послеоперационного тренинга пациентов с применением метода двойных задач, что необходимо учитывать при разработке программ когнитивной реабилитации.

Конфликт интересов

О.М. Разумникова заявляет об отсутствии конфликта интересов. И.В. Тарасова заявляет об от-

сутствии конфликта интересов. И.Н. Кухарева заявляет об отсутствии конфликта интересов. Д.С. Куприянова заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.С. Соснина заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.А. Трубникова заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-15-00379 (<https://rscf.ru/project/23-15-00379/>).

Информация об авторах

Разумникова Ольга Михайловна, доктор биологических наук профессор кафедры психологии и педагогики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный технический университет», Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-7831-9404

Тарасова Ирина Валерьевна, 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

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

Куприянова Дарья Сергеевна, младший 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** 0000-0002-9750-5536

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

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

Вклад авторов в статью

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

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

Author Information Form

Razumnikova Olga M., PhD, Professor at the Department of Psychology and Pedagogy, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Novosibirsk State Technical University”, Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-7831-9404

Tarasova Irina V., Leading 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

Kukhareva Irina N., PhD, 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

Kupriyanova Darya S., Junior 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** 0000-0002-9750-5536

Sosnina Anastasia S., PhD, 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

Trubnikova Olga A., PhD, 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

Author Contribution Statement

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

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

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

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

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

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

KIN – 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

SAS – data collection and interpretation, 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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Pimple P., Shah A.J., Rooks C. Bremner JD, Nye J, Ibeanu I, Raggi P, Vaccarino V. Angina and mental stress-induced myocardial ischemia. *J Psychosom Res.* 2015; 78(5): 433-437. doi: 10.1016/j.jpsychores.2015.02.007
- Potijk M.R., Janszky I, Reijneveld SA, Falkstedt D. Risk of coronary heart disease in men with poor emotional control: A prospective study. *Psychosom Med.* 2016; 78 (1): 60-67. doi: 10.1097/PSY.0000000000000254.
- Puente-Martínez A., Páez D., Ubillos-Landa S., Da Costa-Dutra S. Examining the structure of negative affect regulation and its association with hedonic and psychological wellbeing. *Front Psychol.* 2018; 9: 1592. doi: 10.3389/fpsyg.2018.01592
- Eisenstadt M., Liverpool S., Infanti E., Ciuvat R.M., Carlsson C. Mobile Apps That Promote Emotion Regulation, Positive Mental Health, and Well-being in the General Population: Systematic Review and Meta-analysis. *JMIR Ment Health.* 2021; 8(11): e31170. doi: 10.2196/31170
- Mayer J. D., Caruso D. R., Salovey P. The ability model of emotional intelligence: Principles and updates. *Emotion Review.* 2016; 8 (4): 290-300. doi: 10.1177/1754073916639667
- Checa P, Fernández-Berrocal P. Cognitive Control and Emotional Intelligence: Effect of the Emotional Content of the Task. *Brief Reports. Front Psychol.* 2019;10:195. doi: 10.3389/fpsyg.2019.00195.
- Petrides K.V., Mikolajczak M., Mavroveli S., Sanchez-Ruiz M.-J., Furnham A., Pérez-González, J.-C. Developments in trait emotional intelligence research. *Emot. Rev.* 2016; 8 (4): 335-341. doi: 10.1177/1754073916650493.
- Fernández-Abascal E.G., Martín-Díaz M.D. Dimensions of emotional intelligence related to physical and mental health and to health behaviors. *Frontiers in Psychology.* 2015; 6: 317. doi: 10.3389/fpsyg.2015.00317.
- Extremera N., Sánchez-Álvarez N., Rey L. Pathways between ability Emotional Intelligence and subjective well-being: Bridging links through cognitive emotion regulation strategies. *Sustainability.* 2020; 12 (5): 2111. doi: 10.3390/su12052111
- Razumnikova O., Prokhorova L., Yashanina A., Asanova N. Relationships between quality of life and emotional personality traits: roles of gender and aging. 31st Conference of the EHPS. 2017. 19: 188.
- Разумникова О.М., Тарасова И.В., Трубникова О.А. Особенности связи показателей эмоционального статуса и самооценки качества жизни при ишемической болезни сердца. *Вопросы психологии.* 2022; (3): 104-112.
- Тарасова И.В., Трубникова О.А., Разумникова О.М. Пластичность функциональных систем мозга как компенсаторный ресурс при нормальном и патологическом старении, ассоциированным с атеросклерозом. *Атеросклероз.* 2020; 16(1): 59-67 doi:10.15372/ATER20200108
- Tromp J, Paniagua SMA, Lau ES, Allen NB, Blaha MJ, Gansevoort RT, Hillege HL, Lee DE, Levy D, Vasan RS, van der Harst P, van Gilst WH, Larson MG, Shah SJ, de Boer RA, Lam CSP, Ho JE. Age dependent associations of risk factors with heart failure: pooled population based cohort study. *BMJ.* 2021;372:n461. doi: 10.1136/bmj.n461. Erratum in: *BMJ.* 2021;373:n880.
- Kaneko H, Yano Y, Okada A, Itoh H, Suzuki Y, Yokota I, Morita K, Fujiu K, Michihata N, Jo T, Yamaguchi S, Takeda N, Morita H, Node K, Yamauchi T, Nangaku M, Kadowaki T, McEvoy JW, Lam CSP, Yasunaga H, Komuro I. Age-Dependent Association Between Modifiable Risk Factors and Incident Cardiovascular Disease. *J Am Heart Assoc.* 2023;12(2):e027684. doi: 10.1161/JAHA.122.027684
- Тарасова И.В., Трубникова О.А., Кухарева И.Н., Барбараш О.Л., Барбараш Л.С. Влияние предоперационных когнитивных нарушений на изменения электрической активности мозга у пациентов через 1 год после коронарного шунтирования. *Креативная кардиология.* 2018; 12 (4): 304-315. doi: 10.24022/1997-3187-2018-12-4-304-315
- Lin X, Chen Y, Zhang P, Chen G, Zhou Y, Yu X. The potential mechanism of postoperative cognitive dysfunction in older people. *Exp Gerontol.* 2020;130:110791. doi: 10.1016/j.exger.2019.110791.
- Zhao Q, Wan H, Pan H, Xu Y. Postoperative cognitive dysfunction-current research progress. *Front Behav Neurosci.* 2024;18:1328790. doi: 10.3389/fnbeh.2024.1328790.
- Kharamin S., Malekzadeh M., Aria A., Ashraf H., Shirazi H.R.G. Emotional processing in patients with ischemic heart diseases. *Open Access Maced J Med Sci.* 2018; 6(9): 1627-1632. doi: 10.3889/oamjms.2018.325.
- Shallcross AJ, Ford BQ, Floerke VA, Mauss IB. Getting better with age: the relationship between age, acceptance, and negative affect. *J Pers Soc Psychol.* 2013;104(4):734-49. doi: 10.1037/a0031180. Erratum in: *J Pers Soc Psychol.* 2013 ;105(4):718-9. doi: 10.1037/a0034225.
- Cotter D.L., Walters S.M., Fonseca C., Wolf A., Cobigo Y., Fox E.C., You M.Y., Altendahl M, Djukic N., Staffaroni A.M., Elahi F.M., Kramer J.H., Casaletto K.B; Hillblom Aging Network. Aging and Positive Mood: Longitudinal Neurobiological and Cognitive Correlates. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2020;28(9):946-956. doi: 10.1016/j.jagp.2020.05.002.
- Stanley J.T., Isaacowitz D.M. Age-related differences in profiles of mood-change trajectories. *Dev Psychol.* 2011; 47 (2): 318-330. doi: 10.1037/a0021023.
- Isaacowitz D.M., Livingstone K.M., Castro V.L. Aging and emotions: experience, regulation, and perception. *Curr Opin Psychol.* 2017; 17: 79-83. doi: 10.1016/j.copsyc.2017.06.013.
- MacCormack J.K., Stein A.G., Kang J., Giovanello K.S., Satpute A.B., Lindquist K.A. Affect in the aging brain: A neuroimaging meta-analysis of older vs. younger adult affective experience and perception. *Affect Sci.* 2020; 1(3): 128-154. doi: 10.1007/s42761-020-00016-8.
- Paschke L.M., Dörfel D., Steimke R., Trempler I., Magrabi A., Ludwig V.U., Schubert T., Stelzel C., Walter H. Individual differences in self-reported self-control predict successful emotion regulation. *Soc Cogn Affect Neurosci.* 2016;11(8): 1193-204. doi: 10.1093/scan/nsw036.

25. Tsujimoto M, Saito T, Matsuzaki Y, Kojima R, Kawashima R. Common and distinct neural bases of multiple positive emotion regulation strategies: A functional magnetic resonance imaging study. *Neuroimage*. 2022;257:119334. doi: 10.1016/j.neuroimage.2022.119334.

26. Morcom A.M., Henson R.N.A. Increased prefrontal activity with aging reflects nonspecific neural responses rather than compensation. *J Neurosci*. 2018; 38 (33): 7303-7313. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1701-17.2018

27. Zanto T.P., Gazzaley A. Aging of the frontal lobe. *Handb Clin Neurol*. 2019; 163: 369-389. doi: 10.1016/B978-0-12-804281-6.00020-3.

28. Бакаев М.А., Разумникова О.М. Когнитивные резервы: префронтальная кора или информационная нагрузка? *Успехи геронтологии*. 2021; 34(2): 202-209. doi: 10.34922/AE.2021.34.2.003.

29. Трубникова О. А., Тарасова И. В., Мамонтова А. С., Сырова И.Д., Малева О.В., Барбараш О.Л. Структура когнитивных нарушений и динамика биоэлектрической активности мозга у пациентов после прямой реваскуляризации миокарда. *Российский кардиологический журнал*. 2014; 8 (112): 57-62.

30. Elise V., Eynde S.V., Egée N., Lamotte M, Van de Borne P., Carole F.H. Are Trait Emotional Competencies and Heart Rate Variability Linked to Mental Health of Coronary Heart Disease Patients? *Psychol Rep*. 2021; 124 (1): 23-38. doi: 10.1177/0033294119898116.

31. Тарасова И.В., Трубникова О.А., Кухарева И.Н., Соснина А.С., Куприянова Д.С., Шестернин В.Г., Нагирияк 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

32. Трубникова О.А., Тарасова И.В., Кухарева И.Н., Temnikova T.B., Соснина А.С., Куприянова Д.С., Барбараш

О.Л. Эффективность компьютеризированных когнитивных тренингов методом двойных задач в профилактике послеоперационных когнитивных дисфункций при коронарном шунтировании. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022; 21(8): 3320. doi:10.15829/1728880020223320

33. Venkatesh S., Fischer C. Cognitive factors associated with emotional intelligence. *International Psychogeriatrics*. 2019; 31 (9): 1229-1231. doi: 10.1017/S1041610219000917.

34. Тарасова И.В., Кухарева И.Н., Темникова Т.Б., Куприянова Д.С., Сырова И.Д., Соснина А.С., Трубникова О.А., Барбараш О.Л. Сравнительный анализ двух многозадачных подходов к когнитивному тренингу у кардиохирургических пациентов. *Российский кардиологический журнал*. 2024;29(3):5653. doi:10.15829/1560-4071-2024-5653.

35. Куприянова Д.С., Тарасова И.В., Трубникова О.А., Соснина А.С., Кухарева И.Н., Сырова И.Д., Барбараш О.Л. Нейрофизиологические показатели у пациентов после коронарного шунтирования в зависимости от успеха реабилитации с применением метода двойных задач. *Физиология человека*. 2023; 49 (2): 18-26. doi: 10.31857/S0131164622600641.

36. Тарасова И.В., Трубникова О.А., Кухарева И.Н., Барбараш О.Л. Методические подходы к диагностике послеоперационной когнитивной дисфункции в кардиохирургической клинике. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2015; (4): 73-78. doi:10.17802/2306-1278-2015-4-73-78.

37. Князев Г.Г., Митрофанова Л.Г., Разумникова О.М., Барчард К. Адаптация русскоязычной версии «Опросника эмоционального интеллекта» К. Барчард. *Психол. журн*. 2012; 33 (4): 112-120

38. Разумникова О.М., Тарасова И.В., Трубникова О.А. Особенности частотно-пространственной организации активности мозга, связанные с самооценкой контроля эмоций у мужчин и женщин. *Гены и клетки*. 2023; 18(4): 397-407. doi:10.23868/gc532722.

REFERENCES

1. Pimple P., Shah A.J., Rooks C. Bremner JD, Nye J, Ibeanu I, Raggi P, Vaccarino V. Angina and mental stress-induced myocardial ischemia. *J Psychosom Res*. 2015; 78(5): 433-437. doi: 10.1016/j.jpsychores.2015.02.007

2. Potijk M.R., Janszky I, Reijneveld SA, Falkstedt D. Risk of coronary heart disease in men with poor emotional control: A prospective study. *Psychosom Med*. 2016; 78 (1): 60-67. doi: 10.1097/PSY.0000000000000254.

3. Puente-Martínez A., Páez D., Ubillos-Landa S., Da Costa-Dutra S. Examining the structure of negative affect regulation and its association with hedonic and psychological wellbeing. *Front Psychol*. 2018; 9: 1592. doi: 10.3389/fpsyg.2018.01592

4. Eisenstadt M., Liverpool S., Infanti E., Ciuvat R.M., Carlsson C. Mobile Apps That Promote Emotion Regulation, Positive Mental Health, and Well-being in the General Population: Systematic Review and Meta-analysis. *JMIR Ment Health*. 2021; 8(11): e31170. doi: 10.2196/31170

5. Mayer J. D., Caruso D. R., Salovey P. The ability model of emotional intelligence: Principles and updates. *Emotion Review*. 2016; 8 (4): 290-300. doi: 10.1177/1754073916639667

6. Checa P, Fernández-Berrocal P. Cognitive Control and Emotional Intelligence: Effect of the Emotional Content of the Task. *Brief Reports*. *Front Psychol*. 2019;10:195. doi: 10.3389/fpsyg.2019.00195.

7. Petrides K.V., Mikolajczak M., Mavroveli S., Sanchez-Ruiz M.-J., Furnham A., Pérez-González, J.-C. Developments in trait emotional intelligence research. *Emot. Rev*. 2016; 8 (4): 335-341. doi: 10.1177/1754073916650493.

8. Fernández-Abascal E.G., Martín-Díaz M.D. Dimensions of emotional intelligence related to physical and mental health and to health behaviors. *Frontiers in Psychology*. 2015; 6: 317. doi: 10.3389/fpsyg.2015.00317.

9. Extremera N., Sánchez-Álvarez N., Rey L. Pathways

between ability Emotional Intelligence and subjective well-being: Bridging links through cognitive emotion regulation strategies. *Sustainability*. 2020; 12 (5): 2111. doi: 10.3390/su12052111

10. Razumnikova O., Prokhorova L., Yashanina A., Asanova N. Relationships between quality of life and emotional personality traits: roles of gender and aging. 31st Conference of the EHPS. 2017. 19: 188.

11. Razumnikova O.M., Tarasova I.V., Trubnikova O.A. Patterns of the relationship of indicators of emotional status and self-assessment of quality of life in coronary heart disease. *Voprosy psikhologii*. 2022; (3): 104-112 (In Russ.)

12. Тарасова И.В., Трубникова О.А., Разумникова О.М. Пластичность функциональных систем мозга как компенсаторный ресурс при нормальном и патологическом старении, ассоциированным с атеросклерозом. *Атеросклероз*. 2020; 16(1): 59-67 doi:10.15372/ATER20200108

13. Tromp J, Paniagua SMA, Lau ES, Allen NB, Blaha MJ, Gansevoort RT, Hillege HL, Lee DE, Levy D, Vasan RS, van der Harst P, van Gilst WH, Larson MG, Shah SJ, de Boer RA, Lam CSP, Ho JE. Age dependent associations of risk factors with heart failure: pooled population based cohort study. *BMJ*. 2021;372:n461. doi: 10.1136/bmj.n461. Erratum in: *BMJ*. 2021;373:n880.

14. Kaneko H, Yano Y, Okada A, Itoh H, Suzuki Y, Yokota I, Morita K, Fujiu K, Michihata N, Jo T, Yamaguchi S, Takeda N, Morita H, Node K, Yamauchi T, Nangaku M, Kadowaki T, McEvoy JW, Lam CSP, Yasunaga H, Komuro I. Age-Dependent Association Between Modifiable Risk Factors and Incident Cardiovascular Disease. *J Am Heart Assoc*. 2023;12(2):e027684. doi: 10.1161/JAHA.122.027684

15. Tarasova I.V., Trubnikova O.A., Kukhareva I.N., Barbarash O.L., Barbarash L.S. The influence of preoperative

cognitive impairment on changes in the electrical activity of the brain in patients 1 year after coronary artery bypass surgery. *Creative Cardiology*. 2018; 12 (4): 304-315. doi: 10.24022/1997-3187-2018-12-4-304-315 (In Russ.)

16. Lin X, Chen Y, Zhang P, Chen G, Zhou Y, Yu X. The potential mechanism of postoperative cognitive dysfunction in older people. *Exp Gerontol*. 2020;130:110791. doi: 10.1016/j.exger.2019.110791.

17. Zhao Q, Wan H, Pan H, Xu Y. Postoperative cognitive dysfunction-current research progress. *Front Behav Neurosci*. 2024;18:1328790. doi: 10.3389/fnbeh.2024.1328790.

18. Kharamin S., Malekzadeh M., Aria A., Ashraf H., Shirazi H.R.G. Emotional processing in patients with ischemic heart diseases. *Open Access Maced J Med Sci*. 2018; 6(9): 1627-1632. doi: 10.3889/oamjms.2018.325.

19. Shallcross AJ, Ford BQ, Floerke VA, Mauss IB. Getting better with age: the relationship between age, acceptance, and negative affect. *J Pers Soc Psychol*. 2013;104(4):734-49. doi: 10.1037/a0031180. Erratum in: *J Pers Soc Psychol*. 2013;105(4):718-9. doi: 10.1037/a0034225.

20. Cotter D.L., Walters S.M., Fonseca C., Wolf A., Cobigo Y., Fox E.C., You M.Y., Altendahl M, Djukic N., Staffaroni A.M., Elahi F.M., Kramer J.H., Casaletto K.B; Hillblom Aging Network. Aging and Positive Mood: Longitudinal Neurobiological and Cognitive Correlates. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2020;28(9):946-956. doi: 10.1016/j.jagp.2020.05.002.

21. Stanley J.T., Isaacowitz D.M. Age-related differences in profiles of mood-change trajectories. *Dev Psychol*. 2011; 47 (2): 318-330. doi: 10.1037/a0021023.

22. Isaacowitz D.M., Livingstone K.M., Castro V.L. Aging and emotions: experience, regulation, and perception. *Curr Opin Psychol*. 2017; 17: 79-83. doi: 10.1016/j.copsyc.2017.06.013.

23. MacCormack J.K., Stein A.G., Kang J., Giovanello K.S., Satpute A.B., Lindquist K.A. Affect in the aging brain: A neuroimaging meta-analysis of older vs. younger adult affective experience and perception. *Affect Sci*. 2020; 1(3): 128-154. doi: 10.1007/s42761-020-00016-8.

24. Paschke L.M., Dörfel D., Steimke R., Trempler I., Magrabi A., Ludwig V.U., Schubert T., Stelzel C., Walter H. Individual differences in self-reported self-control predict successful emotion regulation. *Soc Cogn Affect Neurosci*. 2016;11(8): 1193-204. doi: 10.1093/scan/nsw036.

25. Tsujimoto M, Saito T, Matsuzaki Y, Kojima R, Kawashima R. Common and distinct neural bases of multiple positive emotion regulation strategies: A functional magnetic resonance imaging study. *Neuroimage*. 2022;257:119334. doi: 10.1016/j.neuroimage.2022.119334.

26. Morcom A.M., Henson R.N.A. Increased prefrontal activity with aging reflects nonspecific neural responses rather than compensation. *J Neurosci*. 2018; 38 (33): 7303-7313. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1701-17.2018

27. Zanto T.P., Gazzaley A. Aging of the frontal lobe. *Handb Clin Neurol*. 2019; 163: 369-389. doi: 10.1016/B978-0-12-804281-6.00020-3.

28. Bakaev M.A., Razumnikova O.M. Cognitive reserves: prefrontal cortex or information load? *Adv. geront*. 2021. 34(2): 202-209 (In Russ)

29. Trubnikova O.A., Tarasova I.V., Mamontova A.S., Syrova I.D., Maleva O.V., Barbarash O.L. Structure of cognitive disorders and dynamics of bioelectric activity of the brain in patients after direct myocardial revascularization. *Russian Journal of Cardiology*. 2014; (8): 57-62 (In Russ.)

30. Elise B., Eynde S.V., Egée N., Lamotte M, Van de Borne P, Carole F.H. Are Trait Emotional Competencies and Heart Rate Variability Linked to Mental Health of Coronary Heart Disease Patients? *Psychol Rep*. 2021; 124 (1): 23-38. doi: 10.1177/0033294119898116.

31. Tarasova I.V., Trubnikova O.A., Kukhareva I.N., Sosnina A.S., Kupriyanova D.S., Shesternin V.G., Nagirnyak O.A., Barbarash O.L. Effects of cognitive rehabilitation using a dual task in patients in the early postoperative period of direct myocardial revascularization. Complex problems of cardiovascular diseases 2021;10(3):15-25. (In Russ.)

32. Trubnikova O. A., Tarasova I. V., Kukhareva I. N., Temnikova T. B., Sosnina A. S., Syrova I. D., Kupriyanova D. S., Barbarash O. L. Efficiency of computerized cognitive trainings using the dual-task method in the prevention of postoperative cognitive dysfunction in coronary artery bypass grafting. *Cardiovascular therapy and prevention*. 2022; 21(8): 3320. (In Russ.)

33. Venkatesh S., Fischer C. Cognitive factors associated with emotional intelligence. *International Psychogeriatrics*. 2019; 31 (9): 1229-1231. doi: 10.1017/S1041610219000917.

34. Tarasova I.V., Kukhareva I.N., Temnikova T.B., Kupriyanova D.S., Syrova I.D., Sosnina A.S., Trubnikova O.A., Barbarash O.L. Comparative analysis of two multitask approaches to cognitive training in cardiac surgery patients. *Russian Journal of Cardiology*. 2024;29(3):5653. (In Russ.)

35. Kupriyanova D.S., Tarasova I.V., Trubnikova O.A., Sosnina A.S., Kukhareva I.N., Syrova I.D., Barbarash O.L. Neurophysiological parameters in patients after coronary artery bypass grafting depending on the success of rehabilitation using the dual task method. *Human physiology*. 2023; 49 (2): 18-26. (In Russ.)

36. Tarasova I.V., Trubnikova O.A., Kukhareva I.N., Barbarash O.L. Methodological approaches to the diagnosis of postoperative cognitive dysfunction in cardiac surgery clinic. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2015; (4): 73-78. (In Russ.)

37. Knyazev G.G., Mitrofanova L.G., Razumnikova O.M., Barchard K. Adaptation of the Russian version of the "Emotional Intelligence Questionnaire" by K. Barchard. *Psychol. J*. 2012; 33 (4): 112-120 (In Russ.)

38. Razumnikova O.M., Tarasova I.V., Trubnikova O.A. Specificity of frequency-spatial organization of brain activity in coronary heart disease associated with self-assessment of emotion control in men and women. *Genes and cells*. 2023; 18(4): 397-407. (In Russ.)

Для цитирования: Разумникова О.М., Тарасова И.В., Кухарева И.Н., Куприянова Д.С., Соснина А.С., Трубникова О.А. Роль компонентов эмоционального интеллекта в эффективности многозадачного тренинга у пациентов кардиохирургического профиля. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2024;13(3): 17-27. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-17-27

To cite: Razumnikova O.M., Tarasova I.V., Kukhareva I.N., Kupriyanova D.S., Sosina A.S., Trubnikova O.A. Importance of emotional intelligence in the effectiveness of multitasking training in cardiac surgery patients. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2024;13(3): 17-27. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-17-27



УДК 616.1:577.2

DOI 10.17802/2306-1278-2024-13-3-28-36

СВЯЗЬ ДЛИНЫ ТЕЛОМЕР С МАРКЕРАМИ МЕТАБОЛИЗМА И ВОСПАЛЕНИЯ В ПРЕ- И ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

М.А. Асанов, А.О. Поддубняк, А.В. Понасенко

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Основные положения

- Длина теломер у пациентов с ишемической болезнью сердца короче в сравнении с длиной теломер здоровых людей.
- Теломерные участки ДНК при ишемической болезни сердца не восстанавливаются с течением времени.
- Длина теломер в атерогенезе отрицательно коррелирует с маркерами развития сердечно-сосудистых заболеваний и воспалительного процесса.

Цель

Оценить роль изменения длины теломерных участков хромосом при ишемической болезни сердца, обусловленной атеросклерозом коронарных артерий, в популяции жителей угледобывающего региона.

Материалы и методы

В исследование включены 60 пациентов с ишемической болезнью сердца (до операции и через пять лет после) и 52 здоровых человека. Выделение ДНК проводили с использованием стандартного метода фенол-хлороформной экстракции. Для измерения относительной длины теломер лейкоцитов использован метод количественной ПЦР. Анализ биохимических параметров выполнен стандартными методами. В качестве маркеров воспалительного процесса выбраны белки цитокины.

Результаты

Теломеры у здоровых людей значительно длиннее, чем у пациентов с ишемической болезнью сердца. При этом длина теломерных участков ДНК не отличалась между пациентами до оперативного вмешательства и через 5 лет реабилитации. Для определения эффективности измерения теломер как маркера в патологии атеросклероза использован ROC-анализ. Площадь под ROC-кривой составила $0,998 \pm 0,002$. Обратная корреляционная зависимость выявлена между длиной теломер и общим содержанием Na, триглицеридов и липопротеинов высокой плотности. Значимая обратная корреляция между такими показателями липидного спектра, как триглицериды и липопротеины высокой плотности, выявлена только до оперативного вмешательства. Показана прямая и обратная зависимость длины теломер и интерлейкинов 33 и 10 соответственно.

Заключение

Предположительно, воспалительные процессы и окислительные стресс, дополняя друг друга, являются причинами невосполнимых повреждений теломер, ускоряют процессы старения и приводят к необратимым последствиям в атерогенезе.

Ключевые слова

Длина теломер • Ишемическая болезнь сердца • Атеросклероз • ПЦР

Поступила в редакцию: 24.05.2024; поступила после доработки: 08.07.2024; принята к печати: 16.08.2024

Для корреспонденции: Максим Айдарович Асанов, asanma@ketcardio.ru; адрес: бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Corresponding author: Maksim A. Asanov, asanma@ketcardio.ru; address: 6, academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

RELATIONSHIP BETWEEN TELOMERE LENGTH AND MARKERS OF INFLAMMATION IN THE PRE- AND POSTOPERATIVE PERIOD OF PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE

M.A. Asanov, A.O. Poddubnyak, A.V. Ponasenko

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

Highlights

- Telomere length in patients with coronary artery disease is shorter compared to the telomere length of healthy individuals.
- Telomeric regions of DNA in patients with coronary artery disease do not recover over time.
- Telomere length in atherogenesis negatively correlates with markers of cardiovascular diseases and inflammatory process.

Aim	To assess the impact of changes in the length of telomeric regions of chromosomes on the course of coronary artery disease caused by coronary artery atherosclerosis in the population of residents of a coal-mining region.
Methods	The study included 60 patients with coronary artery disease (before surgery and five years after) and 52 healthy participants. We isolated the DNA using the standard phenol-chloroform extraction method. We used the quantitative PCR method to measure the relative length of leukocyte telomeres and analyzed biochemical parameters using standard methods, selecting cytokine proteins as markers of the inflammatory process.
Results	Telomeres in healthy participants were seven times longer compared to patients with coronary artery disease. At the same time, the length of telomeric regions of DNA did not differ in patients before surgery and after 5 years of rehabilitation. We used ROC analysis to determine the effectiveness of measuring telomeres as a marker of atherosclerosis. The area under the ROC curve was 0.998 ± 0.002 . We found an inverse correlation between the telomere length and such parameters as the total body sodium, triglycerides and high-density lipoproteins. We noted a significant inverse correlation between such indicators of the lipid profile as triglycerides and high-density lipoproteins only in patients before surgery. The study results revealed direct and inverse dependence of the length of telomeres and cytokines such as IL-33 and IL-10, respectively.
Conclusion	Supposedly, inflammatory processes and oxidative stress, complementing each other, are the causes of irreparable damage to telomeres, accelerating the aging process and leading to irreversible consequences in atherogenesis.
Keywords	Telomere length • Cardiac artery disease • Atherosclerosis • PCR

Received: 24.05.2024; received in revised form: 08.07.2024; accepted: 16.08.2024

Список сокращений

ДТ	– длина теломер	ЛПНП	– липопротеины низкой плотности
ИБС	– ишемическая болезнь сердца	ОДТ	– относительная длина теломер
ИЛ	– интерлейкин	ССЗ	– сердечно-сосудистые заболевания
ЛПВП	– липопротеины высокой плотности		

Введение

В настоящее время наблюдается тенденция увеличения распространенности сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) среди населения России. Снижение или потеря функций клеток миокарда или сосудов является причиной как острой, так и хронической дисфункции, возникающей при нормаль-

ном или патологическом старении. В ряде эпидемиологических исследований различных популяционных выборок получены данные о связи длины теломер (ДТ) лейкоцитов со смертностью [1], в частности смертностью от ССЗ. Сообщается об обратной связи между длиной теломер лейкоцитов и риском развития ССЗ [2].

Теломерные участки ДНК расположены на концах хромосом, и их длина отражает продолжительность жизни клетки. У млекопитающих теломеры состоят из тандемных повторов TTAGGG и связывающих их белков, выполняющих защитную функцию концевых участков хромосом [3]. Нуклеотидные повторы ограничивают терминацию двойных цепей ДНК и, таким образом, сохраняют целостность генома во время репликации [4]. Уменьшение ДТ в течение клеточного цикла приводит к нестабильности генома и запускает экспрессию белков, участвующих в апоптозе. Эти события составляют феномен, называемый клеточным старением, который связан с началом и развитием ряда заболеваний [5], в том числе атеросклероза [6].

Интересным остается вопрос, являются ли теломеры маркером атерогенеза и/или фактором риска развития ССЗ, в том числе ишемической болезни сердца (ИБС). Несмотря на большое количество литературных источников об изменении длин теломер лейкоцитов и установленном ССЗ [7, 8], авторы немногих эпидемиологических исследований были сосредоточены именно на возможных связях ДТ и субклинического (бессимптомного) атеросклероза. На сегодняшний день лишь в ряде работ показана роль коротких теломер в развитии ССЗ, в том числе ИБС. В настоящий момент существует некоторое количество экспериментальных препаратов для удлинения теломерных участков и замедления клеточного старения, однако их эффективность до конца не доказана и их не применяют в клинической практике [26].

Длина теломер регулируется генетическими факторами и факторами окружающей среды. Кемеровская область – угледобывающий промышленный регион с развитой инфраструктурой, входящий в список субъектов России с выраженными санитарно-эпидемиологическими проблемами [9].

Ранее в исследовании О.М. Поликутиной и соавт. показана связь между повышенным содержанием аэрополлютантов в атмосферном воздухе и риском развития ССЗ [10]. Воздействие аэрополлютантов на организм человека характеризуется гипоксией тканей и воспалительными процессами, которые в свою очередь являются причиной окислительного стресса [11]. Таким образом, представляется актуальным оценить роль изменения их длины при ИБС, обусловленной атеросклерозом коронарных артерий, в популяции жителей угледобывающего региона.

Материалы и методы

В исследование включены 60 пациентов (средний возраст 59 лет) с диагностированным атеросклерозом коронарной артерии, получивших хирургическое лечение в объеме коронарного шунтирования в ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (Кемерово, Россия). В контрольную группу вошли 52 здоровых человека (средний возраст 54 года). Материалом исследования послужили образцы венозной крови, полученные из локтевой вены для молекулярно-генетического анализа в вакутейнер с ЭДТА, для биохимического – в вакутейнер с активатором свертывания. Для пациентов с ИБС были две контрольные точки исследования – до операции и через 5 лет, для контрольной группы – одномоментно. Более подробная характеристика исследованных групп представлена в табл. 1.

Анализ биохимических параметров проведен стандартными методами. В исследование включены показатели биохимического анализа: общий холестерин (ммоль/л), уровень триглицеридов (ммоль/л), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП, ммоль/л), липопротеинов высокой плотности (ЛПВП, ммоль/л), глюкозы (ммоль/л), обще-

Таблица 1. Характеристика исследованных групп пациентов
Table 1. Characteristics of the groups

Показатель / Parameter	Пациенты с ИБС / CAD patients	Здоровые жители / Healthy participants
Количество / Number	60	52
Возраст, лет / Age, years, M ± SE	60 ± 1	55 ± 1
Пол (М/Ж) / Gender (M/W), n	49/11	44/6
Курение (да/нет) / Smoking (yes/no), n	38/22	27/25
Инфаркт миокарда (да/нет) / Myocardial infarction (yes/no), n	44/16	
Коморбидность / Comorbidity, n		
– артериальная гипертензия / arterial hypertension	53	
– сахарный диабет / diabetes	11	
– ХЗЛ / chronic lung disease	12	
Сопутствующие заболевания / concomitant diseases		
– ХСН / chronic heart failure	60	
– стенокардия / angina	54	

Примечание: M – число; n – количество; SE – стандартная ошибка; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ХЗЛ – хронические заболевания легких; ХСН – хроническая сердечная недостаточность.

Note: M – number; n – quantity; SE – standard error; CAD – coronary artery disease.

го белка (г/л), креатинина (мкмоль/л), мочевины (ммоль/л), билирубина (мкмоль/л), калия (ммоль/л) и натрия (ммоль/л).

В качестве маркеров воспалительного процесса взяты про- и противовоспалительные цитокины: интерлейкин 6 (ИЛ-6), интерлейкин 10 (ИЛ-10), интерлейкин 18 (ИЛ-18), интерлейкин 33 (ИЛ-33) и ST2. Для количественного определения данных маркеров использованы коммерческие наборы для иммуноферментного анализа (Invitrogen, США), согласно прилагаемым инструкциям. Уровень пептидов измерен в пг/мл.

Выделение ДНК проводили с использованием стандартного метода фенол-хлороформной экстракции. В качестве референсного гена использовали *Hemoglobin subunit gamma (HBG)* [12]. Длину теломерных участков ДНК оценивали при помощи количественной полимеразной реакции с детекцией результата в режиме реального времени с флуоресцентным красителем SYBR Green на амплификаторе CFX96 Real-Time System (Bio-Rad, США). Праймеры синтезированы ЗАО «Евроген» (табл. 2). Для оценки эффективности ПЦР анализировали графики амплификации и стандартные кривые в программе Bio-Rad CFX Manager. Относительную длину теломер (ОДТ) рассчитывали по формуле: $T/S \text{ ratio} = 2^{\Delta C_t}$, где $T/S \text{ ratio}$ – отношение циклов, C_t – пороговый цикл. Оценивали ОДТ каждого образца ДНК три раза для измерения средней величины и более высокой достоверности результатов.

Исследование выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации ВМА (пересмотра 2013 г.). Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом НИИ КПССЗ. До включения в исследование у всех участников получено добровольное письменное информированное согласие.

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft, США; ВХХR210F562022FA-A). При оценке нормальности распределения методом Колмогорова – Смирнова установлено, что распределение данных по всем изученным параметрам не соответствовало нормальному. Следовательно, для сравнения групп применяли U-критерий Манна – Уитни, для групповых характеристик – такие параметры, как медиана и квартили. Для определения

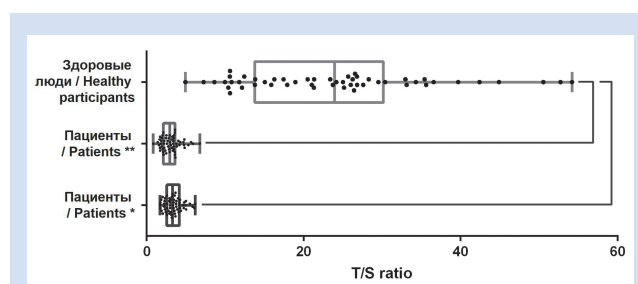
корреляционных зависимостей использовали критерий Спирмена. Различия принимали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Данное исследование направлено на изучение теломерной длины, ее изменения с течением времени при прогрессировании ИБС, обусловленной атеросклерозом коронарных артерий. Результаты исследования показали, что ОДТ пациентов до оперативного вмешательства незначительно отличается от ОДТ этих пациентов через пять лет ($p > 0,05$), но остается намного короче в сравнении с данным показателем у здоровых людей (рисунки), проживающих на одной территории ($p < 0,001$).

Для определения эффективности измерения теломерных участков как маркера в атерогенезе использовался ROC-анализ. ROC-кривые показывают зависимость чувствительности теста (Se) от специфичности (Sp) при изменении порогового значения ОДТ. Площадь под ROC-кривой составила $0,998 \pm 0,002$ ($p = 0,001$) и $0,997 \pm 0,002$ ($p = 0,001$). Пороговое значение ROC-анализа – соотношение циклов, равное 6,142.

В настоящем исследовании выявлен ряд корреляционных зависимостей между ОДТ и биохимическими показателями. Показана достоверная ассоциация между ОДТ и триглицеридами (табл. 3), ОДТ и ЛПВП (табл. 4), однако не выявлено связи с ЛПНП. Также представлена обратная корреляционная зависимость между ОДТ и общим содержанием Na (табл. 5; $p < 0,001$). В данной работе в ходе статистического анализа выявлена прямая за-



Относительная длина теломер лимфоцитов пациентов

Примечание: * пациенты с атеросклерозом до операции; ** пациенты через пять лет после операции; T/S ratio – отношение циклов.

Relative length of telomeres of lymphocytes of patients

Note: * patients with atherosclerosis before surgery; ** patients five years after surgery; T/S ratio – telomere to single copy gene ratio.

Таблица 2. Последовательность участков праймеров, используемых в эксперименте

Table 2. Sequence of primer regions used in the experiment

N	Наименование / Name	Последовательность / Sequence
1	hbgF	GCTTCTGACACAACGTGTCTCACTAGC
2	hbgR	CACCAACTTCATCCACGTTCCACC
3	teloF	CGGTTTGTGGTTGGGTTGGGTTGGGTTGGGTTGGGTT
4	teloR	GGCTTGCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCT

Таблица 3. Корреляционная зависимость относительной длины теломер и биохимических показателей пациентов ИБС с ИМ
Table 3. Correlation dependence of the relative length of telomeres and biochemical parameters in CAD patients with MI

	ОХС / TC	Триглицерид / Triglyceride	ЛПНП / LDL	ЛПВП / HDL	Глюкоза / Glucose	Общий белок / Total protein	Креатинин max / Creatinine max	Мочевина / Urea	Билирубин общий / Total bilirubin	K	Na
ОДТ1 / RTL1	-0,19	-0,78*	0,03	0,38	-0,29	-0,17	-0,054945	0,217163	0,071429	-0,118622	-0,622422
ОДТ2 / RTL2	-0,33	-0,14	0,04	0,01	-0,27	-0,19	0,07	0,41	0,03	-0,39	-0,67

Примечание: * $p = 0,001$; ЛПВП – липопротеины высокой плотности; ЛПНП – липопротеины низкой плотности; ОДТ1 – относительная длина теломер пациентов до операции; ОДТ2 – относительная длина теломер пациентов через 5 лет; ОХС – общий холестерин.

Note: * $p = 0,001$; HDL – high density lipoprotein; LDL – low-density lipoprotein; RTL1 – relative telomere length in patients before surgery; RTL2 – relative telomere length in patients after 5 years; TC – total cholesterol.

Таблица 4. Корреляционная зависимость относительной длины теломер и биохимических показателей пациентов с ИБС без ИМ
Table 4. Correlation dependence of the relative length of telomeres and biochemical parameters in CAD patients without MI

	ОХС / TC	Триглицерид / Triglyceride	ЛПНП / LDL	ЛПВП / HDL	Глюкоза / Glucose	Общий белок / Total protein	Креатинин max / Creatinine max	Мочевина / Urea	Билирубин общий / Total bilirubin	K	Na
ОДТ1 / RTL1	-0,08	0,36	0,12	-0,39*	0,03	-0,18	0,03	0,27	-0,31	0,19	-0,21
ОДТ2 / RTL2	-0,12	0,17	0	-0,23	0,21	0,12	0,1	-0,02	-0,06	0,09	-0,27

Примечание: * $p < 0,001$; ЛПВП – липопротеины высокой плотности; ЛПНП – липопротеины низкой плотности; ОДТ1 – относительная длина теломер пациентов до операции; ОДТ2 – относительная длина теломер пациентов через 5 лет; ОХС – общий холестерин.

Note: * $p < 0,001$; HDL – high density lipoprotein; LDL – low-density lipoprotein; RTL1 – relative telomere length in patients before surgery; RTL2 – relative telomere length in patients after 5 years; TC – total cholesterol.

Таблица 5. Корреляционная зависимость относительной длины теломер и биохимических показателей
Table 5. Correlation dependence of relative telomere length and biochemical parameters

	ОХС / TC	Триглицерид / Triglyceride	ЛПНП / LDL	ЛПВП / HDL	Глюкоза / Glucose	Общий белок / Total protein	Креатинин max / Creatinine max	Мочевина / Urea	Билирубин общий / Total bilirubin	K	Na
ОДТ1 / RTL1	-0,06	0,01	0,12	-0,11	-0,19	-0,13	0,01	0,21	-0,14	0,08	-0,37*
ОДТ2 / RTL2	-0,16	0,1	0	-0,15	0,07	0,06	0,12	0,09	-0,02	-0,04	-0,39*

Примечание: * $p < 0,001$; ЛПВП – липопротеины высокой плотности; ЛПНП – липопротеины низкой плотности; ОДТ1 – относительная длина теломер пациентов до операции; ОДТ2 – относительная длина теломер пациентов через 5 лет; ОХС – общий холестерин.

Note: * $p < 0,001$; HDL – high density lipoprotein; LDL – low-density lipoprotein; RTL1 – relative telomere length in patients before surgery; RTL2 – relative telomere length of patients after 5 years; TC – total cholesterol.

Таблица 6. Корреляционная зависимость относительной длины теломер и секреции белков цитокинов
Table 6. Correlation dependence of relative telomere length and cytokine protein secretion

	ИЛ-18, пг/мл / IL-18, pg/mL (A)	ИЛ-18, пг/мл / IL-18, pg/mL (B)	ИЛ-10, пг/мл / IL-10, pg/mL (A)	ИЛ-10, пг/мл / IL-10, pg/mL (B)	ИЛ-6, пг/мл / IL-6, pg/mL (A)	ИЛ-6, пг/мл / IL-6, pg/mL (B)	ИЛ-33, пг/мл / IL-33, pg/mL (A)	ИЛ-33, пг/мл / IL-33, pg/mL (B)	ИЛ-1RL1, нг/мл / IL1RL1, ng/mL (A)	ИЛ-1RL1, нг/мл / IL1RL1, ng/mL (B)
ОДТ1 / RTL1	-0,3	-0,21	-0,33	-0,55*	-0,07	-0,1	-0,08	-0,09	-0,05	0,14
ОДТ2 / RTL2	-0,12	-0,2	0,14	-0,06	0,06	0,06	-0,02	0,48*	-0,03	0,2

Примечание: * $p < 0,001$; А – до оперативного вмешательства; В – через 5 лет после оперативного вмешательства; ИЛ – интерлейкин; ОДТ1 – относительная длина теломер пациентов до операции; ОДТ2 – относительная длина теломер пациентов через 5 лет.

Note: * $p < 0,001$; A – before surgery; B – 5 years after surgery; IL – interleukin; RTL1 – relative telomere length in patients before surgery; RTL2 – relative telomere length of patients after 5 years.

висимость ОДТ (В) и ИЛ-33 (В) (табл. 6; $p < 0,001$). С другой стороны, имеется обратная корреляция между ОДТ (А) и противовоспалительным цитокином ИЛ-10 (В) (см. табл. 6; $p < 0,001$).

Не выявлено значимых корреляционных связей между ДТ и другими ИЛ в настоящем исследовании. Обсуждение

Известно, что удлиненные теломеры связаны со сниженной распространенностью субклинического атеросклероза и заболеваний периферических артерий [13]. Благодаря систематическому анализу [14] выявлено, что ОДТ у пациентов с ИБС была значительно короче, чем у контрольной группы, при этом обратно коррелировала с тяжестью ИБС. Полученные результаты подтверждают ранее опубликованные исследования [15]. Н.А. Дорощук и коллеги измеряли длину теломерных участков и уровень окислительного стресса у больных ИБС [15]. Результат исследования показал отрицательную корреляцию вышесказанных параметров, при этом с увеличением уровня маркера возрастал риск смертности пациентов.

Воспаление и окислительный стресс, дополняя друг друга, ускоряют образование атеромы. Для восстановления эндотелиального повреждения гемопоэтические стволовые клетки ускоряют репликацию, поддерживая собственный резерв, что сопровождается укорочением теломер в клетках. В то же время уменьшение ДТ имеет обратную связь со скоростью репликации и потенциалом стволовых клеток [16]. Недавно Н.Т. Lee и соавт. продемонстрировали, что один из продуктов окислительного стресса 8-оксогуанин разрушает теломерную ДНК, при этом увеличивает связывание между выступами теломер и теломеразой [17]. Данные выступления состоят из G-остатков по направлению 5'-3' к концу хромосомы и связываются с шелтеринном, белковым комплексом, защищающим теломерные участки от повреждений и избыточного процесса репарации. Следовательно, это вызывает удлинение теломер [17]. С другой стороны, свободные радикалы кислорода (такие как O_2^-) увеличивают скорость уменьшения теломер, непосредственно воздействуя на GGG-специфическую последовательность [27]. Воспалительные процессы часто сопровождаются окислительным стрессом, и, наоборот, окислительный стресс может быть причиной воспалительного процесса. Возможно, взаимодействующие свойства данных процессов объясняют отсутствие прогресса в восстановлении теломерных участков ДНК до изначального состояния.

Образование атероматозных бляшек сопровождается отложениями холестерина и липопротеинов. Липопротеины, в т. ч. триглицериды, ЛПНП и ЛПВП, являются биомаркерами и факторами риска развития ССЗ. В литературе практически отсутствуют данные о связи длин теломер с показателя-

ми биохимического анализа, в основном показаны связи с биомаркерами дислипидемии [18]. В исследовании липидного обмена у пациентов при стенокардии напряжения и инфаркте миокарда определено образование модифицированных форм ЛПВП, обогащенных триглицеридами [28]. Повышенный уровень триглицеридов является центральным признаком комплекса атерогенной дислипидемии, включающей пониженный уровень ЛПВП и повышенный уровень ЛПНП [2].

В нескольких эпидемиологических исследованиях за последнее десятилетие подтверждена независимая и противоположная роль ЛПНП и ЛПВП в развитии сердечно-сосудистых заболеваний [19]. ЛПНП являются основным переносчиком холестерина в периферические ткани, тогда как обратный транспорт ЛПВП возвращает избыток тканевого холестерина в печень. Параллельно с их транспортными функциями высокий уровень холестерина ЛПНП связан с повышенным риском ССЗ, тогда как высокий уровень холестерина ЛПВП, по-видимому, является защитным [20]. ЛПВП служат важными переносчиками продуктов окисления липидов в плазме [20]. Одна из хорошо известных защитных функций ЛПВП – способность предотвращать окисление ЛПНП, таким образом уровень ЛПВП в организме будет прямо пропорционально зависеть от уровня ЛПНП. В основном теломеры не связывают с показателями липидного обмена, однако в одном исследовании продемонстрирована ассоциативная связь между длиной теломерных повторов ДНК и ЛПВП у пациентов молодого и пожилого возраста [21]. Авторы объяснили данную корреляцию антиоксидантными и противовоспалительными функциями ЛПВП.

Накопление Na при ИБС зависит от продолжительности ишемии. Существует тесная связь между накоплением Na в миокарде и снижением скорости потребления кислорода или недостаточностью восстановления сократительной способности реперфузированного сердца [22]. При анаэробных условиях, созданных ишемией, разность в потребности и синтезе молекул активных форм кислорода становится критической, что приводит к истощению энергии. Вследствие этого развивается дисфункция ионных каналов, что приводит к нарушению ионного равновесия. Накопление клетками ионов, их избыток, формирует цитотоксический отек, при котором возможен окислительный стресс с высвобождением активных форм кислорода [23]. К. Tanonaka и соавт. продемонстрировали зависящее от продолжительности ишемии накопление Na^+ в митохондриях и тесную связь между увеличением содержания данного иона и снижением способности митохондрий производить энергию в ишемизированном сердце [22]. Перегрузка митохондрий Na^+ во время ишемии может быть связана с функциональным изменением

ишемизированного / реперфузированного сердца через нарушение функции митохондрий. Нарушение нормальных процессов внутри митохондрии приводит к возникновению окислительного стресса и высвобождению активных форм кислорода. Значимые корреляции ОДТ с другими биохимическими показателями отсутствуют.

ИЛ-33 представляет собой цитокин, принадлежащий семейству ИЛ-1. Показано, что после попадания во внеклеточный компартмент в ответ на повреждение ткани или воспаление внеклеточный ИЛ-33 действует как мощный индуктор воспаления [24] что, возможно, приводит к окислительному стрессу, высвобождению активных форм кислорода и повреждению ДНК.

Низкая концентрация ИЛ-10 в организме способствует развитию и прогрессированию атеросклероза [25]. Одна из функций ИЛ-10 заключается в подавлении белков провоспалительных цитокинов. Таким образом, вероятно, в ответ на последствия атерогенеза, включающий воспалительный процесс и секрецию провоспалительных цитокинов, уровень секреции ИЛ-10 оставался довольно высоким после коронарного шунтирования.

Заключение

Установлено, что длина теломерных участков ДНК при ИБС не меняется с течением времени и значительно короче в сравнении с длиной теломер здоровых людей. Длина теломер при ИБС отрицательно

коррелирует с биохимическими показателями, маркерами развития ССЗ: липопротеинами и свободными ионами. Кроме того, обнаружена отрицательная корреляция ОДТ и ИЛ-33 и прямая корреляция ОДТ и ИЛ-10. Предположительно, воспалительные процессы и окислительные стресс, дополняя друг друга, являются причинами невосполнимых повреждений теломер, ускоряют процессы старения и приводят к необратимым последствиям в атерогенезе. Для выяснения биологии теломер в атерогенезе требуются дополнительные исследования.

Конфликт интересов

М.А. Асанов заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.О. Поддубняк заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.В. Понасенко заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0419-2022-0002 «Разработка инновационных моделей управления риском развития болезней системы кровообращения с учетом коморбидности на основе изучения фундаментальных, клинических, эпидемиологических механизмов и организационных технологий медицинской помощи в условиях промышленного региона Сибири».

Информация об авторах

Асанов Максим Айдарович, младший научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0747-2495

Поддубняк Алена Олеговна, младший научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-7388-356X

Понасенко Анастасия Валериевна, заведующая лабораторией геномной медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-3002-2863

Author Information Form

Asanov Maxim A., Junior Researcher at the Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0747-2495

Poddubnyak Alyona O., Junior Researcher at the Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-7388-356X

Ponassenko Anastasia V., Head of the Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-3002-2863

Вклад авторов в статью

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

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

Author Contribution Statement

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Салахов Р.Р., Понасенко А.В. Длина теломер и сердечно-сосудистые заболевания. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2018;7(4S):101-107. doi: 10.17802/2306-1278-2018-7-4S-101-107
2. Weischer M., Bojesen S.E., Cawthon R.M., et al. Short telomere length, myocardial infarction, ischemic heart disease, and early death. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2012; 32 (3): 822–9. doi: 10.1161/ATV.0000000000000016
3. Stone R.C., Horvath K., Kark J.D., et al. Telomere Length and the Cancer–Atherosclerosis Trade-Off. *PLOS Genetics*. 2016;12(7):e1006144. doi: 10.1371/journal.pgen.1006144
4. Blackburn E.H. Telomeres and telomerase: their mechanisms of action and the effects of altering their functions. *FEBS Letters*. 2005;579(4):859-62. doi: 10.1016/j.febslet.2004.11.036
5. Collins K. Mammalian telomeres and telomerase. *Current Opinion in Cell Biology*. 2000;12:378-83. doi: 10.1016/s0955-0674(00)00103-4
6. Opstad T.B., Kalstad A.A., Pettersen A.A., et al. Novel biomolecules of ageing, sex differences and potential underlying mechanisms of telomere shortening in coronary artery disease. *Experimental Gerontology*. 2019;119: 53-60. doi: 10.1016/j.exger.2019.01.020
7. Zhan Y., Hägg S. Telomere length and cardiovascular disease risk. *Curr Opin Cardiol*. 2019;34(3):270-74. doi: 10.1097/HCO.0000000000000613
8. De Meyer T., Nawrot T., Bekaert S., et al. Telomere Length as Cardiovascular Aging Biomarker: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol*. 2018;72(7):805-13. doi: 10.1097/HCO.0000000000000613
9. Доклад о состоянии и охране окружающей среды Кемеровской области в 2013 году. Департамент природных ресурсов и экологии Кемеровской области. Кемерово 2014: 1-584.
10. Поликутина О.М., Слепынина Ю.С., Баздырев Е.Д., с соавт. Аэрополлютанты и инфаркт миокарда в крупном промышленном центре Сибири. Существует ли взаимосвязь? *Кардиологический вестник*. 2015;10(4):34-44.
11. McGarry T., Biniecka M., Veale D.J., et al. Hypoxia, oxidative stress and inflammation. *Free Radic Biol Med*. 2018;125:15-24. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.042
12. O'Callaghan N.J., Fenech M. A quantitative PCR method for measuring absolute telomere length. *Biological Procedures Online*. 2011;31:13-3. doi: 10.1186/1480-9222-13-3.
13. Mwasongwe S., Gao Y., Griswold M., et al. Leukocyte telomere length and cardiovascular disease in African Americans: The Jackson Heart Study. *Atherosclerosis*. 2017;266:41-47. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.09.016.
14. Haycock P.C., Heydon E.E., Kaptoge S., et al. Leucocyte telomere length and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2014;349:g4227. doi: 10.1136/bmj.g4227.
15. Дорожук Н.А., Ланкин В.З., Тихазе А.К., с соавт. Длина теломеров как биомаркер риска сердечно-сосудистых осложнений у больных ишемической болезнью сердца. *Терапевтический архив*. 2021; 93(1):20-24. doi: 10.26442/00403660.2021.01.200588
16. Xu X., Hu H., Lin Y., et al. Differences in Leukocyte Telomere Length between Coronary Heart Disease and Normal Population: A Multipopulation Meta-Analysis. *Biomed Res Int*. 2019;6:5046867. doi: 10.1155/2019/5046867
17. Lee H.T., Bose A., Lee C.Y., et al. Molecular mechanisms by which oxidative DNA damage promotes telomerase activity. *Nucleic Acids Research*. 2017;45:11752-65. doi: 10.1093/nar/gkx789
18. Koriath M., Müller C., Pfeiffer N., et al. Relative Telomere Length and Cardiovascular Risk Factors. *Biomolecules*. 2019;9(5):192. doi: 10.3390/biom9050192
19. Barter P., Gotto A.M., LaRosa J.C., et al. HDL Cholesterol, Very Low Levels of LDL Cholesterol, and Cardiovascular Events. *The New England Journal of Medicine*. 2007;357(13): 1301-10. doi: 10.1056/NEJMoa064278
20. Ahotupa M. Oxidized lipoprotein lipids and atherosclerosis. *Free Radical Research*. 2017;51(4):439-47. doi: 10.1080/10715762.2017.1319944
21. Chen W., Gardner J.P., Kimura M., et al. Leukocyte telomere length is associated with HDL cholesterol levels: The Bogalusa heart study. *Atherosclerosis*. 2009;205(2):620-5. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2009.01.021
22. Tanonaka K., Motegi K., Arino T., et al. Possible Pathway of Na⁺ Flux into Mitochondria in Ischemic Heart. *Biological and pharmaceutical bulletin*. 2012;35(10):1661-8. doi: 10.1248/bpb.b12-00010
23. Сырвая А.О., Леонтьева Ф.С., Новикова И.В., с соавт. Биологическая роль свободных радикалов в развитии патологических состояний. *Международный медицинский журнал*. 2012;3(71):98–104.
24. Aizawa H., Koarai A., Shishikura Y., et al. Oxidative stress enhances the expression of IL-33 in human airway epithelial cells. *Respir Res*. 2018;19(1):52. doi: 10.1186/s12931-018-0752-9.
25. Подзолков В.И., Покровская А.Е., Панасенко О.И. Дефицит витамина D и сердечно-сосудистая патология. *Терапевтический архив*. 2018;90(9):144-150. doi: 10.26442/terarkh2018909144-150
26. Yeh JK, Lin MH, Wang CY. Telomeres as Therapeutic Targets in Heart Disease. *JACC Basic Transl Sci*. 2019 Nov 25;4(7):855-865; Bajaj S, Kumar MS, Peters GJ, Mayur YC. Targeting telomerase for its advent in cancer therapeutics. *Med Res Rev*. 2020 Sep;40(5):1871-1919
27. Ahmed W, Lingner J. Impact of oxidative stress on telomere biology. *Differentiation*. 2018;99:21-27. doi: 10.1016/j.diff.2017.12.002
28. Курашвили Л.В., Ушакова С.В., Олейников В.Э. Особенности липидного обмена, окислительного и антиокислительного потенциала при инфаркте миокарда. *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки*. 2007;1:109-117.

REFERENCES

1. Salakhov R.R., Ponasenko A.V. Telomere length and cardiovascular diseases. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2018;7(4S):101-107. (In Russ.) doi: 10.17802/2306-1278-2018-7-4S-101-107
2. Weischer M., Bojesen S.E., Cawthon R.M., et al. Short telomere length, myocardial infarction, ischemic heart disease, and early death. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2012; 32 (3): 822–9. doi: 10.1161/ATV.0000000000000016
3. Stone R.C., Horvath K., Kark J.D., et al. Telomere Length and the Cancer–Atherosclerosis Trade-Off. *PLOS Genetics*. 2016;12(7):e1006144. doi: 10.1371/journal.pgen.1006144
4. Blackburn E.H. Telomeres and telomerase: their mechanisms of action and the effects of altering their

- functions. *FEBS Letters*. 2005;579(4):859-62. doi: 10.1016/j.febslet.2004.11.036
5. Collins K. Mammalian telomeres and telomerase. *Current Opinion in Cell Biology*. 2000;12:378-83. doi: 10.1016/s0955-0674(00)00103-4
 6. Opstad T.B., Kalstad A.A., Pettersen A.A., et al. Novel biomolecules of ageing, sex differences and potential underlying mechanisms of telomere shortening in coronary artery disease. *Experimental Gerontology*. 2019;119: 53-60. doi: 10.1016/j.exger.2019.01.020
 7. Zhan Y., Hägg S. Telomere length and cardiovascular disease risk. *Curr Opin Cardiol*. 2019;34(3):270-74. doi: 10.1097/HCO.0000000000000613
 8. De Meyer T., Nawrot T., Bekaert S., et al. Telomere Length as Cardiovascular Aging Biomarker: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol*. 2018;72(7):805-13. doi: 10.1097/HCO.0000000000000613
 9. Доклад о состоянии и охране окружающей среды Кемеровской области в 2013 году. Департамент природных ресурсов и экологии Кемеровской области. Кемерово 2014: 1-584. (In Russ)
 10. Polikutina O.M., Slepynina Y.S., Bazdyrev E.D., et al. Air pollutants and myocardial infarction in a large industrial region. Is there a relationship? *Kardiologicheskij Vestnik*. 2015;10(4):34-44. (In Russ)
 11. McGarry T., Biniecka M., Veale D.J., et al. Hypoxia, oxidative stress and inflammation. *Free Radic Biol Med*. 2018;125:15-24. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.042
 12. O'Callaghan N.J., Fenech M. A quantitative PCR method for measuring absolute telomere length. *Biological Procedures Online*. 2011;31:13-3. doi: 10.1186/1480-9222-13-3.
 13. Mwasongwe S., Gao Y., Griswold M., et al. Leukocyte telomere length and cardiovascular disease in African Americans: The Jackson Heart Study. *Atherosclerosis*. 2017;266:41-47. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.09.016.
 14. Haycock P.C., Heydon E.E., Kaptoge S., et al. Leucocyte telomere length and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2014;349:g4227. doi: 10.1136/bmj.g4227.
 15. Doroshchuk N.A., Lankin V.Z., Tikhaze A.K., et al. Telomere length as a biomarker of the risk of cardiovascular complications in patients with coronary heart disease. *Terapevticheskii arkhiv*. 2021; 93(1):20-24. (In Russian) doi: 10.26442/00403660.2021.01.200588
 16. Xu X., Hu H., Lin Y., et al. Differences in Leukocyte Telomere Length between Coronary Heart Disease and Normal Population: A Multipopulation Meta-Analysis. *Biomed Res Int*. 2019;6:5046867. doi: 10.1155/2019/5046867
 17. Lee H.T., Bose A., Lee C.Y., et al. Molecular mechanisms by which oxidative DNA damage promotes telomerase activity. *Nucleic Acids Research*. 2017;45:11752-65. doi: 10.1093/nar/gkx789
 18. Koriath M., Müller C., Pfeiffer N., et al. Relative Telomere Length and Cardiovascular Risk Factors. *Biomolecules*. 2019;9(5):192. doi: 10.3390/biom9050192
 19. Barter P., Gotto A.M., LaRosa J.C., et al. HDL Cholesterol, Very Low Levels of LDL Cholesterol, and Cardiovascular Events. *The New England Journal of Medicine*. 2007;357(13): 1301-10. doi: 10.1056/NEJMoa064278
 20. Ahotupa M. Oxidized lipoprotein lipids and atherosclerosis. *Free Radical Research*. 2017;51(4):439-47. doi: 10.1080/10715762.2017.1319944
 21. Chen W., Gardner J.P., Kimura M., et al. Leukocyte telomere length is associated with HDL cholesterol levels: The Bogalusa heart study. *Atherosclerosis*. 2009;205(2):620-5. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2009.01.021
 22. Tanonaka K., Motegi K., Arino T., et al. Possible Pathway of Na⁺ Flux into Mitochondria in Ischemic Heart. *Biological and pharmaceutical bulletin*. 2012;35(10):1661-8. doi: 10.1248/bpb.b12-00010
 23. Syrovaya A.O., Leontieva F.S., Novikova I.V., et al. Biological role of free radicals in development of pathological states. *Mezhdunarodnyj medicinskij zhurnal*. 2012;3(71):98-104. (In Russ)
 24. Aizawa H., Koarai A., Shishikura Y., et al. Oxidative stress enhances the expression of IL-33 in human airway epithelial cells. *Respir Res*. 2018;19(1):52. doi: 10.1186/s12931-018-0752-9.
 25. Podzolkov V.I., Pokrovskaya A.E., Panasenko O.I. Vitamin D deficiency and cardiovascular pathology. *Terapevticheskii arkhiv*. 2018;90(9):144-150. (In Russian) doi: 10.26442/terarkh2018909144-150
 26. Yeh JK, Lin MH, Wang CY. Telomeres as Therapeutic Targets in Heart Disease. *JACC Basic Transl Sci*. 2019 Nov 25;4(7):855-865; Bajaj S, Kumar MS, Peters GJ, Mayur YC. Targeting telomerase for its advent in cancer therapeutics. *Med Res Rev*. 2020 Sep;40(5):1871-1919
 27. Ahmed W, Lingner J. Impact of oxidative stress on telomere biology. *Differentiation*. 2018;99:21-27. doi: 10.1016/j.diff.2017.12.002
 28. Kurashvili L.V., Ushakova S.V., Olejnikov V.E. Features of lipid metabolism, oxidative and antioxidant potential in myocardial infarction. *News of higher educational institutions. University proceedings. Volga region. Medical sciences*. 2007;1:109-117. (In Russian)

Для цитирования: Асанов М.А., Поддубняк А.О., Понасенко А.В. Связь длины теломер с маркерами метаболизма и воспаления в пре- и послеоперационном периоде у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2024;13(3): 28-36. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-28-36

To cite: Asanov M.A., Poddubnyak A.O., Ponasenko A.V. Relationship between telomere length and markers of inflammation in the pre- and postoperative period of patients with coronary artery disease. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2024;13(3): 28-36. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-28-36

УДК 616.132.2-007.271-072.1-089.472.5.032.13-073.756

DOI 10.17802/2306-1278-2024-13-3-37-46

ОПТИЧЕСКАЯ КОГЕРЕНТНАЯ ТОМОГРАФИЯ ПРИ СЛОЖНЫХ ЧРЕСКОЖНЫХ КОРОНАРНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВАХ: ВЛИЯНИЕ АСИММЕТРИИ ПРОСВЕТА АРТЕРИИ НА РАСКРЫТИЕ СТЕНТА

И.В. Суслов, С.Е. Пекарский, А.Е. Баев, М.Г. Тарасов, Е.С. Гергерт, Р.М. Громовой,
Ю.И. Богданов, С.М. Султанов, А.А. Гороховский, Д.О. Ивашков

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

Основные положения

• Современные алгоритмы применения оптической когерентной томографии при чрескожных коронарных вмешательствах просты в освоении и понятны в применении, но являются в значительной части декларативными, не проверенными на практике. В частности, средний диаметр референсного просвета занижает оценку оптимального диаметра стента пропорционально степени стенозирования, то есть разнице между минимальным и максимальным диаметрами (асимметрии) просвета, а выбор диаметра стента по среднему диаметру просвета ведет к недораскрытию стента.

Цель Проверить гипотезу о том, что выбор размеров стента по среднему диаметру референсного просвета может быть причиной недораскрытия стента.

Материалы и методы

В проспективное когортное исследование включены пациенты с хронической ишемической болезнью сердца и сложной анатомией поражений, которым чрескожное коронарное вмешательство было выполнено под контролем оптической когерентной томографии (ОКТ). По результатам ОКТ определены дистальный и по возможности проксимальный референсные сегменты, в которых измерялись минимальный, максимальный диаметры, а также рассчитывался средний диаметр просвета, по которому выбирался размер стента. По результатам повторной ОКТ после имплантации стента оценена степень раскрытия стента. Предполагаемая связь между степенью раскрытия имплантированного стента и исходной асимметрией просвета, определяемой как относительная разность максимального и минимального диаметров, изучена методом корреляционного анализа. Линейная регрессия использована для определения порогового значения асимметрии, соответствующего клинически релевантному раскрытию стента $\geq 80\%$.

Результаты

В исследование включены 24 пациента, из них 3 были исключены ввиду невозможности выполнить исходную ОКТ до преддилатации поражения. В среднем максимальный диаметр дистального референсного просвета сосуда с видимой частью наружной эластической мембраны по ОКТ составил $2,87 \pm 0,66$ мм, минимальный – $1,85 \pm 0,44$ мм. Среднее отношение минимального и максимального диаметров – $0,35 \pm 0,09$. Средний диаметр составил $2,30 \pm 0,51$ мм, средняя разница между максимальным и средним диаметрами – $0,61 \pm 0,28$ мм. Критерий раскрытия стента $\geq 80\%$ достигнут в 6 (28,6%) случаях. По результатам корреляционного анализа выявлена статистически значимая обратная пропорциональная зависимость относительной степени раскрытия стента от исходной разности максимального и минимального диаметров, при этом клинически релевантное раскрытие стента $\geq 80\%$ наблюдалось при относительной разности диаметров $\leq 30\%$ ($r = -0,41$, $p = 0,032$).

Заключение

При выраженной асимметрии просвета референсного сегмента артерии использование среднего диаметра стента ассоциировано с недораскрытием стента.

Ключевые слова

Ишемическая болезнь сердца • Сложное чрескожное коронарное вмешательство • Оптическая когерентная томография • Степень раскрытия стента • Асимметрия просвета артерии

Поступила в редакцию: 13.05.2024; поступила после доработки: 08.06.2024; принята к печати: 27.08.2024

Для корреспонденции: Иван Владимирович Суслов, straiker.acer@gmail.com; адрес: ул. Киевская, 111А, Томск, Российская Федерация, 634012

Corresponding author: Ivan V. Suslov, straiker.acer@gmail.com; address: 111A, Kievskaya St., Tomsk, Russian Federation, 634012

PITFALLS IN USING INTRAVASCULAR IMAGING DURING PCI: SIZING THE STENT ACCORDING TO MEAN ARTERIAL LUMEN DIAMETER MAY RESULT IN STENT UNDEREXPANSION

I.V. Suslov, S.E. Pekarsky, A.E. Baev, M.G. Tarasov, E.S. Hergert, R.M. Gromovoy, S.M. Sultanov, A.A. Gorokhovskiy, D.O. Ivashkov

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 111A, Kievskaya St., Tomsk, Russian Federation, 634012

Highlights

- Contemporary algorithms for optical coherence tomography (OCT)-guided percutaneous coronary intervention (PCI) are easy to learn and understand, however, these algorithms are mostly declarative, and not substantiated in practice. In particular, using the mean reference lumen diameter may result in underestimation of the optimal stent size in relation to the degree of stenosis, i.e., the difference between the minimum and maximum diameters (lumen asymmetry), whereas choosing a stent based on the mean lumen diameter leads to stent underexpansion.

Aim To assess whether choosing a stent size based on the mean lumen diameter of the reference segment of the artery may result in its underexpansion.

Methods The prospective cohort study included patients with chronic coronary artery disease and complex lesion anatomy who underwent high-risk OCT-guided PCI. Based on the OCT results, the distal and proximal reference segments were determined, in which the minimum and maximum diameters were measured, followed by calculating the mean lumen diameter, which was further used for stent selection. Based on the results of repeated OCT after stent implantation, the degree of stent expansion was assessed. The expected relationship between the degree of stent expansion and the baseline lumen asymmetry was assessed by correlation analysis. Linear regression was used to determine the asymmetry threshold corresponding to clinically relevant stent expansion of 80%.

Results Overall, 24 patients were enrolled, 3 of them were excluded because of inability to perform OCT without lesion predilatation. On average, the maximum and minimum diameters of the distal reference lumen of the vessel with partially visible external elastic lamina according to OCT were 2.87 ± 0.66 mm and 1.85 ± 0.44 mm, respectively. The ratio between minimum and maximum diameter was 0.35 ± 0.09 . The mean diameter was 2.30 ± 0.51 mm, the difference between the maximum and mean diameters was 0.61 ± 0.28 mm. The criterion of stent expansion $\geq 80\%$ was achieved in 6 cases (28.6%). The correlation analysis has shown a statistically significant inversely proportional dependence of the relative stent expansion on the baseline lumen asymmetry (the difference between the maximum and minimum diameters ($r = -0.41$, $p = 0.032$), while clinically relevant stent expansion $\geq 80\%$ was observed with a relative difference in diameters of less than 30%.

Conclusion In case of significant lumen asymmetry choosing a stent diameter based on the mean lumen diameter is associated with stent underexpansion.

Keywords Coronary artery disease • High-risk percutaneous coronary intervention • Optical coherence tomography • Stent expansion • Coronary lumen asymmetry

Received: 13.05.2024; received in revised form: 08.06.2024; accepted: 27.08.2024

Список сокращений

BCB – внутрисосудистая визуализация
ОКТ – оптическая когерентная томография

ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство

Введение

Ишемическая болезнь сердца остается главной причиной смерти взрослого населения РФ. Патогенетическим методом ее лечения является реваскуляризация миокарда: хирургическая или эндоваскулярная. Последняя, обладая уникальным

сочетанием хирургической радикальности и малой травматичности, стала ведущим способом лечения данной патологии сердечно-сосудистой системы: сегодня в РФ количество выполняемых операций чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) примерно в 6 раз превосходит количество опера-

ций коронарного шунтирования [1]. Тем не менее ЧКВ показали сравнительно меньшую отдаленную эффективность в сравнении с коронарным шунтированием и, следовательно, требуют совершенствования как технического (новые стенты, новые методы внутрисосудистой физиологии/визуализации и т. д.), так и методологического (например, применение новых алгоритмов стентирования на основе полученных по внутрисосудистой визуализации данных). Учитывая количество выполняемых ЧКВ, любое повышение эффективности данного метода способно обеспечить значительное снижение сердечной и общей смертности. Одним из наиболее перспективных направлений повышения эффективности ЧКВ сегодня является использование внутрисосудистой визуализации (ВСВ).

Применение ВСВ на этапе диагностики позволяет оптимизировать тактику вмешательства примерно в 86% случаев вследствие уточнения морфологии и геометрии стенозов, референсных диаметров и зон посадки стентов [2]. В связи с появлением и распространением технологий ВСВ возник вопрос: в каких ситуациях и каким образом их нужно применять и как интерпретировать полученную информацию? Большой массив гетерогенных данных о значении тех или иных морфологических «феноменов» и измеряемых геометрических параметров требуется структурировать в единый алгоритм, который позволил бы рентгеноэндоваскулярному хирургу быстро и эффективно использовать информацию, получаемую с помощью ВСВ. В настоящее время для оптической когерентной томографии (ОКТ) практически единственной попыткой в этом отношении является алгоритм MLD-MAX [3]. Часть MLD (M – morphology, L – length, D – diameter) представляет собой оценку анатомии и морфологии поражения для оптимизации имплантации стента – определение посадочных зон и размеров стента. Часть MAX (M – Medialdissection, A – Apposition, X – eXpansion): оценка дефектов стентирования и определение стратегии их оптимизации. Однако, несмотря на кажущуюся утилитарность, часть его аспектов пока в значительной степени декларативна и требует уточнения и доработки. В частности, нет указаний, как выбрать зону проксимальной посадки в отсутствие интактного сегмента, не выглядит обоснованным определение проксимального референсного диаметра по просвету в той же ситуации, а также использование среднего диаметра при выраженной асимметрии просвета. Последнее представляется особенно важным, поскольку эксцентричный рост бляшки в просвет сосуда уменьшает его диаметр в направлении, перпендикулярном этому росту, так что минимальный диаметр отражает эффект стенозирования, а максимальный – исходный интактный размер. Соответственно, средние значения занижают оценку

референсного диаметра пропорционально степени стенозирования, т. е. разнице между минимальным и максимальным диаметрами. Как результат, выбор диаметра стента по среднему значению максимального и минимального диаметров просвета потенциально ведет к недораскрытию стента.

Цель данного исследования – проверить вышеописанную гипотезу о том, что недостаточная степень раскрытия стента может быть обусловлена выбором его размеров по среднему диаметру просвета референсного сегмента артерии.

Материалы и методы

Данное исследование является частью выполняемого в НИИ кардиологии ТНИМЦ проспективного, рандомизированного, контролируемого исследования эффективности и безопасности ОКТ-ассистированной коррекции дефектов имплантации стентов, одобренного Комитетом по биомедицинской этике НИИ кардиологии ТНИМЦ (протокол № 232 от 26 октября 2022 г.). Все пациенты, включенные в данное исследование, дали информированное согласие на участие.

В настоящее исследование включали пациентов с хронической ишемической болезнью сердца и высоким риском ЧКВ вследствие анатомической сложности поражений коронарных артерий, которым, согласно внутреннему протоколу НИИ кардиологии ТНИМЦ, вмешательства выполняли под контролем ОКТ. Критериями включения были возраст старше 18 лет, показания к реваскуляризации и техническая возможность выполнить ЧКВ, хотя бы один из критериев высокого риска ЧКВ (стволовое поражение, длинное поражение > 28 мм, бифуркационное поражение, кальцинированное поражение по данным коронарной ангиографии), согласие пациента на участие в исследовании. Критерии исключения: наличие противопоказаний к проведению ЧКВ и/или ОКТ, показания к реваскуляризации, но было принято совместное решение о преимуществе коронарного шунтирования, тяжелые сопутствующие заболевания или состояния, которые существенно увеличивают риск вмешательства, отзыв пациентом согласия на участие в исследовании. Дополнительным критерием исключения была невозможность выполнить исходное ОКТ без предилатации.

Процедура ЧКВ проведена в рентгеноперационной, оснащенной ангиографической системой Azurion 7 (Philips, Нидерланды). Доступ осуществлен через правую лучевую артерию с использованием проводниковых катетеров 6 Fr. ОКТ выполнена с применением системы OPTIS™ System (St. Jude Medical, США) и катетеров Dragonfly OpStar™ imaging catheter (Abbott, США). После проведения катетера по 0,014” проводнику в зону целевого поражения проведены инъекция контраста в просвет

сосуда с целью создания оптического окна для ОКТ и сканирование сегмента длиной 54 мм со стандартной скоростью 20 мм/сек. При большей длине зоны интереса сканирование выполнялось в два приема. После формирования изображения ОКТ определены оптимальные дистальный и проксимальный (при наличии) референсные сегменты (зоны посадки стента). Затем диаметры референсных сегментов и расстояние между ними были использованы для определения оптимальных размеров стента. Определяли дистальный референсный сегмент как ближайший участок артерии с визуализацией наружной эластической мембраны более чем на 180° по окружности либо как прилежащий сегмент с наибольшим просветом, избегая атером с тонкой крышкой, жировых ядер и эксцентричного кальция в соответствии с оригинальным алгоритмом MLD MAX. Выбирали проксимальные референсные сегменты как прилежащие сегменты с наибольшим просветом, избегая атером с тонкой крышкой, жировых ядер и эксцентричного кальция. Поскольку в исследование включали пациентов со сложной анатомией поражений, проксимальные референсные сегменты с интактной стенкой более 180° по окружности практически отсутствовали. В части случаев проксимальные референсные сегменты отсутствовали полностью, и стентирование выполняли «от устья» или с пересечением боковой ветви (по выбору оператора), дистальные имели значительный объем поражения по окружности поражения и, как следствие, асимметрию просвета. Мы использовали дистальный референсный сегмент для оценки асимметрии просвета, обусловленной эксцентрическим ростом бляшки, поскольку на этих сегментах частично присутствовала наружная эластическая мембрана и можно было видеть, что асимметрия диаметров вызвана именно вышеуказанным феноменом. Первым этапом размер стента выбирали по диаметру дистального референсного сегмента, который в свою очередь определяли по просвету сосуда с использованием встроенного автоматического расчета минимального, максимального и среднего диаметров по мануально построенному контуру изображения просвета. Диаметр стента определяли путем округления полученного среднего значения диаметра вверх до ближайшего кратного 0,25–0,5 мм. Проксимальный референсный участок устанавливали условно, если имелось расширение просвета артерии проксимальнее стеноза с диаметром, приблизительно соответствующим ожидаемому интактному диаметру. При наличии интактного проксимального референсного сегмента или выраженном различии (> 1 мм) между диаметрами дистального и условного (ближайшего с наибольшим просветом пораженного участка) проксимального референсов диаметр стентов выбирали как среднее значение проксимального

и дистального референсных диаметров. Длиной стента считали расстояние от дистального до проксимального референсного сегмента или до устья артерии или ближайшего участка материнского сосуда (при пересечении бифуркации) в зависимости от выбранной стратегии стентирования.

Пациентам имплантировали стенты с лекарственным покрытием 2-го поколения. В качестве медикаментозной терапии все получали двойную антитромбоцитарную терапию, в соответствии с действующими клиническими рекомендациями. После ЧКВ двойная антитромбоцитарная терапия была рекомендована всем пациентам. Во время ЧКВ все больные получали антикоагулянтную терапию нефракционированным гепарином под контролем активированного времени свертывания в диапазоне 250–300 сек.

Первичной конечной точкой была относительная степень раскрытия стента по площади – степень раскрытия стента относительно площади дистального референсного сегмента, при наличии проксимального – относительно средней площади референсных сегментов.

Статистический анализ. Непрерывные переменные представлены как средние значения (стандартное отклонение), категориальные – как n (%). Связь между средним диаметром просвета до стентирования и степенью раскрытия имплантированного стента оценивали с помощью корреляционного анализа Пирсона, исходя из визуальной линейной связи между переменными на XY-диаграмме. Значимость корреляций анализировали с использованием t-критерия Стьюдента. Значение $p < 0,05$ было принято как уровень статистической значимости. Весь анализ проведен при помощи пакета программ STATISTICA 10 (StatSoft, Inc., США).

Результаты

Всего в исследование включены 24 пациента, из них 3 исключены ввиду невозможности выполнить ОКТ до предилатации поражения (рис. 1). Исходные и процедурные характеристики представлены

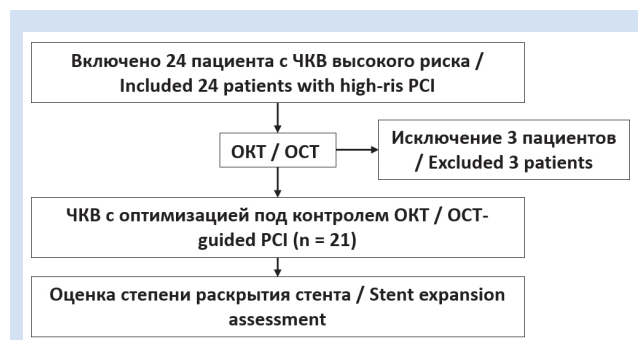


Рисунок 1. Блок-схема исследования

Примечание: ОКТ – оптическая когерентная томография; ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство.

Figure 1. Flowchart of the study

Note: OCT – optical coherence tomography; PCI – percutaneous coronary intervention.

в табл. 1 и 2 соответственно. Средний возраст пациентов составил $67,4 \pm 8,4$ года, соотношение мужчин и женщин было примерно одинаковым (количество женщин 11 – 45,8%). В исследовании также выявлена высокая доля пациентов с сахарным диабетом (11 пациентов – 45,8%), при этом неконтролируемым он был лишь у половины.

Суммарно вмешательство выполнено на 45 сосудистых сегментах. В табл. 2 представлено распределение по частоте реваскуляризации того или иного сегмента. Наибольшая частота определена для проксимального сегмента передней нисходящей артерии (49% общего числа сегментов). В общей сложности у 95,8% пациентов выявлено поражение проксимального сегмента передней нисходящей артерии. Поражение ствола выявлено у 1 (4,2%) пациента, длинное поражение (более 28 мм) – у 19 (79,8%), бифуркационное поражение – у 20 (83,3%), из них истинное (Medina 1,0,1, 0,1,1, 1,1,1 согласно 16-му экспертному консенсусному документу Европейского бифуркационного клуба [6]) – у 8 (42,1% общего числа бифуркационных поражений). Кальцинированное поражение (Са-индекс 4 по критериям Fujino et al.) установлено у 10 (41,7%) пациентов.

У трех пациентов не удалось выполнить диагностическую ОКТ из-за высокой степени стенозирования, визуализация была проведена после преддилатации и, соответственно, деформации исходного просвета. Таким образом, взаимосвязь среднего диаметра просвета и степени недораскрытия стента изучена у 21 пациента. В среднем максимальный диаметр дистального референсного про-

Таблица 1. Исходная характеристика пациентов (n = 24)
Table 1. Baseline characteristics of patients (n = 24)

Возраст, лет / Age, y	67,4 ± 8,4
Женский пол / Female, n (%)	11 (45,8)
История болезни / Anamnesis morbi, n (%)	
ПИКС / PICS	6 (25)
ФП / AF	4 (16,7)
СД / DM	11 (45,8)
История жизни / Anamnesis vita	
ИМТ / BMI	31,27 ± 5,36
Курение / Smoking, n (%)	2 (8,3)
Гликированный гемоглобин ≥ 7,5% / Glycated hemoglobin ≥ 7,5%, n (%)	6 (25)
СКФ / GFR	71,4 ± 15,1
ФВ ЛЖ / LV EF, %	67,2 ± 6,87
Показания для реваскуляризации / Indications to revascularization	
Стресс-ЭхоКГ / Stress-Echo, n (%)	6 (25)
Сцинтиграфия миокарда / Myocardial scintigraphy, n (%)	11 (45,8)
МРК / iFR, n	6 (25)
ФРК / FFR, n	1 (4)
Клинически / Clinical, n (%)	3 (12,5)

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; МРК – моментальный резерв кровотока; ПИКС – постинфарктный кардиосклероз; СД – сахарный диабет; СКФ – скорость клубочковой фильтрации; ФВ ЛЖ – фракция выброса ЛЖ; ФП – фибрилляция предсердий; ФРК – фракционный резерв кровотока.

Note: AF – atrial fibrillation; BMI – body mass index; DM – diabetes mellitus; FFR – fractional flow reserve; GFR – glomerular filtration rate; iFR – instantaneous wave-free ratio; LV EF – left ventricle ejection fraction; PICS – postinfarction cardiosclerosis.

Таблица 2. Характеристика чрескожного коронарного вмешательства
Table 2. Percutaneous coronary intervention characteristics

Длительность процедуры, мин / Procedure duration, min	108,6 ± 47
Лучевая нагрузка, мЗв / Radiation exposure, mSv	6,9 ± 3,9
Объем вводимого контрастного вещества, мл / Contrast volume, mL	264,8 ± 91,3
Пораженный сегмент / Target lesion, n (%)	
ЛКА / LM	1 (2)
Пр/3 ПНА / Proximal LAD	23 (49)
Ср/3 ПНА / mid LAD	13 (28)
Д/3 ПНА / distal LAD	3 (6)
ДА / DA	3 (6)
ОА/ВТК / LCx/OM	2 (4)
ПКА / RCA	2 (4)
Кол-во реваскуляризованных поражений / Number of stented lesions, n	
1 поражение / 1 lesion	7 (29)
2 поражения / 2 lesion	14 (58)
3 поражения / 3 lesion	3 (13)
Кол-во реваскуляризованных сосудов / Number of stented vessels, n (%)	
1 поражение / 1 vessel	22 (91,7)
2 поражения / 2 vessel	1 (4,2)
3 поражения / 3 vessel	1 (4,2)
Сосудов с протяженным поражением (длина стента ≥ 28 мм) / Vessels with long lesion, n (%)	19 (79,2)
Бифуркационное поражение / Bifurcation lesion, n (%)	20 (83,3)
Бифуркационное поражение по Medina / Medina bifurcation lesions, n (%)	
0.0.1	1 (5,3)
0.1.1	2 (10,5)
1.1.0	9 (47,7)
1.1.1	6 (31,6)
Сосуды с кальцинированным поражением / Vessels with calcified lesions, n (%)	10 (41,7)

Примечание: ВТК – ветвь тупого края; ДА – диагональная артерия; ЛКА – ствол левой коронарной артерии; ОА – огибающая артерия; ПКА – правая коронарная артерия; ПНА – передняя нисходящая артерия.

Note: DA – diagonal artery; LAD – left anterior descending artery; LCx – left circumflex artery; LM – left main; OM – obtuse margin; RCA – right coronary artery.

света составил $2,87 \pm 0,66$ мм, минимальный – $1,85 \pm 0,44$ мм. Абсолютная разница составила $1,06 \pm 0,45$ мм, а отношение минимального и максимального диаметров – $0,35 \pm 0,09$. Средний диаметр просвета по данным ОКТ зарегистрирован на уровне $2,30 \pm 0,51$ мм, при этом разница между максимальным и средним диаметрами составила $0,61 \pm 0,28$. Стент выбирался на основании среднего значения проксимального и дистального референсных сегментов, значение которого составило $3,01 \pm 0,49$ мм.

Степень раскрытия стента после оптимизации в среднем составила $73,23 \pm 17,66\%$. Критерий в 80% раскрытия достигнут в 6 (28,6%) случаях.

По результатам корреляционного анализа выявлена статистически значимая обратная линейная связь между относительной разностью диаметров и относительной степенью раскрытия стента по площади ($r = -0,41$, $p = 0,032$) (рис. 2). Согласно полученной зависимости, степень раскрытия 80% и более наблюдалась при относительной разности диаметров менее 30%.

Обсуждение

Распространенность и тяжесть коронарных поражений быстро нарастает по мере старения населения и увеличения коморбидности, в первую очередь сахарного диабета. При этом вследствие тех же факторов увеличивается риск хирургической

реваскуляризации, поскольку пожилые пациенты с многочисленными сопутствующими заболеваниями плохо переносят искусственную вентиляцию легких, обширную хирургическую травму грудной клетки, кровопотерю, а также иммобилизацию и ограничение движения в послеоперационном периоде. В результате у больных, направляемых на ЧКВ, растет доля сложных и диффузных поражений коронарных артерий, при которых традиционные преимущества методов ВСВ в определении

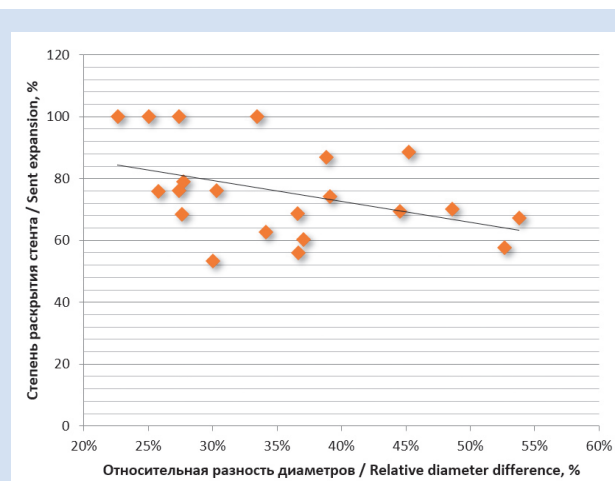


Рисунок 2. Зависимость степени раскрытия по площади от отношения разности диаметров

Figure 2. Dependence of the degree of stent expansion on the relative diameter difference

Таблица 3. Количественный анализ срезов ОКТ (n = 21)

Table 3. Quantitative assessment of OCT (n = 21)

Максимальный диаметр по ОКТ, мм / Maximum diameter according to OCT, mm	$2,87 \pm 0,66$
Минимальный диаметр по ОКТ, мм / Minimum diameter according to OCT, mm	$1,85 \pm 0,44$
Средний диаметр по ОКТ, мм / Mean diameter of the OCT, mm	$2,30 \pm 0,51$
Различие среднего и максимального диаметров, мм / The difference between the mean and maximum diameters, mm	$0,61 \pm 0,28$
Абсолютное различие минимального и максимального диаметров, мм / The absolute difference between the minimum and maximum diameters, mm	$1,06 \pm 0,45$
Относительное различие минимального и максимального диаметров, мм / The relative difference between the minimum and maximum diameters, mm	$0,35 \pm 0,09$
Степень раскрытия по ОКТ / Stent expansion, %	$73,23 \pm 17,66$
Морфология поражения / Lesion morphology, n (%)	
атерома / atheroma	1 (4,8)
фиброз / fibrosis	12 (57,1)
кальциноз (выраженный) / calcim (severe)	8 (38,1)
Дистальный референсный диаметр, мм / Distal reference diameter, mm	$2,53 \pm 0,51$
Средний референсный диаметр, мм / Mean reference diameter, mm	$3,01 \pm 0,49$
Средний диаметр стента, мм / Mean stent diameter, mm	$3,31 \pm 0,44$
Минимальная площадь просвета, мм ² / Minimal stent area, mm ²	$5,56 \pm 2,04$
Интраоперационные осложнения / Intraoperative complications, n (%)	
• диссекция / dissection	5 (24)
• перфорация / perforation	1 (5)
• протрузия / protrusion	3 (14)
• недораскрытие / underexpansion	15 (71)
• мальпозиция / malposition	5 (24)

Примечание: ОКТ – оптическая когерентная томография.

Note: OCT – optical coherence tomography.

оптимального размера стента ограничены отсутствием интактных референсных сегментов и, как следствие, невозможна визуализация наружной эластической мембраны на большей части окружности просвета артерии. В результате все чаще приходится выбирать размер стентов по диаметру просвета референсных участков. Так, например, такой подход выбран в исследованиях ILUMIEN III и OPINION, что, очевидно, отражает серьезные сомнения исследователей в возможности определять диаметр референсного сегмента по наружной эластической мембране [4, 5].

Практическое применение ВСВ при ЧКВ предполагает выполнение рациональной законченной последовательности действий, включающих определение геометрии и морфологии поражения, оценку оптимальных размеров стента, технического результата стентирования и эффективности оптимизации/коррекции дефектов стентирования. Непосредственные методики выполнения каждого из этих действий должны опираться на соответствующие клинические исследования, подтверждающие их эффективность. Однако тестирование конкретных методик в клинических исследованиях представляет собой дорогостоящий и длительный процесс, вследствие чего таких данных сегодня немного. Авторы большей части выполненных до настоящего времени исследований имели цель доказать в целом преимущество использования ВСВ без учета того, как именно она используется, конкретных методов/приемов анализа изображений и основанных на них оценок, критериев выбора тех или иных инструментов, тактики, параметров стентирования/оптимизации результатов. Предлагаемые сегодня алгоритмы применения ВСВ решают данную проблему путем компиляции приемов, опирающихся на клинические исследования (в основном наблюдательные) и основанных только на предположениях/ожиданиях без какой-либо практической верификации. Такой подход позволяет широко применять ВСВ при ЧКВ в условиях современного дефицита данных клинических исследований в отношении конкретных методик/приемов использования информации, получаемой с помощью ВСВ. Также он несет риск ошибок, в т. ч. существенных, способных ухудшить результаты ЧКВ.

В частности, не представляются обоснованными выбор зоны проксимальной посадки в отсутствие интактного сегмента (невозможности визуализации наружной эластической мембраны), определение проксимального референсного диаметра по просвету в той же ситуации, а также использование среднего диаметра при выраженной асимметрии просвета. Очевидно, что эксцентричный рост бляшки в просвет сосуда специфически меняет его форму, уменьшая диаметр в направлении, перпендикулярном этому росту, в то время как диаметр в

ортогональном направлении практически не меняется до тех пор, пока бляшка занимает менее 50% окружности. В такой ситуации минимальный диаметр отражает результат стенозирования, максимальный – исходный интактный размер, а разность этих диаметров – степень стенозирования. Соответственно, средние значения занижают оценку референсного диаметра и оптимального размера стента пропорционально степени стенозирования. Как результат, выбор диаметра стента по среднему значению максимального и минимального диаметров просвета потенциально ведет к его недораскрытию.

Использование среднего значения при оценке диаметра просвета сосуда основано на математическом свойстве среднего – уменьшать случайную ошибку такой оценки, в данном случае вследствие несистематических отклонений просвета от окружности. Однако в сосудах, пораженных атеросклерозом, отклонение просвета от окружности не является случайным. Оно развивается как специфическое следствие атеросклеротического поражения и характеризует его выраженность. В такой ситуации использование среднего значения увеличивает ошибку оценки референсного диаметра просвета, обусловленную систематической закономерной деформацией этого просвета и специфическим отклонением его формы от окружности в сторону занижения. Величина такого ошибочного занижения предполагаемого оптимального размера стента в соответствии со спецификой эксцентричного атеросклероза пропорциональна разности максимального и минимального диаметров. Таким образом, при исходной асимметрии референсного просвета выбор размера стента по среднему диаметру этого просвета должен приводить к недораскрытию стента пропорционально степени асимметрии, т. е. должна наблюдаться обратно пропорциональная зависимость между асимметрией просвета и степенью раскрытия стента. Именно такая корреляция выявлена в нашем исследовании, что подтверждает вышеуказанное предположение о том, что выбор оптимального размера стента по среднему диаметру просвета может привести к недораскрытию стента. При этом клинически релевантная степень недораскрытия стента < 80% наблюдалась при относительной разности диаметров более 30%.

Полученные результаты предполагают оптимизацию соответствующего аспекта в алгоритме применения ОКТ при ЧКВ. В частности, при асимметрии просвета 30% и выше целесообразно подбирать оптимальный размер стента по максимальному диаметру референсного просвета.

Ограничением данного исследования является небольшой объем выборки, составляющий всего 24 человека, из которых 3 были в последующем ис-

ключены. Таким образом, выявленная зависимость нуждается в верификации с помощью исследований с большим количеством пациентов, а рекомендуемая оптимизация – в верификации в рандомизированных контролируемых исследованиях.

Заключение

Результаты исследования свидетельствуют о том, что при асимметрии просвета в референсном сегменте средний диаметр просвета сегмента является заниженной оценкой ожидаемого нормального диаметра артерии в зоне стеноза и его использование в качестве референсного значения при выборе диаметра стента ассоциируется с недостаточным раскрытием стента. В данной ситуации более эффективным может оказаться выбор диаметра стента по максимальному диаметру просвета в референсном сегменте.

Информация об авторах

Суслов Иван Владимирович, младший научный сотрудник, аспирант лаборатории рентгенэндоваскулярной хирургии Научно-исследовательского института кардиологии – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0288-4191

Пекарский Станислав Евгеньевич, доктор медицинских наук ведущий научный сотрудник лаборатории рентгенэндоваскулярной хирургии Научно-исследовательского института кардиологии – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4008-4021

Баев Андрей Евгеньевич, кандидат медицинских наук заведующий лабораторией рентгенэндоваскулярных диагностики и лечения Научно-исследовательского института кардиологии – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8163-1618

Тарасов Михаил Георгиевич, младший научный сотрудник, врач функциональной диагностики Научно-исследовательского института кардиологии – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-5263-9488

Гергерт Егор Сергеевич, младший научный сотрудник, заведующий отделением рентгенохирургических методов диагностики и лечения Научно-исследовательского института кардиологии – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-9464-3354

Громовой Роман Михайлович, младший научный сотрудник лаборатории рентгенэндоваскулярной хирургии, врач по рентгенэндоваскулярной диагностике и лечению Научно-исследовательского института кардиологии – филиала

Конфликт интересов

И.В. Суслов заявляет об отсутствии конфликта интересов. С.Е. Пекарский заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Е. Баев заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.Г. Тарасов заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.С. Гергерт заявляет об отсутствии конфликта интересов. Р.М. Громовой заявляет об отсутствии конфликта интересов. Ю.И. Богданов заявляет об отсутствии конфликта интересов. С.М. Султанов заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.А. Гороховский заявляет об отсутствии конфликта интересов. Д.О. Ивашков заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Авторы заявляют об отсутствии финансирования исследования.

Author Information Form

Suslov Ivan V., Junior Researcher, Post-graduate Student at the Laboratory of Image-guided Endovascular Surgery, Cardiology Research Institute, a branch of the Federal State Budgetary Institution “Tomsk National Research Medical Center” of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0288-4191

Pekarskiy Stanislav E., PhD, Leading Researcher at the Laboratory of Image-guided Endovascular Surgery, Cardiology Research Institute, a branch of the Federal State Budgetary Institution “Tomsk National Research Medical Center” of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4008-4021

Baev Andrey E., PhD, Head of the Laboratory of Image-guided Endovascular Diagnostics and Treatment, Cardiology Research Institute, a branch of the Federal State Budgetary Institution “Tomsk National Research Medical Center” of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8163-1618

Tarasov Mikhail G., Junior Researcher, Functional Diagnostics Specialist at the Cardiology Research Institute, a branch of the Federal State Budgetary Institution “Tomsk National Research Medical Center” of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-5263-9488

Gergert Egor S., Junior Researcher, Head of the Department of Image-guided Endovascular Diagnostics and Treatment, Cardiology Research Institute, a branch of the Federal State Budgetary Institution “Tomsk National Research Medical Center” of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-9464-3354

Gromovoy Roman M., Junior Researcher at the Laboratory of Image-guided Endovascular Surgery, Image-guided Endovascular Diagnostics and Treatment Specialist at the Cardiology Research Institute, a branch of the Federal State

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-9004-4768

Богданов Юрий Игоревич, младший научный сотрудник, врач по рентгенэндоваскулярным диагностике и лечению Научно-исследовательского института кардиологии – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-2939-6291

Султанов Сыргак Мавланович, младший научный сотрудник, врач по рентгенэндоваскулярным диагностике и лечению Научно-исследовательского института кардиологии – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-1569-2914

Гороховский Алексей Александрович, младший научный сотрудник, аспирант лаборатории рентгенэндоваскулярной хирургии Научно-исследовательского института кардиологии – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-3909-9282

Ивашков Денис Олегович, лаборант-исследователь лаборатории рентгенэндоваскулярной хирургии Научно-исследовательского института кардиологии – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0009-0001-8838-3119

Budgetary Institution “Tomsk National Research Medical Center” of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-9004-4768

Bogdanov Yuri I., Junior Researcher, Image-guided Endovascular Diagnostics and Treatment Specialist at the Cardiology Research Institute, a branch of the Federal State Budgetary Institution “Tomsk National Research Medical Center” of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-2939-6291

Sultanov Syrgak M., Junior Researcher, Image-guided Endovascular Diagnostics and Treatment Specialist at the Cardiology Research Institute, a branch of the Federal State Budgetary Institution “Tomsk National Research Medical Center” of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-1569-2914

Gorokhovskiy Alexey A., Junior Researcher, Post-graduate Student at the Laboratory of Image-guided Endovascular Surgery, Cardiology Research Institute, a branch of the Federal State Budgetary Institution “Tomsk National Research Medical Center” of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3909-9282

Ivashkov Denis O., Laboratory Assistant at the Laboratory of Image-Guided Endovascular Surgery, Cardiology Research Institute, a branch of the Federal State Budgetary Institution “Tomsk National Research Medical Center” of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0009-0001-8838-3119

Вклад авторов в статью

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Author Contribution Statement

SIV – 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

PSE – 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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алекаян Б.Г., Григорьян А.М., Стаферов А.В., Карапетян Н.Г. Рентгенэндоваскулярная диагностика и лечение заболеваний сердца и сосудов в Российской Федерации – 2021 год. Эндоваскулярная хирургия. 2022; 9 (Специальный выпуск): 5–254.
2. Bergmark B, Dallan LAP, Pereira GTR, Kuder JF, Murphy SA, Buccola J, Wollmuth J, Lopez J, Spinelli J, Meinen J, West NEJ, Croce K; LightLab Initiative Investigators. Decision-Making During Percutaneous Coronary Intervention Guided by Optical Coherence Tomography: Insights From the LightLab Initiative. *Circ Cardiovasc Interv.* 2022 Nov;15(11):872-881. doi: 10.1161/CIRCINTERVENTIONS.122.011851. Epub 2022 Nov 15. PMID: 36378739; PMCID: PMC9648988.
3. Shlofmitz E, Croce K, Bezerra H, Sheth T, Chehab B, West NEJ, Shlofmitz R, Ali ZA. The MLD MAX OCT algorithm: An imaging-based workflow for percutaneous coronary intervention. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2022 Nov;100(Suppl 1):S7-S13. doi: 10.1002/ccd.30395. PMID: 36661367.
4. Ali ZA, Maehara A, Généreux P, Shlofmitz RA, Fabbiochi F, Nazif TM, Guagliumi G, Meraj PM, Alfonso F, Samady H, Akasaka T, Carlson EB, Leesar MA, Matsumura

- M, Ozan MO, Mintz GS, BenYehuda O, Stone GW. Optical coherence tomography compared with intravascular ultrasound and with angiography to guide coronary stent implantation (ILUMIEN III: oPTIMIZE PCI): a randomised controlled trial. *Lancet.* 2016;388:2618-28.
5. Kubo T, Shinke T, Okamura T, Hibi K, Nakazawa G, Morino Y, Shite J, Fusazaki T, Otake H, Kozuma K, Ioji T, Kaneda H, Serikawa T, Kataoka T, Okada H, Akasaka T; OPINION Investigators. Optical frequency domain imaging vs. intravascular ultrasound in percutaneous coronary intervention (OPINION trial): one-year angiographic and clinical results. *Eur Heart J.* 2017 Nov 7;38(42):3139-3147. doi: 10.1093/eurheartj/ehx351. PMID: 29121226; PMCID: PMC5837511.
6. Albiero R, Burzotta F, Lassen JF, Lefèvre T, Banning AP, Chatzizisis YS, Johnson TW, Ferenc M, Pan M, Daramont O, Hildick-Smith D, Chieffo A, Louvard Y, Stankovic G. Treatment of coronary bifurcation lesions, part I: implanting the first stent in the provisional pathway. The 16th expert consensus document of the European Bifurcation Club. *EuroIntervention.* 2022 Aug 5;18(5):e362-e376. doi: 10.4244/EIJ-D-22-00165. PMID: 35570748; PMCID: PMC10259243.

REFERENCES

1. Alekryan B.G., Grigor'yan A.M., Staferov A.V., Karapetyan N.G. Endovascular diagnostics and treatment in the Russian Federation (2021). *Russian Journal of Endovascular Surgery.* 2022; 9 (Special Issue): S5–S254 (in Russ.). doi: 10.24183/2409-4080-2022-9S-S5-S254.
2. Bergmark B, Dallan LAP, Pereira GTR, Kuder JF, Murphy SA, Buccola J, Wollmuth J, Lopez J, Spinelli J, Meinen J, West NEJ, Croce K; LightLab Initiative Investigators. Decision-Making During Percutaneous Coronary Intervention Guided by Optical Coherence Tomography: Insights From the LightLab Initiative. *Circ Cardiovasc Interv.* 2022 Nov;15(11):872-881. doi: 10.1161/CIRCINTERVENTIONS.122.011851. Epub 2022 Nov 15. PMID: 36378739; PMCID: PMC9648988.
3. Shlofmitz E, Croce K, Bezerra H, Sheth T, Chehab B, West NEJ, Shlofmitz R, Ali ZA. The MLD MAX OCT algorithm: An imaging-based workflow for percutaneous coronary intervention. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2022 Nov;100(Suppl 1):S7-S13. doi: 10.1002/ccd.30395. PMID: 36661367.
4. Ali ZA, Maehara A, Généreux P, Shlofmitz RA, Fabbiochi F, Nazif TM, Guagliumi G, Meraj PM, Alfonso F, Samady H, Akasaka T, Carlson EB, Leesar MA, Matsumura

- M, Ozan MO, Mintz GS, BenYehuda O, Stone GW. Optical coherence tomography compared with intravascular ultrasound and with angiography to guide coronary stent implantation (ILUMIEN III: oPTIMIZE PCI): a randomised controlled trial. *Lancet.* 2016;388:2618-28.
5. Kubo T, Shinke T, Okamura T, Hibi K, Nakazawa G, Morino Y, Shite J, Fusazaki T, Otake H, Kozuma K, Ioji T, Kaneda H, Serikawa T, Kataoka T, Okada H, Akasaka T; OPINION Investigators. Optical frequency domain imaging vs. intravascular ultrasound in percutaneous coronary intervention (OPINION trial): one-year angiographic and clinical results. *Eur Heart J.* 2017 Nov 7;38(42):3139-3147. doi: 10.1093/eurheartj/ehx351. PMID: 29121226; PMCID: PMC5837511.
6. Albiero R, Burzotta F, Lassen JF, Lefèvre T, Banning AP, Chatzizisis YS, Johnson TW, Ferenc M, Pan M, Daramont O, Hildick-Smith D, Chieffo A, Louvard Y, Stankovic G. Treatment of coronary bifurcation lesions, part I: implanting the first stent in the provisional pathway. The 16th expert consensus document of the European Bifurcation Club. *EuroIntervention.* 2022 Aug 5;18(5):e362-e376. doi: 10.4244/EIJ-D-22-00165. PMID: 35570748; PMCID: PMC10259243.

Для цитирования: Суслов И.В., Пекарский С.Е., Баев А.Е., Тарасов М.Г., Гергерт Е.С., Громовой Р.М., Богданов Ю.И., Султанов С.М., Гороховский А.А., Ивашков Д.О. Оптическая когерентная томография при сложных чрескожных коронарных вмешательствах: влияние асимметрии просвета артерии на раскрытие стента. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2024;13(3): 37-46. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-37-46

To cite: Suslov I.V., Pekarsky S.E., Baev A.E., Tarasov M.G., Hergert E.S., Gromovoy R.M., Sultanov S.M., Gorokhovskiy A.A., Ivashkov D.O. Pitfalls in using intravascular imaging during PCI: sizing the stent according to mean arterial lumen diameter may result in stent underexpansion. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2024;13(3): 37-46. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-37-46



УДК 616.13-004.6-07

DOI 10.17802/2306-1278-2024-13-3-47-53

ОЦЕНКА ЗНАЧИМОСТИ УРОВНЯ ХОЛЕСТЕРИНА В ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСАХ В ДИАГНОСТИКЕ И ПРОГНОЗИРОВАНИИ РАЗВИТИЯ КАРОТИДНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА

Н.А. Орехов, Т.В. Кириченко, В.А. Мясоедова, А.В. Омельченко, А.Н. Орехов,
И.А. Собенин

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», ул. Балтийская, 8, Москва, Российская Федерация, 125315

Основные положения

- Циркулирующие иммунные комплексы, содержащие липопротеины низкой плотности, одновременно отражают нарушения липидного обмена и развитие системного воспаления.
- Уровень циркулирующих иммунных комплексов с липопротеинами низкой плотности является чувствительным и специфичным диагностическим и прогностическим маркером атеросклероза сонных артерий.
- Добавление в анализ возраста пациентов позволяет повысить прогностическую ценность данного показателя у больных атеросклерозом сонных артерий.

Актуальность	Недавно показано, что повышенный уровень циркулирующих иммунных комплексов, содержащих липопротеины низкой плотности (ЛНП), имеет высокую диагностическую значимость при клинически значимом и бессимптомном атеросклерозе.
Цель	Оценка прогностической значимости уровня циркулирующих иммунных комплексов, содержащих липопротеины низкой плотности, в контексте прогрессирования атеросклероза.
Материалы и методы	Проанализированы результаты двухлетнего исследования с участием 98 мужчин, у которых были определены биохимические и клинические параметры, в том числе толщина интима-медиа слоя сонной артерии, уровень общего холестерина, холестерина ЛНП и липопротеинов высокой плотности, триглицеридов и ЛНП в циркулирующих иммунных комплексах.
Результаты	Среди проанализированных параметров только уровень ЛНП в циркулирующих иммунных комплексах и холестерин ЛНП были связаны со степенью каротидного атеросклероза. Уровни чувствительности и специфичности диагностики атеросклероза были наивысшими для показателя ЛНП в циркулирующих иммунных комплексах. Помимо этого, данный показатель, как и холестерин ЛНП, обладал высокой прогностической значимостью. При комбинации уровня ЛНП в циркулирующих иммунных комплексах с возрастом прогностическая значимость данного параметра значительно повышалась. Другие комбинации исследованных параметров не продемонстрировали увеличение прогностической значимости.
Заключение	Результаты представленного исследования позволяют предположить, что уровень ЛНП в циркулирующих иммунных комплексах может быть использован для диагностики и прогноза развития атеросклероза.
Ключевые слова	Атеросклероз • Сонные артерии • Иммунология • Липопротеины

Поступила в редакцию: 19.04.2024; поступила после доработки: 10.05.2024; принята к печати: 16.06.2024

Для корреспонденции: Николай Александрович Орехов, fuper@gmail.com; адрес: ул. Балтийская, 8, Москва, Российская Федерация, 125315

Corresponding author: Nikolay A. Orekhov, fuper@gmail.com; address: 8, Baltiyskaya St., Moscow, Russian Federation, 125315

SIGNIFICANCE ASSESSMENT OF LDL-CONTAINING CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES IN DIAGNOSTICS AND PROGNOSTICATION OF CAROTID ATHEROSCLEROSIS

N.A. Orekhov, T.V. Kirichenko, V.A. Myasoedova, A.V. Omelchenko, A.N. Orekhov,
I.A. Sobenin

Institute of General Pathology and Pathophysiology, 8, Baltiyskaya St., Moscow, Russian Federation, 125315

Highlights

- Low-density lipoprotein cholesterol (LDL)-containing circulating immune complexes (LDL-CIC) reflect impaired lipid metabolism and systemic inflammation.
- Serum level of LDL-CIC is sensitive and specific diagnostic and prognostic marker of carotid atherosclerosis.
- The combination of age and serum LDL-CIC is particularly valuable for the prognosis of carotid atherosclerosis.

Aim	Recent studies suggested that increased level of low-density lipoprotein cholesterol (LDL)-containing circulating immune complexes (LDL-CIC) might have high diagnostic value in regards to clinical and asymptomatic atherosclerosis. The aim was to study prognostic significance of LDL-CIC.
Methods	The two-year study included 98 men. Each included patient underwent the following studies: carotid intima-media thickness, total cholesterol, low- and high-density lipoprotein cholesterol, triglycerides, and LDL-CIC.
Results	Among these parameters, low-density lipoprotein cholesterol and LDL-CIC were significantly associated with severity and prognosis of carotid atherosclerosis. LDL-CIC has the highest sensitivity and specificity in diagnostics of carotid atherosclerosis when combined with age. Other parameters do not affect the prognostic significance of LDL-CIC.
Conclusion	The results suggest that LDL-CIC can be used for diagnostics and prognosis of atherosclerosis.
Keywords	Atherosclerosis • Carotid arteries • Immunology • Lipoproteins

Received: 19.04.2024; received in revised form: 10.05.2024; accepted: 16.06.2024

Список сокращений

ЛВП – липопротеины высокой плотности	ПЭГ – полиэтиленгликоль
ЛНП – липопротеины низкой плотности	ТИМС – толщина интима-медиального слоя

Введение

Атеросклероз – это фиброзно-жировая пролиферативная воспалительная реакция на повреждение стенки артерии, в которой участвуют несколько типов клеток, такие как макрососудистые перicyты, гладкомышечные клетки, макрофаги моноцитарного происхождения, лимфо- и тромбоциты [1]. Многие липидные параметры, включая изменение уровня липидов и липопротеинов в плазме, и иммунологические факторы, например антитела против липопротеинов низкой плотности (ЛНП) и циркулирующих комплексов, содержащих ЛНП, влияют на развитие атеросклероза. На уровне артериальной стенки внутриклеточное отложение липидов, прежде всего холестерина в свободной и этерифицированной форме, сопровождающееся образованием пенных клеток, является типичным признаком раннего атеросклероза [2].

Показано, что ЛНП и особенно содержащие их циркулирующие комплексы действуют как основные агенты, ответственные за чрезмерное накопление холестерина в стенках сосудов [3–8]. Внутриклеточное накопление липидов действует как пусковой механизм развития более серьезного атеросклеротического поражения, что влечет за собой избыточное производство соединительной ткани и усиленную пролиферацию клеток, которые сопровождают воспалительную реакцию [9, 10]. Выраженное атеросклеротическое поражение может приводить к клиническому проявлению атеросклероза.

В предыдущих работах описан простой способ оценки уровня циркулирующих комплексов, содержащих ЛНП [4, 11–12]. Используя этот метод, мы показали, что только уровень данных комплексов и соотношение апобелков В и А-1 позволяют выде-

лить пациентов с коронарным/экстракоронарным атеросклерозом [12]. Общий уровень холестерина, триглицеридов, холестерина липопротеинов высокой плотностью (ЛВП), апобелки В и А-1 не коррелировали с наличием и тяжестью коронарного атеросклероза/экстракоронарного атеросклероза. Продемонстрировано, что уровень циркулирующих комплексов, содержащих ЛНП, в отличие от других липидных параметров, является надежным маркером атеросклероза [4, 11–12]. Однако прогностическая значимость данного показателя в прогрессировании атеросклероза все еще неизвестна. Так, циркулирующие комплексы, содержащих ЛНП, могут играть важную роль в атерогенезе, так как могут индуцировать большее накопление атеросклероза в клетках сосудов [3, 13], тем самым вовлекаясь в формирование раннего атеросклеротического поражения. В этой работе мы попытались определить прогностическую связь таких комплексов с прогрессированием атеросклероза.

Материалы и методы

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией ВМА (пересмотра 2013 г.), от каждого участника получено письменное информированное согласие. Всего в исследование был включен 101 человек с бессимптомным атеросклерозом сонных артерий (мужчины в возрасте от 37 до 74 лет, среднее значение 60,6 года, стандартное отклонение 9,4 года).

Измерение толщины интима-медиального слоя (ТИМС) проводили методом ультразвукового исследования высокого разрешения в В-режиме. Обследовали дистальный отдел левой и правой сонной артерий под переднебоковым, латеральным и заднебоковым углами. Толщину интима-медиального слоя аорты измеряли на участке артерии длиной 10 мм, прилегающем к луковице сонной артерии, среднее значение трех измерений рассматривали как интегральную оценку ТИМС. Ультразвуковые исследования проводили каждые 3 мес. в течение года исследования: один раз спустя 18 мес. от начала исследования и еще 3 раза к концу 24 мес. наблюдения. Несколько человек не явились на обследование через 24 мес., поэтому лишь для 98 участников получены клинические данные за 2 года.

Венозную кровь получали натощак, сыворотку крови использовали для определения содержания холестерина в циркулирующих иммунных комплексах путем их осаждения в 2,5% полиэтиленгликоле (ПЭГ) 6000 и измерения холестерина в осадке ферментативным колориметрическим методом. Также определяли содержание общего холестерина, триглицеридов и холестерина ЛВП в сыворотке крови с использованием коммерческих наборов. Содержание холестерина ЛНП определяли по формуле Фридвальда.

Статистическую значимость различий между

группами с различной динамикой ТИМС определяли с использованием критерия Манна – Уитни и непарного двустороннего t-критерия Стьюдента для непрерывных переменных, а также тестами хи-квадрат для категориальных переменных. Статистический анализ данных выполнен в пакете программ SPSS 10.1.7 (SPSS Inc., США). Диагностическую и прогностическую значимость липидных параметров, включая уровень циркулирующих комплексов, содержащих холестерин, определяли с использованием статистики хи-квадрат и теста Фишера. Чувствительность и специфичность параметров оценивали с использованием анализа ROC-кривых. Для определения прогностической значимости липидных параметров в комбинации с другими клиническими параметрами использовали библиотеку sklearn языка программирования Python.

Результаты

Диагностическая значимость уровня холестерина в циркулирующих иммунных комплексах

Диагностическую значимость липидных показателей, включая уровень циркулирующих комплексов, содержащих холестерин, оценивали у 101 участника, изначально включенного в исследование. В качестве количественной характеристики каротидного атеросклероза использована ТИМС общих сонных артерий. Оценена диагностическая значимость холестерина в циркулирующих иммунных комплексах, холестерина ЛНП и ЛВП, общего холестерина. Липидные показатели обладали статистически значимой чувствительностью (рис. 1), при этом самая высокая чувствительность выявлена у холестерина в циркулирующих иммунных комплексах. Среди всех липидных параметров только холестерин в циркулирующих иммунных комплексах обладал высокой специфичностью (рис. 2). Из этого можно сделать вывод, что данный параметр облада-

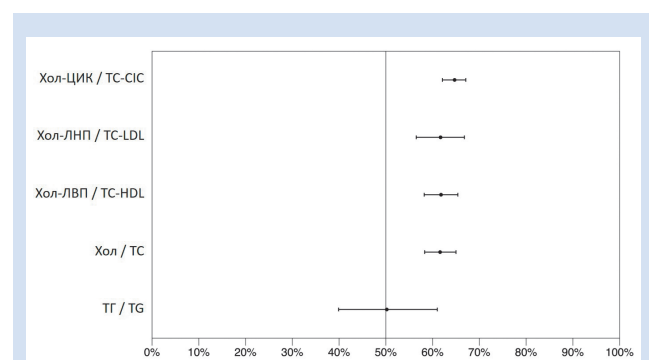


Рисунок 1. Чувствительность липидных показателей в диагностике каротидного атеросклероза

Примечание: ЛВП – липопротеины высокой плотности; ЛНП – липопротеины низкой плотности; ТГ – триглицериды; Хол – холестерин; ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы.

Figure 1. Sensitivity of lipid parameters for diagnostics of carotid atherosclerosis

Note: CIC – циркулирующие иммунные комплексы; LDL – low-density lipoproteins; HDL – high density lipoproteins; TC – total cholesterol; TG – triglycerides.

ет наиболее высокой диагностической значимостью в отношении каротидного атеросклероза.

Прогностическая значимость уровня холестерина в циркулирующих иммунных комплексах

Прогностическую значимость оценивали у 98 участников исследования, у которых на протяжении двух лет анализировали клинические и биохимические характеристики: один раз при включении в исследование и далее каждые 3 мес. в течение года, один раз спустя 18 мес. и по окончании 24 мес. наблюдения. У 52 участников к окончанию исследования выявлено увеличение ТИМС по отношению к начальному уровню, у 21 – уменьшение, у 25 – отсутствие значимых изменений.

Холестерин ЛНП и холестерин в циркулирующих иммунных комплексах обладали высокой прогностической значимостью сами по себе, холестерин ЛВП, общий холестерин и триглицериды не имели прогностической значимости (рис. 3). Далее применены модели машинного обучения с использованием библиотеки `sklearn` из языка программирования `python`: линейная регрессия с алгоритмом кросс-валидации, линейная регрессия с вручную созданными выборками тренировки и теста (3:1) и дерево решений. В результате единственным параметром, улучшавшим прогностическую значимость холестерина в циркулирующих иммунных комплексах, был возраст. Данная фракция холестерина в комбинации с возрастом имела прогностическую значимость выше, чем холестерин ЛНП или холестерин в циркулирующих иммунных комплексах по отдельности. При этом возраст не улучшал прогностическую значимость других липидных параметров. Таким образом, уровень холестерина в циркулирующих иммунных комплексах обладает более высокой про-

гностической значимостью, чем другие липидные параметры. Комбинация с возрастом повышает прогностическую значимость данного показателя с 63,5 до 78,3% (рис. 3).

Обсуждение

К настоящему времени накоплены доказательства важной роли в атерогенезе ЛНП, содержащихся в циркулирующих иммунных комплексах. В состав циркулирующих иммунных комплексов входят модифицированный ЛНП и аутоантитела, вырабатываемые против циркулирующих в крови модифицированных частиц ЛНП. Отложения компонентов циркулирующих иммунных комплексов были найдены в крови пациентов с атеросклерозом и в пораженных атеросклерозом сосудах [13–15]. Содержание ЛНП в циркулирующих иммунных комплексах, определенное по холестерину или апобелку В, было значительно выше у больных атеросклерозом [3, 4]. Показано, что ЛНП в циркулирующих иммунных комплексах могут увеличить накопление липидов в клетках, культивированных из субэндотелиальной интимы аорты человека [3, 2, 16, 17]. Удаление циркулирующих иммунных комплексов из сыворотки крови больных коронарным атеросклерозом заметно уменьшало способность сыворотки к накоплению внутриклеточных липидов [4, 12]. Несмотря на то что лишь не более 2% всех циркулирующих ЛНП входят в циркулирующие иммунные комплексы, эта фракция ЛНП, вероятно, имеет важную роль в первичном накоплении холестерина в сосудистых клетках – ключевом этапе раннего атеросклероза. Так как внутриклеточное накопление холестерина стимулирует другие проявления атеросклероза на клеточном уровне, то, возможно, что присутствие циркулирующих иммунных комплексов, содержащих ЛНП, в крови способствует возникновению и

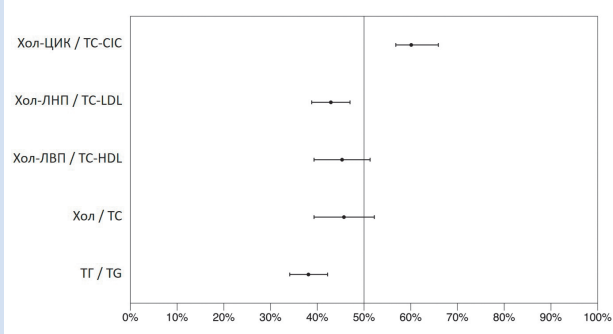


Рисунок 2. Специфичность липидных показателей в диагностике каротидного атеросклероза

Примечание: ЛВП – липопротеины высокой плотности; ЛНП – липопротеины низкой плотности; ТГ – триглицериды; Хол – холестерин; ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы.

Figure 2. Specificity of lipid parameters for diagnostics of carotid atherosclerosis

Note: CIC – циркулирующие иммунные комплексы; LDL – low-density lipoproteins; HDL – high density lipoproteins; TC – total cholesterol; TG – triglycerides.

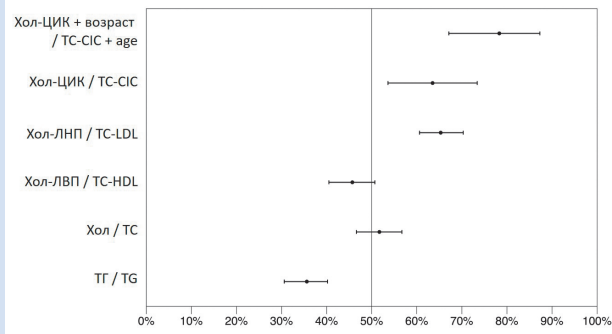


Рисунок 3. Прогностическая значимость липидных показателей в прогрессировании каротидного атеросклероза

Примечание: ЛВП – липопротеины высокой плотности; ЛНП – липопротеины низкой плотности; ТГ – триглицериды; Хол – холестерин; ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы.

Figure 3. Lipid parameters and prognosis of carotid atherosclerosis

Note: CIC – циркулирующие иммунные комплексы; LDL – low-density lipoproteins; HDL – high density lipoproteins; TC – total cholesterol; TG – triglycerides.

развитию атеросклеротических процессов в стенках сосудов [10]. Атерогенные свойства ЛНП в циркулирующих иммунных комплексах позволяют им быть маркерами атеросклероза. В наших ранних исследованиях показана взаимосвязь уровня данной фракции холестерина в сыворотке крови и стенозов коронарных артерий. Показатель циркулирующих иммунных комплексов, содержащих ЛНП, в сыворотке крови эффективнее, чем такие стандартные факторы, как общий холестерин, холестерин ЛНП и ЛВП, соотношение апобелков В и А-I, прогнозировал как тяжесть поражения, так и присутствие атеросклероза [11]. Однако данное исследование было проведено на пациентах с прогрессирующим, клинически проявившимся атеросклерозом.

В настоящем исследовании участвовали мужчины с ранним, бессимптомным атеросклерозом. Несмотря на отсутствие клинических проявлений заболевания, повышенный уровень циркулирующих иммунных комплексов, содержащих ЛНП, был связан с увеличением толщины интима-медиального слоя сонной артерии (ультразвуковой характеристикой экстракоронарного атеросклероза). Уровни специфичности и чувствительности диагностической значимости данного показателя были самыми высокими среди всех биохимических липидных параметров, однако прогностическая значимость была ниже, чем в предыдущем исследовании, в котором участвовали пациенты с ангиографически подтвержденным атеросклерозом [11]. При этом прогностическую значимость показателя циркулирующих иммунных комплексов, содержащих ЛНП, удалось повысить с помощью комбинации с возрастом. Возможным ограничением представленного метода может стать то, что ПЭГ, использованный в описанной методике, может осаждать не только циркулирующие иммунные комплексы с ЛНП, но и другие фракции ЛНП. Однако в предыдущих работах показано, что в осажденных ПЭГ частицах содержится апобелок В, но не апобелок А-I или Е. Содержание апобелка В хорошо коррелирует с содержанием общего холестерина и отношением холестерина/апобелок в комплексах, что является характеристикой ЛНП, но не других липопротеинов. Отмечена высокая корреляция между содержанием апобелка В и иммуноглобулинами в осадке ПЭГ, а вариабельность отношения иммуноглобулин / апобелок В между выборками была низкой [11]. Таким образом, общий холестерин в осадке ПЭГ может быть принят как упрощенный подход к оценке

уровня циркулирующих иммунных комплексов с ЛНП в сыворотке крови.

Заключение

В представленном нами исследовании атеросклеротическое поражение сонных артерий характеризовалось медленным и устойчивым увеличением средней ТИМС, которое достигало статистически значимого отличия от исходного уровня лишь спустя 18 мес. наблюдения. Только у половины пациентов определено статистически значимое увеличение ТИМС. В некоторых случаях отмечена спонтанная регрессия раннего атеросклеротического поражения. Повышенный уровень циркулирующих иммунных комплексов с ЛНП был хорошим предиктором прогрессии атеросклероза, также как и повышенный уровень общего холестерина [18]. Кроме того, при комбинации уровня циркулирующих иммунных комплексов, содержащих ЛНП, с возрастом прогностическая значимость превышала таковую для других липидных параметров. Следует отметить, что среди липидных параметров только пониженный уровень данной фракции холестерина мог указывать на отсутствие прогрессии атеросклероза в последующие два года. В данном исследовании показано, что показатель циркулирующих иммунных комплексов с ЛНП обладает высокой диагностической значимостью в отдельности и более высокой специфичностью, чем стандартные липидные показатели. Сам по себе данный параметр демонстрирует прогностическую значимость на уровне общего холестерина ЛНП, однако при комбинации с возрастом прогностическая значимость уровня ЛНП в циркулирующих иммунных комплексах заметно вырастает, что делает данный показатель кандидатным маркером атеросклероза.

Конфликт интересов

Н.А. Орехов заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.В. Кириченко заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.А. Мясоедова заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.В. Омельченко заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Н. Орехов заявляет об отсутствии конфликта интересов. И.А. Собенин заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект 23-65-10014).

Информация об авторах

Орехов Николай Александрович, лаборант-исследователь лаборатории ангиопатологии отдела общей патологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0009-0002-1339-2878

Author Information Form

Orekhov Nikolay A., Junior Researcher, Laboratory of Angiopathology, Department of General Pathology, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0009-0002-1339-2878

Кириченко Татьяна Владимировна, кандидат медицинских наук ведущий научный сотрудник лаборатории ангиопатологии отдела общей патологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-2899-9202

Мясоедова Вероника Александровна, кандидат медицинских наук научный сотрудник лаборатории ангиопатологии отдела общей патологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-8414-5300

Омельченко Андрей Владимирович, кандидат биологических наук старший научный сотрудник лаборатории ангиопатологии отдела общей патологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-4512-4413

Орехов Александр Николаевич, доктор биологических наук, профессор руководитель лаборатории ангиопатологии отдела общей патологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-3318-4681

Собенин Игорь Александрович, доктор медицинских наук ведущий научный сотрудник лаборатории ангиопатологии отдела общей патологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-0978-6444

Kirichenko Tatiana V., MD, PhD, Leading Researcher, Laboratory of Angiopathology, Department of General Pathology, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-2899-9202

Myasoedova Veronika A., MD, PhD, Researcher, Laboratory of Angiopathology, Department of General Pathology, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-8414-5300

Omelchenko Andrey V., PhD, Senior Researcher, Laboratory of Angiopathology, Department of General Pathology, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-4512-4413

Orekhov Alexander N., PhD, Professor, Head of the Laboratory of Angiopathology, Department of General Pathology, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-3318-4681

Sobenin Igor A., MD, PhD, Leading Researcher, Laboratory of Angiopathology, Department of General Pathology, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-0978-6444

Вклад авторов в статью

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

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

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

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

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

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

Author Contribution Statement

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

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

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Libby P., Ridker P.M., Hansson G.K. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature*. 2011;473:317-25. doi: 10.1038/nature10146.
2. Orekhov A.N., Tertov V.V., Novikov I.D., Krushinsky A.V., Andreeva E.R., Lankin V.Z., Smirnov V.N. Lipids in cells of atherosclerotic and uninvolved human aorta. I. Lipid

composition of aortic tissue and enzyme-isolated and cultured cells. *Exp Mol Pathol* 1985;42:117-37. doi: 10.1016/0014-4800(85)90022-x.

3. Tertov V.V., Orekhov A.N., Sayadyan K.S., Serebrennikov S.G., Kacharava A.G., Lyakishev A.A., Smirnov V.N. Correlation between cholesterol content in circulating immune

complexes and atherogenic properties of CHD patients; serum manifested in cell culture. *Atherosclerosis* 1990;81:183-9. doi: 10.1016/0021-9150(90)90065-q.

4. Tertov V.V., Orekhov A.N., Kacharava A.G., Sobenin I.A., Perova N.V., Smirnov V.N. Low density lipoprotein-containing circulating immune complexes and coronary atherosclerosis. *Exp Mol Pathol*. 1990;52:300-8. doi: 10.1016/0014-4800(90)90071-k.

5. Gisinger C., Virella G.T., Lopes-Virella M.F. Erythrocyte-bound low-density lipoprotein immune complexes lead to cholesteryl ester accumulation in human monocyte-derived macrophages. *Clin Immunol Immunopathol*. 1991;59:37-52. doi: 10.1016/0090-1229(91)90080-t.

6. Kacharava AG, Tertov VV, Orekhov A. Autoantibodies against low-density lipoprotein and atherogenic potential of blood. *Ann Med*. 1993;25:551-5.

7. Virella G., Lopes-Virella M.F. Humoral immunity and atherosclerosis. *Nat Med*. 2003;9:243-4. doi:10.1038/nm0303-243

8. Lopes-Virella M.F., Binzafar N., Rackley S., Takei A., La Via M., Virella G. The uptake of LDL-IC by human macrophages: predominant involvement of the Fc gamma RI receptor. *Atherosclerosis*. 1997;135:161-70. doi: 10.1016/s0021-9150(97)00157-3.

9. Tertov V.V., Orekhov A.N., Ryong L.H., Smirnov V.N. Intracellular cholesterol accumulation is accompanied by enhanced proliferative activity of human aortic intimal cells. *Tissue Cell*. 1988;20:849-54. doi: 10.1016/0040-8166(88)90026-2.

10. Orekhov A.N., Tertov V.V., Kudryashov S.A., Smirnov V.N. Triggerlike stimulation of cholesterol accumulation and DNA and extracellular matrix synthesis induced by atherogenic serum or low density lipoprotein in cultured cells. *Circ Res*. 1990;66:311-20. doi: 10.1161/01.res.66.2.311.

11. Orekhov A.N., Kalenich O.S., Tertov V.V., Perova N.V., Novikov Iy.D., Lyakishev A.A., Deev A.D., Ruda M.Y. Diagnostic value of immune cholesterol as a marker for atherosclerosis. *J Cardiovasc Risk*. 1995;2:459-66. doi:

10.1177/174182679500200511

12. Orekhov A.N., Kalenich O.S., Tertov V.V., Novikov I.D. Lipoprotein immune complexes as markers of atherosclerosis. *Int J Tissue React*. 1991;13:233-6.

13. Hollander W., Colombo M.A., Kirkpatrick B., Paddock J. Soluble proteins in the human atherosclerotic plaque. With spectral reference to immunoglobulins, C3-complement component, alpha 1-antitrypsin and alpha 2-macroglobulin. *Atherosclerosis*. 1979;34:391-405. doi: 10.1016/0021-9150(79)90064-9.

14. Hansson G.K., Bondjers G., Bylock A., Hjalmarsson L. Ultrastructural studies on the localization of IgG in the aortic endothelium and subendothelial intima of atherosclerotic and nonatherosclerotic rabbits. *Exp Mol Pathol*. 1980;33:302-15. doi: 10.1016/0014-4800(80)90028-3.

15. Parums D., Mitchinson M.J. Demonstration of immunoglobulin in the neighbourhood of advanced atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis*. 1981;38:211-6. doi: 10.1016/0021-9150(81)90118-0.

16. Orekhov A.N., Tertov V.V., Kabakov A.E., Adamova I.Yu., Pokrovsky S.N., Smirnov V.N. Autoantibodies against modified low density lipoprotein. Nonlipid factor of blood plasma that stimulates foam cell formation. *Arterioscler Thromb*. 1991;11:316-26. doi: 10.1161/01.atv.11.2.316.

17. Klimov A.N., Denisenko A.D., Vinogradov A.G., Nagornev V.A., Pivovarova Y.I., Sitnikova O.D., Pleskov V.M. Accumulation of cholesteryl esters in macrophages incubated with human lipoprotein-antibody autoimmune complex. *Atherosclerosis*. 1988;74:41-6. doi: 10.1016/0021-9150(88)90189-x.

18. Lopes-Virella M.F., McHenry M.B., Lipsitz S., Yim E., Wilson P.F., Lackland D.T., Lyons T., Jenkins A.J., Virella G.; DCCT/EDIC Research Group. Immune complexes containing modified lipoproteins are related to the progression of internal carotid intima-media thickness in patients with type 1 diabetes. *Atherosclerosis*. 2007;190:359-69. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2006.02.007.

Для цитирования: Орехов Н.А., Кириченко Т.В., Мясоедова В.А., Омельченко А.В., Орехов А.Н., Собенин И.А. Оценка значимости уровня холестерина в циркулирующих иммунных комплексах в диагностике и прогнозировании развития каротидного атеросклероза. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2024;13(3): 47-53. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-47-53

To cite: Orekhov N.A., Kirichenko T.V., Myasoedova V.A., Omelchenko A.V., Orekhov A.N., Sobenin I.A. Significance assessment of LDL-containing circulating immune complexes in diagnostics and prognostication of carotid atherosclerosis. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2024;13(3): 47-53. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-47-53



УДК 616.126

DOI 10.17802/2306-1278-2024-13-3-54-62

ВЛИЯНИЕ ЦИКЛИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МОДИФИЦИРОВАННОГО ПОЛИВИНИЛОВЫМ СПИРТОМ ЭПОКСИОБРАБОТАННОГО БЫЧЬЕГО ПЕРИКАРДА К КАЛЬЦИФИКАЦИИ И ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ ДЕГРАДАЦИИ

А.Е. Костюнин, Т.В. Глушкова, К.Ю. Клышников, М.А. Резвова, Т.Н. Акентьева,
П.С. Онищенко, Е.А. Овчаренко

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Основные положения

- Модификация эпоксиобработанного ксеноперикарда поливиниловым спиртом повышает его устойчивость к кальцификации и протеолитической деградации *in vitro*.
- Циклические нагрузки способствуют усталостному разрушению полимерного компонента модифицированного биоматериала, что сопровождается ухудшением его антикальциевых и антиферментных свойств. Требуется дополнительные исследования, которые следует нацелить на улучшение износостойкости гидрогеля, включенного в состав биоткани.

Цель

Изучить резистентность эпоксиобработанного бычьего перикарда, модифицированного криоструктурированным поливиниловым спиртом, к кальцификации и протеолитической деградации в коллагеназе после воздействия циклической нагрузки.

Материалы и методы

Эпоксиобработанные ксеноперикардальные лоскуты обрабатывали поливиниловым спиртом по оригинальной методике, после чего подвергали циклическому нагружению (70 млн циклов) в установке изучения циклостойкости HiCycle. Визуализацию поверхностной и внутренней структуры биоматериала выполняли посредством сканирующей электронной микроскопии. Резистентность образцов к кальцификации оценивали путем их инкубации в растворе, насыщенном ионами кальция и фосфат-ионами, в течение 3 и 6 нед. с последующим количественным измерением содержания кальция спектрофотометрическим методом. Подверженность образцов протеолитическому расщеплению определяли по потере массы после инкубации в растворе клостридиальной коллагеназы в течение 24 ч. Группой контроля при тестировании антикальциевых и антиферментных свойств модифицированной ткани выступали фрагменты немодифицированного эпоксиобработанного бычьего перикарда.

Результаты

После циклического нагружения образцы модифицированного поливиниловым спиртом ксеноперикарда демонстрировали признаки усталостного повреждения полимерного компонента (наличие трещин на поверхности и крупных полостей во внутренней структуре). Несмотря на то что циклическая нагрузка значительно ухудшила резистентность модифицированной ткани к кальцификации и протеолитической деградации (в 3 и 5 раз соответственно относительно значений, полученных для хранившихся в статических условиях фрагментов), образцы из этой группы показали лучшие результаты по сравнению с образцами немодифицированного ксеноперикарда. Так, они содержали в полтора-два раза меньше кальция после 3 и 6 нед. инкубации в насыщенном кальцием растворе. Потеря массы после инкубации в коллагеназе также была в полтора раза ниже для подвергнутых циклическому нагружению фрагментов модифицированного биоматериала по сравнению с фрагментами контрольного.

Заключение

Разработанный нами метод модификации эпоксиобработанного ксеноперикарда поливиниловым спиртом увеличивает резистентность биологической ткани к кальцификации и протеолитической деградации. Хотя циклическая нагрузка со временем ухудшает защитные свойства полимерного покрытия,

Для корреспонденции: Александр Евгеньевич Костюнин, rhabdophis_tigrina@mail.ru; адрес: бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Corresponding author: Alexander E. Kostyunin, rhabdophis_tigrina@mail.ru; address: 6, academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

этот вид обработки потенциально способен замедлить дегенерацию биоматериала, используемого в производстве биопротезов клапанов сердца.

Ключевые слова

Биопротезы клапанов сердца • Структурная дегенерация клапана • Протеолиз • Кальцификация • Поливиниловый спирт

Поступила в редакцию: 10.04.2024; поступила после доработки: 01.05.2024; принята к печати: 31.05.2024

IMPACT OF CYCLIC LOADING ON THE RESISTANCE OF EPOXY-TREATED BOVINE PERICARDIUM MODIFIED WITH POLYVINYL ALCOHOL TO CALCIFICATION AND PROTEOLYTIC DEGRADATION

A.E. Kostyunin, T.V. Glushkova, K.Yu. Klyshnikov, M.A. Rezvova, T.N. Akentyeva,
P.S. Onishchenko, E.A. Ovcharenko

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

Highlights

- Epoxy-treated xenopericardium modified with polyvinyl alcohol has increased resistance to calcification and proteolytic degradation *in vitro*.
- Cyclic loads negatively affect fatigue life of studied material, moreover, this process is accompanied by deterioration of its anti-calcium and anti-enzyme properties. Additional studies aimed at improving the wear resistance of the hydrogel in the biological material are required.

Aim	To study the resistance of epoxy-treated bovine pericardium modified with polyvinyl alcohol to calcification and proteolytic degradation in collagenase after exposure to cyclic loading.
Methods	The epoxy-treated patches made with xenopericardium were treated with polyvinyl alcohol according to the original method, after that they were subjected to cyclic loading (70 million cycles) using the HiCycle wear tester system. Visualization of the surface and internal structure of the biomaterial was performed by scanning electron microscopy. The resistance to calcification was assessed by incubating the samples in a solution saturated with calcium ions and phosphate ions for 3 and 6 weeks, followed by quantitative measurement of the calcium by spectrophotometry. The susceptibility of the samples to proteolytic degradation was determined by weight loss after incubation in a solution of clostridial collagenase for 24 hours. The control group consisted of patches of unmodified epoxy-treated bovine pericardium.
Results	After cyclic loading, patches of xenopericardium modified with polyvinyl alcohol showed signs of fatigue (cracks on the surface and large cavities in the internal structure). Although cyclic loading significantly worsened the resistance of the modified tissue to calcification and proteolytic degradation (by 3 and 5 times, respectively, relative to the values obtained for patches stored under static conditions), patches from this group showed better results compared to unmodified patches. Thus, they contained 1.5 to 2 times less calcium after 3 and 6 weeks of incubation in a calcium-saturated solution. Mass loss after incubation in collagenase was 1.5 times lower for patches of modified biomaterial undergoing cyclic loading compared to unmodified patches.
Conclusion	The proposed modification method of the epoxy-treated xenopericardium with polyvinyl alcohol increases the resistance of biological tissue to calcification and proteolytic degradation. Although cyclic loading negatively affects the protective properties of the polymer coating over time, this type of modification can potentially slow down the degeneration of biomaterial used in manufacturing of bioprosthetic heart valves.
Keywords	Bioprosthetic heart valves • Structural valve degeneration • Proteolysis • Calcification • Polyvinyl alcohol

Received: 10.04.2024; received in revised form: 01.05.2024; accepted: 31.05.2024

Список сокращений

БП – биологические протезы СД – структурная дегенерация
 ПВС – поливиниловый спирт

Введение

В последние десятилетия наблюдается увеличение распространенности приобретенных пороков сердца, что связано с демографическим старением населения [1]. Соответствующим образом растет и число пациентов, которые нуждаются в протезировании несостоятельных клапанов сердца. Уже сейчас в мире ежегодно выполняют более 400 тыс. таких операций, тогда как к 2050 г. эксперты прогнозируют двукратное увеличение их количества [1, 2].

При протезировании пораженных клапанов сердца у пациентов старшей возрастной группы (> 65 лет) зачастую применяют биологические протезы (БП), изготовленные из тканей животного происхождения (химически стабилизированного бычьего, свиного или лошадиного перикарда, а также аортальных комплексов свиньи) [3]. Ввиду низкой тромбогенности БП не требуют назначения реципиентам пожизненной антикоагулянтной терапии, чем выгодно отличаются от аналогов – механических протезов [4, 5]. В то же время долговечность БП ограничена: через 15 лет функционирования до 50% имплантатов этого типа требуют замены по причине структурной дегенерации (СД) их биологического элемента [4, 5].

Ключевыми проявлениями СД являются перфорирование, разрывы и кальцификация створчатого аппарата БП, которые приводят к гемодинамической несостоятельности клапана [6]. В соответствии с современными представлениями в качестве одного из наиболее значимых факторов развития СД выступает протеолитическая деградация биологического материала, способствующая нарушению целостности его коллагеновой основы и осаждению кальция на поврежденных участках [7]. Протеолиз БП обусловлен поступлением в биоматериал протеза матриксных металлопротеиназ и катепсинов из крови реципиента и от иммунных клеток, инфильтрирующих имплантат [8, 9]. Следует отметить, что в настоящее время исследователи и производители БП уделяют мало внимания проблеме аккумуляции протеаз в тканях клапанов. Между тем предотвращение взаимодействия ферментов крови с биоматериалом потенциально способно продлить сроки функционирования БП и снизить риск возникновения дисфункций этих медицинских изделий.

Перспективным методом, призванным устранить влияние циркулирующих факторов реципиента на БП, является связывание биологической ткани с биосовместимыми полимерами для включения в ее структуру полимерного геля [10]. В рамках обсуждаемого направления нашей командой разработана

оригинальная модификация эпоксиобработанного бычьего перикарда криоструктурированным поливиниловым спиртом (ПВС), которая повысила устойчивость биоматериала к кальцификации *in vitro*, не ухудшая его механические и гемосовместимые свойства [11]. ПВС образует поверхностный слой на биоматериале, а также заполняет пространство между коллагеновыми волокнами в его толще, выступая в качестве физической преграды для растворенных в крови химических соединений (включая протеазы и ионы кальция). В настоящей работе мы продолжили изучение потенциальных преимуществ предложенного метода обработки биоткани, для чего произвели *in vitro* оценку устойчивости ПВС-модифицированного ксеноперикарда к кальцификации и протеолитической деградации коллагена до и после воздействия циклической нагрузки. Полученные данные позволяют прогнозировать изменение антикальциевых и антиферментных свойств рассматриваемого материала при длительном функционировании БП в организме реципиента.

Материалы и методы

Исследуемый биоматериал

Материалом для исследования стали фрагменты стабилизированных диглицидиловым эфиром этиленгликоля ксеноперикардальных лоскутов «Кем-ПерипласНео» (KPi7080M, ЗАО «НеоКор», Россия) толщиной 0,6–0,7 мм, обработанные 12% водным раствором ПВС согласно ранее описанной оригинальной методике [11]. В роли группы контроля при оценке антикальциевых и антиферментных свойств ПВС-модифицированного биоматериала использовали фрагменты немодифицированных ксеноперикардальных лоскутов.

Тестирование циклостойкости полимерного компонента ПВС-модифицированного ксеноперикарда

Для оценки циклостойкости ПВС из лоскутов модифицированного перикарда вырезали фрагменты диаметром 4,5 см. Далее их фиксировали в специальных формах, которые крепили в установке исследования циклостойкости HiCycle (ViVito Labs, Канада) согласно методике, описанной F. Stieglmeier с соавт. [12]. Формы для фиксации образцов были изготовлены из полилактида (4627095770265, REC) методом послойного наплавления (FDM) на 3D-принтере CreateBot D600 (CreateBot, Китай) (рис. 1).

Исследование проводили с частотой 20 Гц (20

ударов в секунду) в течение 70 млн циклов, что соответствует двум годам функционирования БП в организме реципиента. Во время испытаний образцы находились при 37 °С в стерильном 0,9% растворе натрия хлорида с добавлением антибиотика/антимикотика (15240062, Gibco™, Thermo Fisher Scientific, США) в соотношении 1:50. Среднее пиковое давление, воздействующее на образцы, было установлено на уровне 120 мм рт. ст. для имитации артериального давления человека.

После завершения испытаний из лоскутов перикарда с помощью специального ножа вырубали фрагменты квадратной формы площадью 0,25 и 1 см² для оценки антикальциевых и антиферментных свойств соответственно. Часть фрагментов использовали для анализа сохранности их поверхностной и внутренней структуры (см. ниже).

Визуализация поверхности и внутренней структуры исследуемых образцов

С целью визуализации поверхностной и внутренней структуры ПВС-модифицированного биоматериала после циклического нагружения применяли метод сканирующей электронной микроскопии. Для этого подготавливали фрагменты ксеноперикарда площадью 1 см², а также криосрезы толщиной 14 мкм, размещаемые на предметные стекла (оценка поверхностной и внутренней структуры соответственно). Последние готовили с использованием микротом-криостата HM 525 (Thermo Scientific, США). Далее образцы отмывали в бидистиллированной воде в течение 2 ч, замораживали при –80 °С и сутки лиофилизировали в установке FreeZone 2.5

Plus (Labconco, США) при –40 °С и давлении менее 0,04 мбар. Затем образцы монтировали на специальные столики и методом ионного распыления формировали на их поверхности токопроводящее (Au-Pd) покрытие при использовании системы EM ACE200 (Leica Microsystems, Германия). Визуализацию и анализ сохранности структуры образцов проводили с помощью сканирующего электронного микроскопа S-3400N (Hitachi, Япония) в условиях высокого вакуума при ускоряющем напряжении 10 кВ в режиме вторичных электронов.

Тестирование образцов на подверженность кальцификации

Чтобы изучить подверженность исследуемых образцов биоматериала кальцификации, их инкубировали в растворе, имитирующем физиологическую среду организма с повышенным уровнем ионов кальция и фосфатов. Для этого по 10 фрагментов биоматериала из группы контроля и двух групп ПВС-модифицированного ксеноперикарда (без и после циклического нагружения) площадью 0,25 см² помещали индивидуально в 2 мл раствора, содержащего 10 ммоль кальция. Инкубацию осуществляли при 37 °С в углекислотном инкубаторе с экспозицией 3 и 6 нед. При приготовлении раствора использовали 1,65 мл питательной среды для выращивания клеточных культур (D0697, Sigma-Aldrich, США), 0,20 мл эмбриональной бычьей сыворотки (F2442, Sigma-Aldrich, США), 0,1 мл моногидрофосфата натрия и 0,05 мл кальция хлорида.

Количественное содержание кальция в образцах определяли спектрофотометрическим методом. С этой целью образцы лиофилизировали в течение суток, далее измеряя их массу. После их подвергли гидролизу в 0,5 мл 65% хлорной кислоты при температуре 160–180 °С на песчаной бане LH-402 (Loip, Россия) до полного растворения. Объем полученной смеси доводили до 5 мл стерильной водой для инъекций. Количество кальция в растворе определяли на спектрофотометре Multiskan Sky (Thermo Fisher Scientific, США) при длине волны 575 нм с использованием коммерческого набора Calcium Assay Kit (ab102505, Abcam, Великобритания) согласно протоколу производителя.

Тестирование образцов на подверженность протеолитической деградации

Исследование образцов на подверженность протеолитической деградации выполняли путем их инкубации в трис-буфере (Трис 0,1 моль/л, CaCl₂ 0,05 моль/л, pH 7,4), содержащем 125 ЕД/мл клостридиальной коллагеназы I типа (C0130-500MG, Sigma-Aldrich, США). При этом использовали по 10 фрагментов биоматериала из группы контроля и двух групп ПВС-модифицированного ксеноперикарда (без и после циклического нагружения) площадью 1 см².

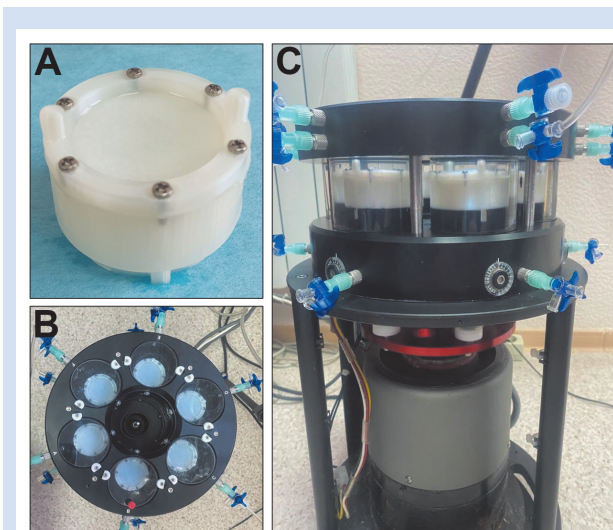


Рисунок 1. Оборудование, использованное для выполнения циклического нагружения исследуемых образцов биоматериала: **A** – форма для крепления лоскутов ксеноперикарда с закрепленным в ней исследуемым образцом; **B, C** – установка исследования циклостойкости HiCycle с закрепленными лоскутами ксеноперикарда (вид сверху и сбоку соответственно)

Figure 1. Equipment used for durability testing: **A** – a fixture for securing xenopericardial patches with the test sample attached; **B, C** – HiCycle fatigue testing machine with xenopericardial patches secured (top and side views, respectively)

Образцы инкубировали при 37 °С и постоянном перемешивании в течение 24 ч. После этого в течение суток производили отмывку от разрушенных фрагментов биоматериала в растворе трис-буфера с этилендиаминтетрауксусной кислотой при комнатной температуре с двукратной сменой раствора. Перед началом инкубации и после ее завершения фрагменты биоматериала лиофилизировали и взвешивали, а степень протеолитической деградации оценивали по потере массы в % от исходной массы сухого образца. Для фрагментов ПВС-модифицированного ксеноперикарда применена поправка на массу полимера (поскольку ПВС не подвержен действию коллагеназы), которая составляет 24% массы образца.

Статистический анализ

Статистическая обработка данных выполнена в программе GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США). Тип распределения данных определяли по критерию Колмогорова – Смирнова. Поскольку распределение в группах отличалось от нормального, данные представлены в виде медианы, процентилей, минимальных и максимальных значений (Me [25–75%; min-max]). Межгрупповое сравнение проводили с применением критерия Краскела – Уоллиса с поправкой на множественное сравнение (FDR). Межгрупповые различия считали статистически значимыми при максимально допустимой вероятности отвергнуть верную нулевую гипотезу $p < 0,05$.

Результаты

Визуальная оценка лоскутов ПВС-модифицированного ксеноперикарда, подвергнутых циклическому нагружению, не показала макроскопически видимых дефектов. Тем не менее дальнейшее их изучение посредством сканирующей электронной микроскопии показало признаки усталостного повреждения полимерного компонента (рис. 2). Последние были представлены микротрещинами в покрывающем поверхность биоматериала гидрогеле, которые не были характерны для контрольных ПВС-модифицированных образцов, хранившихся в статических условиях. Также тестируемые на циклоустойкость лоскуты имели рыхлую внутреннюю структуру, отличающуюся от таковой контрольных образцов присутствием большего количества полостей в межфибрилярном пространстве.

Оценка антикальциевых и антиферментных свойств ПВС-модифицированного бычьего перикарда продемонстрировала негативное влияние циклической нагрузки на защитные характеристики предложенного нами метода обработки биоматериала. Так, фрагменты ПВС-модифицированной ткани, полученные от подвергнутых циклическому нагружению лоскутов, содержали значительно больше кальция через 3 и 6 нед. инкубации в на-

сыщенном кальцием растворе, чем образцы с аналогичной обработкой, но хранившиеся в статических условиях (4,43 [3,03–5,73; 0,7–8,13] против 1,52 [1,26–1,8; 1,04–3,18] мг/г ($p = 0,037$) и 14,96 [13,32–17,24; 11,33–21,02] против 7,37 [5,84–8,11; 5,72–8,57] мг/г соответственно ($p = 0,002$)) (рис. 3). Сходная тенденция выявлена и в отношении потери массы при инкубации в коллагеназе: после циклического нагружения фрагменты ПВС-модифицированного перикарда теряли 5,7 [5,08–5,96; 4,42–6,23] % массы, тогда как не испытывавшие механического воздействия фрагменты – только 1,17 [0–2,67; 0–3,64] % ($p = 0,012$) (рис. 4).

Необходимо отметить, что в обоих вышеупомянутых экспериментах подвергавшиеся циклической нагрузке образцы ПВС-модифицированной ткани показали лучшие результаты по сравнению с образцами немодифицированного эпоксиобработанного ксеноперикарда. В частности, первые содержали в полтора-два раза меньше кальция, чем вторые, в двух временных точках инкубации (4,43 [3,03–5,73;

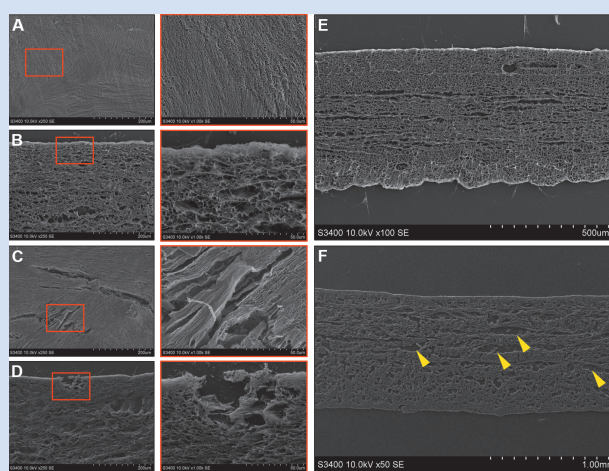


Рисунок 2. Сканирующая электронная микроскопия модифицированных поливиниловым спиртом фрагментов ксеноперикарда без и после циклического нагружения, соответствующего двум годам функционирования биопротеза клапана *in vivo*: **A, B** (поверхность и срез соответственно) – структура контрольного, не подвергавшегося циклической нагрузке, образца; **C, D** (поверхность и срез соответственно) – структура образца после циклического нагружения (обращает внимание повреждение полимерного покрытия); **E** – внутренняя структура модифицированного перикарда, не подвергавшегося циклической нагрузке; **F** – внутренняя структура модифицированного перикарда после циклического нагружения (обращает внимание более рыхлое заполнение гидрогелем межфибрилярного пространства биоткани с присутствием многочисленных полостей – отмечены желтыми стрелками)

Figure 2. Scanning electron microscopy of xenopericardial fragments modified with polyvinyl alcohol before and after cyclic loading equivalent to two years of valve bioprosthesis functioning *in vivo*: **A and B** (surface and cross-section, respectively) – structure of the control sample not subjected to cyclic loading; **C and D** (surface and cross-section, respectively) – structure of the sample after cyclic loading. Note the damaged polymer coating; **E** – internal structure of the modified pericardium not subjected to cyclic loading; **F** – internal structure of the modified pericardium after cyclic loading. Note the looser filling of the inter-fibrillar space of the biotissue with hydrogel, with numerous voids present (indicated by yellow arrows)

0,7–8,13] против 8,22 [7,25–9,21; 6,63–10,38] мг/г ($p = 0,016$) через 3 нед. и 14,96 [13,32–17,24; 11,33–21,02] против 23,07 [17,96–24,0; 14,04–25,32] мг/г ($p = 0,019$) через 6 нед. инкубации в насыщенном кальцием растворе). Потеря массы при воздействии коллагеназы на ПВС-модифицированный биоматериал после циклического нагружения также была в полтора раза ниже по сравнению с неизменной тканью (5,7 [5,08–5,96; 4,42–6,23] против 9,67 [9,41–10,51; 8,98–12,30] % ($p = 0,012$)).

Обсуждение

Клапаны сердца и их БП подвержены циклическим нагрузкам. Каждый клапан открывается и закрывается приблизительно 40 млн раз в течение года [13]. В ходе сердечного цикла на створчатый аппарат действуют механические нагрузки, обусловленные пристеночным напряжением сдвига при открытом положении клапана, изгибными деформациями ткани, возникающими во время его открытия и закрытия, а также натяжением створок под действием обратного давления крови при их закрытом положении [14]. Циклические нагрузки неизбежно приводят к развитию усталостных повреждений в створчатом аппарате БП, что предъявляет высокие требования к прочности и износостойкости материала, из которого он изготовлен.

Предложенный нашей группой метод модификации биоткани криоструктурированным ПВС основан на включении гидрогеля в структуру последней [11]. Гидрогель формирует слой на поверх-

ности биоматериала и обволакивает коллагеновые волокна в его толще, препятствуя поступлению во внеклеточный матрикс модифицированной ткани веществ из окружающей жидкости. Потенциально этот подход может решить проблему аккумуляции в створках БП циркулирующих в крови прокальцифицирующих и матрикс-деградирующих факторов реципиента, таких как ионы кальция, кальций-связывающие остеогенные белки, липиды крови и матриксные металлопротеиназы [8, 9, 15]. Впрочем необходимо принять во внимание, что ПВС-гидрогель проявляет барьерные свойства по отношению к растворенным в крови веществам только при сохранении своей структурной целостности [11].

Результаты настоящего исследования демонстрируют, что циклическое нагружение ПВС-модифицированного перикарда ведет к значительному усталостному разрушению его полимерной составляющей уже после 70 млн циклов, что эквивалентно всего двум годам функционирования БП в организме реципиента. При этом мы наблюдали резкое снижение эффективности рассматриваемой модификации: согласно данным тестирования *in vitro*, резистентность обработанного ПВС биоматериала к кальцификации и протеолизу после циклического нагружения снижалась в 3 и 5 раз соответственно по сравнению с исходными значениями. Из этого следует, что потенциальные преимущества предложенной технологии при ее использовании в производстве БП могут быть реализованы лишь в первые 2–3 года функционирования имплантатов.

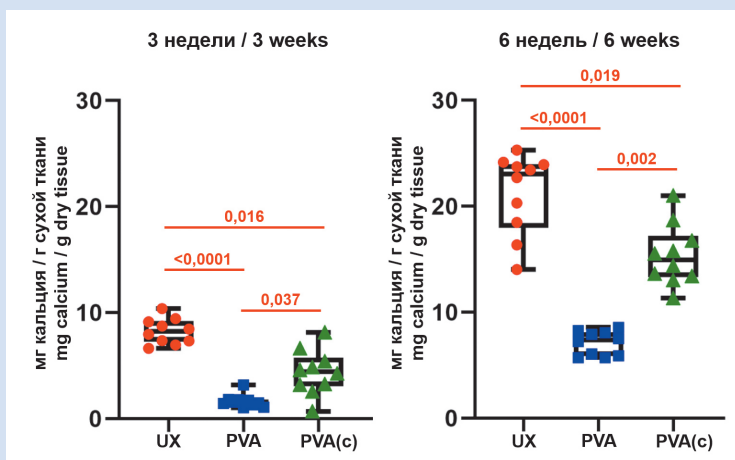


Рисунок 3. Количественная оценка содержания кальция в исследуемых образцах после 3 и 6 нед. инкубации в насыщенном кальцием растворе: UX – немодифицированный эпоксиобработанный ксеноперикард; PVA – ксеноперикард, обработанный поливиниловым спиртом и хранившийся в статических условиях; PVA(c) – ксеноперикард, обработанный поливиниловым спиртом и подвергнутый циклическому нагружению, соответствующему двум годам функционирования биологического протеза клапана *in vivo*

Figure 3. Quantitative assessment of calcium content in the tested samples after three and six weeks of incubation in a calcium-saturated solution: UX – unmodified epoxy-treated xenopericardium; PVA – xenopericardium treated with polyvinyl alcohol and stored under static conditions; PVA(c) – xenopericardium treated with polyvinyl alcohol and subjected to cyclic loading equivalent to two years of *in vivo* functioning of a biological valve prosthesis

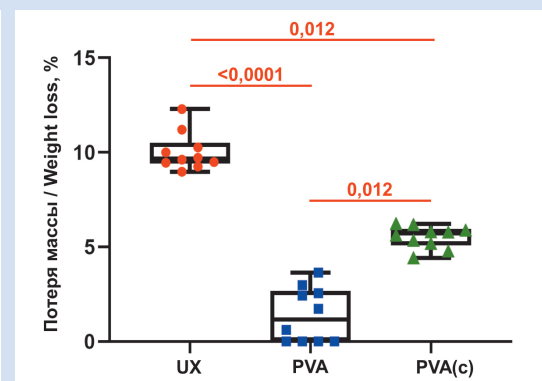


Рисунок 4. Потери сухой массы исследуемых образцов после 24 ч инкубации в растворе клостридиальной коллагеназы I типа: UX – немодифицированный эпоксиобработанный ксеноперикард; PVA – ксеноперикард, обработанный поливиниловым спиртом и хранившийся в статических условиях; PVA(c) – ксеноперикард, обработанный поливиниловым спиртом и подвергнутый циклическому нагружению, соответствующему двум годам функционирования биологического протеза клапана *in vivo*

Figure 4. Dry mass loss of the tested samples after 24 hours of incubation in a type I clostridial collagenase solution: UX – unmodified epoxy-treated xenopericardium; PVA – xenopericardium treated with polyvinyl alcohol and stored under static conditions; PVA(c) – xenopericardium treated with polyvinyl alcohol and subjected to cyclic loading equivalent to two years of *in vivo* functioning of a biological valve prosthesis

Низкая износостойкость полимерного компонента ПВС-модифицированной биоткани не позволяет рекомендовать описанную нами методику к внедрению в производство БП, по крайней мере в текущем исполнении [11]. Тем не менее нами получено экспериментальное подтверждение эффективности концепции включения в состав ксеноперикарда полимерного геля для профилактики кальцификации и протеолитической деградации, что позволяет сфокусировать дальнейшие исследования на разработке различных вариантов такого рода модификации. В частности, решить проблему недостаточной прочности и износостойкости гидрогеля на основе ПВС может изменение протокола гелеобразования, например путем увеличения числа циклов замораживания/оттаивания [16, 17]. Другим направлением исследований, нацеленных на повышение прочности ПВС-гидрогеля, может стать включение в его состав углеродных нанотрубок или комбинирование с другими полимерами [18, 19].

Заключение

Разработанная нашей командой модификация эпоксиобработанного бычьего перикарда криоструктурированным ПВС снижает кальцификацию

биоматериала и его протеолитическую деградацию в коллагеназе при тестировании *in vitro*. Тем не менее полимерный компонент модифицированной ткани неустойчив к действию циклических нагрузок, что значительно ухудшает его антикальциевые и антиферментные свойства. Таким образом, требуются дополнительные исследования, которые следует нацелить на улучшение износостойкости ПВС-гидрогеля, включенного в состав биологической ткани.

Конфликт интересов

А.Е. Костюнин заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.В. Глушкова заявляет об отсутствии конфликта интересов. К.Ю. Клышников заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.А. Резвова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.Н. Акентьева заявляет об отсутствии конфликта интересов. П.С. Онищенко заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Е. Овчаренко заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (грант № 21-75-10107).

Информация об авторах

Костюнин Александр Евгеньевич, кандидат биологических наук научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-6099-0315

Глушкова Татьяна Владимировна, кандидат биологических наук старший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-4890-0393

Клышников Кирилл Юрьевич, кандидат медицинских наук научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-3211-1250

Резвова Мария Александровна, младший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4405-8904

Акентьева Татьяна Николаевна, младший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0033-9376

Author Information Form

Kostyunin Alexander E., PhD, Researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-6099-0315

Glushkova Tatyana V., PhD, Senior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-4890-0393

Klyshnikov Kirill Yu., PhD, Researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3211-1250

Rezvova Maria A., Junior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4405-8904

Akentyeva Tatyana N., Junior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0033-9376

Онищенко Павел Сергеевич, младший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-2404-2873

Овчаренко Евгений Андреевич, кандидат технических наук заведующий лабораторией новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-7477-3979

Onishchenko Pavel S., Junior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-2404-2873

Ovcharenko Evgeny A., PhD, Head of the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-7477-3979

Вклад авторов в статью

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

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

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

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

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

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

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

Author Contribution Statement

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

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

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

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Velho T.R., Pereira R.M., Fernandes F., Guerra N.C., Ferreira R., Nobre Á. Bioprosthetic aortic valve degeneration: a review from a basic science perspective. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*. 2022; 37(2):239-250. doi:10.21470/1678-9741-2020-0635
2. Bax J.J., Delgado V. Bioprosthetic heart valves, thrombosis, anticoagulation, and imaging surveillance. *JACC: Cardiovascular Interventions*. 2017; 10(4):388-390. doi:10.1016/j.jcin.2017.01.017
3. Otto C.M., Nishimura R.A., Bonow R.O., Carabello B.A., Erwin J.P., Gentile F., Jneid H., Krieger E.V. et al. 2020 ACC/AHA guideline for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on clinical practice guidelines. *Circulation*. 2021; 143(5):e72-e227. doi:10.1161/CIR.0000000000000923
4. Pibarot P., Dumesnil J.G. Prosthetic heart valves: selection of the optimal prosthesis and long-term management. *Circulation*. 2009; 119(7):1034-1048. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.108.778886
5. Tillquist M.N., Maddox T.M. Cardiac crossroads: deciding between mechanical or bioprosthetic heart valve replacement. *Patient Preference and Adherence*. 2011; 17(5):91-99. doi:10.2147/PPA.S16420
6. Dvir D., Bourguignon T., Otto C.M., Hahn R.T., Rosenhek R., Webb J.G., Treede H., Sarano M.E. et al. Standardized definition of structural valve degeneration for surgical and transcatheter bioprosthetic aortic valves. *Circulation*. 2018; 137(4):388-399. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030729
7. Kostyunin A.E., Yuzhalin A.E., Rezvova M.A., Ovcharenko E.A., Glushkova T.V., Kutikhin A.G. Degeneration of bioprosthetic heart valves: update 2020. *Journal of the American Heart Association*. 2020; 9(19):e018506. doi:10.1161/JAHA.120.018506
8. Shetty R., Pibarot P., Audet A., Janvier R., Dagenais F., Perron J., Couture C., Voisine P., Després J.P., Mathieu P. Lipid-mediated inflammation and degeneration of bioprosthetic heart valves. *European Journal of Clinical Investigation*. 2009; 39(6):471-480. doi:10.1111/j.1365-2362.2009.02132.x
9. Simionescu A., Simionescu D.T., Deac R.F. Matrix metalloproteinases in the pathology of natural and bioprosthetic cardiac valves. *Cardiovascular Pathology*. 1996; 5(6):323-332. doi:10.1016/s1054-8807(96)00043-9
10. Ding K., Zheng C., Huang X., Zhang S., Li M., Lei Y., Wang Y. A PEGylation method of fabricating bioprosthetic heart valves based on glutaraldehyde and 2-amino-4-pentenoic acid co-cross linking with improved antithrombogenicity and cytocompatibility. *Acta Biomaterialia*. 2022; 144:279-291. doi:10.1016/j.actbio.2022.03.026
11. Костюнин А.Е., Резвова М.А., Глушкова Т.В., Шишкова Д.К., Кутихин А.Г., Акентьева Т.Н., Овчаренко Е.А. Модификация поливиниловым спиртом эпоксиобработанного ксеноперикарда повышает его резистентность к кальцификации *in vitro*. *Трансплантология* 2023; 15(1):34-45. doi:10.23873/2074-0506-2023-15-1-34-45.
12. Stieglmeier F., Grab M., König F., Büch J., Hagl C., Thierfelder N. Mapping of bovine pericardium to enable a standardized acquirement of material for medical implants. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2021; 118:104432. doi:10.1016/j.jmbbm.2021.104432

13. Dalgliesh A.J., Parvizi M., Noble C., Griffiths L.G. Effect of cyclic deformation on xenogeneic heart valve biomaterials. *PLoS One*. 2019; 14(6):e0214656. doi:10.1371/journal.pone.0214656

14. Soares J.S., Feaver K.R., Zhang W., Kamensky D., Aggarwal A., Sacks M.S. Biomechanical behavior of bioprosthetic heart valve heterograft tissues: characterization, simulation, and performance. *Cardiovasc Eng Technol*. 2016; 7(4):309-351. doi:10.1007/s13239-016-0276-8

15. Shen M., Marie P., Farge D., Carpentier S., De Pollak C., Hott M., Chen L., Martinet B., Carpentier A. Osteopontin is associated with bioprosthetic heart valve calcification in humans. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III*. 1997; 320(1):49-57. doi:10.1016/s0764-4469(99)80086-9

16. Nkhwa S., Kemal E., Gurav N., Deb S. Dual polymer networks: a new strategy in expanding the repertoire of hydrogels

for biomedical applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2019; 30:114. doi:10.1007/s10856-019-6316-9

17. Pazos V., Mongrain R., Tardif J.C. Polyvinyl alcohol cryogel: optimizing the parameters of cryogenic treatment using hyperelastic models. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2009; 2(5):542-549. doi:10.1016/j.jmbbm.2009.01.003

18. Tong X., Zheng J., Lu Y., Zhang Z., Cheng H. Swelling and mechanical behaviors of carbon nanotube/poly(vinyl alcohol) hybrid hydrogels. *Materials Letters*. 2007; 61(8-9):1704-1706. doi:10.1016/j.matlet.2006.07.115

19. Zheng Q., Javadi A., Sabo R., Cai Z., Gong S. Polyvinyl alcohol (PVA)-cellulose nanofibril (CNF)-multiwalled carbon nanotube (MWCNT) hybrid organic aerogels with superior mechanical properties. *RSC Advances*. 2013; 3(43):20816. doi:10.1039/c3ra42321b

REFERENCES

1. Velho T.R., Pereira R.M., Fernandes F., Guerra N.C., Ferreira R., Nobre Â. Bioprosthetic aortic valve degeneration: a review from a basic science perspective. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*. 2022; 37(2):239-250. doi:10.21470/1678-9741-2020-0635

2. Bax J.J., Delgado V. Bioprosthetic heart valves, thrombosis, anticoagulation, and imaging surveillance. *JACC: Cardiovascular Interventions*. 2017; 10(4):388-390. doi:10.1016/j.jcin.2017.01.017

3. Otto C.M., Nishimura R.A., Bonow R.O., Carabello B.A., Erwin J.P., Gentile F., Jneid H., Krieger E.V. et al. 2020 ACC/AHA guideline for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on clinical practice guidelines. *Circulation*. 2021; 143(5):e72-e227. doi:10.1161/CIR.0000000000000923

4. Pibarot P., Dumesnil J.G. Prosthetic heart valves: selection of the optimal prosthesis and long-term management. *Circulation*. 2009; 119(7):1034-1048. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.108.778886

5. Tillquist M.N., Maddox T.M. Cardiac crossroads: deciding between mechanical or bioprosthetic heart valve replacement. *Patient Preference and Adherence*. 2011; 17(5):91-99. doi:10.2147/PPA.S16420

6. Dvir D., Bourguignon T., Otto C.M., Hahn R.T., Rosenhek R., Webb J.G., Treede H., Sarano M.E. et al. Standardized definition of structural valve degeneration for surgical and transcatheter bioprosthetic aortic valves. *Circulation*. 2018; 137(4):388-399. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030729

7. Kostyunin A.E., Yuzhalin A.E., Rezvova M.A., Ovcharenko E.A., Glushkova T.V., Kutikhin A.G. Degeneration of bioprosthetic heart valves: update 2020. *Journal of the American Heart Association*. 2020; 9(19):e018506. doi:10.1161/JAHA.120.018506

8. Shetty R., Pibarot P., Audet A., Janvier R., Dagenais F., Perron J., Couture C., Voisine P., Després J.P., Mathieu P. Lipid-mediated inflammation and degeneration of bioprosthetic heart valves. *European Journal of Clinical Investigation*. 2009; 39(6):471-480. doi:10.1111/j.1365-2362.2009.02132.x

9. Simionescu A., Simionescu D.T., Deac R.F. Matrix metalloproteinases in the pathology of natural and bioprosthetic cardiac valves. *Cardiovascular Pathology*. 1996; 5(6):323-332. doi:10.1016/s1054-8807(96)00043-9

10. Ding K., Zheng C., Huang X., Zhang S., Li M., Lei Y., Wang Y. A PEGylation method of fabricating bioprosthetic heart valves based on glutaraldehyde and 2-amino-4-pentenoic acid co-cross linking with improved antithrombogenicity and

cytocompatibility. *Acta Biomaterialia*. 2022; 144:279-291. doi:10.1016/j.actbio.2022.03.026

11. Kostyunin A.E., Rezvova M.A., Glushkova T.V., Shishkova D.K., Kutikhin A.G., Akentjeva T.N., Ovcharenko E.A. Polyvinyl alcohol improves resistance of epoxy-treated bovine pericardium to calcification *in vitro*. *The Russian Journal of Transplantation*. 2023; 15(1):34-45. doi:10.23873/2074-0506-2023-15-1-34-45. (In Russian).

12. Stieglmeier F., Grab M., König F., Büch J., Hagl C., Thierfelder N. Mapping of bovine pericardium to enable a standardized acquirement of material for medical implants. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2021; 118:104432. doi:10.1016/j.jmbbm.2021.104432

13. Dalgliesh A.J., Parvizi M., Noble C., Griffiths L.G. Effect of cyclic deformation on xenogeneic heart valve biomaterials. *PLoS One*. 2019; 14(6):e0214656. doi:10.1371/journal.pone.0214656

14. Soares J.S., Feaver K.R., Zhang W., Kamensky D., Aggarwal A., Sacks M.S. Biomechanical behavior of bioprosthetic heart valve heterograft tissues: characterization, simulation, and performance. *Cardiovasc Eng Technol*. 2016; 7(4):309-351. doi:10.1007/s13239-016-0276-8

15. Shen M., Marie P., Farge D., Carpentier S., De Pollak C., Hott M., Chen L., Martinet B., Carpentier A. Osteopontin is associated with bioprosthetic heart valve calcification in humans. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III*. 1997; 320(1):49-57. doi:10.1016/s0764-4469(99)80086-9

16. Nkhwa S., Kemal E., Gurav N., Deb S. Dual polymer networks: a new strategy in expanding the repertoire of hydrogels for biomedical applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2019; 30:114. doi:10.1007/s10856-019-6316-9

17. Pazos V., Mongrain R., Tardif J.C. Polyvinyl alcohol cryogel: optimizing the parameters of cryogenic treatment using hyperelastic models. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2009; 2(5):542-549. doi:10.1016/j.jmbbm.2009.01.003

18. Tong X., Zheng J., Lu Y., Zhang Z., Cheng H. Swelling and mechanical behaviors of carbon nanotube/poly(vinyl alcohol) hybrid hydrogels. *Materials Letters*. 2007; 61(8-9):1704-1706. doi:10.1016/j.matlet.2006.07.115

19. Zheng Q., Javadi A., Sabo R., Cai Z., Gong S. Polyvinyl alcohol (PVA)-cellulose nanofibril (CNF)-multiwalled carbon nanotube (MWCNT) hybrid organic aerogels with superior mechanical properties. *RSC Advances*. 2013; 3(43):20816. doi:10.1039/c3ra42321b

Для цитирования: Костюнин А.Е., Глушкова Т.В., Клышников К.Ю., Резцова М.А., Акентьева Т.Н., Онищенко П.С., Овчаренко Е.А. Влияние циклической нагрузки на резистентность модифицированного поливинилового спиртом эпоксиобработанного бычьего перикарда к кальцификации и протеолитической деградации. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2024;13(3): 54-62. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-54-62

To cite: Kostyunin A.E., Glushkova T.V., Klyshnikov K.Yu., Rezvova M.A., Akentyeva T.N., Onishchenko P.S., Ovcharenko E.A. Impact of cyclic loading on the resistance of epoxy-treated bovine pericardium modified with polyvinyl alcohol to calcification and proteolytic degradation. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2024;13(3): 54-62. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-54-62

УДК 616.126.42-089

DOI 10.17802/2306-1278-2024-13-3-63-72

НЕРАЗРУШАЮЩИЙ МЕТОД ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ КАЛЬЦИФИКАЦИИ БИОПРОТЕЗОВ КЛАПАНОВ СЕРДЦА

К.Ю. Клышников¹, Т.В. Глушкова¹, А.Е. Костюнин¹, М.А. Резвова¹, П.С. Онищенко¹,
Т.Н. Акентьева¹, А.В. Батрагин², Е.А. Овчаренко¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002; ² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», просп. Ленина, 30, Томск, Российская Федерация, 634050

Основные положения

- Метод компьютерной микротомографии позволяет качественно и количественно оценивать структуру патологически кальцинированных участков эксплантированных биопротезов клапанов сердца.
- Метод позволяет оценить изменения конструктивных элементов биопротеза, возникшие в процессе его длительного функционирования.

Цель

Оценить возможности применения томографии высокого разрешения для эксплантированных дисфункциональных биопротезов митрального клапана с различными паттернами кальцификации (крупноочаговая и мелкофракционная) и конструктивными особенностями.

Материалы и методы

Объектами исследования стали единичные экземпляры биопротезов «ЮниЛайн» и «ПериКор», эксплантированные в результате развившейся дисфункции после 76 и 87 мес. соответственно функционирования в организме реципиентов. Исследование особенности локализации кальцификатов в структуре биопротезов проводили с помощью томографии высокого разрешения с последующей реконструкцией объемных изображений и количественным анализом рентгеноплотных участков. Дополнительно использовали световую микроскопию с окраской ализариновым красным С для детекции кальцификатов.

Результаты

Показано, что характер распределения и объем кальцинов значительно различаются между исследованными образцами: у биопротеза «ЮниЛайн» основные патологические участки располагались в материале створки и составили 21,1% объема всей биоткани, у модели «ПериКор» кальцификаты располагались диффузно мелкими структурными формированиями, занимающими суммарно 5,1% биологического материала, причем основная локализация такой минерализации приходилась на «вспомогательные» структуры протеза – обшивку, выполненную из ксеноперикарда свиньи или теленка. Помимо этого, томография высокого разрешения позволила определить степень деформации каркаса биопротеза «ЮниЛайн» с отклонением стоек кну-три на 1,1–1,4 мм.

Заключение

Показана возможность качественной и количественной оценки очагов минерализации ксеноперикардальных и ксеноаортальных биопротезов методом компьютерной микротомографии, при этом данный способ ограничен способностью выявления мелкофракционной минерализации в толще створок.

Ключевые слова

Компьютерная микротомография • Биологический протез клапана сердца • Дисфункция биопротеза • Кальцификация биоматериала • Структурная дегенерация

Поступила в редакцию: 02.04.2024; поступила после доработки: 30.04.2024; принята к печати: 22.05.2024

Для корреспонденции: Кирилл Юрьевич Клышников, klyshku@kemcardio.ru; адрес: бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Corresponding author: Kirill Yu. Klyshnikov, klyshku@kemcardio.ru; address: 6, Academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

NON-DESTRUCTIVE METHOD FOR ASSESSING THE DEGREE OF CALCIFICATION IN BIOPROSTHETIC HEART VALVES

K.Yu. Klyshnikov¹, T.V. Glushkova¹, A.E. Kostyunin¹, M.A. Rezvova¹, P.S. Onishchenko¹,
T.N. Akentyeva¹, A.V. Batranin², E.A. Ovcharenko¹

¹ Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases", 6, academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002; ² National Research Tomsk Polytechnic University, 30, Lenin Avenue, Tomsk, Russian Federation, 634050

Highlights

- Micro-computed tomography allows specialists to qualitatively and quantitatively assess the structure of calcified areas of explanted bioprosthetic heart valves.
- This method enables the evaluation of changes in the structure of the bioprosthesis that have occurred during its prolonged operation.

Aim	To evaluate the potential of high-resolution tomography for the study of mitral valve bioprostheses of different designs explanted due to dysfunction and various calcification patterns (microcalcification and macrocalcification).
Methods	Single samples of the «UniLine» and «PeriCor» bioprostheses were the objects of study, they were explanted due to dysfunction developed after 76 and 87 months of operation in recipients. The peculiarities of calcification localization in the structure of bioprostheses were studied using high-resolution tomography followed by reconstruction of volumetric images and quantitative analysis of radiodense areas. Moreover, we used light microscopy with Alizarin Red S staining to detect calcifications.
Results	The study results showed that the nature of the distribution and volume of calcinates significantly differ between the studied samples: for the «UniLine» bioprosthesis, the affected areas were located in the leaflet material and constituted 21.1% of the total biological tissue volume; for the «PeriCor» bioprosthesis, calcifications were diffusely distributed in small structural formations, accounting for a total of 5.1% of the biological material, primary localized on the «auxiliary» structures of the prosthesis – the covering made of porcine or calf xenopericardium. In addition, high-resolution tomography allowed us to determine the degree of deformation of the «UniLine» bioprosthesis frame, with the posts deviating inward by 1.1–1.4 mm.
Conclusion	The possibility of using computed microtomography for qualitative and quantitative assessment of calcified xeno-pericardial and xeno-aortal bioprostheses has been demonstrated. However, this method is limited in its ability to detect macrocalcification within the leaflet thickness.
Keywords	Computer microtomography • Bioprosthetic heart valve • Bioprosthetic valve dysfunction • Biomaterial calcification • Structural valve degeneration

Received: 02.04.2024; received in revised form: 30.04.2024; accepted: 22.05.2024

Введение

Биопротезы клапанов сердца зарекомендовали себя как эффективные и доступные медицинские изделия для лечения приобретенных клапанных пороков в России и за рубежом. Ежегодно отечественные сердечно-сосудистые хирурги имплантируют более 2 тыс. таких устройств [1], а всего в мире ожидается рост частоты биопротезирований до 850 тыс. в год (к 2050 г.) [2]. Однако проблема развивающейся дисфункции биологического материала, достигающая 19–49% случаев в срок до 15 лет [3–5], неминуемо замедляет темпы роста частоты использования биопротезов, которые обладают значительными преимуществами по сравнению с аналогами – механичес-

кими протезами [6, 7]. Ключевыми проявлениями патологических изменений компонентов биопротезов являются накопление кальция в материале (обызвествление) и нарастание соединительно тканной капсулы (паннуса) как следствия иммунного ответа организма на инородное тело-имплант [8]. Исследователями и производителями предложены различные технологии снижения иммуногенности и «приверженности» кальцификации материала биопротезов, которые призваны в конечном итоге повысить срок их службы, среди которых консерванты [9], дополнительные обработки [10], методы глубокой децелляризации и последующего заселения собственными клетками реципиента [11] и т. д.

С практической точки зрения наиболее демонстративным доказательством эффективности того или иного подхода снижения иммуногенности следует считать исследование клинических моделей после длительной имплантации – анализ состояния биопротезов, эксплантированных по причине развившейся дисфункции [12, 13]. В современной исследовательской практике уже представлен широкий набор инструментов для качественной и количественной оценки таких объектов. Гистологические исследования служат для определения микроструктурных изменений в компонентах биопротезов, иммуногистохимические и иммунофлуоресцентные методы позволяют идентифицировать клеточный состав инфильтратов, а также вещества, ингибирующие ткани протеза. Макроскопическое исследование формализует особенности распределения патологических участков и позволяет выявить закономерности их расположения [14–16]. Однако с применением данных методов невозможно воссоздать целостную картину расположения измененных областей в структуре биопротеза, так как для исследования используют только отдельные фрагменты биоматериала с признаками дегенеративных изменений. Перспективным дополнением описанных выше методов, в частности с фокусом на исследование внутренней микроструктуры, могут стать рентгенографические методы сверхвысокого разрешения, активно применяемые для неразрушающей дефектоскопии промышленных изделий [17, 18]. Возможность визуализировать рентгеноконтрастные объекты способна значительно расширить потенциал для анализа кальцинированных участков биопротезов, а высокое разрешение таких методов позволяет исследовать распределение в материале мелкозернистых диссеминированных фракций с микрометровыми размерами (10^{-3} мм). Особенно ценна способность микротомографических методов создавать не только качественную, но и количественную оценку патологических областей биопротезов. Расчет объемов, размеров и плотности кальцинированных элементов позволяет оценивать результаты долговременного функционирования различных моделей биопротезов, т. е. объективно сравнивать методы снижения их кальций-связывающей активности. Благодаря такому анализу возможно совершенствовать технологии изготовления и обработки данных изделий, что увеличивает срок их функционирования и снижает риски для пациента.

Целью настоящей работы стала оценка возможности применения томографии высокого разрешения для эксплантированных дисфункциональных биопротезов митрального клапана с различными паттернами кальцификации (крупноочаговая и мелкофракционная) и конструктивными особенностями.

Материалы и методы

Объектами исследования выбраны два биопротеза митрального клапана, которые были эксплантированы по причине развившейся дисфункции – «ЮниЛайн» и «ПериКор» (ЗАО «НеоКор», Россия) с сопоставимым сроком функционирования в организме реципиента (6 лет 4 мес. и 7 лет 3 мес. соответственно). Возраст пациентов на момент дисфункции биопротезов в обоих случаях составил 61 год. Основной мотивацией выбора двух данных образцов явился принципиально разный характер распределения областей кальцификации, определенный на этапе предварительного анализа: крупноочаговый, выраженный для модели «ЮниЛайн», и с превалированием мелких фракций – для модели «ПериКор».

Принципиальным различием данных биопротезов является материал створчатого аппарата: у модели «ЮниЛайн» каждая створка выполнена из перикардального лоскута крупного рогатого скота (рис. 1, А), у модели «ПериКор» створчатый аппарат сформирован из аортального комплекса свиньи (см. рис. 1, В). Биологический материал в обоих случаях стабилизирован диглицидиловым эфиром этиленгликоля по запатентованной технологии. Стоит отметить, что такие конструктивные решения обусловлены историческими особенностями развития биопротезов: ранние модели отечественных и иностранных протезов (1980–2000 гг.) состояли из свиного корня аорты, поздние (2000–2020 гг.) – из более технологичного ксеноперикардального лоскута [19]. Кроме того, биопротезы, используемые в исследовании, различаются сложностью опорного каркаса, что также может повлиять на применимость рассмотренного метода томографии высокого разрешения. У модели «ЮниЛайн» опорный каркас композитный, с полипропиленовой основой и обрамлением проволокой из сверхэластичного никелида титана (рентгеноконтрастного) (см. рис. 1, С), у модели «ПериКор» – однокомпонентный, состоящий только из полипропиленовой основы (см. рис. 1, D). Наконец, немаловажным различием является материал пришивной манжеты биопротезов: в модели «ЮниЛайн» это синтетический тканый материал, в модели «ПериКор» – ксеноперикардальный лоскут.

Первым этапом исследования стал макроскопический анализ дегенеративных изменений материала исследуемых биопротезов клапанов сердца с акцентом на особенность распределения кальцификации.

Неразрушающее исследование внутренней структуры биопротезов методом компьютерной микротомографии проводили на экспериментальной установке «Орел-МТ» (Томск, Россия) с разрешающей способностью 25,4 мкм. Режимы сканирования: напряжение 80 кВ, ток 48 мкА, время экс-

позиции каждой проекции 0,667 сек., число проекций 1 200 шт. Итогом томографии стал набор из 1 200 срезов в формате DICOM, на основе которых в среде Amira (Amira Software, США) реконструировали трехмерные модели биопротезов. Для оценки особенностей распределения кальцинированных областей биоматериала в зависимости от модели биопротеза использовали качественную описательную характеристику и количественные измерения объемов рентгенологически плотных участков с коррекцией на объем материала, соответствующий спектру проволочного каркаса.

Дополнительно детектирование кальцификатов проводили методом световой микроскопии. Для приготовления гистологических препаратов использовали центральную часть створок от свободного края до основания, а также участки протезов, представляющие интерес с точки зрения выявления дегенеративных изменений. Изготовление гистологических срезов толщиной 4–6 мкм осуществляли на криотоме Microm HM 525 (Thermo Scientific, Германия). Для идентификации кальцификатов на микроструктурном уровне криосрезы окрашивали ализариновым красным С. Структуру образцов изучали с использованием светового микроскопа Axio Imager.A1 (Zeiss, Германия), обработку изображений производили в программе AxioVision (Zeiss, Германия).

Результаты

Макроскопическое описание

Макроскопическая визуализация показала ряд дегенеративных изменений биологического материала биопротезов в процессе их функционирования в организме реципиента, таких как кальцификация, разрывы и перфорации. Также отмечено изменение исходной формы каркаса у биопротеза «ЮниЛайн» и формирование на его структурах паннуса с заходом на створки (рис. 2), у биопротеза «ПериКор» каркас был без видимых изменений исходной формы и без признаков паннуса.

Все биологические структуры протеза «ЮниЛайн» и паннус были с признаком массивной кальцификации. Сплошные кальцификаты были отмечены в двух створках, в одной из которых кальций расположен от основания до зоны коаптации, во второй – в комиссуральных областях с распространением до купола. В третьей створке кальцификаты присутствовали только в области комиссур и в основании мелкими конгломератами.

Створки биопротеза «ПериКор» были с утолщением в зоне коаптации, а также с разрывами и перфорациями в куполе, комиссуральной области и в свободном крае. Одна из створок имела признаки кальцификации, однако в отличие от биопротеза «ЮниЛайн» кальцификаты были относительно мелкие, разрозненные, располагались в комиссу-

альной области и не оказывали влияние на подвижность створок. Для второй створки дегенеративные изменения были в виде разрывов, при этом признаков кальцификации в данной створке не выявлено, как и в третьей, которая была без видимых дегенеративных изменений.

Обшивка каркаса у обоих видов биопротеза была с признаком кальцификации, более выраженным на верхушках стоек.

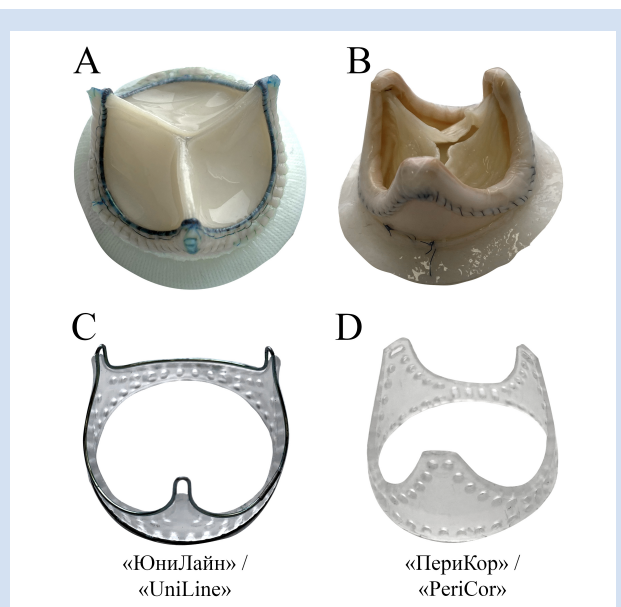


Рисунок 1. Модели биопротезов клапанов сердца, используемые в настоящем исследовании, в исходном (доимплантационном) состоянии: А – биопротез «ЮниЛайн»; В – биопротез «ПериКор»; С – композитный опорный каркас биопротеза «ЮниЛайн»; D – однокомпонентный опорный каркас биопротеза «ПериКор»

Figure 1. Bioprosthetic heart valve models used in the current study at baseline (pre-implantation): A – “UniLine” bioprosthesis; B – “PeriCor” bioprosthesis; C – composite support frame of the “UniLine” bioprosthesis; D – single-component support frame of the “PeriCor” bioprosthesis



Рисунок 2. Фотографии эксplantированных биопротезов, используемых в настоящем исследовании. Вид со стороны приточного отдела, вид со стороны выводного отдела и боковая проекция биопротезов (слева направо). Стрелками указаны: паннус у модели «ЮниЛайн», разрывы – у модели «ПериКор»

Figure 2. Photos of explanted bioprostheses used in the current study. View from the inflow section; view from the outflow section and lateral projection of the bioprostheses (from left to right). Arrows indicate: pannus for “UniLine” and ruptures for “PeriCor”

Томографическое исследование

Микротомографическая визуализация продемонстрировала выраженное накопление кальция в толще материала обоих биопротезов, однако области, в которых наблюдали наибольшее депонирование, принципиально различались. Так, у биопротеза «ЮниЛайн» основные крупные участки кальцификации были локализованы в створчатой части, при этом области расположения кальцификатов были для каждой створки индивидуальны: купол, основание и комиссуральные области (рис. 3, А, С). В то время как для биопротеза «ПериКор» рентгеноконтрастные области локализованы с элементами внешней облицовки по периметру стоек и по основанию каркаса, для одной из створок кальцификат отмечен в области комиссуры (см. рис. 3, В, D).

Накопление кальциевых депозитов различалось и количественно. Визуально видно, что у ксеноперикардиального биопротеза «ЮниЛайн» площадь кальцинированного материала больше, чем у ксеноортального «ПериКор». При оценке объемов кальцификатов относительно всего биоматериала показано, что в первом случае доля рентгеноплотных участков составила 21,1%, во втором – 5,1% общего объема биологического материала.

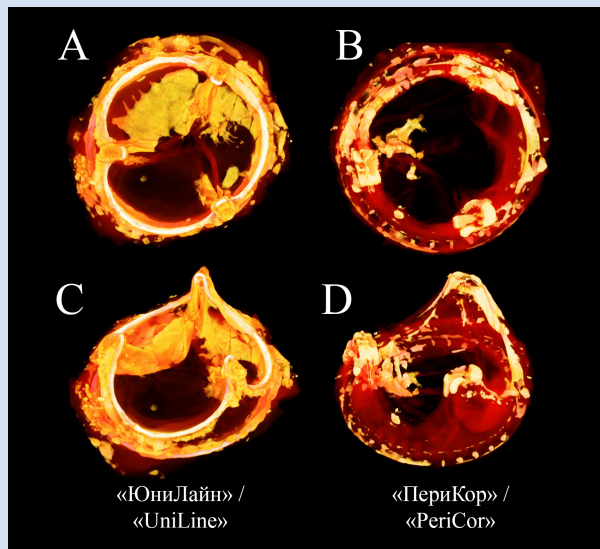


Рисунок 3. Проекция биопротезов клапанов сердца «ЮниЛайн» и «ПериКор». Рентгенологически плотные участки биопротезов соответствуют областям кальцификации. В то же время металлический каркас имеет большую электронную плотность относительно кальцификатов, что позволяет исключить его из количественного анализа. А – проекция биопротеза «ЮниЛайн» сверху; В – проекция биопротеза «ПериКор» сверху; С – изометрическая проекция «ЮниЛайн»; D – изометрическая проекция «ПериКор»

Figure 3. Projections of the “UniLine” and “PeriCor” bioprosthetic heart valves. Radiopaque areas of the bioprostheses correspond to calcification regions. At the same time, the metallic frame has a higher electron density compared to the calcifications, which allows it to be excluded from quantitative analysis. A – top projection of the “UniLine” bioprosthesis; B – top projection of the “PeriCor” bioprosthesis; C – isometric projection of the “UniLine” bioprosthesis; D – isometric projection of the “PeriCor” bioprosthesis

Кроме того, показано, что у биопротеза «ЮниЛайн» кальцификация носит крупноочаговый характер и расположена сплошным массивом, у модели «ПериКор» патологическая минерализация представлена в основном мелкими фракциями. Количественно данная характеристика выражена распределением размеров частиц кальцификатов: для модели «ЮниЛайн» данный показатель составил 0,014 [25%: 0,0016; 75%: 0,15]: минимальное значение $1,6 \times 10^{-5}$, максимальное – $33,68 \text{ мм}^3$; для биопротеза «ПериКор» – 0,009 [25%: 0,00015; 75%: 0,013]: минимальное значение $1,6 \times 10^{-5}$, максимальное – $9,6 \text{ мм}^3$. Минимальный размер области кальция, которая была зафиксирована в исследовании, $1,6 \times 10^{-5} \text{ мм}^3$, максимальный – $33,68 \text{ мм}^3$.

Отдельно стоит отметить изменение формы биопротеза «ЮниЛайн», которое наглядно продемонстрировано в проекции «сверху» (см. рис. 3, А). Исходно устройство имеет круглую форму (рис. 4), которая в результате функционирования в настоящем случае изменилась на овальную за счет некоторой механической компрессии. При этом комиссуральные стойки отклонились в сторону просвета на 1,1–1,4 мм (см. рис. 4, D).

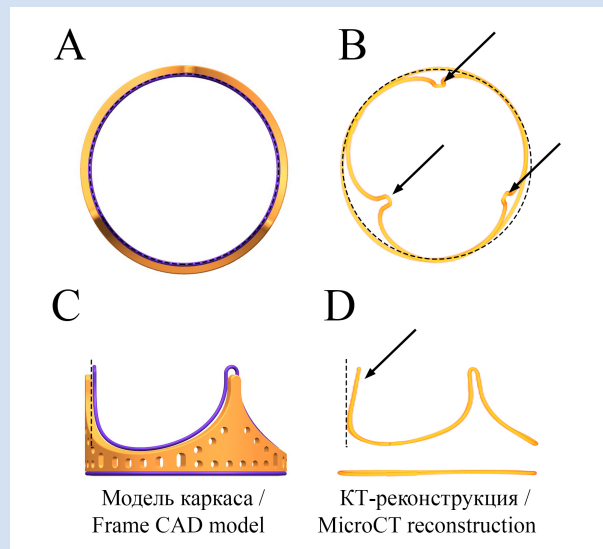


Рисунок 4. Визуализация геометрии биопротеза «ЮниЛайн» исходно и после дисфункции: А – трехмерная модель композитного опорного каркаса (вид сверху); В – томографические данные, визуализация проволоочной компоненты опорного каркаса эксplantированного протеза (вид сверху), пунктирной линией обозначен исходный контур каркаса. Вершины стоек каркаса отклонены к центру; С – трехмерная модель композитного каркаса (вид сбоку); D – томографические данные по проволочному каркасу эксplantированного биопротеза (вид сбоку)

Figure 4. Visualization of the geometry of the “UniLine” bioprosthesis, at baseline and post-dysfunction: A – Three-dimensional model of the composite support frame (top view); B – Tomographic data, visualization of the wire component of the support frame of the explanted prosthesis (top view). The dotted line indicates the original contour of the frame. The tops of the frame posts are deflected towards the center; C – Three-dimensional model of the composite frame (side view); D – Tomographic data of the wire frame of the explanted bioprosthesis (side view)

Гистологическое исследование

На микроструктурном уровне выявлены кальцификаты в участках биоматериала, отмеченных при макроописании и методом томографии высокого разрешения как свободные от кальцификации (рис. 5). Данные кальцификаты не были объединены в единый конгломерат и представляли собой разрозненное скопление кальцификатов размеров не более 10 мкм. Данные кальцификаты не были солокализованы с крупными, что указывает на непрерывный процесс формирования кальцификатов.

Обсуждение

Исследование дисфункции биопротезов клапанов сердца является ценным инструментом для понимания структурных изменений и причин выхода из строя данных изделий, прежде всего с прикладной позиции. Паннус и кальцификация привели к стенозирующему эффекту за счет ограничения подвижности створчатого аппарата у биопротеза «ЮниЛайн», разрывы створчатого аппарата «ПериКор» стали причиной его несостоятельности. В целом указанные изменения привели к необходимости репротезирования данных биопротезов. Оптимизация конструкций, материалов и методов имплантации тем более эффективна, чем детальнее удастся изучить клинические образцы и установить основные закономерности и триггеры развития дегенеративных изменений, приводящих к нарушению их функции. Представленный метод наглядно демонстрирует на примере двух принципиально разных конструкций биопротезов возможность не только качественного, что характерно для классических описательных подходов, но и количественного исследования. При таком подходе возможно сравнивать различные конструктивные решения, материалы и геоме-

трические особенности протезов на основе числовых измерений, а не субъективных наблюдений. В настоящем исследовании наглядно продемонстрировано, что при такой оценке выбранный экземпляр биопротеза «ЮниЛайн» значительно больше подвергся накоплению патологических участков кальция, чем модель «ПериКор». При этом представлена количественная оценка такого различия: 21,1 против 5,1% объема всей ткани соответственно оказалось минерализовано. Безусловно, такое заключение несистемно, т. к. получено на малой выборке, однако уже лишено субъективности описательных методик.

При этом такая количественная оценка может быть дана не для всех патологических изменений – ожидаемо, метод томографии имеет границы применимости, которые определены прежде всего разрешающей способностью. В настоящем исследовании нам удалось получить минимальный размер пикселя изображения, равный 25,4 мкм (0,0254 мм), что и обусловило минимальный размер кальцификата, который можно распознать на изображении – куб со стороной 25,4 мкм. Безусловно, такая разрешающая способность превосходит все клинически используемые методы визуализации в десятки раз – так, компьютерная томография сверхвысокого разрешения достигает 0,25 мм [20], т. е. в 10 раз меньшей точности. Более распространенные томографы позволяют получать изображение с еще меньшим разрешением – 0,5–0,625 мм [21], т. е. в 20–25 раз более низкого качества. Однако, как мы показываем по результатам гистологических исследований, в материале створки присутствуют более мелкие элементы кальцификации, которые не могут быть определены томографией высокого разрешения. Таким образом, рассмотренный метод не универсален и является только дополнением для уже зарекомендовавших себя подходов – гистологического исследования. В совокупности методы световой микроскопии и томографии высокого разрешения, дополняя друг друга, дают более полную картину распределения кальцификатов.

Второй особенностью неразрушающих методов анализа (томографии высокого разрешения) является возможность получать и исследовать внутреннюю структуру конструкции, компонентов изделий, их геометрию. Мы наглядно демонстрируем такую особенность на примере изменения формы опорного каркаса биопротеза «ЮниЛайн», отклонившего комиссуральные стойки кнутри в процессе функционирования. Только примененный томографический метод высокого разрешения дает возможность получить трехмерную модель объекта и сравнить ее с исходной (спроектированной) геометрией изделия для измерения различий и искажений (рис. 6). Благодаря такому

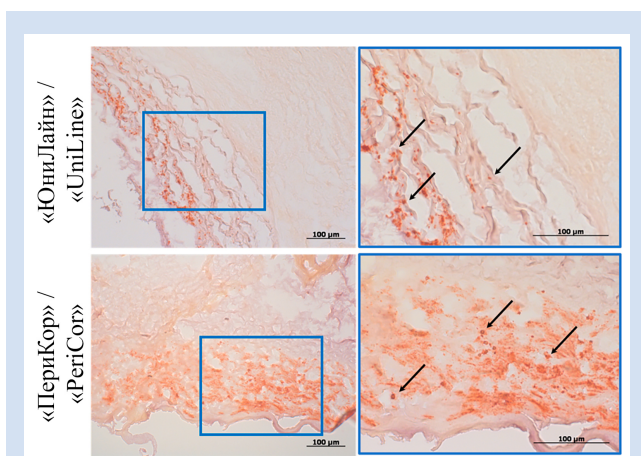


Рисунок 5. Микроструктура створок биопротезов «ЮниЛайн» и «ПериКор», окраска ализариновым красным С. Стрелками указаны сформированные микрокальцификаты

Figure 5. Microstructure of the leaflets of the “UniLine” and “PeriCor” bioprostheses, stained with Alizarin Red S. Examples of formed microcalcifications are indicated by arrows

разрешению сканирования удалось четко визуализировать тонкостенные элементы опорного каркаса – проволочную компоненту, изготовленную из проволоки толщиной 0,48 мм. Такие размеры недоступны большинству исследовательских и тем более клинических томографов, разрешение которых достигает только 0,5–0,625 мм [21]. При этом информация об искажениях геометрии протезов может быть важной для определения путей оптимизации конструкции.

При расширении выборки могут быть выявлены некие закономерности дегенеративных или деформационных изменений каркаса, характерных для сравниваемых моделей биопротезов, что в дальнейшем позволит разработчикам вносить корректировку в ту или иную модель для увеличения сроков их функционирования либо учитывать полученные данные при создании новых моделей биопротезов клапанов сердца.

Ограничения исследования

Наиболее очевидным ограничением настоящего исследования является объем выборок. Мы демонстрируем эффективность и возможности метода компьютерной микротомографии только на двух образцах патологически измененных биопротезов, поэтому делать системные выводы о различиях кальций-связывающего потенциала и/или недостатках той или иной конструкции и материала неправомерно. Дисфункция биопротеза клапана сердца (как и ее частный случай кальцификация) – комплексный процесс [22, 23], на скорость, объем и локализацию которого оказывает влияние значительное количество факторов, которые в настоящей

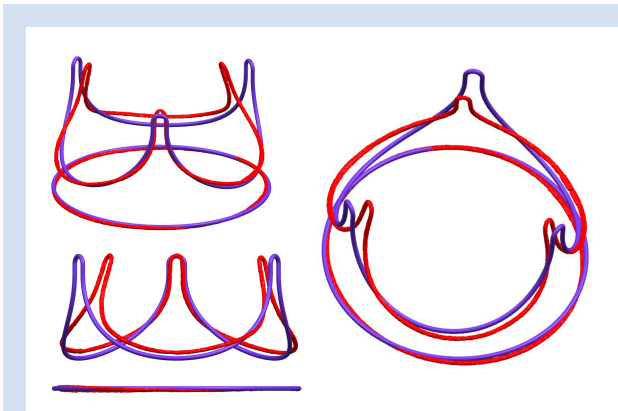


Рисунок 6. Совмещение двух моделей проволочного компонента опорного каркаса биопротеза «ЮниЛайн» – исходной формы при проектировании (фиолетовый) и реконструированной модели эксплантированного биопротеза (красный) – в различных проекциях. Стойки протеза после длительного пребывания в организме пациента деформированы радиально во внутрь

Figure 6. Alignment of two models of the wire component of the support frame of the “UniLine” bioprosthesis – the original design shape (purple) and the reconstructed model of the explanted bioprosthesis (red), in various projections. It is evident that after a prolonged operation in the patient’s body, the stents of the prosthesis are radially deformed inward

работе не сбалансированы между образцами. Только более системные исследования значительных выборок могут дать строгий ответ об особенностях патологической минерализации разных поколений и моделей биопротезов. Однако для демонстрации универсальности метода компьютерной микротомографии, ее способности получать качественную и количественную оценку объемов патологических участков, ее апробирование на единичных образцах, значительно различающихся конструктивно, является наглядным.

Заключение

Настоящее исследование продемонстрировало возможность качественной и количественной оценки очагов минерализации ксеноперикардальных и ксеноаортальных биопротезов методом компьютерной микротомографии, при этом данный подход ограничен способностью выявления мелкофракционной минерализации в толще створок, которая может быть успешно выявлена с использованием гистологии. Тем не менее явным преимуществом метода следует считать возможность исследования и оценки деформации таких конструктивно сложных устройств, как протезы с композитным металломсодержащим опорным каркасом.

Конфликт интересов

К.Ю. Клышников заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.В. Глушкова заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Е. Костюнин заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.А. Резвова заявляет об отсутствии конфликта интересов. П.С. Онищенко заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.Н. Акентьева заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.В. Батрагин заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.А. Овчаренко заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Результаты получены при поддержке Российской Федерации в лице Министерства науки и высшего образования РФ в рамках Соглашения о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий от 30 сентября 2022 г. № 075-15-2022-1202, комплексной научно-технической программы полного инновационного цикла «Разработка и внедрение комплекса технологий в областях разведки и добычи твердых полезных ископаемых, обеспечения промышленной безопасности, биоремедиации, создания новых продуктов глубокой переработки из угольного сырья при последовательном снижении экологической нагрузки на окружающую среду и рисков для жизни населения» (утвержденной распоряжением Правительства Российской Федерации от 11 мая 2022 г. № 1144-р).

Информация об авторах

Клышников Кирилл Юрьевич, кандидат медицинских наук научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-3211-1250

Глушкова Татьяна Владимировна, кандидат биологических наук старший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-4890-0393

Костюнин Александр Евгеньевич, кандидат биологических наук научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-6099-0315

Резвова Мария Александровна, младший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4405-8904

Онищенко Павел Сергеевич, младший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-2404-2873

Акентьева Татьяна Николаевна, младший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0033-9376

Батранин Андрей Викторович, кандидат технических наук ведущий инженер российско-китайской научной лаборатории радиационного контроля и досмотра федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», Томск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-9678-2905

Овчаренко Евгений Андреевич, кандидат технических наук заведующий лабораторией новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-7477-3979

Вклад авторов в статью

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

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

Author Information Form

Klyshnikov Kirill Yu., PhD, Researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3211-1250

Glushkova Tatyana V., PhD, Senior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases», Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-4890-0393

Kostyunin Alexander E., PhD, Researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-6099-0315

Rezvova Maria A., Junior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4405-8904

Onishchenko Pavel S., Junior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases», Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-2404-2873

Akentyeva Tatyana N., Junior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0033-9376

Batranin Andrey V., PhD, Leading Engineer, Russian-Chinese Laboratory of Radiation Monitoring and Inspection, National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-9678-2905

Ovcharenko Evgeny A., PhD, Head of the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-7477-3979

Author Contribution Statement

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бокерия Л.А., Милюевская Е.Б., Кудзоева З.Ф., Прянишников В.В., Скопин А.И., Юрлов И.А. Сердечно-сосудистая хирургия – 2018. Болезни и врожденные аномалии системы кровообращения. Москва: ФГБУ «НМИЦССХ им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ; 2019. 270 р.
2. Li K.Y.C. Bioprosthetic Heart Valves: Upgrading a 50-Year Old Technology. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2019; 6. doi:10.3389/fcvm.2019.00047
3. Foroutan F., Guyatt G.H., O'Brien K., Bain E., Stein M., Bhagra S., Sit D., Kamran R., Chang Y., Devji T., Mir H., Manja V., Schofield T., Siemieniuk R.A., Agoritsas T., Bagur R., Otto C.M., Vandvik P.O. Prognosis after surgical replacement with a bioprosthetic aortic valve in patients with severe symptomatic aortic stenosis: systematic review of observational studies. *BMJ (Clinical research ed.)*. 2016; 354: i5065. doi:10.1136/bmj.i5065
4. Одаренко Ю.Н., Рутковская Н.В., Рогулина Н.В., Сташев А.Н., Кокорин С.Г., Каган Е.С., Барбараш Л.С. Анализ 23-летнего опыта использования ксеноаортальных энтокси-обработанных биопротезов в хирургии митральных пороков сердца. Исследование факторов реципиента с позиций влияния на развитие кальциевой дегенерации. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2015; (4): 17–25. doi:10.17802/2306-1278-2015-4-17-25
5. Рогулина Н.В., Одаренко Ю.Н., Журавлева И.Ю., Барбараш Л.С. Отдаленные результаты применения механических и биологических протезов у пациентов различных возрастов. *Медицина и образование в Сибири*. 2014; (3): 47.
6. Федоров С.А., Чигинев В.А., Журко С.А., Гамзаев А.Б., Медведев А.П. Клинические и гемодинамические результаты использования различных моделей биологических протезов для коррекции сенильных пороков аортального клапана. *Современные технологии в медицине*. 2016; 8(4): 292–296.
7. Dangas G.D., Weitz J.I., Giustino G., Makkar R., Mehran R. Prosthetic Heart Valve Thrombosis. *Journal of the American College of Cardiology*. United States; 2016; 68(24): 2670–2689. doi:10.1016/j.jacc.2016.09.958
8. Костонин А.Е., Овчаренко Е.А., Клышников К.Ю. Современное понимание механизмов структурной дегенерации биопротезов клапанов сердца. *Российский кардиологический журнал*. 2018; (11): 145–152. doi:10.15829/1560-4071-2018-11-145-152
9. Zhuravleva I.Y., Karpova E. V., Oparina L.A., Poveschenko O. V., Surovtseva M.A., Titov A.T., Ksenofontov A.L., Vasilieva M.B., Kuznetsova E. V., Bogachev-Prokophiev A. V., Trofimov V.A. Cross-linking method using pentaepoxide for improving bovine and porcine bioprosthetic pericardia: A multiparametric assessment study. *Materials Science and Engineering: C*. 2021; 118: 111473. doi:10.1016/j.msec.2020.111473
10. Danilov V. V., Klyshnikov K.Y., Gerget O.M., Skirnevsky I.P., Kutikhin A.G., Shilov A.A., Ganyukov V.I., Ovcharenko E.A. Aortography Keypoint Tracking for Transcatheter Aortic Valve Implantation Based on Multi-Task Learning. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2021; 8: 699. doi:10.3389/fcvm.2021.697737
11. VeDepo M.C., Detamore M.S., Hopkins R.A., Converse G.L. Recellularization of decellularized heart valves: Progress toward the tissue-engineered heart valve. *Journal of Tissue Engineering*. 2017; 8: 204173141772632. doi:10.1177/2041731417726327
12. Miclăuș T., Valla V., Koukoura A., Nielsen A.A., Dahlerup B., Tsianos G.-I., Vassiliadis E. Impact of Design on Medical Device Safety. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science*. 2020; 54(4): 839–849. doi:10.1007/s43441-019-00022-4
13. Joung Y.-H. Development of Implantable Medical Devices: From an Engineering Perspective. *International Neurology Journal*. 2013; 17(3): 98. doi:10.5213/inj.2013.17.3.98
14. Gellis L., Baird C.W., Emani S., Borisuk M., Gauvreau K., Padera R.F., Sanders S.P. Morphologic and histologic findings in bioprosthetic valves explanted from the mitral position in children younger than 5 years of age. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2018; 155(2): 746–752. doi:10.1016/j.jtcvs.2017.09.091
15. Lepidi H., Casalta J.-P., Fournier P.-E., Habib G., Collart F., Raoult D. Quantitative Histological Examination of Bioprosthetic Heart Valves. *Clinical Infectious Diseases*. 2006; 42(5): 590–596. doi:10.1086/500135
16. Uchasova E., Barbarash O., Rutkovskaya N., Hryachkova O., Gruzdeva O., Ponasenko A., Kondyukova N., Odarenko Y., Barbarash L. Impact of recipient-related factors on structural dysfunction of xenoaortic bioprosthetic heart valves. *Patient Preference and Adherence*. 2015; 9: 389. doi:10.2147/PPA.S76001
17. Hamdi S.E., Delisée C., Malvestio J., Da Silva N., Le Duc A., Beaugrand J. X-ray computed microtomography and 2D image analysis for morphological characterization of short lignocellulosic fibers raw materials: A benchmark survey. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*. 2015; 76: 1–9. doi:10.1016/j.compositesa.2015.04.019
18. Markl D., Zeitler J.A., Rasch C., Michaelsen M.H., Müllertz A., Rantanen J., Rades T., Bøtker J. Analysis of 3D Prints by X-ray Computed Microtomography and Terahertz Pulsed Imaging. *Pharmaceutical Research*. 2017; 34(5): 1037–1052. doi:10.1007/s11095-016-2083-1
19. Орловский П.И., Гриценко В.В., Юхнев А.Д., Евдокимов С.В., Гавриленко В.И. Искусственные клапаны сердца. СПб.: ЗАО «Олма-медиа групп»; 2007. 448с.
20. Gondim Teixeira P.A., Villani N., Ait Idir M., Germain E., Lombard C., Gillet R., Blum A. Ultra-high resolution computed tomography of joints: practical recommendations for acquisition protocol optimization. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*. 2021; 11(10): 4287–4298. doi:10.21037/qims-21-217
21. Lin E., Alessio A. What are the basic concepts of temporal, contrast, and spatial resolution in cardiac CT? *Journal of Cardiovascular Computed Tomography*. 2009; 3(6): 403–408. doi:10.1016/j.jcct.2009.07.003
22. Барбараш Л.С., Рогулина Н.В., Рутковская Н.В., Ов-

чаренко Е.А. Механизмы развития дисфункций биологических протезов клапанов сердца. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2018; 7(2): 10–24. doi:10.17802/2306-1278-2018-7-2-10-24

23. Барбараш Л.С., Борисов В.В., Рутковская Н.В., Бураго

А.Ю., Одаренко Ю.Н., Стасев А.Н., Кокорин С.Г., Журавлева И.Ю. Клинико-морфологическое исследование причин дисфункций эпоксиобработанных ксеноаортальных биопротезов в митральной позиции. Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2014; 7(4): 84–86.

REFERENCES

1. Bokeriya L.A., Milievskaya E.B., Kudzoeva Z.F., Pryanishnikov V.V., Scopin A.I., Yurlov I.A. Serdechnosudistaya khirurgiya – 2018. Bolezni i vrozhdennye anomalii sistemy krovoobrashcheniya. Moscow: NMITSSKh im. A.N. Bakuleva MZ RF; 2018. 270p. (In Russian)

2. Li K.Y.C. Bioprosthetic Heart Valves: Upgrading a 50-Year Old Technology. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2019; 6. doi:10.3389/fcvm.2019.00047

3. Foroutan F., Guyatt G.H., O'Brien K., Bain E., Stein M., Bhagra S., Sit D., Kamran R., Chang Y., Devji T., Mir H., Manja V., Schofield T., Siemieniuk R.A., Agoritsas T., Bagur R., Otto C.M., Vandvik P.O. Prognosis after surgical replacement with a bioprosthetic aortic valve in patients with severe symptomatic aortic stenosis: systematic review of observational studies. *BMJ (Clinical research ed.)*. 2016; 354: i5065. doi:10.1136/bmj.i5065

4. Odarenko Yu.N., Rutkovskaya N.V., Rogulina N.V., Stasev A.N., Kokorin S.G., Kagan E.S., Barbarash L.S. Analysis of 23-year experience epoxy treated xenoaortic bioprosthesis in surgery mitral heart disease. Research factors of recipients by positions of influence on the development of calcium degeneration. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2015; (4): 17–25. doi:10.17802/2306-1278-2015-4-17-25. (In Russian)

5. Rogulina N.V., Odarenko Yu.N., Zhuravleva I.Yu., Barbarash L.S. Remote results of application of mechanical and biological prostheses at patients of various age. *Medicine and education in Siberia*. 2014; (3): 47. (In Russian)

6. Fedorov S.A., Chiginev V.A., Zhurko S.A., Gamzaev A.B., Medvedev A.P. Clinical and hemodynamic results of applying different biological prosthesis models for correction of calcific aortic valve disease. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2016; 8(4): 292-296. (In Russian)

7. Dangas G.D., Weitz J.L., Giustino G., Makkar R., Mehran R. Prosthetic Heart Valve Thrombosis. *Journal of the American College of Cardiology*. United States; 2016; 68(24): 2670–2689. doi:10.1016/j.jacc.2016.09.958

8. Kostyunin A.E., Ovcharenko E.A., Klyshnikov K.Y. Modern understanding of mechanisms of bioprosthetic valve structural degeneration: a literature review. *Russian Journal of Cardiology*. 2018; (11): 145–152. doi:10.15829/1560-4071-2018-11-145-152 (In Russian)

9. Zhuravleva I.Y., Karpova E. V., Oparina L.A., Poveschenko O. V., Surovtseva M.A., Titov A.T., Ksenofontov A.L., Vasilev M.B., Kuznetsova E. V., Bogachev-Prokophiev A. V., Trofimov B.A. Cross-linking method using pentaepoxide for improving bovine and porcine bioprosthetic pericardia: A multiparametric assessment study. *Materials Science and Engineering: C*. 2021; 118: 111473. doi:10.1016/j.msec.2020.111473

10. Danilov V. V., Klyshnikov K.Y., Gerget O.M., Skirnevsky I.P., Kutikhin A.G., Shilov A.A., Ganyukov V.I., Ovcharenko E.A. Aortography Keypoint Tracking for Transcatheter Aortic Valve Implantation Based on Multi-Task Learning. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2021; 8: 699. doi:10.3389/fcvm.2021.697737

11. VeDepo M.C., Detamore M.S., Hopkins R.A., Converse G.L. Recellularization of decellularized heart valves: Progress toward the tissue-engineered heart valve. *Journal of Tissue Engineering*.

2017; 8: 204173141772632. doi:10.1177/2041731417726327

12. Miclăuş T., Valla V., Koukoura A., Nielsen A.A., Dahlerup B., Tsianos G.-I., Vassiliadis E. Impact of Design on Medical Device Safety. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science*. 2020; 54(4): 839–849. doi:10.1007/s43441-019-00022-4

13. Joung Y.-H. Development of Implantable Medical Devices: From an Engineering Perspective. *International Neurology Journal*. 2013; 17(3): 98. doi:10.5213/inj.2013.17.3.98

14. Gellis L., Baird C.W., Emani S., Borisuk M., Gauvreau K., Padera R.F., Sanders S.P. Morphologic and histologic findings in bioprosthetic valves explanted from the mitral position in children younger than 5 years of age. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2018; 155(2): 746–752. doi:10.1016/j.jtcvs.2017.09.091

15. Lepidi H., Casalta J.-P., Fournier P.-E., Habib G., Collart F., Raoult D. Quantitative Histological Examination of Bioprosthetic Heart Valves. *Clinical Infectious Diseases*. 2006; 42(5): 590–596. doi:10.1086/500135

16. Uchasova E., Barbarash O., Rutkovskaya N., Hryachkova O., Gruzdeva O., Ponasenko A., Kondyukova N., Odarenko Y., Barbarash L. Impact of recipient-related factors on structural dysfunction of xenoaortic bioprosthetic heart valves. *Patient Preference and Adherence*. 2015; 9: 389. doi:10.2147/PPA.S76001

17. Hamdi S.E., Delisée C., Malvestio J., Da Silva N., Le Duc A., Beaugrand J. X-ray computed microtomography and 2D image analysis for morphological characterization of short lignocellulosic fibers raw materials: A benchmark survey. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*. 2015; 76: 1–9. doi:10.1016/j.compositesa.2015.04.019

18. Markl D., Zeitler J.A., Rasch C., Michaelsen M.H., Müllertz A., Rantanen J., Rades T., Bøtker J. Analysis of 3D Prints by X-ray Computed Microtomography and Terahertz Pulsed Imaging. *Pharmaceutical Research*. 2017; 34(5): 1037–1052. doi:10.1007/s11095-016-2083-1

19. Orlovsky P.I., Gritsenko V.V., Yukhnev A.D., Evdokimov S.V., Gavrilenko V.I. Artificial heart valves. Saint Petersburg: JSC 'Olma-media group'; 2007. 448p. (In Russian)

20. Gondim Teixeira P.A., Villani N., Ait Idir M., Germain E., Lombard C., Gillet R., Blum A. Ultra-high resolution computed tomography of joints: practical recommendations for acquisition protocol optimization. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*. 2021; 11(10): 4287–4298. doi:10.21037/qims-21-217

21. Lin E., Alessio A. What are the basic concepts of temporal, contrast, and spatial resolution in cardiac CT? *Journal of Cardiovascular Computed Tomography*. 2009; 3(6): 403–408. doi:10.1016/j.jcct.2009.07.003

22. Barbarash L.S., Rogulina N.V., Rutkovskaya N.V., Ovcharenko E.A. Mechanisms underlying bioprosthetic heart valve dysfunctions. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2018;7(2):10-24. doi:10.17802/2306-1278-2018-7-2-10-24. (In Russian)

23. Barbarash L.S., Borisov V.V., Rutkovskaya N.V., Burago A.Yu., Odarenko Yu.N., Stasev A.N., Kokorin S.G., Zhuravleva I.Yu. Clinical and morphological study of epoxy-treated xenoaortic bioprostheses dysfunctions in mitral position. *Cardiology and cardiovascular surgery*. 2014; 7(4): 84–86. (In Russian)

Для цитирования: Клышников К.Ю., Глушкова Т.В., Костюнин А.Е., Резцова М.А., Онищенко П.С., Акентьева Т.Н., Батрагин А.В., Овчаренко Е.А. Неразрушающий метод оценки степени кальцификации биопротезов клапанов сердца. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2024;13(3): 63-72. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-63-72

To cite: Klyshnikov K.Yu., Glushkova T.V., Kostyunin A.E., Rezvova M.A., Onishchenko P.S., Akentyeva T.N., Batrugin A.V., Ovcharenko E.A. Non-destructive method for assessing the degree of calcification in bioprosthetic heart valves. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2024;13(3): 63-72. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-63-72

УДК 616-77

DOI 10.17802/2306-1278-2024-13-3-73-82

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОМПОЗИТНЫХ ПОКРЫТИЙ ТИТАНОВОГО МАТРИКСА НА ОСТЕОГЕННУЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫХ КЛЕТОК АОРТАЛЬНОГО КЛАПАНА ЧЕЛОВЕКА

Н.В. Боярская^{1,2}, О.С. Качанова¹, А.А. Шишкова¹, В.Е. Успенский¹, А.А. Филиппов¹,
Д.С. Толпыгин¹, А.А. Лобов^{2,3}, А.Б. Малашичева^{1,2,3}

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

Основные положения

• В работе использованы титановые подложки с различными композитными покрытиями. Задачей исследования было изучить методику и оценить влияние покрытий на индукцию остеогенной дифференцировки в интерстициальных клетках аортального клапана человека.

Актуальность	Кальцинирующий аортальный стеноз занимает третье место среди сердечно-сосудистых заболеваний и поражает до 10% населения к 80 годам жизни. Единственным доступным лечением аортального стеноза является протезирование аортального клапана. В связи с этим крайне важным представляется разработка таких искусственных материалов для протезов аортального клапана, которые были бы максимально биосовместимы, химически инертны, не тромбогенны, не вызывали иммунных реакций и не имели проостеогенного эффекта.
Цель	Изучение влияния различных композитных покрытий на титановой основе на индукцию остеогенных процессов в интерстициальных клетках аортального клапана человека и анализ методики экспресс-диагностики искусственных материалов имплантатов.
Материалы и методы	В исследовании изучены титановые образцы с тремя различными покрытиями. Произведено культивирование интерстициальных клеток аортального клапана на изучаемых материалах; с помощью метода ПЦР в реальном времени проанализирован уровень изменения экспрессии остеогенных маркеров <i>RUNX2</i> , <i>COL1a1</i> , <i>ALP</i> под влиянием остеогенных стимулов, а также выполнены окраска ализариновым красным и спектрофотометрический анализ окраски для определения количества кальцификатов в клетках. Оценены методы получения РНК, проведен спектрофотометрический анализ образцов, культивируемых на искусственных материалах.
Результаты	Выбран оптимальный способ выделения РНК за счет использования поли-а-хвоста и отработан протокол абсорбции кальцификатов с композитных материалов. Отмечено разнонаправленное изменение экспрессии генов <i>RUNX2</i> , <i>ALP</i> , <i>COL1a1</i> в клетках, культивируемых на титановых образцах с покрытиями, по сравнению с контрольными образцами. Интенсивность экспрессии различалась в зависимости от типа покрытий, эти данные коррелировали с интенсивностью окраски ализарином. Таким образом, разные типы покрытий по-разному влияли на процессы остеогенной дифференцировки в клетках.
Заключение	Длительность экспресс диагностики составила 21 день и включала в себя исследование экспрессии генов маркеров остеодифференцировки на временной точке 96 ч и окраску ализариновым красным на 21-й день с момента запуска остеодифференцировки. Различные полимерные покрытия влияли на

Для корреспонденции: Надежда Владимировна Боярская, nad.vb@yandex.ru; адрес: ул. Акkuratова, 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341

Corresponding author: Nadezhda V. Boyarskaya, nad.vb@yandex.ru; address: 2, Akkuratova St., St. Petersburg, Russian Federation, 197341

остеогенную дифференцировку. Установлено, что все исследованные покрытия не могут быть рекомендованы для протезов клапанов, их целесообразно применять для усиления остеогенных процессов.

Ключевые слова

Кальций-фосфатные покрытия • Композиты • Искусственные аортальные клапаны • Интерстициальные клетки аортального клапана • RUNX2 • Остеогенная дифференцировка

Поступила в редакцию: 01.04.2024; поступила после доработки: 30.04.2024; принята к печати: 23.05.2024

THE EFFECT OF VARIOUS COMPOSITE COATINGS OF TITANIUM MATRIX ON OSTEOGENIC DIFFERENTIATION OF INTERSTITIAL CELLS OF THE HUMAN AORTIC VALVE

N.V. Boyarskaya^{1,2}, O.S. Kachanova¹, A.A. SHishkova¹, V.E. Uspenskij¹, A.A. Filippov¹, D.S. Tolpygin¹, A.A. Lobov^{2,3}, 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, 2, Akkuratova St., St. Petersburg, Russian Federation, 197341; ² Federal State Budgetary Institution of Science "Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences", 4, Tikhoretsky Ave., St. Petersburg, Russian Federation, 194064; ³ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "St. Petersburg State University", 7/9, Universitetskaya nab., St. Petersburg, Russian Federation, 199034

Highlights

- The study involves experiments with titanium substrates with various composite coatings. The aim of the study was to assess different methods of diagnostics of artificial implant materials and evaluate the effect of coatings on osteogenic differentiation in interstitial cells of the human aortic valve.

Background

Currently, the only medical treatment for aortic stenosis is aortic valve replacement. At the same time, calcific aortic stenosis is the third most prevalent cardiovascular disease that affects up to 10% of the population by the age of 80. In this regard, it is important to develop materials for aortic valve prostheses that would be highly biocompatible, chemically stable, non-thrombogenic, non-immunogenic and non-osteogenic.

Aim

To assess the impact of composite coatings of titanium bases on osteogenic differentiation of valve's interstitial cells and to analyze the methods of express diagnostics of artificial implant materials.

Methods

The study examined titanium samples with three different coatings. The interstitial cells of the aortic valve were cultured on the studied materials. Using the PCR-RT method, the level of changes in the expression of osteogenic markers *RUNX2*, *COL1a1*, *ALP* under the influence of osteogenic stimuli was analyzed. To determine the level of calcification in cells, we stained the samples with alizarin red and conducted spectrophotometric analysis. Several RNA isolation methods were evaluated.

Results

The most optimal RNA isolation method involves the use of a poly(A) tails. Moreover, we developed a protocol for the absorption of calcium from composite materials. We noted multidirectional changes in the expression of *RUNX2*, *ALP*, and *COL1a1* genes in cells cultured on coated titanium samples compared to controls. The intensity of expression differed depending on the type of coatings; these data correlated with the intensity of staining with alizarin. Thus, different types of coatings affect the processes of osteogenic differentiation in cells in different ways.

Conclusion

The duration of express diagnostics was 21 days and included the study of gene expression of osteodifferentiation markers at a time point of 96 hours and staining with alizarin red on day 21 from the start of osteodifferentiation. It has been established that polymer coatings affect osteogenic differentiation, however, all the studied coatings cannot be recommended for valve prostheses, it is advisable to use them to enhance osteogenic processes.

Keywords

Calcium phosphate coatings • Composites • Artificial aortic valves • Aortic valve interstitial cells • RUNX2 • Osteogenic differentiation

Received: 01.04.2024; received in revised form: 30.04.2024; accepted: 23.05.2024

Список сокращений

ИК – интерстициальные клетки аортального клапана человека

ЭК – эндотелиальные клетки аортального клапана человека

Введение

На сегодняшний день в мире лидирует смертность от сердечно-сосудистых заболеваний, среди которых третье место занимает кальцинированный аортальный стеноз [1]. При аортальном стенозе происходит активная кальцификация ткани аортального клапана. На текущий момент единственный способ продлить жизнь пациенту с аортальным стенозом – выполнить протезирование клапана сердца [2–5].

В норме аортальный клапан состоит из трех створок. Каждая створка включает три слоя: эндотелиальные клетки (ЭК), интерстициальные клетки (ИК) и снова ЭК. Согласно результатам исследований, что минерализации подвергаются в основном ИК аортального клапана человека [6, 7]. Однако и ЭК створок клапана принимают активное участие в минерализации [8–11].

Минерализация и прогрессирующий фиброз клапана схожи с атеросклеротическим процессом. Заболевание развивается в несколько этапов: начинается с разрушения эндотелиального слоя, реорганизации матрикса клапана, его утолщения, которое сопровождается стерильным воспалением, и завершается кальцификацией тканей и потерей эластичности, вследствие чего нарушается кровоток и образуется аортальный стеноз с клиническими проявлениями [12–16]. Молекулярные основы аортального стеноза изучают давно, при этом понимания, как именно проходит процесс патологической кальцификации, пока нет. Ранними молекулярными признаками кальцификации зачастую считаются активность алкалофосфатазы (ALP) и активация экспрессии генов, характерных для остеобластов: *RUNX2* и *BMP2* [17–19]. Поздним маркером становится накопление кальция, которое определяют окраской специфическим красителем – ализариновым красным [20].

Первая замена клапана произведена в 1952 г. Чарльзом Хуфнагелем – им же разработанным протезом [21]. С 1960-х гг. создано до 70 моделей искусственных клапанов [22, 23]. Протезы клапанов могут иметь как искусственную, так и биологическую природу, однако в большинстве клапанов используется металлическая основа, производимая из титана и его сплавов [24]. С момента первой разработки протезы были значительно усовершенствованы, что привело к широкому распространению протезирования аортальных клапанов [25, 26]. Биопротезные и механические клапаны имеют различные ограничения (необходи-

мость антикоагулянтной терапии, гемолиз крови, небольшой срок службы биологических клапанов и прочее) [27]. Это заставляет исследователей искать возможность обхода данных ограничений и рассматривать способы улучшения протезов клапанов. Поэтому весьма важным является изучение вновь синтезированных, дополнительно обработанных искусственных материалов, которые были бы максимально биосовместимы, не тромбогенны, не имели проостеогенного эффекта в случае клапанных протезов, и, возможно, могли бы содержать в себе лекарственные препараты.

Материал протезов, помимо того что может быть каркасом для адгезии таргетных клеток, может оказывать регулирующее влияние на дифференцировку адгезированных клеток или стимулировать отложение кальциевых депозитов в клетках или в уже образованной интиме. В таком случае предварительное тестирование перспективных материалов *in vitro* с таргетными клетками (эндотелиальные, интерстициальные и т. д.) в отношении их возможной остеогенной дифференцировки и активности, а также управляемой дифференцировки на поверхности материалов представляется важной задачей для нужд тканевой инженерии и медицинского материаловедения. В данной работе изучено взаимодействие интерстициальных клеток аортального клапана с тремя типами образцов с различными покрытиями на основе фосфатов кальция.

ИК клапана культивировали на поверхности образцов в среде, содержащей индукторы дифференцировки, и в контрольной среде без факторов остеогенной дифференцировки. Экспрессия генов – проостеогенных маркеров в экспериментальных культурах – оценена методом ПЦР в реальном времени. Терминальные стадии дифференцировки (18–21 день) анализировали при помощи окраски ализариновым красным. Эта работа позволила установить влияние различных типов покрытий на способность клеток вступать в остеогенную дифференцировку, а также изучить методику проверки потенциальных остеогенных свойств композитных материалов и их покрытий. Также результаты этих экспериментов позволили ранжировать исследуемые образцы по их способности/неспособности индуцировать и поддерживать остеогенную дифференцировку интерстициальных клеток аортального клапана, что имеет прикладное значение для потенциальных разработок различных имплантатов.

Материалы и методы

Клеточные культуры

Для экспериментов использовали ИК аортально-клапана человека, полученные из тканей створок аортального клапана, которые были предоставлены ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России. Фрагменты аортального клапана извлекали при плановых операциях по замене аортального клапана от пациентов с кальцифицированным аортальным стенозом, забор производил медицинский персонал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России.

С помощью коллагеназы II типа, растворенной в среде для культивирования, происходило разрушение межклеточных связей в ткани клапана (2 мкг/мл; [28]). В раствор с коллагеназой II помещали промытую створку, инкубировали в водяной бане (37 °С в течение 15 мин), далее путем механического встряхивания отделяли ЭК клапана и после суток содержания створок клапана в инкубаторе при 37 °С при 5% CO₂ производили механическое разделение ИК, их промывку PBS и посев для дальнейшего роста на флак или чашку Петри. Среда для культивации состояла из 83% DMEM – Dulbecco's modified Eagle's medium (Gibco, США), 15% FBS – fetal bovin serum (Gibco, США), 1% пенициллин/стрептомицин (Invitrogene, США), 1% L-глутамин (Invitrogene, США). После 2–3 пассажей клетки использовали для экспериментов.

Исследуемые образцы

ИК клапана культивировали на поверхности трех различных типов образцов. Образцы представляли собой титановые диски марки BT6 (Ti6Al4V) диаметром 10 мм и толщиной 1 мм с различными покрытиями. На поверхность образцов группы № 1 методом микродугового оксидирования наносили пористое кальций-фосфатное покрытие. Формирование кальций-фосфатных покрытий проведено на установке «Комплекс микродугового оксидирования», разработанной в лаборатории плазменных гибридных систем НОЦ Б.П. Вейнберга ИЯТШ ТПУ. Перед нанесением покрытий поверхность образцов подвергалась химическому травлению в водном растворе азотной и плавиковой кислот, взятых в объемных отношениях HNO₃ : HF : H₂O = 1 : 2,5 : 2,5, при температуре 15–20 °С в течение 10–15 сек. с последующей нейтрализацией в 1% водном растворе гидроксида натрия и многократной промывкой дистиллированной водой. В качестве электролита применяли пересыщенный раствор СаО (х. ч., ООО «Компонент-Реактив», Россия) в 10% растворе H₃PO₄ с 10 г/л диспергированного гидроксиапатита (х. ч., Fluidinova, Португалия). Параметры процесса микродугового оксидирования были следующими: напряжение – 320 В, скорость нарастания напряжения – 3 В/с, частота следования

импульсов – 200 Гц, длительность импульса – 100 мкс, время формирования покрытий – 15 мин.

Поверхность образцов группы № 2 представляла собой композитное покрытие, состоящее из пористого кальций-фосфатного слоя, сформированного с помощью микродугового оксидирования, с последующей пропиткой полимерной матрицей. В качестве материала полимерной матрицы использовали поли(ε-капролактон) (Mw = 80 000 г/моль, Sigma, США) и поливинилпирролидон (K-90, BASF, Германия). В соотношении 85/15 (по массе) готовили раствор полимеров в 1,1,1,3,3,3-гексафторпропан-2-оле (99%, Sigma, США) концентрацией 1 масс. %. Раствор готовили в течение 24 ч при перемешивании. 500 мкл полученного раствора наносили на одну из сторон титанового диска с кальций-фосфатным покрытием. Образцы с нанесенным раствором хранили в парах растворителя в течение 24 ч для высушивания покрытия. Затем образцы переворачивали и нанесение покрытия повторяли со второй стороны. После 24 ч высушивания образцы помещали с вакуумный шкаф VD 115 (Binder, Германия) при комнатной температуре и давлении 0,08 МПа на 12 ч для удаления остаточного растворителя.

Поверхность образцов группы № 3 представляла собой композитное покрытие на основе кальций-фосфатного слоя с полимерной матрицей, модифицированной в TiN плазме методом магнетронного напыления на постоянном токе. Модифицирование образцов заключалось в распылении химически чистой (99,99%) мишени из титана (Ti) в атмосфере азота (N₂). Параметры модификации задавались следующими: рабочее давление в камере 0,7 Па (газ N₂ 99,99%), сила тока 0,2 А, расстояние от магнетрона до мишени 40 мм, площадь магнетрона 240 см² и время модифицирования 1 мин. Максимальная температура камеры в течение всего процесса составляла 39 °С.

Индукция остеогенной дифференцировки в клетках ИК

После культивирования достаточного количества клеток для эксперимента (около 7 × 10⁴ клеток/см²) клетки 3–5-го пассажа подвергали остеогенной дифференцировке. Для этого в клетках, предварительно посеянных на искусственные материалы, меняли среду, содержащую факторы индуцирующие остеогенную дифференцировку: DMEM (Gibco, США) с добавлением 10% NuClone – Research Grade Fetal Bovine Serum (Cytiva, США), 2 mM L-глутамин (Invitrogene, США), 100 ед/мл пенициллина/стрептомицина (Invitrogene, США), 50 мкг/мл аскорбиновой кислоты, 0,1 мкМ дексаметазона и 10 mM β-глицерофосфата (Sigma, США). Для оценки экспрессии генов длительность культивирования составляла 96 ч с момента индукции,

для окраски требовалось культивирование в течение 18–21 дня. Контрольными были клетки, в которых не запускалась остеогенная дифференцировка.

Выделение РНК и ПЦР в реальном времени

Уровень экспрессии генов, характерных для остеогенной дифференцировки, измеряли с помощью ПЦР в реальном времени. Выделение РНК производили через 96 ч после запуска остеодифференцировки, изучали экспрессию генов *RUNX2*, *GAPDH*, *COL1A1* (с помощью SiberGreen) и *ALP* (с помощью TaqMan).

Выделение РНК из клеток, которые культивировались на искусственных материалах, происходило с помощью магнитных частиц (Dynabeads mRNA DIRECT Kit, Invitrogen, США). После подготовки магнитных частиц в соответствии с протоколом производителя промытые PBS материалы с клетками переносили в новый планшет с лизирующим буфером и немного потряхивали, чтобы клетки открепились от них. Омыв материалы лизатом из лунок данный раствор переносили в новые 1,5 мл пробирки, где и производили абсорбцию магнитными частицам по протоколу производителя. Получив пробу искомой РНК, проверяли ее количество и качество на спектрофотометре Nanodrop (Thermo Fisher Scientific, США) и в 1,5% агарозном геле на электрофоретическом приборе (BioRad, США) при силе тока 80 мА.

Обратную транскрипцию осуществляли с помощью набора для ревертирования («Евроген», Россия), предварительно обрабатывали образцы ДНКазой в расчете на одну реакцию: 1 мкг РНК, 1 ед.а. ДНКазы, 1 мкл 10х буфера с MgCl₂ и водой. После инкубации (30 мин при 37 °С) действие ДНКазы инактивировали 1 мкл ЭДТА (0,5 М, рН 8,0) (65 °С в течение 10 мин). В одной реакции обратной транскрипции задействованы следующие компоненты: выравненное по концентрации РНК до 8 мкл, 1 мкл рандомных праймеров, 4 мкл 5х буфера (First str. buffer), 2 мкл воды из набора, 2 мкл 10 мМ нуклеотидтрифосфатов dNTP, 2 мкл 20 мМ дитиотреитола (DTT) и 1 мкл M-MLV revertase (Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase) 100 ед.а. обратной транскриптазы. Инкубация в амплификаторе (Verity, AppliedBiosystems) – 1 ч при 42 °С и 10 мин при 70 °С. Приготовленную кДНК хранили при –20 °С.

Экспрессии генов исследовали с помощью амплификатора (LightCycler® 480, Roche, Швейцария) PCR-real time для *RUNX2*, *GAPDH*, *COL1A1* с помощью красителя *SYBR* («Евроген», Россия) и *ALP* с помощью TaqMan («Евроген», Россия). Состав 1 пробы при использовании SYBR Green: 7 мкл воды MQ, 0,5 мкл обратного и прямого праймеров, 2,5 мкл 5х буфера с флуоресцентным красителем (qPCRmix-HS SYBR) и 2,5 мкл (разбавленной

до 100 мкл водой) кДНК матрицы. Состав 1 пробы при использовании TaqMan состоял из 7 мкл воды MQ, 0,5 мкл специфического зонда, 2,5 мкл буфера (qPCRmix-HS ROX) и 2,5 мкл (разбавленной до 100 мкл водой) кДНК матрицы. Анализ проводили в установке 7 500 Real-TimePCRSytem (Life Technologies, США) в 96-луночных оптических платах (Applied Biosystems, США) по следующему протоколу: 5 мин при 95 °С, 45 повторяющихся циклов – 15 сек. при 95 °С, 30 сек. при 60 °С и 30 сек. при 70 °С, завершался процесс этапом проверки специфичности ПЦР продукта.

Обработку данных экспрессии проводили с помощью 2^{-ΔΔC_T} метода, в модификации «относительное околичествление» и относительно «гена домашнего хозяйства» *GAPDH*. Для анализа экспрессии генов в работе использовали праймеры, полученные в компании «Синтол» (Россия). Последовательности праймеров могут быть предоставлены по запросу.

Окраска ализариновым красным и спектрофотометрическая оценка

Подтверждали произошедшую остеогенную дифференцировку окрашиванием ализариновым красным – Alizarin Red (Sigma, США), который прочно связывается с кальцификатами [20]. Окраску производили на 19–21-й день остеодифференцировки. После окрашивания клеток на образцах из искусственных материалов оценку количества кальцификатов проводили с помощью спектрального сканирования с функциями спектрофотометрии на мультимодальном ридере Thermo Scientific Varioskan LUX (Финляндия, США). Для этого окрашенные кальцификаты растворяли в 10% уксусной кислоте и полученный раствор измеряли на спектрофотометре, откалиброванном на 426 нм. В качестве контроля использовали уровень абсорбции уксусной кислоты. Обработку данных производили с помощью Microsoft Excel, GraphPad Prism.

Анализ данных

Обработку данных, полученных методом ПЦР в реальном времени, производили с помощью программ Microsoft Excel (расчеты, таблицы) и GraphPad Prism (таблицы, графики). Результаты представлены в виде среднего значения биологических и технических повторов. Указаны ошибки среднего значения для каждого проанализированного образца.

Информация о соблюдении этических норм при проведении исследования

Протоколы клинических исследований утверждены комитетом по этике ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России и соответствовали принципам Хельсинкской декларации ВМА пере-

смотра 2013 г. От всех пациентов получено письменное информированное согласие на участие в генетическом исследовании и биопсию ткани.

Результаты

Исследованные образцы разнонаправленно влияют на интенсивность остеогенной дифференцировки в ИК в зависимости от типа покрытия

Для оценки влияния кальций-фосфатных покрытий на индукцию остеогенных процессов ИК культивировали на трех разных типах образцов в контрольных условиях и в условиях остеогенной дифференцировки. Образцы групп № 2 и № 3, с композитным покрытием с полимерной матрицей, показали меньшую концентрацию соединений кальция в клетках, в отличие от образцов группы № 1, в которых отмечена большая кальцификация даже в клетках, не подвергнутых остеогенной стимуляции (рис. 1). Последнее, по-видимому, обусловлено отсутствием на образцах группы № 1 верхнего

полимерного слоя, препятствующего выходу ионов кальция и фосфора из покрытия, нанесенного методом микродугового оксидирования. Эти ионы способствуют запуску процесса кальцификации.

Все исследованные образцы влияют на экспрессию генов маркеров остеогенной дифференцировки *RUNX2*, *ALP*, *COL1A1*

RUNX2 – классический общепринятый маркер остеогенной дифференцировки [14]. Его экспрессия снижена в ИК при культивировании на поверхности образцов группы № 3, другие группы образцов показали рост экспрессии по сравнению с недифференцированным контролем. *ALP* (алкалинная фосфатаза) – ранний маркер кальцификации. Образцы групп № 2 и № 3 продуцировали его низкую экспрессию по сравнению с группой № 1, однако по сравнению с контрольными клетками экспрессия была выше. Повышенная экспрессия гена *COL1A1*, отвечающего за образование коллагена

1-го типа ($\alpha 1$), прослеживалась в клетках соединительной ткани, в том числе в костях, сухожилиях и т. д. Для образцов групп № 1 и № 3 наблюдалась обратная зависимость экспрессии в индуцированных и не индуцированных к остеогенной дифференцировке клетках по сравнению с контролем. Пониженные значения экспрессии имели образцы группы № 2 (рис. 2).

Обобщая полученные данные, можно сделать следующие выводы: образцы группы № 1, по сравнению с другими группами, превышали данные контрольных клеток относительно индукции остеогенной дифференцировки и экспрессии про-osteогенных генов, соответственно, этот тип образцов больше стимулировал остеогенную дифференцировку. Образцы групп № 2 и № 3 менее остеогенны. Более ровную динамику экспрессии генов показали образцы группы № 3, но наименьшее количество кальцификатов выявлено на образцах группы № 2. Несмотря на разнонаправленные изменения экспрессии генов, данные

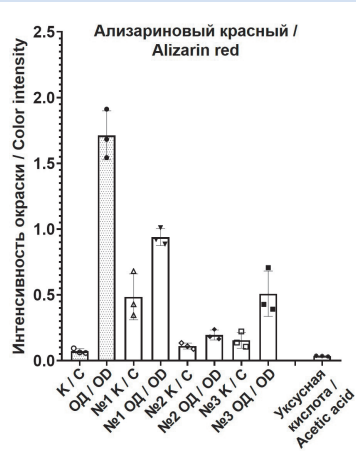


Рисунок 1. Интенсивность окраски ализариновым красным по данным спектрофотометра

Примечание: К – контрольные клетки без индукции остеогенной дифференцировки (ОД); ОД – контрольные клетки с индукцией ОД (клетки на всех материалах выращивали в среде с индукцией и без индукции ОД); № 1 К и ОД – клетки, выращенные на образцах группы № 1; № 2 К и ОД – клетки, выращенные на образцах группы № 2; № 3 К и ОД – клетки, выращенные на образцах группы № 3; укс. к-та – уксусная кислота.

Figure 1. Alizarin red color intensity, spectrophotometer data

Note: C – control cells without induction of osteogenic differentiation (OD); OD – control cells with induction of OD (cells on all materials were grown in an environment with induction and without induction of OD); No. 1 C and OD – respectively, cells grown on sample group No. 1; No. 2 C and OD – cells grown on sample group No. 2; No. 3 C and OD – cells grown on sample group No. 3.

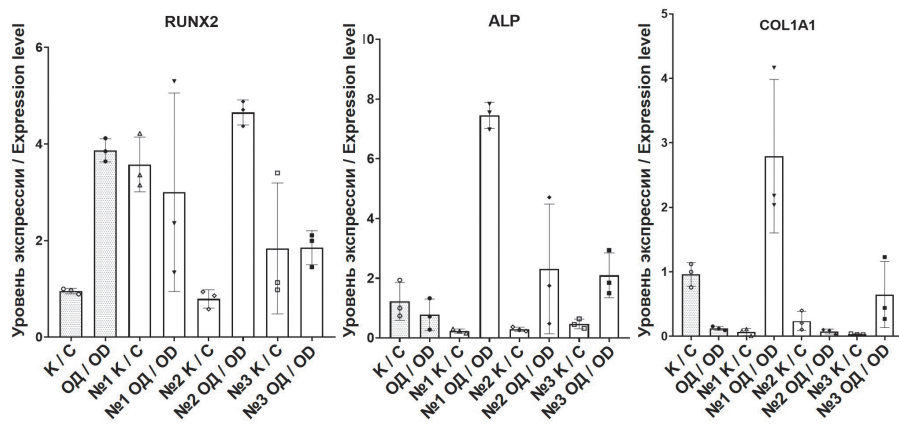


Рисунок 2. Уровень экспрессии генов маркеров остеогенной дифференцировки *RUNX2*, *ALP*, *COL1A1* по данным спектрофотометра

Примечание: К – контрольные клетки без индукции остеогенной дифференцировки (ОД); ОД – контрольные клетки с индукцией ОД (клетки на всех материалах выращивали в среде с индукцией и без индукции ОД); № 1 К и ОД – клетки, выращенные на образцах группы № 1; № 2 К и ОД – клетки, выращенные на образцах группы № 2; № 3 К и ОД – клетки, выращенные на образцах группы № 3.

Figure 2. Expression level of osteogenic differentiation markers *RUNX2*, *ALP*, *COL1A1*
Note: C – control cells without induction of osteogenic differentiation (OD); OD – control cells with induction of OD (cells on all materials were grown in an environment with induction and without induction of OD); No. 1 C and OD – respectively, cells grown on sample group No. 1; No. 2 C and OD – cells grown on sample group No. 2; No. 3 C and OD – cells grown on sample group No. 3.

коррелируют с интенсивностью окраски ализариновым красным.

Обсуждение

Результаты эксперимента показали, что исследуемые образцы запускают процесс кальцификации. В исследовании убедительно продемонстрировано, что образцы с кальций-фосфатным покрытием (группа № 1) способствуют образованию кальцификатов. Меньшая концентрация соединений кальция в клетках у образцов с дополнительной пропиткой полимерной матрицей (группа № 2) и у композитных покрытий, модифицированных в TiN плазме (группа № 3), а также снижение экспрессии RUNX2 в ИК у образцов группы № 3 свидетельствуют о влиянии полимерной матрицы, которая препятствует выходу кальция и фосфора из покрытий. При этом обработка поверхности образцов в TiN плазме (группа № 3) улучшала клеточный отклик, что, по-видимому, обусловлено изменением элементного состава приповерхностного слоя и его смачиваемости. Однако следует отметить, что эффект от плазменной обработки, который в зависимости от полимера и условий обработки длится от нескольких недель до двух месяцев, пропадает. Последнее связано с адсорбцией молекул и загрязняющих веществ, таких как вода из атмосферы. Кроме того, со временем полимерный слой растворится и процесс кальцификации также будет запущен. Таким образом, полимерная матрица может отсрочить процесс кальцификации, но не препятствует его появлению.

Информация об авторах

Боярская Надежда Владимировна, младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории заболеваний с избыточной кальцификацией федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; младший научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6402-770X

Качанова Ольга Сергеевна, лаборант-исследователь научно-исследовательской лаборатории заболеваний с избыточной кальцификацией федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0214-365X

Шишкова Анастасия Алексеевна, младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории заболеваний с избыточной кальцификацией федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0488-9172

Успенский Владимир Евгеньевич, доктор медицинских наук заведующий научно-исследовательской лабораторией заболеваний аорты и аортального клапана федерального

Заключение

На основании вышеизложенного можно сделать вывод, что все исследуемые покрытия не могут быть рекомендованы для протезов клапанов, их целесообразно применять для усиления остеогенных процессов. Однако представленный метод позволяет в 21-дневный срок определить потенцию композитного материала к индукции остеогенных свойств клеток.

Благодарности

Благодарим сотрудников Национального исследовательского Томского политехнического университета С.И. Твердохлебова, А.И. Козельскую, С.И. Горенинского за изготовление экспериментальных образцов композитных материалов.

Конфликт интересов

Н.В. Боярская заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.С. Качанова заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.А. Шишкова заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.Е. Успенский заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.А. Филиппов заявляет об отсутствии конфликта интересов. Д.С. Толпыгин заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.А. Лобов заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Б. Малашичева заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа поддержана грантом РФФИ 18-14-00152.

Author Information Form

Boyarskaya Nadezhda V., Junior Researcher at the Laboratory of Diseases with Excessive Calcification, Federal State Budgetary Institution "V. A. Almazov National Medical Research Center" of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. 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", St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6402-770X

Kachanova Olga S., Research Assistant at the Laboratory of Diseases with Excessive Calcification, Federal State Budgetary Institution "V. A. Almazov National Medical Research Center" of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0214-365X

Shishkova Anastasia A., Junior Researcher at the Laboratory of Diseases with Excessive Calcification, Federal State Budgetary Institution "V. A. Almazov National Medical Research Center" of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0488-9172

Uspenskij Vladimir E., PhD, Head of the Laboratory of Aortic and Aortic Valve Diseases, Federal State Budgetary Institution "V. A. Almazov National Medical Research Center"

государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-7929-0594

Филиппов Алексей Александрович, младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории заболеваний с избыточной кальцификацией федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-3338-9855

Толыгин Дмитрий Сергеевич, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории заболеваний с избыточной кальцификацией федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0009-0007-9859-4466

Лобов Арсений Андреевич, научный сотрудник регенеративной биомедицины федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация; младший научный сотрудник центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0930-1171

Малашичева Анна Борисовна, доктор биологических наук заведующая научно-исследовательской лабораторией молекулярной кардиологии 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; ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией регенеративной биомедицины федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация; доцент кафедры эмбриологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0820-2913

of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-7929-0594

Filippov Alexey A., Junior Researcher at the Laboratory of Diseases with Excessive Calcification, Federal State Budgetary Institution “V. A. Almazov National Medical Research Center” of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-3338-9855

Tolpygin Dmitry S., Senior Researcher at the Laboratory of Diseases with Excessive Calcification, Federal State Budgetary Institution “V. A. Almazov National Medical Research Center” of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0009-0007-9859-4466

Lobov Arseniy A., Researcher at the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Federal State Budgetary Institution of Science “Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences”, St. Petersburg, Russian Federation; Junior Researcher at the Center for the Development of Molecular and Cellular Technologies, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “St. Petersburg State University”, St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0930-1171

Malashicheva Anna B., PhD, Head of the Laboratory of Molecular Cardiology, 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, St. Petersburg, Russian Federation; Senior Researcher, Head of the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Federal State Budgetary Institution of Science “Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences”, St. Petersburg, Russian Federation; Associate Professor at the Department of Embryology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “St. Petersburg State University”, St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0820-2913

Вклад авторов в статью

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

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

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

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

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

Author Contribution Statement

BNV – data collection, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Natorska, J., Kopytek M., Undas A. Review. Aortic valvular stenosis: Novel therapeutic strategies. *Eur J Clin Invest.* 2021;51(7):e13527. doi: 10.1111/eci.13527.
- Kraler, S., Blaser, M. S., Aikawa, E., Camici, G.G., Lüscher, T. F. Calcific aortic valve disease: from molecular and cellular mechanisms to medical therapy. *Eur Heart J.* 2022;43(7):683-697. doi:10.1093/eurheartj/ehab757
- Moncla, L.-H. M., Briend, M., Bossé, Y., Mathieu, P. Calcific aortic valve disease: mechanisms, prevention and treatment. *Nat Rev Cardiol.* 2023; 20(8):546-559. doi:10.1038/s41569-023-00845-7
- Nishimura, R. A., Otto, C. M., Bonow, R. O., Carabello, B. A., Erwin, J. P., Fleisher, L. A., Jneid, H., Mack, M. J., McLeod, C. J., O’Gara, P. T., Rigolin, V. H., Sundt, T. M., Thompson A. AHA/ACC Focused Update of the 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol.* 2017;70(2): 252-289. doi: 10.1016/j.jacc.2017.03.011.
- Zigelman, C.Z., Edelman, P.M. Aortic valve stenosis. *Anesthesiol Clin.* 2009;27(3): 519-32. doi:10.1016/j.anclin.2009.07.012
- Rabkin-Aikawa, E., Aikawa, M., Farber, M., Kratz, J. R., Garcia-Cardena, G., Kouchoukos, N. T., Mitchell, M. B., Jonas, R. A., Schoen F. J. Clinical pulmonary autograft valves: Pathologic evidence of adaptive remodeling in the aortic site. *Surgery for Acquired Cardiovascular Disease.* 2004;128(4):552-61. doi:10.1016/j.jtcvs.2004.04.016
- Rutkovskiy, A., Malashicheva, A., Sullivan, G., Bogdanova, M., Kostareva, A., Stensløkken, K.-O., Fiane, A., Vaage, J. Valve Interstitial Cells: The Key to Understanding the Pathophysiology of Heart Valve Calcification. *J Am Heart Assoc.* 2017;6(9):e006339. doi:10.1161/JAHA.117.006339
- Cheng, S.-L., Shao, J.-S., Behrmann, A., Krchma, K., Towler, D. A. Dkk1 and MSX2-Wnt7b signaling reciprocally regulate the endothelial-mesenchymal transition in aortic endothelial cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2013;33(7): 1679–89. doi:10.1161/ATVBAHA.113.300647
- Hjortnaes, J., Shapero, K., Goettsch, C., Hutcheson, J. D., Keegan, J., Kluin, J., Aikawa, E. Valvular interstitial cells suppress calcification of valvular endothelial cells. *Atherosclerosis.* 2015;242(1):251–260. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.07.008
- Summerhill, V. I., Moschetta, D., Orekhov, A. N., Poggio, P., Myasoedova, V. A. Sex-Specific Features of Calcific Aortic Valve Disease. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(16):5620. doi:10.3390/ijms21165620
- Yao, M., Wang, X., Wang, X., Zhang, T., Chi, Y., Gao, F. The Notch pathway mediates the angiotensin II-induced synthesis of extracellular matrix components in podocytes. *Int J Mol Med.* 2015;36(1): 294-300. doi:10.3892/ijmm.2015.2193
- Akat, K., Borggreffe, M., Kaden, J. J. Aortic valve calcification: basic science to clinical practice. *Heart.* 2009; 95 (8): 616-23. doi:10.1136/hrt.2007.134783
- Goody, P.R., Hosen, M.R., Christmann, D., Niepmann, S.T., Zietzer, A, Adam, M., Bönner, F., Zimmer, S., Nickenig, G., Jansen, F. Aortic Valve Stenosis: From Basic Mechanisms to Novel Therapeutic Targets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020; 40(4):885-900. doi:10.1161/ATVBAHA.119.313067
- Helske, S., Kupari, M., Lindstedt, K. A., Kovanen, P. T. Aortic valve stenosis: an active atheroinflammatory process. *Curr Opin Lipidol.* 2007;18 (5): 483-91. doi:10.1097/MOL.0b013e3282a66099
- Mohler, E. R. Mechanisms of aortic valve calcification. *The American Journal of Cardiology.* 2004; 94(11): 1396–1402. doi:10.1016/j.amjcard.2004.08.013
- de Oliveira Sá, M. P.B., Cavalcanti, L. R. P., Perazzo, A. M., Gomes, R. A. F., Clavel, M.-A., Pibarot, P., Biondi-Zoccai, G., Zhigalov, K., Weymann, A., Ruhparwar, A., Lima, R.C. Calcific Aortic Valve Stenosis and Atherosclerotic Calcification. *Curr Atheroscler Rep.* 2020;7;22(2):2. doi: 10.1007/s11883-020-0821-7
- Bogdanova, M., Zabirnyk, A., Malashicheva, A., Semenova, D., Kvitting, J.-P. E., Kaljusto, M.-L., Del Mar Perez, M., Kostareva, A., Stensløkken, K.-O., Sullivan, G. J., Rutkovskiy, A., Vaage, J. Models and Techniques to Study Aortic Valve Calcification in Vitro, ex Vivo and in Vivo. An Overview. *Front Pharmacol.* 2022;13:835825. doi:10.3389/fphar.2022.835825
- Jian, B., Jones, P. L., Li, Q., Mohler, E. R., Schoen, F. J., Levy, R. J. Matrix metalloproteinase-2 is associated with tenascin-C in calcific aortic stenosis. *Am J Pathol.* 2001;159 (1): 321-7. doi:10.1016/S0002-9440(10)61698-7
- Zhiduleva, E. V., Irtyuga, O. B., Shishkova, A. A., Ignat’eva, E. V., Kostina, A. S., Levchuk, K. A., Golovkin, A. S., Rylov, A. Yu., Kostareva, A. A., Moiseeva, O. M., Malashicheva, A. B., Gordeev, M. L. Cellular Mechanisms of Aortic Valve Calcification. *Bull Exp Biol Med.* 2018;164(3):371-375. doi: 10.1007/s10517-018-3992-2
- Benton, J. A., Kern, H. B., Anseth, K. S. Substrate properties influence calcification in valvular interstitial cell culture. *J Heart Valve Dis.* 2008;17(6): 689-99.
- Ghanbari, H., Viatge, H., Kidane, A. G., Burriesci, G., Tavakoli, M., Seifalian, A. M. Polymeric heart valves: new materials, emerging hopes. *Trends Biotechnol.* 2009;27(6):359-367. doi: 10.1016/j.tibtech.2009.03.002
- Rajput F. A., Zeltser R. Review. Aortic Valve Replacement. *StatPearls Publishing.* 2020. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537136/> (accessed 23.06.2024)
- Ueshima, D., Fovino, L.N., Brenner, S.J., Fabris, T., Scotti, A., Barioli, A., Giacompo, D., Pavei, A., Fraccaro, C., Napodano, M., Tarantini, G. Transcatheter aortic valve replacement for bicuspid aortic valve stenosis with first- and new-generation bioprostheses: A systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol.* 2020;298:76-82. doi:10.1016/j.ijcard.2019.09.003
- Фадеев А.А. Конструктивные формы и функциональные свойства протезов клапанов сердца. *Анналы хирургии.* 2013;3: 9-18
- Jiang, T., Hasan, S.M., Faluk, M., Patel, J. Evolution of Transcatheter Aortic Valve Replacement | Review of Literature. *Curr Probl Cardiol.* 2021;46(3):100600. doi:10.1016/j.cpcardiol.2020.100600
- Joseph, J., Naqvi, S.Y., Giri, J., Goldberg, S. Review Aortic Stenosis: Pathophysiology, Diagnosis, and Therapy. *The American Journal of Medicine.* 2017;130 (3): 253-263. doi:10.1016/j.amjmed.2016.10.005
- Tully A., Chowdhury Y.S. Bioprosthetic Stented Pericardial Porcine Aortic Valve Replacement. *StatPearls Publishing.* 2021. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563200/> (accessed 23.06.2024)
- Bogdanova, M., Zabirnyk, A., Malashicheva, A., Zihlavnikova Enayati K., Karlsen T.A., Kaljusto M.-L., Kvitting J.-P. E., Dissen E., Sullivan G. J., Kostareva A., Stensløkken K.-O., Rutkovskiy A., Vaage J., Interstitial cells in calcified aortic valves have reduced differentiation potential and stem cell-like properties. *Scientific Reports.* 2019; 9(1):12934. doi:10.1038/s41598-019-49016-0

REFERENCES

- Natorska, J., Kopytek M., Undas A. Review. Aortic valvular stenosis: Novel therapeutic strategies. *Eur J Clin Invest.* 2021;51(7):e13527. doi: 10.1111/eci.13527.
- Kraler, S., Blaser, M. S., Aikawa, E., Camici, G.G., Lüscher, T. F. Calcific aortic valve disease: from molecular and cellular mechanisms to medical therapy. *Eur Heart J.* 2022;43(7):683-697. doi:10.1093/eurheartj/ehab757
- Moncla, L.-H. M., Briend, M., Bossé, Y., Mathieu, P. Calcific aortic valve disease: mechanisms, prevention and treatment. *Nat Rev Cardiol.* 2023; 20(8):546-559. doi:10.1038/s41569-023-00845-7
- Nishimura, R. A., Otto, C. M., Bonow, R. O., Carabello, B. A., Erwin, J. P., Fleisher, L. A., Jneid, H., Mack, M. J., McLeod, C. J., O'Gara, P. T., Rigolin, V. H., Sundt, T. M., Thompson A. AHA/ACC Focused Update of the 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol.* 2017;70(2): 252-289. doi: 10.1016/j.jacc.2017.03.011.
- Zigelman, C.Z., Edelstein, P.M. Aortic valve stenosis. *Anesthesiol Clin.* 2009;27(3): 519-32. doi:10.1016/j.anclin.2009.07.012
- Rabkin-Aikawa, E., Aikawa, M., Farber, M., Kratz, J. R., Garcia-Cardena, G., Kouchoukos, N. T., Mitchell, M. B., Jonas, R. A., Schoen F. J. Clinical pulmonary autograft valves: Pathologic evidence of adaptive remodeling in the aortic site. *Surgery for Acquired Cardiovascular Disease.* 2004;128(4):552-61. doi:10.1016/j.jtcvs.2004.04.016
- Rutkovskiy, A., Malashicheva, A., Sullivan, G., Bogdanova, M., Kostareva, A., Stensløkken, K.-O., Fiane, A., Vaage, J. Valve Interstitial Cells: The Key to Understanding the Pathophysiology of Heart Valve Calcification. *J Am Heart Assoc.* 2017;6(9):e006339. doi:10.1161/JAHA.117.006339
- Cheng, S.-L., Shao, J.-S., Behrmann, A., Krchma, K., Towler, D. A. Dkk1 and MSX2-Wnt7b signaling reciprocally regulate the endothelial-mesenchymal transition in aortic endothelial cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2013;33(7): 1679–89. doi:10.1161/ATVBAHA.113.300647
- Hjortnaes, J., Shapero, K., Goettsch, C., Hutcheson, J. D., Keegan, J., Kluin, J., Aikawa, E. Valvular interstitial cells suppress calcification of valvular endothelial cells. *Atherosclerosis.* 2015;242(1):251–260. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.07.008
- Summerhill, V. I., Moschetta, D., Orekhov, A. N., Poggio, P., Myasoedova, V. A. Sex-Specific Features of Calcific Aortic Valve Disease. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(16):5620. doi:10.3390/ijms21165620
- Yao, M., Wang, X., Wang, X., Zhang, T., Chi, Y., Gao, F. The Notch pathway mediates the angiotensin II-induced synthesis of extracellular matrix components in podocytes. *Int J Mol Med.* 2015;36(1): 294-300. doi:10.3892/ijmm.2015.2193
- Akat, K., Borggreffe, M., Kaden, J. J. Aortic valve calcification: basic science to clinical practice. *Heart.* 2009; 95 (8): 616-23. doi:10.1136/hrt.2007.134783
- Goody, P.R., Hosen, M.R., Christmann, D., Niepmann, S.T., Zietzer, A, Adam, M., Bönner, F., Zimmer, S., Nickenig, G., Jansen, F. Aortic Valve Stenosis: From Basic Mechanisms to Novel Therapeutic Targets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020; 40(4):885-900. doi:10.1161/ATVBAHA.119.313067
- Helske, S., Kupari, M., Lindstedt, K. A., Kovanen, P. T. Aortic valve stenosis: an active atheroinflammatory process. *Curr Opin Lipidol.* 2007;18 (5): 483-91. doi:10.1097/MOL.0b013e3282a66099
- Mohler, E. R. Mechanisms of aortic valve calcification. *The American Journal of Cardiology.* 2004; 94(11): 1396–1402. doi:10.1016/j.amjcard.2004.08.013
- de Oliveira Sá, M. P.B., Cavalcanti, L. R. P., Perazzo, A. M., Gomes, R. A. F., Clavel, M.-A., Pibarot, P., Biondi-Zoccai, G., Zhigalov, K., Weymann, A., Ruhparwar, A., Lima, R.C. Calcific Aortic Valve Stenosis and Atherosclerotic Calcification. *Curr Atheroscler Rep.* 2020;7;22(2):2. doi: 10.1007/s11883-020-0821-7
- Bogdanova, M., Zabirnyk, A., Malashicheva, A., Semenova, D., Kvitting, J.-P. E., Kaljusto, M.-L., Del Mar Perez, M., Kostareva, A., Stensløkken, K.-O., Sullivan, G. J., Rutkovskiy, A., Vaage, J. Models and Techniques to Study Aortic Valve Calcification in Vitro, ex Vivo and in Vivo. An Overview. *Front Pharmacol.* 2022;13:835825. doi:10.3389/fphar.2022.835825
- Jian, B., Jones, P. L., Li, Q., Mohler, E. R., Schoen, F. J., Levy, R. J. Matrix metalloproteinase-2 is associated with tenascin-C in calcific aortic stenosis. *Am J Pathol.* 2001;159 (1): 321-7. doi:10.1016/S0002-9440(10)61698-7
- Zhiduleva, E. V., Irtyuga, O. B., Shishkova, A. A., Ignat'eva, E. V., Kostina, A. S., Levchuk, K. A., Golovkin, A. S., Rylov, A. Yu., Kostareva, A. A., Moiseeva, O. M., Malashicheva, A. B., Gordeev, M. L. Cellular Mechanisms of Aortic Valve Calcification. *Bull Exp Biol Med.* 2018;164(3):371-375. doi: 10.1007/s10517-018-3992-2
- Benton, J. A., Kern, H. B., Anseth, K. S. Substrate properties influence calcification in valvular interstitial cell culture. *J Heart Valve Dis.* 2008;17(6): 689-99.
- Ghanbari, H., Viatge, H., Kidane, A. G., Burriesci, G., Tavakoli, M., Seifalian, A. M. Polymeric heart valves: new materials, emerging hopes. *Trends Biotechnol.* 2009;27(6):359-367. doi: 10.1016/j.tibtech.2009.03.002
- Rajput F. A., Zeltser R. Review. Aortic Valve Replacement. StatPearls Publishing. 2020. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537136/> (accessed 23.06.2024)
- Ueshima, D., Fovino, L.N., Brener, S.J., Fabris, T., Scotti, A., Barioli, A., Giaccoppo, D., Pavei, A., Fraccaro, C., Napodano, M., Tarantini, G. Transcatheter aortic valve replacement for bicuspid aortic valve stenosis with first- and new-generation bioprostheses: A systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol.* 2020;298:76-82. doi:10.1016/j.ijcard.2019.09.003
- Fadeev A.A. Structural forms and functional properties of heart valve prosthesis. *Russian Annals of Surgery.* 2013;3: 9-18. (In Russian)
- Jiang, T., Hasan, S.M., Faluk, M., Patel, J. Evolution of Transcatheter Aortic Valve Replacement | Review of Literature. *Curr Probl Cardiol.* 2021;46(3):100600. doi:10.1016/j.cpcardiol.2020.100600
- Joseph, J., Naqvi, S.Y., Giri, J., Goldberg, S. Review Aortic Stenosis: Pathophysiology, Diagnosis, and Therapy. *The American Journal of Medicine.* 2017;130 (3): 253-263. doi:10.1016/j.amjmed.2016.10.005
- Tully A., Chowdhury Y.S. Bioprosthetic Stented Pericardial Porcine Aortic Valve Replacement. StatPearls Publishing. 2021. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563200/> (accessed 23.06.2024)
- Bogdanova, M., Zabirnyk, A., Malashicheva, A., Zihlavnikova Enayati K., Karlsen T.A., Kaljusto M-L., Kvitting J-P. E., Dissen E., Sullivan G. J., Kostareva A., Stensløkken K-O., Rutkovskiy A., Vaage J., Interstitial cells in calcified aortic valves have reduced differentiation potential and stem cell-like properties. *Scientific Reports.* 2019; 9(1):12934. doi:10.1038/s41598-019-49016-0

Для цитирования: Боярская Н.В., Качанова О.С., Шишкова А.А., Успенский В.Е., Филиппов А.А., Толтыгин Д.С., Лобов А.А., Малашичева А.Б. Влияние различных композитных покрытий титанового матрикса на остеогенную дифференцировку интерстициальных клеток аортального клапана человека. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2024;13(3): 73-82. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-73-82

To cite: Boyarskaya N.V., Kachanova O.S., Shishkova A.A., Uspenskiy V.E., Filippov A.A., Tolpygin D.S., Lobov A.A., Malashicheva A.B. The effect of various composite coatings of titanium matrix on osteogenic differentiation of interstitial cells of the human aortic valve. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2024;13(3): 73-82. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-73-82

УДК 614.2

DOI 10.17802/2306-1278-2024-13-3-83-91

ДИНАМИКА ОПЕРАЦИЙ КОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ В НЕКОТОРЫХ ФЕДЕРАЛЬНЫХ ОКРУГАХ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2019–2021 ГОДАХ

В.Ю. Семенов, О.А. Коваленко

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ленинский пр-т, 8, Москва, Российская Федерация, 119049

Основные положения

- Число операций коронарного шунтирования в России в 2021 г. оставалось ниже показателя 2019 г.
- Наилучшая территориальная доступность операций на «открытом» сердце отмечена в Приволжском федеральном округе.
- Не выявлено зависимости количества выполняемых операций на «открытом» сердце от мощности медицинской организации.

Цель

Изучение динамики числа и результатов операций коронарного шунтирования (КШ) в России за период 2019–2021 гг. на примере Центрального, Приволжского и Северо-Кавказского федеральных округов.

Материалы и методы

Использованы данные официальной статистики, утвержденной Министерством здравоохранения Российской Федерации (форма статистического наблюдения № 14), информация Росстата и ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России, официальные статистические данные Организации экономического сотрудничества и развития об объемах выполненных КШ, данные литературы. Учитывая демографические особенности регионов, число операций рассчитывали на 100 тыс. населения.

Результаты

В изучаемых субъектах РФ общее число операций КШ в 2020 г. сократилось на 18,7% (с 9 739 в 2019 г. до 7 918 в 2020 г.). В 2021 г. наметился рост числа операций прямой реваскуляризации миокарда на 8,6% по отношению к 2020 г., однако по сравнению с 2019 г. этот показатель остается ниже на 11,7% (число операций КШ в расчете на 100 тыс. населения за наблюдаемые периоды составило в среднем $24,6 \pm 18,6$, $21,0 \pm 16,2$ и $22,9 \pm 17,8$ соответственно. При этом количество операций на «открытом» сердце не зависело от мощности медицинской организации. Проведенный анализ также показал, что в 2020 г. средняя летальность при выполнении КШ по сравнению 2019 г. увеличилась на 5,6% (с $1,8 \pm 1,5$ до $1,9 \pm 1,6$).

Заключение

В 2020 г. в Центральном, Приволжском и Северо-Кавказском федеральных округах России в среднем на 18,7% снизилось число плановых КШ по сравнению с 2019 г., с незначительной положительной динамикой в последующие годы. Одной из наиболее вероятных причин является пандемия новой коронавирусной инфекции.

Ключевые слова

Ишемическая болезнь сердца • Коронарное шунтирование • Коронавирусная инфекция

Поступила в редакцию: 13.06.2024; поступила после доработки: 17.07.2024; принята к печати: 22.08.2024

CHANGES IN THE NUMBER OF CORONARY BYPASS SURGERY IN SOME REGIONS OF THE RUSSIAN FEDERATION IN 2019–2021

V.Yu. Semenov, O.A. Kovalenko

Federal State Budgetary Institution «A.N. Bakulev National Medical Research Center of Cardiovascular Surgery» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8, Leninsky Ave., Moscow, Russian Federation, 117931

Highlights

- The number of coronary bypass surgeries in the Russian Federation in 2021 has remained below the 2019 indicator.

Для корреспонденции: Олег Александрович Коваленко, olkov_9790809@mail.ru; адрес: Ленинский пр-т, 8, Москва, Российская Федерация, 119049

Corresponding author: Oleg A. Kovalenko, olkov_9790809@mail.ru; address: 8, Leninsky Ave., Moscow, Russian Federation, 117931

- The highest territorial accessibility of open-heart surgery is noted in the Volga Federal District.
- There number of open-heart surgeries performed does not depend on the capacity of the medical organization.

Aim	To study the changes in the number and outcomes of coronary artery bypass surgeries in the Russian Federation during 2019–2021 on the example of the Central, Volga and North Caucasus Federal Districts.
Methods	We used data from the following sources: official statistics published by the Ministry of Health of the Russian Federation (Statistics Form No. 14); data published by Federal State Statistics Service; data on patients from “A.N. Bakulev National Research Center for Cardiovascular Surgery”; official statistics published by the Organization for Economic Co-operation and Development; and the available literature data. Taking into account the demographic characteristics of the regions, we calculated the number of surgeries per 100.000 citizens.
Results	The total number of CABG decreased by 18.7% in 2020 (from 9 739 in 2019 to 7918 in 2020) in the studied subjects of the Russian Federation. There was an increase in the number of direct myocardial revascularization in 2021 by 8,6% compared to 2020. However, this index was still 11.7% lower as compared to 2019. The number of CABG per 100,000 population in the regions was $24,6 \pm 18,6$; $21,0 \pm 16,2$ and $22,9 \pm 17,8$ in these years, respectively. At the same time, it should be noted that the decrease in the number of open-heart surgeries did not depend on the capacity of medical organization. The analysis also showed that in 2020, the average mortality rate during CABG increased by 5.6% compared to 2019 (from 1.8 ± 1.5 to 1.9 ± 1.6).
Conclusion	In 2020, the number of planned coronary artery bypass surgeries in the Central, Volga and North Caucasus Federal Districts of the Russian Federation decreased by 18,7% on average compared to 2019 with a slight positive trend in subsequent years. One of the most likely reasons is coronavirus disease pandemic.
Keywords	Coronary artery disease • Coronary artery bypass grafting • Coronavirus infection.

Received: 13.06.2024; received in revised form: 17.07.2024; accepted: 22.08.2024

Список сокращений

БСК – болезни системы кровообращения КШ – коронарное шунтирование
ИБС – ишемическая болезнь сердца

Введение

Болезни системы кровообращения (БСК) остаются основной причиной смертности и роста расходов на здравоохранение. Смертность населения Российской Федерации от БСК в структуре общей смертности составляет более 50% [1]. С начала 2000-х гг. смертность от БСК в РФ к 2018 г. снизилась почти в два раза, смертность от ишемической болезни сердца (ИБС) – на 45,8%, смертность от цереброваскулярных заболеваний – на 60,1% [1, 2].

Однако, по данным прогноза группы ученых из Американской ассоциации кардиологов, распространенность только отдельно взятой ИБС к 2030 г. увеличится на 9,3%, а прямые медицинские затраты возрастут на 198% по сравнению с таковыми по состоянию на 2010 г. [3]. Распространенность числа случаев сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) в мире почти удвоилась (с 271 млн в 1990 г. до 523 млн в 2019 г.), а число смертей от ССЗ возросло с 12,1 млн в 1990 г. до 18,6 млн в 2019 г. [4].

Медикаментозная терапия является эффективным методом лечения на разных этапах развития болезни, однако в определенных ситуациях становится бесперспективной при развитии органических повреждений сердца и сосудов. Своевременно выполненная реваскуляризации миокарда в большинстве случаев может не только спасти жизнь больного в краткосрочной перспективе, но и значительно повысить ее качество и отдаленный прогноз [5].

Коронарное шунтирование (КШ) остается одной из наиболее часто выполняемых хирургических процедур во всем мире и, безусловно, наиболее тщательно изученной. За более чем полувековую историю хирургическое лечение ИБС обогатилось опытом вмешательств при изолированном поражении коронарных сосудов, что существенно расширило возможности лечения больных с осложненными формами [6]. Однако за эти годы существенно изменился профиль пациентов, подвергающихся кардиохирургическому вмешательству.

Сегодня пациенты, направляемые на КШ, имеют более зрелый возраст, отягощены рядом сопутствующих заболеваний, нередко требующих более одного хирургического вмешательства [7].

В мировой практике наметилась тенденция сокращения числа операций КШ с достижением стабильного уровня в последние годы. В то же время количество эндоваскулярных вмешательств на коронарных артериях резко возросло, а охват пациентов расширился. Случаи сложных поражений венечных сосудов, которые до недавнего времени считались строго прерогативой КШ, в настоящее время все чаще рассматриваются в аспекте ангиопластики и стентирования коронарных артерий. Кроме того, в эру стентов все чаще используется так называемое агрессивное повторное эндоваскулярное вмешательство с имплантацией нескольких стент-графтов [8]. Во многих экономически развитых странах соотношение чрескожных коронарных вмешательств и КШ превысило 4:1 [9]. В большинстве европейских стран за период 2010–2019 гг. также отмечена единая тенденция снижения числа операций КШ в расчете на 100 тыс. населения при одновременном росте количества эндоваскулярных вмешательств [10].

В России, напротив, наблюдался рост числа операций прямой реваскуляризации миокарда – с 22,3 в 2010 г. до 27,5 на 100 тыс. населения в 2019 г. Параллельно с этим продолжается экспонентный рост числа эндоваскулярных вмешательств на коронарных артериях [4, 11]. В Северной Америке выявлена принципиально другая динамика: для США характерно существенное снижение как КШ, так и чрескожных коронарных вмешательств, для Канады – снижение КШ при отсутствии изменений числа чрескожных коронарных вмешательств на 100 тыс. населения [11, 12].

В большинстве стран мира резкое снижение количества операций на «открытом» сердце и КШ в частности произошло в 2020 г. на фоне пандемии COVID-19 [13–16]. Это нашло подтверждение в результатах, полученных из базы данных Общества торакальных хирургов (STS). Из восьми основных кардиохирургических вмешательств, для которых были разработаны модели коррекции риска, доля операций изолированного КШ продолжает составлять более 70%, за исключением снижения в 2020 г., что, вероятно, отражает последствия пандемии COVID-19 [17].

Таким образом, на фоне оптимизации кардиохирургической помощи пандемия новой коронавирусной инфекции внесла существенные коррективы не только в количество операций на «открытом» сердце, но и систему здравоохранения в целом.

Цель исследования – изучение динамики числа и результатов КШ, выполненных в медицинских организациях Центрального, Приволжского и Се-

веро-Кавказского федеральных округов за период 2019–2021 гг.

Материалы и методы

Использованы данные официальной статистики, утвержденной Министерством здравоохранения Российской Федерации (форма статистического наблюдения № 14), информация Росстата [2] и ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России [12]. Всего проанализированы результаты хирургического лечения ИБС в 23 субъектах Российской Федерации в 2019–2021 гг.

Учитывая демографические особенности регионов, число операций КШ в изучаемых регионах рассчитывали на 100 тыс. населения. Данные о числе КШ за период 2019–2021 гг. в других странах, включая США и Европу, получены из литературы или материалов официальной статистической отчетности Организации экономического сотрудничества и развития [10]. Среднегодовые результаты рассчитаны как среднеарифметический показатель без учета стандартизации населения и имеют ориентировочное значение.

Результаты

Проведен анализ количества операций на «открытом» сердце в Центральном (за исключением Москвы), Приволжском и Северо-Кавказском федеральных округах за период 2019–2021 гг. Из 38 регионов в 23 (60,5%) выполняют хирургические вмешательства в объеме прямой реваскуляризации миокарда по поводу ИБС (КШ).

Изучение форм и видов медицинской деятельности показало неравномерное обеспечение субъектов Российской Федерации медицинскими организациями, оказывающими медицинскую помощь по профилю «кардиохирургия», и их мощностями в расчете на численность населения – как эквивалент неравномерного распределения финансирования данного вида медицинской помощи.

Преобладающая часть субъектов Приволжского федерального округа (92,8%) располагают медицинскими организациями, стационары которых осуществляют высокотехнологические вмешательства (операции на «открытом» сердце): ФГБУ «ФЦССХ» Минздрава России (г. Пенза), ФГБУ «ФЦССХ» имени С.Г. Суханова» Минздрава России (г. Пермь), ГБУЗ «Республиканский кардиологический центр» Минздрава Республики Башкортостан, ГБУЗ Нижегородской области «Специализированная кардиохирургическая клиническая больница имени академика Б.А. Королёва», ГБУЗ «Самарский областной клинический кардиологический диспансер им. В.П. Полякова», ГАУЗ «Межрегиональный клинико-диагностический центр» Республики Татарстан, ГБУЗ «Кировская областная клиническая больница», ГАУЗ «Оренбургская

областная клиническая больница», ГУЗ «Областной клинический кардиологический диспансер» (г. Саратов), БУЗ «Республиканский клинико-диагностический центр Минздрава Удмуртской Республики», БУ «Республиканский кардиологический диспансер» Минздрава Чувашской Республики, ГБУЗ «Мордовская республиканская центральная клиническая больница» и ГУЗ «Ульяновская областная клиническая больница».

Из 17 регионов Центрального федерального округа операции на «открытом» сердце выполняют в 6 (35,3%): ГБУЗ Воронежской области «Областная клиническая больница № 1», ОГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа», ГБУЗ Ярославской области «Областная клиническая больница», ГБУЗ Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф.

Владимирского», ГБУЗ Тверской области «Областная клиническая больница» и ОБУЗ «Ивановская областная клиническая больница».

В Северо-Кавказском федеральном округе из 7 субъектов РФ операции на «открытом» сердце выполняют в 4 (57,1%): БУЗ «Ставропольская крайняя клиническая больница», ФГБУ «Северо-Кавказский многопрофильный медицинский центр» Минздрава России (г. Беслан), ГБУ Республики Дагестан «Научно-клиническое объединение «Дагестанский центр кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии» и РГБ ЛПУ «Карачаево-Черкесская республиканская клиническая больница».

Проведенный анализ динамики количества КШ показал, что в 2020 г. число операций снизилось по сравнению с 2019 г. в среднем на 18,7% (с 9 739 в 2019 г. до 7 918 в 2020 г.) или в среднем с $442,7 \pm 426,2$ до $359,9 \pm 311,7$ (табл. 1).

Таблица 1. Динамика операций коронарного шунтирования за период 2019–2021 гг.
Table 1. Changes in the number of coronary artery bypass surgeries for the period of 2019–2021

№	Наименование субъекта РФ / The subject of the Russian Federation	2019		2020		2021	
		n	Летальность / Mortality, %	n	Летальность / Mortality, %	n	Летальность / Mortality, %
1	Белгородская область / Belgorod region	312	2,2	229	1,8	239	2,9
2	Воронежская область / Voronezh Region	502	1,4	401	2,0	404	1,2
3	Ивановская область / Ivanovo region	168	4,8	113	4,4	75	2,7
4	Московская область / Moscow region	270	3,0	264	3,4	299	1,3
5	Тверская область / Tver region	182	1,7	114	0,0	138	1,5
6	Ярославская область / Yaroslavl region	278	2,9	195	2,6	245	2,0
7	Республика Северная Осетия – Алания / Republic of North Ossetia–Alania	204	1,7	161	1,2	212	0,9
8	Республика Дагестан / Republic of Dagestan	6	0,0	53	0,0	137	0,0
9	Ставропольский край / Stavropol territory	465	6,2	335	5,7	369	5,4
10	Республика Башкортостан / Republic of Bashkortostan	1 616	0,6	1 087	1,3	1 003	1,3
11	Республика Мордовия / Republic of Mordovia	60	1,7	84	4,8	86	4,7
12	Республика Татарстан / Republic of Tatarstan	597	1,0	442	0,9	442	1,4
13	Чувашская Республика / Chuvash Republic	117	1,7	82	1,2	155	1,3
14	Удмуртская Республика / Udmurt Republic	170	1,8	178	1,1	176	1,1
15	Пензенская область / Penza region	1 111	0,4	1 038	0,4	1 103	0,5
16	Пермский край / Perm Region	1 276	2,7	944	4,0	1 111	0,8
17	Кировская область / Kirov region	404	1,5	383	0,3	438	1,4
18	Нижегородская область / Nizhny Novgorod region	745	2,4	484	2,3	628	2,6
19	Оренбургская область / Orenburg region	320	0,0	346	2,9	277	0,7
20	Самарская область / Samara region	694	0,7	630	0,8	663	1,1
21	Саратовская область / Saratov region	174	1,7	215	1,4	251	3,6
22	Ульяновская область / Ulyanovsk region	68	0,0	140	0,0	151	0,0
	Σ	9 739	–	7 919	–	8 602	–
	M	442,7	1,8	359,9	1,9	391,0	1,7
	σ	421,0	1,5	308,0	1,6	318,8	1,4

Примечание: Σ – сумма; n – количество вмешательств; M – среднее значение; σ – среднее стандартное отклонение.
Note: Σ – total; n – number of interventions; M – mean; σ – standard deviation.

Данные РГБ ЛПУ «Карачаево-Черкесская республиканская клиническая больница» исключены из анализа из-за незначительных объемов выполняемых операций КШ.

В 2021 г. отмечено увеличение на 8,6% среднего значения количества операций (в целом по регионам) в сравнении с 2020 г. (с 359,9 в 2020 г. до 391,0 в 2021 г.). Однако по сравнению с исходным значением 2019 г. этот показатель остается ниже в среднем на 11,7% (см. табл. 1).

В региональных медицинских организациях, выполнявших в 2019 г. более 500 прямых реваскуляризации миокарда, снижение числа вмешательств в 2020 г. составило в среднем 24,6%. Из них в Воронежской области снижение количества операций КШ составило 20,1%, в Республике Башкортостан – 32,7%, в Республике Татарстан – 26,0%, в Пермском крае – 26,0%, в Нижегородской, Самарской и Пензенской областях – 35,0, 9,2 и 6,6% соответственно.

Из трех региональных медицинских организаций, выполнявших в 2019 г. более 300 операций КШ, снижение числа вмешательств составило в среднем 19,9%. Из них в Белгородской и Кировской областях снижение числа вмешательств составило 26,6 и 5,2% соответственно, в Ставропольском крае – 27,9%. В то же время в Оренбургской области в 2020 г. число операций КШ увеличилось по сравнению с 2019 г. на 8,2% (с 320 до 346).

Из 7 субъектов Российской Федерации, в которых было проведено более 100 КШ, в 6 снижение хирургических вмешательств составило в среднем 26,4% (Ивановская область – 32,7%, Московская область – 2,2%, Республика Северная Осетия – Алания – 21,1%, Тверская область – 37,4%, Чувашская Республика и Ярославская область – по 29,9%). В двух регионах Приволжского федерального округа (Удмуртская Республика и Саратовская область) число операций в 2020 г. увеличилось на 4,7 и 23,6% соответственно. В регионах, где по состоянию на 2019 г. выполнялось менее 100 операций КШ (Республика Мордовия и Ульяновская область), в отличие от других субъектов РФ увеличение числа хирургических вмешательств в 2020 г. составило 40,0 и 105,9% соответственно. В Республике Дагестан число выполненных КШ в 2020 г. увеличилось почти в 9 раз.

Следует отметить, что на фоне преимущественного снижения числа операций КШ в анализируемых регионах периоперационная летальность в 2020 г. возросла по сравнению с 2019 г. на 5,6% (с $1,8 \pm 1,5$ до $1,9 \pm 1,6$). Подробный анализ результатов вмешательств показал, что максимальное увеличение периоперационной летальности в 2020 г. отмечено в Республике Мордовия (в 2,8 раза), в Пермском крае (на 48,1%) и в Воронежской области (на 42,8%). В Оренбургской области периоперационная летальность возросла с 0,0 до 2,9%.

Учитывая различную мощность отделений кардиохирургии, а также перепрофилирование коечного фонда для лечения больных новой коронавирусной инфекцией или временное прекращение плановой хирургической деятельности за период 2019–2020 гг., проанализирована динамика выполнения КШ в расчете на 100 тыс. населения (табл. 2).

Данные Московской области, Республики Дагестан и Карачаево-Черкесской Республики исключены из анализа из-за низких показателей числа операций КШ в расчете на 100 тыс. населения.

В анализируемых субъектах РФ в 2019 г. число КШ в среднем составило $24,6 \pm 18,6$ на 100 тыс. населения (от 5,5 в Ульяновской области до $85,1$ в Пензенской области). В 2020 г. число операций КШ снизилось на 14,6% (с $24,6 \pm 18,6$ до $21,0 \pm 16,2$ на 100 тыс. населения). В 2021 г. наблюдалось увеличение числа шунтирований коронарных артерий в среднем на 9,0% (до $22,9 \pm 17,8$ на 100 тыс. населения). Однако по сравнению с исходным значением показатель был ниже на 6,9%.

Снижение числа операций КШ на 30% (в расчете на 100 тыс. населения) и более отмечено в Ивановской, Нижегородской областях, а также в Республиках Башкортостан и Татарстан. Необходимо отметить, что на фоне снижения объема операций прямой реваскуляризации миокарда в целом в изучаемых регионах в Республике Мордовия, Оренбургской, Саратовской, Ульяновской областях и Ставропольском крае в 2020 г. наблюдалось их увеличение.

Обсуждение

В России на вариабельность числа кардиохирургических вмешательств оказывают влияние демографические особенности региона. Кроме этого, важное значение имеют ресурсные возможности медицинских организаций, организационные особенности системы здравоохранения субъекта, клинические особенности и социально-экономический статус пациентов, уровень квалификации специалистов, их приверженность клиническим рекомендациям [12]. Проведенный нами анализ показал, что, несмотря на текущую потребность, финансирование необходимого количества операций на «открытом» сердце в изучаемых регионах РФ обеспечивается неравномерно.

Пандемия COVID-19 в 2020 г. привела к значительному сокращению кардиохирургических операций во всем мире. Согласно исследованию, в котором приняли участие 60 кардиохирургических центров, в среднем снижение числа «открытых» операций на сердце составило 50–75%. Большинство медицинских организаций отказались от оказания плановой медицинской помощи, ограничившись выполнением неотложных операций. Важно отметить, что подобная тенденция одинаково про-

слеживалась в отделениях и центрах сердечно-сосудистой хирургии с высоким и низким объемом выполняемых вмешательств [18–20].

Согласно материалам официальной статистической отчетности Организации экономического сотрудничества и развития [10], практически во всех странах Европы (исключая Данию, Финляндию и Ирландию) в 2020 г. количество операций КШ в расчете на 100 тыс. населения снизилось по сравнению с 2019 г. в среднем на 14,0%. При этом определены стабильно высокие ежегодные показатели удельного количества прямых реваскуляризации миокарда в таких странах, как Германия, Бельгия, Дания, Франция, Литва и Нидерланды.

По сравнению с 2019 г. в апреле 2020 г. объемы кардиохирургических вмешательств в Ирландии и Франции снизились на 51 и 57% соответственно. Снижение числа операций было связано с такими факторами, как меньшее число обращений пациентов в больницу из-за риска заражения коронавирусной инфекцией, ограничение возможностей диагностики сердечно-сосудистых заболеваний, сокращение плановых операций, а также нехватка персонала в специализированных стационарах и

коек в отделениях реанимации и интенсивной терапии [13, 19, 22].

По данным базы центров, входящих в исследовательскую сеть TriNetX (Кембридж, штат Массачусетс) и данных центров в штатах среднеатлантического региона США, число операций КШ в 2020 г. по сравнению с 2019 г. сократилось на 35,5 и 53,0% соответственно. Кроме того, среди пациентов, перенесших КШ на фоне пандемии COVID-19, вероятность неблагоприятных клинических исходов была значительно выше по сравнению с таковой в 2019 г. [14, 20].

Кроме того, в результате многочисленных исследований показано, что различия в количестве эндоваскулярных и хирургических вмешательств на коронарных артериях в странах мира обусловлены целым рядом факторов, требующих дополнительного изучения. Так, в некоторых из них показано, что пандемия создала чрезвычайную нагрузку на потенциал системы здравоохранения США и привела к значительным потерям медицинского персонала. В середине января 2022 г. одна из каждых пяти больниц в США испытывала острую нехватку медицинских сотрудников различных специальностей [21].

Таблица 2. Число операций коронарного шунтирования на 100 тыс. населения в 20 регионах Российской Федерации в 2019–2021 гг.

Table 2. The number of coronary artery bypass surgeries per 100 000 population in 20 regions of the Russian Federation in 2019–2021

№	Наименование субъекта РФ / The subject of the Russian Federation	2019	2020	2021
1	Белгородская область / Belgorod region	20,1	14,9	15,6
2	Воронежская область / Voronezh Region	21,6	17,4	17,7
3	Ивановская область / Ivanovo region	16,8	11,6	7,7
4	Тверская область / Tver region	14,4	9,2	11,2
5	Ярославская область / Yaroslavl region	22,2	15,7	20,0
6	Республика Северная Осетия – Алания / Republic of North Ossetia–Alania	29,3	23,2	30,8
7	Ставропольский край / Stavropol territory	16,7	21,1	15,7
8	Республика Башкортостан / Republic of Bashkortostan	45,8	31,6	32,8
9	Республика Мордовия / Republic of Mordovia	7,6	10,8	11,2
10	Республика Татарстан / Republic of Tatarstan	22,7	15,8	16,8
11	Чувашская Республика / Chuvash Republic	9,6	6,8	12,9
12	Удмуртская Республика / Udmurt Republic	11,3	11,9	11,8
13	Пензенская область / Penza region	85,1	80,4	85,6
14	Пермский край / Perm Region	49,1	36,4	43,5
15	Кировская область / Kirov region	32,0	30,6	35,5
16	Нижегородская область / Nizhny Novgorod region	23,3	15,2	20,0
17	Оренбургская область / Orenburg region	16,4	17,8	14,5
18	Самарская область / Samara region	35,8	27,4	31,3
19	Саратовская область / Saratov region	7,2	9,0	10,6
20	Ульяновская область / Ulyanovsk region	5,5	11,5	12,5
	М	24,6	21,0	22,9
	σ	18,6	16,2	17,8

Примечание: n – количество вмешательств; М – среднее значение; σ – среднее стандартное отклонение.
Note: n – number of interventions; M – mean; σ – standard deviation.

По всей вероятности, нехватка персонала способствовала сокращению доступа к оказанию кардиохирургической помощи (т. е. отмене или отсрочке необходимой высокотехнологической помощи), что в свою очередь явилось причиной увеличения заболеваемости и смертности от БСК [21, 22].

Особый интерес вызывает тот факт, что в странах Северной Америки (США, Канада) в последние годы наблюдается снижение числа эндоваскулярных процедур и хирургических вмешательств на коронарных артериях и это обстоятельство обусловлено целым рядом факторов, включая возрастающую роль медикаментозного лечения, требующих дополнительного изучения [12].

В исследуемых субъектах РФ снижение количества операций на «открытом» сердце также объясняется предпринятыми противоэпидемическими мерами, направленными на ограничение заболеваемости новой коронавирусной инфекцией. Так, в Воронежской области и Чувашской Республике коечный фонд отделений кардиохирургии на время пандемии сократился на 38,5 и 50,0% соответственно. В Карачаево-Черкесской Республике, Пермском крае, Московской, Ярославской и Оренбургской областях в 2020 г. оказание плановой медицинской помощи по профилю «сердечно-сосудистая хирургия» было приостановлено на различные сроки.

В ряде медицинских организаций курируемых регионов Российской Федерации (Республика Башкортостан, Белгородская область, Воронежская область, Республика Дагестан, Кировская область, Республика Мордовия, Тверская область, Республика Северная Осетия – Алания, Самарская область, Ставропольский край, Республика Татарстан, Удмуртская Республика, Ульяновская и Ярославская области) коечный фонд не перепрофилировался для лечения больных новой коронавирусной инфекцией. Ограничительные меры по борьбе с распространением COVID-19 в 2020 г. повлияли в основном на снижение числа госпитализаций в стационары пациентов с ИБС и отказ больных от консультативно-диагностических мероприятий из-за опасности заражения. Повысившаяся больничная летальность, видимо, во многом была связана с поздней обращаемостью за медицинской помощью и обострением коморбидной патологии.

Кризис, вызванный пандемией, повлиял и на качество оказания медицинской помощи, создав зна-

чительный барьер, препятствующий эффективному уходу за пациентами. В этих условиях ключевой стратегией национальных систем здравоохранения является оказание медицинской помощи больным независимо от происходящих изменений в функционировании равноуровневых медицинских организаций. Для удовлетворения потребностей здравоохранения становится важным своевременное прогнозирование и планирование действий, направленных на повышение качества оказания медицинской помощи, особенно по профилю «сердечно-сосудистая хирургия». Индикатором уровня специализированной медицинской (в том числе высокотехнологичной) помощи является смертность от БСК.

Своеобразный метод оценки качества оказания медицинской помощи по профилю «сердечно-сосудистая хирургия» использовали ученые Китая [23]. В проведенном исследовании проанализированы судебные процессы по поводу результатов операций КШ, выполненных в больницах разного уровня, с целью определения основных характеристик, а также представления результатов анализа врачебных ошибок, которые приводят к судебным искам. Средняя доля ответственности национальных, провинциальных и муниципальных больниц составляла 29,6, 28,4 и 39,5% соответственно. Наиболее частыми в судебных разбирательствах были диагностические ошибки, послеоперационные осложнения и отсутствие надлежащего наблюдения и ухода за пациентом.

Заключение

В 2020 г. в Центральном, Приволжском и Северо-Кавказском федеральных округах России в среднем на 19,2% снизилось число плановых коронарных шунтирований по сравнению с 2019 г. – с незначительной положительной динамикой в последующие годы. Одной из наиболее вероятных причин является пандемия новой коронавирусной инфекции.

Конфликт интересов

В.Ю. Семенов заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.А. Коваленко заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Авторы заявляют об отсутствии финансирования исследования.

Информация об авторах

Семенов Владимир Юрьевич, доктор медицинских наук профессор заместитель директора Института кардиохирургии им. В.И. Бураковского федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0278-5652

Author Information Form

Semenov Vladimir Yu., MD, PhD, Professor, Deputy Director of Burakovsky Institute for Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Institution “A.N. Bakulev National Medical Research Center of Cardiovascular Surgery” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0278-5652

Коваленко Олег Александрович, доктор медицинских наук ведущий научный сотрудник отделения хирургического лечения ишемической болезни сердца Института коронарной и сосудистой хирургии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ORCID 0000-0003-4485-3964

Kovalenko Oleg A., MD, PhD, Leading Researcher at the Department of Surgical Treatment of Coronary Artery Disease, Institute of Coronary and Vascular Surgery, "A.N. Bakulev National Medical Research Center of Cardiovascular Surgery" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; ORCID 0000-0003-4485-3964

Вклад авторов в статью

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

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

Author Contribution Statement

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шарапова О.В., Кича Д.И., Герасимова Л.И., Рукодачный О.В., Фомина Р.В., Евзерикина А.В., Барсукова Е.В. Картографический анализ показателей заболеваемости и смертности от болезней системы кровообращения населения Российской Федерации (2010–2019 гг.). Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2022;11(1): 56-68. doi: 10.17802/2306-1278-2022-11-1-56-68
2. Heidenreich P.A., Trogdon J.G., Khavjou O.A., Butler J., Dracup K., Ezekowitz M.D., Finkelstein E.A., Hong Y., Johnston S.C., Khera A., Lloyd-Jones D.M., Nelson S.A., Nichol G., Orenstein D., Wilson P.W.F., Woo Y.J.; American Heart Association Advocacy Coordinating Committee; Stroke Council; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Clinical Cardiology; Council on Epidemiology and Prevention; Council on Arteriosclerosis; Thrombosis and Vascular Biology; Council on Cardiopulmonary; Critical Care; Perioperative and Resuscitation; Council on Cardiovascular Nursing; Council on the Kidney in Cardiovascular Disease; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, and Interdisciplinary Council on Quality of Care and Outcomes Research. Forecasting the Future of Cardiovascular Disease in the United States A Policy Statement From the American Heart Association. *Circulation* 2011; 123:933-944. doi: 10.1161/CIR.0b013e31820a55f5.
3. Roth G. A., Mensah G. A., Johnson C. O., Addolorato G., Ammirati E., Baddour L. M., Benziger C. P., Bonny A. et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990–2019. *Journal of the American College of Cardiology*. 2020 76(25):2982-3021.; doi:10.1016/j.jacc.2020.11.010.
4. Бокерия Л.А. (ред). Сердечно-сосудистая хирургия – 2019. М. НМИЦССХ им. А.Н. Бакулева Минздрава России; 2020. 294с.
5. Nakano S., Kohsaka S., Chikamori T., Fukushima K., Kobayashi Y., Kozuma K., Manabe S., Matsuo H. et al. JCS 2022 Guideline Focused Update on Diagnosis and Treatment in Patients With Stable Coronary Artery Disease. *Circ J* 2022; 86: 882–915. doi:10.1253/circj.CJ-21-1041.
6. Шумаков Д.И., Зыбин М.А., Попов. Современное состояние и перспективы развития кардиохирургической помощи населению Московской области. Профилактическая медицина. 2022;25(9):7-14. doi: 10.17116/profmed202250917
7. De Winter R. W., Rahman M.S., Van Diemen P.A., Schumacher S.P., Ruurt A. Jukema R.A., Somsen Y.B.O., Van Rossum A.C., Verouden N.J., Danad I., Delewi R., Nap A., Knaapen P. Diagnostic and Management Strategies in Patients with Late Recurrent Angina after Coronary Artery Bypass Grafting. *Current Cardiology Reports*. 2022; 24, 1309–1325. doi:10.1007/s11886-022-01746-w
8. Sakaguchi G., Shimamoto T., Komiya T. Impact of repeated percutaneous coronary intervention on long-term survival after subsequent coronary artery bypass surgery. *J. Cardiothorac. Surg.* 2011; 6: 107. doi:10.1186/1749-8090-6-107.
9. Taggart D.P. Coronary artery bypass graft vs. percutaneous coronary angioplasty: CABG on the rebound? *Curr. Opin. Cardiol.* 2007; 22(6), 517–523 doi:10.1097/HCO.0b013e3282f001a2.
10. Stat. Organisation for Economic Co-operation and Development, (OECD). Health Care Utilisation: Surgical procedures. Available at: <https://stats.oecd.org> (accessed 15 Jul 2021).
11. Alkhouli M., Alqahtani F., Kalra A., Gafoor S., Alhajji M., Alreshidan M., Holmes D.R., Lerman A. Trends in Characteristics and Outcomes of Hospital Inpatients Undergoing Coronary Revascularization in the United States, 2003-2016. *JAMA Network Open*. 2020; 3(2):e1921326. doi:10.1001/jamanetworkopen.2019.21326.
12. Семёнов В.Ю., Самородская И.В. Динамика числа реваскуляризаций миокарда в России и мире в 2000–2018 годах. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2021;10(4):68-78. doi:10.17802/2306-1278-2021-10-4-68-78
13. Nader J., Anselmi A., Tomasi J., Martin A., Aymami M., Rouze S., Verhoye J.P. Adult cardiac surgery during COVID-19 lockdown: Impact on activity and outcomes in a high-volume centre. *Archives of Cardiovascular Diseases*. 2021; 114(5): 364–370. doi:10.1016/j.acvd.2020.12.003.
14. Parcha V., Kalra R., Glenn A.M., Davies J.E., Kuranz S., Arora G., Arora P., Coronary artery bypass graft surgery outcomes in the United States: Impact of the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. *JTCVS Open*. 2021; 6: 132–143. doi:10.1016/j.xjon.2021.03.016
15. Bonalumi G., Giambuzzi I., Buratto B., Barili F., Garatti A., Pilozi C. A., Di Mauro M., Parolari A.; COVID-SICCH Task Force of the Italian Society for Cardiac Surgery. The day after tomorrow: cardiac surgery and coronavirus disease-2019. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2022;23(2): 75-83. doi:10.2459/JCM.0000000000001223.
16. Ivert T., Dalen M., Friberg O. Effect of COVID-19 on cardiac surgery volumes in Sweden. *Scandinavian Cardiovascular Journal*. 2023. 57, (1) 16610 doi:10.1080/14017431.2023.2166102.
17. Kim K.M., Arghami A., Habib R., Daneshmand M.A., Parsons N., Elhalabi Z., Krohn C., Thourani V., Bowdish M.E. The Society of Thoracic Surgeons Adult Cardiac Surgery Database: 2022 Update on Outcomes and Research. *Ann Thorac Surg*. 2023; 566-574. doi:10.1016/j.athoracsur.2022.12.033.
18. Gaudino M., Chikwe J., Hameed I., Robinson N.B., Fremes S.E., Ruel M. Response of Cardiac Surgery Units to COVID-19: an internationally-based quantitative survey. *Circulation*. 2020;142:300–2. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047865.
19. Nguyen T.C., Thourani V.H., Nissen A.P., Habib R.H., Dearani J.A., Ropski A., Crestanello J.A., Shahian D.M., Jacobs J.P., Badhwar V. The effect of COVID-19 on adult cardiac surgery in the United States in 717103 patients. *Ann Thorac Surg*. 2022;113(3):738–746. doi:10.1016/j.athoracsur.2021.07.015.
20. Rove J.Y., Reece T.B., Cleveland J.C. Jr, Pal J.D. Noteworthy literature of 2020: COVID effects in cardiac surgery. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth*. 2021; 25:151–5. doi:10.1177/10892532211012976.
21. Office of the Assistant Secretary for Planning and Evaluation, U.S. Department of Health and Human Services

Impact of the COVID-19 pandemic on the hospital and outpatient clinician workforce: challenges and policy responses (Issue Brief No. HP-2022-13) Available at: <https://aspe.hhs.gov/reports/covid-19-health-care-workforce> (accessed 25.09.2022)

22. Casey L., Khan N., Healy D.G. The impact of the COVID-19 pandemic on cardiac surgery and transplant services in Ireland's

national centre. *Ir J Med Sci.* 2021;190(1):13–17. doi:10.1007/s11845-020-02292-6.

23. Chen J., Zhang T., Feng D., Liu Y., Zhang T., Wang J., Liu L. A 9-year analysis of medical malpractice litigations in coronary artery bypass grafting in China. *J Cardiothorac Surg.* 2023; 12;18(1):73. doi:10.1186/S13019-023-02172-X.

REFERENCES

1. Sharapova O.V., Kicha D.I., Gerasimova L.I., Rukodaynyy O.V., Fomina R.V., Evzerikhina A.V., Barsukova E.V. Map analysis of morbidity and mortality from blood circulatory system diseases of the population of the Russian Federation (2010–2019). *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2022;11(1): 56-68. doi: 10.17802/2306-1278-2022-11-1-56-68] (in Russian)

2. Heidenreich P.A., Trogon J.G., Khavjou O.A., Butler J., Dracup K., Ezekowitz M.D., Finkelstein E.A., Hong Y., Johnston S.C., Khera A., Lloyd-Jones DM., Nelson S.A., Nichol G., Orenstein D., Wilson P.W.F., Woo Y.J.; American Heart Association Advocacy Coordinating Committee; Stroke Council; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Clinical Cardiology; Council on Epidemiology and Prevention; Council on Arteriosclerosis; Thrombosis and Vascular Biology; Council on Cardiopulmonary; Critical Care; Perioperative and Resuscitation; Council on Cardiovascular Nursing; Council on the Kidney in Cardiovascular Disease; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, and Interdisciplinary Council on Quality of Care and Outcomes Research. Forecasting the Future of Cardiovascular Disease in the United States A Policy Statement From the American Heart Association. *Circulation* 2011; 123:933-944. doi: 10.1161/CIR.0b013e31820a55f5.

3. Roth G. A., Mensah G. A., Johnson C. O., Addolorato G., Ammirati E., Baddour L. M., Benziger C. P., Bonny A. et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990–2019. *Journal of the American College of Cardiology.* 2020 76(25):2982-3021.; doi:10.1016/j.jacc.2020.11.010.

4. Bokeria L.A. (ed.). *Cardiovascular Surgery – 2019.* A.N. Bakulev National Medical Research Center for Cardiovascular Surgery of the Ministry of Health of the Russian Federation; 2020. 294 p. (In Russian).

5. Nakano S., Kohsaka S., Chikamori T., Fukushima K., Kobayashi Y., Kozuma K., Manabe S., Matsuo H. et al. JCS 2022 Guideline Focused Update on Diagnosis and Treatment in Patients With Stable Coronary Artery Disease. *Circ J* 2022; 86: 882–915. doi:10.1253/circj.CJ-21-1041.

6. Shumakov D.V., Zybin D.I., Popov M.A. Current state and perspectives of cardiac surgical care development in Moscow region. *The Russian Journal of Preventive medicine.* 2022;25(9):7–14. doi:10.17116/profmed202250917 (in Russian)

7. De Winter R.W., Rahman M.S., Van Diemen P.A., Schumacher S.P., Ruurt A. Jukema R.A., Somsen Y.B.O., Van Rossum A.C., Verouden N.J., Danad I., Delewi R., Nap A., Knaapen P. Diagnostic and Management Strategies in Patients with Late Recurrent Angina after Coronary Artery Bypass Grafting. *Current Cardiology Reports.* 2022; 24, 1309–1325. doi:10.1007/s11886-022-01746-w

8. Sakaguchi G., Shimamoto T., Komiya T. Impact of repeated percutaneous coronary intervention on long-term survival after subsequent coronary artery bypass surgery. *J. Cardiothorac. Surg.* 2011; 6: 107. doi:10.1186/1749-8090-6-107.

9. Taggart D.P. Coronary artery bypass graft vs. percutaneous coronary angioplasty: CABG on the rebound? *Curr. Opin. Cardiol.* 2007; 22(6), 517–523 doi:10.1097/HCO.0b013e3282f001a2.

10. Stat. Organisation for Economic Co-operation and Development, (OECD). *Health Care Utilisation: Surgical procedures.* Available at: <https://stats.oecd.org> (accessed 15 Jul 2021).

11. Alkhouli M., Alqahtani F., Kalra A., Gafoor S., Alhajji M., Alreshidan M., Holmes D.R., Lerman A. Trends in Characteristics and

Outcomes of Hospital Inpatients Undergoing Coronary Revascularization in the United States, 2003–2016. *JAMA Network Open.* 2020; 3(2):e1921326. doi:10.1001/jamanetworkopen.2019.21326.

12. Semenov V.Yu., Samorodskaya I.V. Dynamics of the number of myocardial revascularization operations in some countries in comparison with the Russian Federation in 2000–2018. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2021;10(4):68-78. doi:10.17802/2306-1278-2021-10-4-68-78 (in Russian)

13. Nader J., Anselmi A., Tomasi J., Martin A., Aymami M., Rouze S., Verhoye J.P. Adult cardiac surgery during COVID-19 lockdown: Impact on activity and outcomes in a high-volume centre. *Archives of Cardiovascular Diseases.* 2021; 114(5): 364–370. doi:10.1016/j.acvd.2020.12.003.

14. Parcha V., Kalra R., Glenn A.M., Davies J.E., Kuranz S., Arora G., Arora P. Coronary artery bypass graft surgery outcomes in the United States: Impact of the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. *JTCVS Open.* 2021; 6: 132–143. doi:10.1016/j.xjon.2021.03.016

15. Bonalumi G., Giambuzzi I., Buratto B., Barili F., Garatti A., Pilozi C. A., Di Mauro M., Parolari A.; COVID-SICCH Task Force of the Italian Society for Cardiac Surgery. The day after tomorrow: cardiac surgery and coronavirus disease-2019. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2022;23(2): 75-83. doi:10.2459/JCM.000000000001223.

16. Ivert T., Dalen M., Friberg O. Effect of COVID-19 on cardiac surgery volumes in Sweden. *Scandinavian Cardiovascular Journal.* 2023. 57, (1) 16610 doi:10.1080/14017431.2023.2166102.

17. Kim K.M., Arghami A., Habib R., Daneshmand M.A., Parsons N., Elhalabi Z., Krohn C., Thourani V., Bowdish M.E. The Society of Thoracic Surgeons Adult Cardiac Surgery Database: 2022 Update on Outcomes and Research. *Ann Thorac Surg.* 2023; 566-574. doi:10.1016/j.athoracsur.2022.12.033.

18. Gaudino M., Chikwe J., Hameed I., Robinson N.B., Fremes S.E., Ruel M. Response of Cardiac Surgery Units to COVID-19: an internationally-based quantitative survey. *Circulation.* 2020;142:300–2. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047865.

19. Nguyen T.C., Thourani V.H., Nissen A.P., Habib R.H., Dearani J.A., Ropski A., Crestanello J.A., Shahian D.M., Jacobs J.P., Badhwar V. The effect of COVID-19 on adult cardiac surgery in the United States in 717103 patients. *Ann Thorac Surg.* 2022;113(3):738–746. doi:10.1016/j.athoracsur.2021.07.015.

20. Rove J.Y., Reece T.B., Cleveland J.C. Jr, Pal J.D. Noteworthy literature of 2020: COVID effects in cardiac surgery. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth.* 2021; 25:151–5. doi:10.1177/10892532211012976.

21. Office of the Assistant Secretary for Planning and Evaluation, U.S. Department of Health and Human Services Impact of the COVID-19 pandemic on the hospital and outpatient clinician workforce: challenges and policy responses (Issue Brief No. HP-2022-13) Available at: <https://aspe.hhs.gov/reports/covid-19-health-care-workforce> (accessed 25.09.2022)

22. Casey L., Khan N., Healy D.G. The impact of the COVID-19 pandemic on cardiac surgery and transplant services in Ireland's national centre. *Ir J Med Sci.* 2021;190(1):13–17. doi:10.1007/s11845-020-02292-6.

23. Chen J., Zhang T., Feng D., Liu Y., Zhang T., Wang J., Liu L. A 9-year analysis of medical malpractice litigations in coronary artery bypass grafting in China. *J Cardiothorac Surg.* 2023; 12;18(1):73. doi:10.1186/S13019-023-02172-X.

Для цитирования: Семенов В.Ю., Коваленко О.А. Динамика операций коронарного шунтирования в некоторых федеральных округах Российской Федерации в 2019–2021 годах. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2024;13(3): 83-91. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-83-91

To cite: Semenov V.Yu., Kovalenko O.A. Changes in the number of coronary bypass surgery in some regions of the Russian Federation in 2019–2021. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2024;13(3): 83-91. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-83-91



УДК 616.12-003.821-07

DOI 10.17802/2306-1278-2024-13-3-92-104

ТРАНСТИРЕТИНОВАЯ (АТТР) АМИЛОИДНАЯ КАРДИОМИОПАТИЯ В НАШИ ДНИ. РАСПРОСТРАНЕННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ С ОТКРЫТЫМИ ПРОБЛЕМАМИ

Д.П. Голубовская, Т.Б. Печерина, О.Л. Барбараш

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Основные положения

- Представлен обзор актуальных литературных данных, которые посвящены последним изменениям в эпидемиологии и особенностям транстиретинового амилоидоза. В обзоре освещены факторы, повышающие вероятность наличия у пациента данного заболевания, акцентировано внимание на группе больных высокого риска, а также представлены проблемы неинвазивного диагностического ведения лиц с амилоидозом сердца в клинической практике.

Резюме

Транстиретиновая (АТТР) амилоидная кардиомиопатия – тяжелое инфильтративное заболевание сердца с формированием сердечной недостаточности (СН), как правило, с сохранной и умеренно сниженной фракцией выброса левого желудочка, с рестриктивным и ложногипертрофическим фенотипом, негативно влияющее на прогноз и качество жизни пациентов. В отсутствие своевременной специфической терапии медиана выживаемости приближена к 2–3,5 годам для разных форм АТТР-амилоидоза. Достижения в области неинвазивной визуализации сердца, доступность генетического тестирования, выделение групп пациентов высокого риска амилоидной кардиомиопатии, появление новых методов специфического лечения хоть и привели к увеличению выявляемости заболевания, однако уже на ее поздних стадиях (когда представлены развернутая картина СН и выраженное утолщение стенок сердца), что отрицательно сказывается на прогнозе больных. Междисциплинарный подход, настороженность и своевременная диагностика имеют решающее значение как для АТТР-амилоидоза, так и для проблемы СН в целом.

Ключевые слова

Транстиретиновая амилоидная кардиомиопатия • Амилоидоз • Сердечная недостаточность с сохранной фракцией выброса • Сцинтиграфия

Поступила в редакцию: 08.05.2024; поступила после доработки: 10.06.2024; принята к печати: 21.07.2024

TRANSTIRETINIC (ATTR) AMYLOID CARDIOMYOPATHY NOWADAYS. A COMMON DISEASE WITH OPEN PROBLEMS

D.P. Golubovskaya, T.B. Pecherina, O.L. Barbarash

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

Highlights

- The article presents a review of literature data devoted to the latest changes in the epidemiology and features of transthyretin (ATTR) amyloidosis. The review highlights factors that increase the likelihood of a patient having this disease, emphasizing the group of high-risk patients, and discusses issues of non-invasive diagnostic management of a patient with cardiac amyloidosis in clinical practice.

Abstract

Transthyretin (ATTR) amyloid cardiomyopathy is a severe infiltrative heart disease that followed by heart failure (HF) with a preserved and moderately reduced left ventricular ejection fraction and a restrictive phenotype. It negatively affects the prognosis and quality of life of patients. In the absence of timely treatment,

Для корреспонденции: Дарья Петровна Голубовская, dasha250695k@mail.ru; адрес: бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Corresponding author: Darya P. Golubovskaya, dasha250695k@mail.ru; address: 6, academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

the median survival is 2–3.5 years for different forms of ATTR amyloidosis. Advances in noninvasive cardiac imaging, availability of genetic testing, identification of «high risk» groups of patients with amyloid cardiomyopathy, and the emergence of new methods of treatment have increased the detection rate of the disease, but only at its later stages (when a patient suffers from heart failure and pronounced hypertrophic cardiomyopathy), which negatively affects the prognosis of patients. Therefore, an interdisciplinary approach, vigilance, and timely diagnostics are crucial for both ATTR amyloidosis and the problem of heart failure in general.

Keywords

Transthyretin amyloid cardiomyopathy • Amyloidosis • Heart failure with preserved ejection fraction • Scintigraphy

Received: 08.05.2024; received in revised form: 10.06.2024; accepted: 21.07.2024

Список сокращений

КМП	– кардиомиопатия	СН	– сердечная недостаточность
ЛЖ	– левый желудочек	СНсФВ	– сердечная недостаточность с сохранной фракцией выброса
МРТ	– магнитно-резонансная томография	ЭКГ	– электрокардиография
ОРФП	– остеотропные радиофармацевтические препараты	ЭхоКГ	– эхокардиография

Введение

Амилоидоз относится к группе инфильтративных заболеваний, при которых происходит внеклеточное отложение патологического нерастворимого гликопротеида (амилоида) в различных органах и тканях [1]. На сегодняшний день известно 36 таких белков-предшественников, которые имеют разную тропность к органам [2]. От того, в каких органах откладывается амилоид, будет зависеть выраженность и разнообразие клинической картины заболевания [3]. Несмотря на гетерогенность патологии, наличие и тяжесть поражения сердца является ведущим предиктором смертности у пациентов с амилоидозом [4]. Установлено, что около 95% всех случаев амилоидной кардиомиопатии (КМП) приходится на два типа: AL-амилоидоз (амилоидоз легких цепей иммуноглобулинов) и ATTR-амилоидоз (транстиретиновый амилоидоз) [5]. В отсутствие специфической терапии медиана выживаемости приближена к 2–3,5 годам для разных форм ATTR-амилоидоза и составляет менее года для AL-амилоидоза [3, 6].

Данная обзорная статья посвящена ATTR-КМП, которая до недавнего времени имела небольшую распространенность, однако за последние несколько лет стала привлекать значительное внимание по следующим причинам:

- появление новых методов специфического лечения, часть из которых уже доказали эффективность в снижении смертности и улучшении прогноза [7]. В Российской Федерации с 2017 г. используется препарат тафамидис (селективный стабилизатор транстиретина);
- достижения в области визуализации сердца,

которые позволили обойти стороной менее безопасную и технически сложную инвазивную диагностическую процедуру – эндомикардиальную биопсию. К основным достижениям относятся эхокардиография (ЭхоКГ) с использованием технологии Speckle Tracking [8], магнитно-резонансная томография (МРТ) миокарда с контрастным усилением гадолинием, сцинтиграфия миокарда с остеотропными радиофармацевтическими препаратами (ОРФП) (в РФ это пирофосфат технеция, или $^{99m}\text{Tc-PYP}$) [6]. Ввиду высокой чувствительности и специфичности данные методы заняли приоритетные позиции в диагностическом алгоритме. В итоге это сокращает время, затраченное на постановку диагноза;

- доступность генетического тестирования – в результате ATTRm (мутантная, или наследственно обусловленная форма транстиретинового амилоидоза) приобрела еще большее значение с увеличением распространенности определенных мутаций;

- проведение скрининга на наличие моноклональных белков в сыворотки крови и мочи (электрофорез с иммунофиксацией) с целью исключения AL-амилоидоза [6]. Одновременное проведение диагностических тестов в пользу ATTR- и AL-КМП позволяет быстрее определить диагноз и назначить специфическое лечение;

- определена высокая частота встречаемости ATTR-КМП у пациентов со стенозами аортального клапана, с фенотипом гипертрофической КМП, сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса (СНсФВ). Многие авторы выделяют таких пациентов в группы высокого риска амило-

идной КМП, что предполагает проведение скрининга на амилоидоз у этих пациентов.

Активный рост интереса врачей разных специальностей к АТТР-амилоидозу ввиду последних изменений в диагностике и лечении хоть и привел к увеличению выявляемости заболевания, однако уже на ее поздних стадиях, что отрицательно сказывается на прогнозе больных [7]. Поэтому ранняя диагностика заболевания имеет решающее значение. Усовершенствованный опыт ведения пациентов с сердечным амилоидозом может послужить моделью для изучения СНсФВ в целом.

Эпидемиология амилоидоза

Исторически амилоидоз относился к орфанным заболеваниям, поражающим 0,5 на 100 тыс. человек. Однако успехи в области неинвазивной диагностики (безбиопсийный подход) и разработка специфических методов лечения способствовали активному проведению скрининга населения, направленного на раннюю диагностику заболевания. В результате АТТР-амилоидоз стали выявлять значительно чаще [9, 10].

По последним данным программы медицинского страхования Medicare, в США в период с 2000 по 2012 г. уровень заболеваемости амилоидозом сердца (АТТР- и АL-амилоидоз) составил 17 на 100 тыс. человек [11]. В Великобритании распространенность системного амилоидоза к 2008 г. составила 0,8 на 100 тыс. человек [12] с постоянным увеличением числа новых случаев [13]. Так, по результатам базы данных Национального центра амилоидоза (Лондон), с 1987 по 2009 г. частота случаев постановки диагноза увеличилась на 3%, с 2016 по 2020 г. – на 25% [13]. В Швеции с 2006 по 2018 г. наблюдается неуклонный рост заболеваемости АТТР-амилоидоза – с 1,5 до 5 на 100 тыс. человек [14]. В Дании, по данным национального регистра, за 20 лет (1998–2017 гг.) показатель заболеваемости амилоидозом сердца изменился с 0,88 до 3,56 на 100 тыс. человек [15]. Похожее изменения зарегистрированы среди населения Италии [16]. В РФ в настоящее время отсутствуют официальные статистические данные о распространенности амилоидоза, однако по результатам регистровых исследований, выполненных специалистами ГБУЗ «ГКБ имени В.М. Буянова ДЗМ», в 2019 г. частота диагностически подтвержденных случаев амилоидоза составила 53 на 100 тыс. человек [17]. Таким образом, прослеживается тенденция увеличения распространенности АТТР-амилоидоза, при этом неясно, какие именно пациенты (с генетическими и фенотипическими особенностями, с наличием факторов, повышающих вероятность АТТР-амилоидоза) составляют данную статистику. Результаты крупнейшего в мире многоцентрового исследования ТНАОС

(Transthyretin Amyloidosis Outcomes Survey), в которое были включены пациенты с АТТР-амилоидозом (дикий и наследственный типы) из 17 стран, улучшили понимание течения заболевания путем его изучения авторами на большой гетерогенной популяции пациентов [18]. В результате были продемонстрированы демографические, клинические и генетические особенности пациентов с АТТР-амилоидозом, что в дальнейшем позволило повысить настороженность в отношении данного заболевания и тем самым улучшить раннюю диагностику [18].

Основные типы амилоидоза сердца

Амилоидоз сердца, или амилоидная КМП, может носить локальный характер, например при ААНF-амилоидозе (предсердный амилоидоз), а также быть частью системного (генерализованного) процесса при таких амилоидозах, как АТТР-амилоидоз, который бывает наследственного (АТТРm) и дикого (АТТРwt) типов, АL-амилоидоз, АА-амилоидоз (реактивный), А-b2M-амилоидоз (диализный) и ААpoAI-амилоидоз (обусловленный мутацией в генах белка аполипротеина А I) [3] (таблица).

АТТРwt характеризуется возрастными изменениями транстиретина (сывороточный белок-переносчик тироксина и ретинола, который синтезируется в печени), в то время как АТТРm вызван мутациями в гене самого белка (известно более 140 мутаций) [6]. В результате в обоих случаях происходит дестабилизация белка и образование мономеров, которые обладают амилоидогенностью.

В отличие от АТТР-амилоидоза при АL-амилоидозе источником амилоида является патологический клон плазматических клеток костного мозга, продуцирующий моноклональные легкие цепи гамма-иммуноглобулинов [6]. Этот патологический процесс встречается при миеломной болезни и характеризуется более молниеносным течением [3, 6]. Особенностью АL- и АТТР-КМП является тяжелая, агрессивно протекающая СН, как правило с сохранной фракцией выброса, по рестриктивному типу, рефрактерная к стандартной терапии [19], с нарушениями ритма и проводимости сердца. СН, ассоциированная с АТТР-КМП, связана с более высокой смертностью и плохим прогнозом по сравнению с другими ее частыми причинами: дилатационной, гипертрофической и ишемической КМП, пороками сердца, гипертонической болезнью [20].

АА-амилоидоз (вторичный/реактивный амилоидоз) развивается в результате длительно текущих воспалительных процессов в организме (аутоиммунные процессы по типу ревматоидного артрита, синдром Рейтера, псориаз, болезнь Крона, злокачественные опухоли, хронические инфекционные заболевания – остеомиелит, сифилис, туберкулез и др.). Источником сывороточного амилоида А яв-

Классификация основных типов амилоидоза сердца (адаптировано по Резник Е.В. и соавт., 2020 г. [3]; Терещенко С.Н. и соавт., 2022 г. [6])
 Classification of the main types of cardiac amyloidosis (adapted from Reznik E.V. et al., 2020 [3]; Tereshchenko S.N. et al., 2022 [6])

Тип амилоидоза / Type of amyloidosis	Локальный амилоидоз / Localized amyloidosis	Системный амилоидоз / Systemic amyloidosis					
		Транстиретинный амилоидоз / Transthyretin amyloidosis		Другие типы системного амилоидоза / Other types of systemic amyloidosis			
Подтип / Subtype	AAAF	ATTRm	ATTRwt	AL	AA	A ₂ M	A ₂ μAI
Депонированный белок / Deposited protein	Предсердный натрийуретический пептид / Atrial natriuretic factor	Мутантный транстиретин / Mutant transthyretin	Дикий мономер транстиретина / Wild-type transthyretin monomer	Свободные легкие цепи иммуноглобулинов / Free light chains of immunoglobulins	Амилоид А – предшественник острозаболевательного белка SAA / Amyloid A is a precursor of the acute phase protein SAA	b2-микроглобулин / b2-microglobulin	Аполипопротеин А-1 / ApoA1
Этиология / Etiology	Неизвестно / Unknown	Семейные мутации в гене транстиретина / Hereditary mutations in the transthyretin gene	Возрастные нарушения секреции транстиретина печенью / Age-related disorders of transthyretin secretion in the liver	Плазмоклеточная дискразия / Plasma cell dyscrasia	Системное аутоиммунное/инфекционное хроническое воспаление, ЗНО / Systemic autoimmune/infectious chronic inflammation, malignant neoplasm	Длительный гемодиализ. Использование низкопоточных диализаторов / Long-term hemodialysis. Using low-flux dialyzers	Семейные мутации в гене APOA1 / Hereditary mutations in the APOA1 gene
Поражение / Affected organs/ areas	Предсердия / Atria	ПНС/ВНС, сердце / PNS/ANS, heart	Сердце, мягкие ткани / Heart, soft tissues	Почки, сердце, печень, ВНС/ПНС, мягкие ткани / Kidneys, heart, liver, ANS/PNS, soft tissues	Почки, сердце / Kidneys, heart	Опорно-двигательный аппарат, сердце / Musculoskeletal system, heart	Сердце, печень, почки, ПНС, кожа, гортань / Heart, liver, kidneys, PNS, skin, larynx
Пол, возраст / Gender, age	У женщин чаще, чем у мужчин. Возраст > 80 лет / Women are more likely to have it than men. Age: > 80 years old	У мужчин чаще, чем у женщин. Возраст > 40 лет / Men are more likely to have it than women. Age: > 40 years old	У мужчин чаще, чем у женщин. Возраст > 70 лет / Men are more likely to have it than women. Age: > 70 years old	Оба пола. Старше 50 лет / Both genders have it equally. Over 50 years old	Оба пола. Любого возраста / Both genders have it equally. Any age	Оба пола. После 5 лет диализа / Both genders have it equally. After 5 years of dialysis	Оба пола. Любого возраста / Both genders have it equally. Any age
Специфические признаки / Specific signs	Фибрилляция предсердий, ревматические пороки сердца / Atrial fibrillation, rheumatic heart defects	Карпальный туннельный синдром, сенсомоторная полинейропатия («от дистального к проксимальному») / Carpal tunnel syndrome, sensorimotor neuropathy (“distal-to-proximal”)	Карпальный туннельный синдром, разрыв сухожилия бицепса, стеноз спинномозгового канала / Carpal tunnel syndrome, biceps tendon rupture, spinal stenosis	Периферическая полинейропатия. Макроглоссия. Перiorбитальная пурпура / Peripheral neuropathy. Macroglossia. Periorbital purpura	Нефротический синдром и/или почечная недостаточность / Nephrotic syndrome and /or kidney failure	Патологические переломы, деструктивная артропатия / Pathologic fractures, destructive arthropathy	Дисфония, полинейропатия, поражение правых отделов сердца / Dysphonia, neuropathy, injury of the right parts of the heart
Медиана выживаемости / Median survival	Неизвестно / Unknown	2 года (в зависимости от мутации) / 2 years (depending on the mutation)	4–6 лет / years	1–3 года / years	11 лет / years	15 лет / years	>10 лет / years
Терапия / Treatment	Изучается влияние РЧА и операции по типу «лабиринт» на течение заболевания / The influence of RFA and maze procedure on the course of the disease is being studied	Трансплантация печени ± сердца / Liver and heart transplantation; стабилизаторы транстиретина: тафамидис (зарегистрирован в РФ), дифлунисал / transthyretin stabilizers: tafamidis (registered in the RF), diflunisal; выключатели гена ATTR: инотерсен, патизиран / ATTR gene switches: inotersen, patisiran; расщепление амилоидных фибрилл: моноклональные АТ, доксициклин / TUDCA / Amyloid cleavage: monoclonal AT, doxycycline / TUDCA	Терапия такая же, как при ATTRm / The therapy is the same as with ATTRm	Трансплантация аутологичных стволовых клеток / Autologous stem cell transplantation; дистанционная лучевая терапия / remote radiation therapy; химиотерапия: мелфалан, циклофосфамид / chemotherapy: melphalan, cyclophosphamide; ГКС: преднизолон, дексаметазон / GCs: prednisolone, dexamethasone; ингибиторы протеасомы: бортезомид / proteasome inhibitors: bortezomib; иммуномодулятор: леналидомид / immunomodulator: lenalidomide; моноклональные АТ: даратумумаб / Monoclonal AT: daratumumab; ингибитор BCL-2: венетоклакс / BCL-2 inhibitor: venetoclax	Ингибиторы: ФНО-α, ИЛ-1, ИЛ-6 / Inhibitors: TNF-α, IL-1, IL-6; колхицин / Colchicine; купирование основного заболевания. Контроль воспаления / Mitigation of symptoms of the underlying disease. Control of inflammation	Высокопоточные диализаторы / High-flux dialyzers; селективные адсорбенты для b2-микроглобулина / selective adsorbents for b2-microglobulin; ранняя пересадка почки / early kidney transplantation	Симптоматическое лечение. В запущенных случаях трансплантация пораженных органов / Symptomatic treatment. In severe cases – transplantation of affected organs

Примечание: АТ – антитела; ВНС – вегетативная нервная система; ГКС – глюкокортикостероиды; ЗНО – злокачественное новообразование; ИЛ – интерлейкин; ПНС – периферическая нервная система; РЧА – радиочастотная катетерная абляция; ФНО-α – фактор некроза опухоли-α; TUDCA – тауредзоксихолевая кислота.
Note: AT – antibodies; ANS – autonomic nervous system; GCs – glucocorticosteroids; IL – interleukin; PNS – peripheral nervous system; RF – Russian Federation; TNF-α – tumor necrosis factor-α; TUDCA – tauroursodeoxycholic acid.

ляется острофазовый белок воспаления (serum amyloid A, SAA), вырабатываемый печенью. При данном типе амилоидоза мишенью являются почки, сердце поражается в 3% случаев [3]. Остальные типы амилоидоза с поражением сердца представлены в *таблице*.

АТТR-амилоидоз дикого типа (АТТRwt)

Ранее установлено, что АТТRwt наблюдается преимущественно у мужчин в возрасте старше 65–70 лет и, как правило, представлен СНсФВ [21]. Доказана прямая связь между возрастом пациента и вероятностью возникновения АТТRwt [22]. Учитывая рост численности пожилого населения в мире, в течение следующих трех десятилетий АТТRwt амилоидоз может стать наиболее распространенным типом амилоидной КМП.

Большинство эпидемиологических данных были получены на основании результатов аутопсии. Так, по данным одного из исследований, каждый четвертый пациент старше 80 лет имел отложение амилоидогенного транстиретина в сердце [23]. В более раннем исследовании продемонстрированы не только схожие результаты, но и клиничко-гистологическую взаимосвязь, которая проявлялась в следующем: у пациентов с сердечным амилоидозом чаще встречалась СНсФВ, фибрилляция предсердий, был более тяжелый функциональный класс СН по классификации Нью-Йоркской ассоциации сердца (NYHA) [24]. Примечательно, что более 30% пациентов с гистологически подтвержденным диагнозом амилоидоза при ретроспективной оценке имели, по данным ЭхоКГ, признаки амилоидной КМП, однако диагноз был поставлен несвоевременно (посмертно) [24]. На основании накопленных результатов многих научных работ эти и многие другие кардиальные признаки (низкий вольтаж зубцов по электрокардиографии (ЭКГ), гипотензия при наличии артериальной гипертензии в анамнезе, толщина стенки левого желудочка (ЛЖ) более 12 мм, нарушение проводимости и др.) позволяют лечащему врачу заподозрить наличие амилоидоза сердца на ранних стадиях [6]. Клинические рекомендации и международные консенсусы выделяют их в красные флаги АТТR-КМП [6, 25]. Несмотря на разносторонность и неспецифичность симптоматики (дерматит, полиневропатия, вегетативная дисфункция, зрительные нарушения и др.), патология имеет типичные особенности: очередность вовлечения систем организма в патологический процесс (чаще всего вовлекается в процесс опорно-двигательный аппарат, а именно поперечная связка запястья ввиду высокой тропности амилоидогенного транстиретина к ней), однотипность ранних симптомов (туннельный карпальный синдром, разрыв сухожилия бицепса, сенсомоторная

полинейропатия по типу «от дистального к проксимальному» и др.) [3, 6].

АТТR-амилоидоз наследственного типа (АТТRm)

Определено, что ген транстиретина расположен на 18q хромосоме. На сегодняшний день обнаружено более 140 различных мутаций в гене, большинство из которых амилоидогенные. В отличие от АТТR-амилоидоза дикого типа, который чаще характеризуется кардиологическим фенотипом, наследственный АТТR-амилоидоз имеет следующие основные клинические формы: преимущественно кардиологическая (чаще всего мутация Val122Ile), преимущественно неврологическая (чаще всего мутация Val30Met) или смешанная (чаще всего мутация Thr60Ala) [6]. Однако не только фенотип, но и прогноз АТТRm-амилоидоза зависит от типа мутации [26]. Следует отметить, что носительство мутантного гена не всегда приводит к развитию заболевания, поскольку инициаторами могут быть негенетические факторы: пол, возраст, этническая и географическая принадлежность [27], а также влияние иммунного ответа (система комплемента), что в настоящее время активно изучается на животных моделях [28].

Наследственные формы АТТR-амилоидоза в настоящее время зарегистрированы в 36 странах мира. В эндемичных районах распространенность болезни оценивается как 1 к 1 000 человек [29]. Данные о распространенности определенных мутаций в РФ в настоящее время отсутствуют.

Вариант мутации Val122Ile (преимущественно кардиологическая форма) ассоциирован с более поздним дебютом (средний возраст достигает 70 лет), мужским полом, тяжелой СН с функциональным классом по NYHA III и IV, высоким показателем N-концевого мозгового натрийуретического пропептида (NT-proBNP), самым высоким уровнем смертности и короткой медианой выживаемости после установленного диагноза среди всех вариантах АТТRm [30]. У 25–38% пациентов регистрируется фибрилляция предсердий ввиду анатомической особенности отложения амилоида в предсердиях [30]. Более редкие мутации, такие как Leu111Met и Ile8Leu, в основном встречающиеся в Италии и Дании, также приводят к тяжелой КМП, но уже в более молодом возрасте [31]. По данным регистра THAOS установлено, что почти у 60% пациентов с вариантом мутации Val122Ile наблюдалась сенсорная невропатия [18]. Мутация Val30Met, как правило, проявляется полиневропатией и уже в более позднем возрасте может манифестировать в КМП [18]. Таким образом, при подозрении на АТТRm-КМП рекомендовано всегда направлять пациента на консультацию к неврологу с акцентом на поиск данной патологии.

Неинвазивный диагностический поиск и подводные камни АТТР-КМП

До недавнего времени любое подозрение на амилоидоз сердца требовало подтверждения с помощью эндомиокардиальной либо экстракардиальной биопсии, что вызывало значительные задержки в диагностике ввиду сложности ее выполнения и малой доступности. Большим прорывом в понимании масштабности эпидемиологии АТТР-КМП послужил упрощенный диагностический алгоритм, предложенный J.D. Gillmore с соавт. в 2016 г., которым пользуются до сих пор [32]. Данный алгоритм позволяет в 100% случаев диагностировать АТТР-КМП с помощью сцинтиграфии миокарда с использованием ^{99m}Tc -PYP у пациентов, у которых лабораторно отсутствует моноклональная гаммапатия. Внедрение данного алгоритма позволило исключить рутинное проведение биопсии миокарда для диагностики амилоидоза. Однако, несмотря на высокую распространенность АТТР-КМП вследствие рутинного использования сцинтиграфии миокарда, заболевание все еще демонстрирует низкий процент прижизненно диагностированных случаев [33]. Одной из причин является то, что симптомы СН (одышка, усталость, слабость) при амилоидной КМП часто неспецифичны и ассоциируемы со старением, таким образом упускаются из виду. Во-вторых, старшая возрастная категория пациентов имеет высокий профиль коморбидности, что затрудняет дифференциальную диагностику неспецифичной симптоматики. В результате чего такие пациенты требуют комплексного и междисциплинарного подхода с целью активного выявления маркеров (клинических, инструментальных, лабораторных), повышающих диагностические шансы в пользу данного заболевания и оправдывающих проведение сцинтиграфии миокарда.

Из-за фенотипической разнородности пациентов с СНсФВ необходим скрининг различных состояний, ассоциированных с повышенным риском наличия АТТР-КМП. Так, в ряде исследований проанализирована распространенность АТТР-КМП у пациентов с СНсФВ с разнообразными критериями включения: результаты сцинтиграфии костей, пациенты с наличием показаний для имплантации кардиостимулятора по причине нарушения ритма сердца, проведенное хирургическое вмешательство по причине туннельного синдрома в анамнезе, фенотип гипертрофической КМП, стеноз аортального клапана и др. [34]. В результате установлено, что распространенность АТТР-КМП среди изученных состояний была выше, чем предполагали авторы. Таким образом, можно заключить, что по крайней мере у одного из десяти пациентов с СНсФВ, стенозом аортального клапана или гипертрофической КМП может быть пропущена АТТР-КМП. Возможно, что обязательный диагностический скрининг на

амилоидоз у данных групп пациентов повысит выявляемость заболевания. В других исследованиях изучалась распространенность амилоидной КМП у пациентов, которые перенесли хирургическую и эндоваскулярную замену аортального клапана, что предполагает изолированное отложение амилоида в клапан [35]. Распространенность достигала 16% случаев среди пациентов после транскатетерной замены аортального клапана и от 6 до 10% случаев после хирургического вмешательства [35], что повышает настороженность в пользу амилоидоза, а также оправдывает обязательное проведение сцинтиграфии миокарда с ^{99m}Tc -PYP у данной категории больных. Таким образом, результаты многочисленных скрининговых исследований привели к внедрению красных флагов в диагностические опции для пациентов с подозрением на АТТР-КМП [6].

Инструментальные и лабораторные критерии АТТР-КМП

Электрокардиография. ЭКГ-маркерами АТТР-КМП считаются следующие изменения: низковольтные комплексы QRS, псевдоинфарктный паттерн, блокада левой ножки пучка Гиса [8]. На самом деле эти признаки недостаточно чувствительны, чтобы идентифицировать диагноз. Так, первый ЭКГ-признак выявляется только у 25% больных с АТТР-КМП [36].

Тем не менее у пациентов с длительным течением болезни отмечается прогрессирующее снижение вольтажа, что связано с увеличением отложения амилоида в миокарде [36]. Таким образом, низкий вольтаж на ЭКГ – это поздний признак АТТР-КМП, который бесполезен для ранней диагностики. Псевдоинфарктный паттерн/блокада левой ножки пучка Гиса могут помочь заподозрить амилоидоз сердца, если у пациента отсутствуют другие причины их развития (наиболее частая – ишемическая болезнь сердца). С увеличением толщины межжелудочковой перегородки повышается вероятность наличия вышеописанных ЭКГ-признаков [37]. По данным многих научных работ, наблюдаются высокая вероятность формирования ритма фибрилляции предсердий с нормо- или брадисистолией для желудочков, нарушение проводимости по типу атриовентрикулярных блокад разных градаций, дисфункция синусового узла, что требует имплантации вспомогательных устройств [8]. Несмотря на наличие отличительных ЭКГ-особенностей в случаях АТТР-КМП, данный метод не помогает в ранней диагностике заболевания, так как изменения появляются при существенной инфильтрации миокарда амилоидом, что отрицательно влияет на прогноз. Однако следует помнить, что отсутствие этих ЭКГ-признаков не исключает диагноз амилоидоза сердца.

Эхокардиография. Доступный и простой метод

визуализации, который может вызвать подозрение на амилоидоз сердца, но не верифицировать его, – это трансторакальная ЭхоКГ. Существуют типичные признаки (красные флаги) инфильтративной КМП: в результате накопления амилоида в интерстициальном пространстве происходит концентрическое утолщение стенок левого и/или правого желудочков более 1,2 см (псевдогипертрофия), при этом у пациента, как правило, отсутствуют основные причины, которые могут приводить к истинной гипертрофии кардиомиоцитов и визуальной картине гипертрофии на ЭхоКГ (тяжелый аортальный стеноз, длительная артериальная гипертензия, гипертрофическая КМП) [3, 6, 8]. Но, с другой стороны, амилоидная КМП может протекать под маской данных заболеваний. При ультразвуковой визуализации сердечной мышцы (чаще межжелудочковой перегородки) определяется зернистость/глубки амилоида/свечение, однако это более субъективный признак, который зависит от множества факторов: возможности аппаратуры, качества изображения, освещения, ориентации не на расчетные показатели, а на зрительное восприятие изображения, опыта врача [8].

Помимо перечисленных признаков к основным также следует отнести нормальные или уменьшенные объемные показатели желудочков ввиду плохой податливости (релаксации) миокарда, что приводит к повышению давления наполнения желудочков, снижению тканевой доплеровской скорости митрального и трикуспидального колец, формированию диастолической дисфункции II типа [8]. В результате происходит прогрессирующее увеличение размеров и жесткости предсердий, что приводит к электромеханической диссоциации и ухудшению прогноза [38]. Несмотря на сохранную ФВ, сердечный выброс снижается до критических значений и становится зависимым от частоты сердечных сокращений [6, 8], что следует помнить на начальном этапе диагностики – сборе анамнеза заболевания. Дополнительные параметры при амилоидозе, которые редко используют в реальной клинической практике, могут служить самыми ранними ЭхоКГ-признаками и предшествовать клинике СН: снижение фракционного укорочения < 30% и глобальной базальной продольной деформации (стрейн) с апикальным сохранением (типичный вид «вишенка на торте» или «бычий глаз») [6, 8]. Оценка данных параметров наиболее полезна у пациентов с необъяснимой причиной гипертрофии ЛЖ, а также для более точной оценки динамики прогрессирования, влияния на прогноз [39] или эффективности лечения амилоидной КМП.

Проблема использования данных методов заключается в их технической сложности. Вероятно, включение их в стандартные протоколы ЭхоКГ для рутинного использования в клинике, а не только в

научных целях позволит повысить осведомленность врачей о данном заболевании и улучшить раннюю выявляемость. Чувствительность данного метода диагностики повышается при наличии сразу нескольких инструментальных и/или клинических красных флагов у пациента [40]. Так, сочетание параметров утолщения ЛЖ по ЭхоКГ и низкого вольтажа зубцов ЭКГ повышает чувствительность почти до 80% [41]. В одном итальянском исследовании в когорте пациентов старше 55 лет ($n = 217$) с типичными ЭхоКГ-признаками амилоидной КМП (> 1 критерия ЭхоКГ при наличии гипертрофированного, недилатированного ЛЖ и сохранной ФВ) распространенность сердечного амилоидоза составила 29%, что демонстрирует хорошую диагностическую точность данного метода исследования [42]. Однако не всегда отсутствие ЭхоКГ-признаков амилоидной КМП и признаков СН исключает данный диагноз. В одной из работ отмечено, что в когорте пациентов с СНсФВ без гипертрофии ЛЖ частота встречаемости АТТР-амилоидоза составила 5% [43], что подтверждает значимость ранней диагностики до манифестации гипертрофии миокарда. В другом исследовании описаны течение заболевания и прогноз у пациентов без симптомов СН. Почти у 30% пациентов с АТТР-КМП ($n = 118$), не имевших симптомы СН на момент включения в исследование, развилась клиника СН, почти столько же умерли через 3,7 года (средний период наблюдения) [44]. Поэтому не менее важной задачей является постановка диагноза до появления развернутой картины СН. Таким образом, ЭхоКГ является высокоспецифичным методом ранней диагностики АТТР-КМП, однако его чувствительность далека от 100% значения и зависит от нескольких факторов: опыта врача-диагноста, качества аппаратуры, наличия сочетания нескольких (более одного критерия при гипертрофии ЛЖ) визуализирующих критериев, выраженности инфильтративного процесса.

Магнитно-резонансная томография. Большое значение в неинвазивной диагностике занимает МРТ с гадолинием (внеклеточное контрастное вещество), которое проявляется усилением сигнала с субэндокардиальным и трансмуральным контрастированием [3]. Данная специфическая картина позволяет дифференцировать амилоидоз сердца от других КМП, диагностировать заболевание на самых ранних стадиях, когда у пациентов еще отсутствуют признаки гипертрофии ЛЖ и выраженные нарушения рестрикции, а также рассчитать объем накопления амилоида (тяжесть заболевания) [3]. Чувствительность и специфичность данного метода диагностики достигает 88 и 92% соответственно [45]. Однако его использование ограничено у пациентов с почечной недостаточностью.

Сцинтиграфическое исследование. Сцинтиграфия миокарда с ОРФП (в РФ это ^{99m}Tc -PYP) – самый точный метод неинвазивной диагностики АТТР-КМП, который позволяет установить диагноз без биопсии в самые ранние сроки, в отличие от ЭхоКГ и МРТ [6, 32]. По результатам крупных когортных исследований, чувствительность данного метода диагностики достигает 100% при наличии 2-й или 3-й степени поглощения костного индикатора по шкале Perugini и при отсутствии признаков AL-амилоидоза по всем трем лабораторным тестам (электрофорез моноклонального белка в сыворотке крови и моче с помощью иммунофиксации, анализ на свободные легкие цепи в сыворотке крови) [32]. Однако до сих пор остается неопределенность в отношении пациентов с 1-й степенью накопления ОРФП: является ли такой результат отрицательным или вариантом начальной стадии заболевания; оправдано ли инициирование терапии на данном этапе или необходим динамический контроль остеоцинтиграфии и в какие сроки (через 3/6/12 мес.); требуют ли такие пациенты более глубокого скрининга на АТТРm-амилоидоз ввиду изученной низкой чувствительности редких патогенных мутаций транстиретиона (Ser97Tyr, Ph84Leu, Tyr114Cys и др.) к сцинтиграфии с костными индикаторами [46].

Несмотря на диагностическую ценность данного метода, прогностическая роль остается спорной. Доказано, что поражение сердца при амилоидозе напрямую является предиктором смертности [4], а также замечена потенциальная связь между бивентрикулярным поглощением ОРФП при проведении сцинтиграфии и смертностью от сердечных и от всех причин, госпитализаций по поводу СН [47]. В другом исследовании оценивалась выживаемость пациентов с АТТР-амилоидозом, стратифицированных в соответствии с оценкой по шкале Perugini (0–3 степень) по данным сцинтиграфии с ^{99m}Tc -PYP [48]. Так, степень поглощения ОРФП не имела прогностического значения [48]. Возможно, это могло быть связано с конкурирующим поглощением препарата другими органами и тканями. Для возможности проведения мониторинга активности заболевания, оценки степени его влияния на прогноз и эффекта от терапии при помощи сцинтиграфии с ОРФП

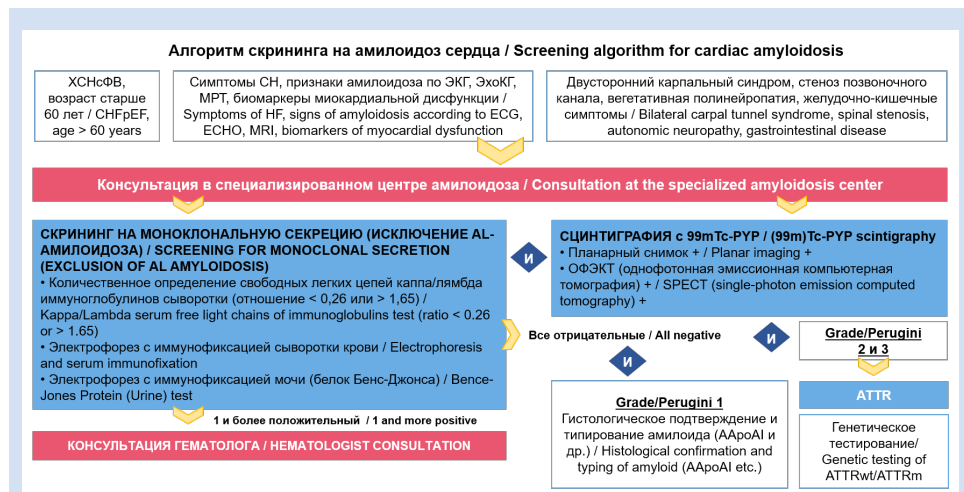
требуется дальнейшее глубокое изучение АТТР-КМП и проблемы амилоидоза в целом.

Лабораторные исследования. Для АТТР-КМП характерны непропорционально высокий уровень NT-proBNP и постоянно повышенный уровень концентрации тропонина при отсутствии коронарного поражения [6]. Оценка данных показателей не обладает высокой специфичностью, а только помогает подкрепить подозрения в пользу инфильтративного заболевания сердца. Важным этапом диагностики после подтверждения АТТР-амилоидоза более точными инструментальными методами (сцинтиграфия миокарда) является проведение генетического тестирования для дифференциальной диагностики мутантного и сенильного АТТР-амилоидоза. Представленные два типа АТТР-амилоидоза различаются скоростью прогрессирования и клиническим течением заболевания, что влияет на лечебную тактику [6]. При сомнительных результатах сцинтиграфии для исключения иного типа амилоидной КМП предлагается проведение гистологического исследования с последующей иммуногистохимией для типирования амилоида [6]. Стоит помнить о важности проведения лабораторного скрининга на AL-амилоидоз (электрофорез с иммунофиксацией белков сыворотки крови и мочи для определения легких лямбда- и каппа-цепей иммуноглобулинов в сыворотке и белка Бенс-Джонса в моче) [3].

На рисунке представлен диагностический алгоритм у пациентов с подозрением на амилоидоз сердца.

Заключение

АТТР-КМП – тяжелое инфильтративное заболевание сердца с плохим прогнозом при несвое-



Диагностический алгоритм у пациентов с подозрением на амилоидоз сердца [47, 49]

Примечание: МРТ – магнитно-резонансная томография; СН – сердечная недостаточность; ХСНсФВ – хроническая сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса; ЭКГ – электрокардиография; ЭхоКГ – эхокардиография; ^{99m}Tc -PYP – пирофосфат технеция; АТТРm – мутантный тип транстиретинового амилоидоза; АТТРwt – дикый тип транстиретинового амилоидоза.

Diagnostic algorithm for patients with suspected cardiac amyloidosis [47, 49]

Note: MRI – magnetic resonance imaging; HF – heart failure; CHFpEF – chronic heart failure with preserved ejection fraction; ECG – electrocardiography; ECHO – echocardiography; ^{99m}Tc -PYP – technetium pyrophosphate; АТТРm – mutant type amyloidosis; АТТРwt – wild-type amyloidosis.

ременно начатом лечении или его отсутствии. Заболевание распространено среди пациентов с СН с сохраненной и умеренно сниженной фракцией выброса, что делает проблему более масштабной и актуальной. Несмотря на неспецифичность лабораторных методов диагностики, достижения в области неинвазивной визуализации (ЭхоКГ, МРТ, сцинтиграфия ОРФП) способствовали росту новых диагностически подтвержденных случаев АТТР-КМП за последние несколько десятков лет. С появлением специфических методов лечения, которые продемонстрировали благоприятное влияние на прогноз и качество жизни таких пациентов, ранняя диагностика (до развернутой картины СН и выраженного утолщения стенок сердца) приобрела важное значение. Несмотря на наличие кардиальных и экстракардиальных красных флагов АТТР-амило-

идоза, данная проблема все еще остается актуальной. Поэтому настороженность и своевременная диагностика, междисциплинарный подход имеют решающее значение как для АТТР-амилоидоза, так и для проблемы СН в целом.

Конфликт интересов

Д.П. Голубовская заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.Б. Печерина заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.Л. Барбараш является главным редактором журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний».

Финансирование

Авторы заявляют об отсутствии финансирования исследования.

Информация об авторах

Голубовская Дарья Петровна, младший научный сотрудник лаборатории фиброгенеза миокарда федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-3922-009X

Печерина Тамара Борзалиевна, доктор медицинских наук, доцент заведующая лабораторией фиброгенеза миокарда федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4771-484X

Барбараш Ольга Леонидовна, академик 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

Author Information Form

Golubovskaya Darya P., Junior Researcher at the Laboratory of Myocardial Fibrogenesis, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-3922-009X

Pecherina Tamara B., PhD, Associate Professor, Head of the Laboratory of Myocardial Fibrogenesis, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4771-484X

Barbarash Olga L., Member of the Russian Academy of Sciences, Professor, PhD, Head 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

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

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

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

Author Contribution Statement

GDP – contribution to the concept of the study, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Hassan W., Al-Sergani H., Mourad W., Tabbaa R. Amyloid heart disease. New frontiers and insights in pathophysiology, diagnosis, and management. *Tex Heart Inst J.* 2005;32(2):178-84.
- Benson M.D., Buxbaum J.N., Eisenberg D.S., Merlini G., Saraiva M.J.M., Sekijima Y., Sipe J.D., Westermarck P. Amyloid nomenclature 2018: recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee. *Amyloid.* 2018 Dec;25(4):215-219. doi: 10.1080/13506129.2018.1549825.
- Резник Е.В., Нгуен Т.Л., Степанова Е.А., Устюжанин Д.В., Никитин И.Г. Амилоидоз сердца: взгляд терапевта и кардиолога. *Архив внутренней медицины.* 2020; 10(6): 430-457. doi: 10.20514/2226-6704-2020-10-6-430-457
- Sperry B.W., Vranian M.N., Hachamovitch R., Joshi H., Ikram A., Phelan D., Hanna M. Subtype-Specific Interactions and Prognosis in Cardiac Amyloidosis. *J Am Heart Assoc.* 2016;5(3):e002877. doi: 10.1161/JAHA.115.002877.
- Maleszewski J.J. Cardiac amyloidosis: pathology, nomenclature, and typing. *Cardiovasc Pathol.* 2015;24(6):343-50. doi: 10.1016/j.carpath.2015.07.008.
- Терещенко С.Н., Жиров И. В., Моисеева О.М., Адашева Т.В., Аншелес А.А., Барбараш О.Л., Галявич А.С., Гудкова А.Я., Затеишиков Д.А., Костарева А.А., Насонова С.Н., Недогода С.В., Печерина Т.Б., Рыжкова Д.В., Сергиенко В.Б. Практические рекомендации по диагностике транстиретиновой амилоидной кар-

диомиопатии (ATTR-КМП или транстиретинового амилоидоза сердца). *Терапевтический архив*. 2022;94(4):584–595. doi: 10.26442/00403660.2022.04.201465

7. Maurer M.S., Schwartz J.H., Gundapaneni B., Elliott P.M., Merlini G., Waddington-Cruz M., Kristen A.V., Grogan M., Witteles R., Damy T., Drachman B.M., Shah S.J., Hanna M., Judge D.P., Barsdorf A.I., Huber P., Patterson T.A., Riley S., Schumacher J., Stewart M., Sultan M.B., Rapezzi C.; ATTR-ACT Study Investigators. Tafamidis Treatment for Patients with Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2018;379(11):1007–1016. doi: 10.1056/NEJMoa1805689.

8. Джиоева О.Н. Функциональная диагностика амилоидной кардиомиопатии в условиях практики и экспертных центров. *Терапевтический архив*. 2023;95(1):96–102. doi: 10.26442/00403660.2023.01.202081

9. Lahuerta Pueyo C., Aibar Arregui M.Á., Gracia Gutierrez A., Bueno Juana E., Menao Guillén S. Estimating the prevalence of allelic variants in the transthyretin gene by analysing large-scale sequencing data. *Eur J Hum Genet*. 2019;27(5):783–791. doi: 10.1038/s41431-019-0337-1.

10. Narotsky D.L., Castano A., Weinsaft J.W., Bokhari S., Maurer M.S. Wild-Type Transthyretin Cardiac Amyloidosis: Novel Insights From Advanced Imaging. *Can J Cardiol*. 2016;32(9):1166.e1–1166.e10. doi: 10.1016/j.cjca.2016.05.008.

11. Gilstrap L.G., Dominici F., Wang Y., El-Sady M.S., Singh A., Di Carli M.F., Falk R.H., Dorbala S. Epidemiology of Cardiac Amyloidosis-Associated Heart Failure Hospitalizations Among Fee-for-Service Medicare Beneficiaries in the United States. *Circ Heart Fail*. 2019;12(6):e005407. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.118.005407.

12. Pinney J.H., Smith C.J., Taube J.B., Lachmann H.J., Venner C.P., Gibbs S.D., Dungu J., Banypersad S.M., Wechalekar A.D., Whelan C.J., Hawkins P.N., Gillmore J.D. Systemic amyloidosis in England: an epidemiological study. *Br J Haematol*. 2013;161(4):525–32. doi: 10.1111/bjh.12286.

13. Ravichandran S., Lachmann H.J., Wechalekar A.D. Epidemiologic and Survival Trends in Amyloidosis, 1987–2019. *N Engl J Med*. 2020;382(16):1567–1568. doi: 10.1056/NEJMc1917321.

14. Mejia Baranda J., Ljungberg J., Wixner J., Anan I., Oskarsson V. Epidemiology of hereditary transthyretin amyloidosis in the northernmost region of Sweden: a retrospective cohort study. *Amyloid*. 2022;29(2):120–127. doi: 10.1080/13506129.2022.2026323.

15. Westin O., Butt J.H., Gustafsson F., Schou M., Salomo M., Køber L., Maurer M., Fosbøl E.L. Two Decades of Cardiac Amyloidosis: A Danish Nationwide Study. *JACC CardioOncol*. 2021;3(4):522–533. doi: 10.1016/j.jacc.2021.05.004.

16. Zampieri M., Nardi G., Del Monaco G., Allinovi M., Gabriele M., Zocchi C., Casagrande S., Fumagalli C., Di Mario C., Olivetto I., Perfetto F., Cappelli F. Changes in the perceived epidemiology of amyloidosis: 20 year-experience from a Tertiary Referral Centre in Tuscany. *Int J Cardiol*. 2021;335:123–127. doi: 10.1016/j.ijcard.2021.04.023.

17. Резник Е.В., Степанова Е.А., Нгуен Т., Сиренова И.О., Саликов А.В., Никитин И.Г. Ретроспективный анализ поражения сердечно-сосудистой системы у больных системным амилоидозом. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2021;20(1):2496 doi: 10.15829/1728-8800-2021-2496.

18. Maurer M.S., Hanna M., Grogan M., Dispenzieri A., Witteles R., Drachman B., Judge D.P., Lenihan D.J., Gottlieb S.S., Shah S.J., Steidley D.E., Ventura H., Murali S., Silver M.A., Jacoby D., Fedson S., Hummel S.L., Kristen A.V., Damy T., Planté-Bordeneuve V., Coelho T., Mundayat R., Suhr O.B., Waddington Cruz M., Rapezzi C.; THAOS Investigators. Genotype and Phenotype of Transthyretin Cardiac Amyloidosis: THAOS (Transthyretin Amyloid Outcome Survey). *J Am Coll Cardiol*. 2016;68(2):161–72. doi: 10.1016/j.jacc.2016.03.596.

19. Cheng R.K., Vasbinder A., Levy W.C., Goyal P., Griffin J.M., Leedy D.J., Maurer M.S. Lack of Association Between Neurohormonal Blockade and Survival in Transthyretin Cardiac Amyloidosis. *J Am Heart Assoc*. 2021;10(24):e022859. doi: 10.1161/JAHA.121.022859.

20. Kocher F., Kaser A., Escher F., Doerler J., Zaruba M.M., Messner M., Mussner-Seeber C., Mayr A., Ulmer H., Schneiderbauer-Porod S., Ebner C., Poelzl G. Heart failure from ATTRwt amyloid cardiomyopathy is associated with poor

prognosis. *ESC Heart Fail*. 2020;7(6):3919–3928. doi: 10.1002/ehf2.12986.

21. Connors L.H., Sam F., Skinner M., Salinaro F., Sun F., Ruberg F.L., Berk J.L., Seldin D.C. Heart Failure Resulting From Age-Related Cardiac Amyloid Disease Associated With Wild-Type Transthyretin: A Prospective, Observational Cohort Study. *Circulation*. 2016;133(3):282–90. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018852.

22. Cuscaden C., Ramsay S.C., Prasad S., Goodwin B., Smith J. Estimation of prevalence of transthyretin (ATTR) cardiac amyloidosis in an Australian subpopulation using bone scans with echocardiography and clinical correlation. *J Nucl Cardiol*. 2021;28(6):2845–2856. doi: 10.1007/s12350-020-02152-x.

23. Tanskanen M., Peuralinna T., Polvikoski T., Notkola I.L., Sulkava R., Hardy J., Singleton A., Kiuru-Enari S., Paetau A., Tienari P.J., Myllykangas L. Senile systemic amyloidosis affects 25% of the very aged and associates with genetic variation in alpha2-macroglobulin and tau: a population-based autopsy study. *Ann Med*. 2008;40(3):232–9. doi: 10.1080/07853890701842988.

24. Porcari A., Bussani R., Merlo M., Varrà G.G., Pagura L., Rozze D., Sinagra G. Incidence and Characterization of Concealed Cardiac Amyloidosis Among Unselected Elderly Patients Undergoing Post-mortem Examination. *Front Cardiovasc Med*. 2021;8:749523. doi: 10.3389/fcvm.2021.749523.

25. Garcia-Pavia P., Rapezzi C., Adler Y., Arad M., Basso C., Brucato A., Burazor I., Caforio A.L.P., Damy T., Eriksson U., Fontana M., Gillmore J.D., Gonzalez-Lopez E., Grogan M., Heymans S., Imazio M., Kindermann I., Kristen A.V., Maurer M.S., Merlini G., Pantazis A., Pankuweit S., Rigopoulos A.G., Linhart A. Diagnosis and treatment of cardiac amyloidosis: a position statement of the ESC Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J*. 2021;42(16):1554–1568. doi: 10.1093/eurheartj/ehab072.

26. Lane T., Fontana M., Martinez-Naharro A., Quarta C.C., Whelan C.J., Petrie A., Rowczenio D.M., Gilbertson J.A., Hutt D.F., Rezk T., Strehina S.G., Caringal-Galima J., Manwani R., Sharpley F.A., Wechalekar A.D., Lachmann H.J., Mahmood S., Sachchithanatham S., Drage E.P.S., Jenner H.D., McDonald R., Bertolli O., Calleja A., Hawkins P.N., Gillmore J.D. Natural History, Quality of Life, and Outcome in Cardiac Transthyretin Amyloidosis. *Circulation*. 2019;140(1):16–26. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.038169.

27. Porcari A., Merlo M., Rapezzi C., Sinagra G. Transthyretin amyloid cardiomyopathy: An uncharted territory awaiting discovery. *Eur J Intern Med*. 2020;82:7–15. doi: 10.1016/j.ejim.2020.09.025.

28. Panayiotou E., Fella E., Papacharalambous R., Malas S., Saraiva M.J., Kyriakides T. C1q ablation exacerbates amyloid deposition: A study in a transgenic mouse model of ATTRV30M amyloid neuropathy. *PLoS One*. 2017;12(4):e0175767. doi: 10.1371/journal.pone.0175767.

29. Никитин С.С., Бардаков С.Н., Супонев Н.А., Жиров В.Д., Адян Т. А., Гришина Д. А., Деев П. В. Фенотипическая гетерогенность и особенности диагностики транстиретинового амилоидоза с полинейропатией. Нервно-мышечные болезни 2021;11(3):12–36. doi: 10.17650/2222 8721 2021 11 3 12 36.

30. Chandrashekar P., Alhuneafat L., Mannello M., Al-Rashdan L., Kim M.M., Dungu J., Alexander K., Masri A. Prevalence and Outcomes of p.Val142Ile TTR Amyloidosis Cardiomyopathy: A Systematic Review. *Circ Genom Precis Med*. 2021;14(5):e003356. doi: 10.1161/CIRCGEN.121.003356.

31. Damy T., Kristen A.V., Suhr O.B., Maurer M.S., Planté-Bordeneuve V., Yu C.R., Ong M.L., Coelho T., Rapezzi C.; THAOS Investigators. Transthyretin cardiac amyloidosis in continental Western Europe: an insight through the Transthyretin Amyloidosis Outcomes Survey (THAOS). *Eur Heart J*. 2019;43(5):391–400. doi: 10.1093/eurheartj/ehz173.

32. Gillmore J.D., Maurer M.S., Falk R.H., Merlini G., Damy T., Dispenzieri A., Wechalekar A.D., Berk J.L., Quarta C.C., Grogan M., Lachmann H.J., Bokhari S., Castano A., Dorbala S., Johnson G.B., Glaudemans A.W., Rezk T., Fontana M., Palladini G., Milani P., Guidalotti P.L., Flatman K., Lane T., Vonberg F.W., Whelan C.J., Moon J.C., Ruberg F.L., Miller E.J., Hutt D.F., Hazenberg B.P., Rapezzi C., Hawkins P.N. Nonbiopsy Diagnosis of Cardiac Transthyretin Amyloidosis. *Circulation*. 2016;133(24):2404–12. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.021612.

33. Narotsky D.L., Castano A., Weinsaft J.W., Bokhari S., Maurer M.S. Wild-Type Transthyretin Cardiac Amyloidosis: Novel Insights From Advanced Imaging. *Can J Cardiol.* 2016;32(9):1166. e1-1166.e10. doi: 10.1016/j.cjca.2016.05.008.
34. Aimo A., Merlo M., Porcari A., Georgiopoulos G., Pagura L., Vergaro G., Sinagra G., Emdin M., Rapezzi C. Redefining the epidemiology of cardiac amyloidosis. A systematic review and meta-analysis of screening studies. *Eur J Heart Fail.* 2022;24(12):2342-2351. doi: 10.1002/ehf.2532.
35. Rossi M., Varrà G.G., Porcari A., Saro R., Pagura L., Lalario A., Dore F., Bussani R., Sinagra G., Merlo M. Re-Definition of the Epidemiology of Cardiac Amyloidosis. *Biomedicines.* 2022;10(7):1566. doi: 10.3390/biomedicines10071566.
36. Dungu J., Sattianayagam P.T., Whelan C.J., Gibbs S.D., Pinney J.H., Banypersad S.M., Rowczenio D., Gilbertson J.A., Lachmann H.J., Wechalekar A., Gillmore J.D., Hawkins P.N., Anderson L.J. The electrocardiographic features associated with cardiac amyloidosis of variant transthyretin isoleucine 122 type in Afro-Caribbean patients. *Am Heart J.* 2012;164(1):72-9. doi: 10.1016/j.ahj.2012.04.013.
37. Damy T., Maurer M.S., Rapezzi C., Planté-Bordeneuve V., Karayal O.N., Mundayat R., Suhr O.B., Kristen A.V. Clinical, ECG and echocardiographic clues to the diagnosis of TTR-related cardiomyopathy. *Open Heart.* 2016;3(1):e000289. doi: 10.1136/openhrt-2015-000289.
38. Bandera F., Martone R., Chacko L., Ganesanathan S., Gilbertson J.A., Ponticos M., Lane T., Martinez-Naharro A., Whelan C., Quarta C., Rowczenio D., Patel R., Razvi Y., Lachmann H., Wechalekar A., Brown J., Knight D., Moon J., Petrie A., Cappelli F., Guazzi M., Potena L., Rapezzi C., Leone O., Hawkins P.N., Gillmore J.D., Fontana M. Clinical Importance of Left Atrial Infiltration in Cardiac Transthyretin Amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2022;15(1):17-29. doi: 10.1016/j.jcmg.2021.06.022.
39. Chacko L., Karia N., Venneri L., Bandera F., Passo B.D., Buonamici L., Lazari J., Ioannou A., Porcari A., Patel R., Razvi Y., Brown J., Knight D., Martinez-Naharro A., Whelan C., Quarta C.C., Manisty C., Moon J., Rowczenio D., Gilbertson J.A., Lachmann H., Wechalekar A., Petrie A., Moody W.E., Steeds R.P., Potena L., Riefolo M., Leone O., Rapezzi C., Hawkins P.N., Gillmore J.D., Fontana M. Progression of echocardiographic parameters and prognosis in transthyretin cardiac amyloidosis. *Eur J Heart Fail.* 2022;24(9):1700-1712. doi: 10.1002/ehf.2606.
40. Rapezzi C., Aimo A., Serenelli M., Barison A., Vergaro G., Passino C., Panichella G., Sinagra G., Merlo M., Fontana M., Gillmore J., Quarta C.C., Maurer M.S., Kittleson M.M., Garcia-Pavia P., Emdin M. Critical Comparison of Documents From Scientific Societies on Cardiac Amyloidosis: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol.* 2022;79(13):1288-1303. doi: 10.1016/j.jacc.2022.01.036.
41. Imdad U. Amyloidosis of the Heart: A Comprehensive Review. *Cureus.* 2023;15(2):e35264. doi: 10.7759/cureus.35264.
42. Merlo M., Pagura L., Porcari A., Cameli M., Vergaro G., Musumeci B., Biagini E., Canepa M., Crotti L., Imazio M., Forleo C., Cappelli F., Perfetto F., Favale S., Di Bella G., Dore F., Girardi F., Tomasoni D., Pavasini R., Rella V., Palmiero G., Caiazza M., Carella M.C., Igores Guaricci A., Branzi G., Caponetti A.G., Satri G., La Malfa G., Merlo A.C., Andreis A., Bruno F., Longo F., Rossi M., Varrà G.G., Saro R., Di Ienno L., De Carli G., Giacomini E., Arzilli C., Limongelli G., Autore C., Olivetto I., Badano L., Parati G., Perlini S., Metra M., Emdin M., Rapezzi C., Sinagra G. Unmasking the prevalence of amyloid cardiomyopathy in the real world: results from Phase 2 of the AC-TIVE study, an Italian nationwide survey. *Eur J Heart Fail.* 2022;24(8):1377-1386. doi: 10.1002/ehf.2504.
43. Devesa A., Cambor Blasco A., Pello Lázaro A.M., Askari E., Lapeña G., Gómez Talavera S., Taibo Urquía M., Rodríguez Oller C., Tuñón J., Ibáñez B., Aceña Á. Prevalence of transthyretin amyloidosis in patients with heart failure and no left ventricular hypertrophy. *ESC Heart Fail.* 2021;8(4):2856-2865. doi: 10.1002/ehf2.13360.
44. Gonzalez-Lopez E., Escobar-Lopez L., Obici L., Satri G., Bezard M., Saith S.E., AbouEzzeddine O.F., Mussinelli R., Gagliardi C., Kharoubi M., Griffin J.M., Dispenzieri A., Vilches S., Perlini S., Longhi S., Oghina S., Rivas A., Grogan M., Maurer M.S., Damy T., Palladini G., Rapezzi C., Garcia-Pavia P. Prognosis of Transthyretin Cardiac Amyloidosis Without Heart Failure Symptoms. *JACC CardioOncol.* 2022;4(4):442-454. doi: 10.1016/j.jacc.2022.07.007.
45. Zhao L., Tian Z., Fang Q. Diagnostic accuracy of cardiovascular magnetic resonance for patients with suspected cardiac amyloidosis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cardiovasc Disord.* 2016;16:129. doi: 10.1186/s12872-016-0311-6.
46. Musumeci M.B., Cappelli F., Russo D., Tini G., Canepa M., Milandri A., Bonfiglioli R., Di Bella G., My F., Luigetti M., Grandis M., Autore C., Perlini S., Perfetto F., Rapezzi C. Low Sensitivity of Bone Scintigraphy in Detecting Phe64Leu Mutation-Related Transthyretin Cardiac Amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2020;13(6):1314-1321. doi: 10.1016/j.jcmg.2019.10.015.
47. Dorbala S., Ando Y., Bokhari S., Dispenzieri A., Falk R.H., Ferrari V.A., Fontana M., Gheysens O., Gillmore J.D., Glaudemans A.W.J.M., Hanna M.A., Hazenberg B.P.C., Kristen A.V., Kwong R.Y., Maurer M.S., Merlini G., Miller E.J., Moon J.C., Murthy V.L., Quarta C.C., Rapezzi C., Ruberg F.L., Shah S.J., Slart R.H.J.A., Verberne H.J., Bourque J.M. ASNC/AHA/ASE/EANM/HFSA/ISA/SCMR/SNMMI Expert Consensus Recommendations for Multimodality Imaging in Cardiac Amyloidosis: Part 2 of 2-Diagnostic Criteria and Appropriate Utilization. *J Card Fail.* 2019;25(11):854-865. doi: 10.1016/j.cardfail.2019.08.002.
48. Hutt D.F., Fontana M., Burniston M., Quigley A.M., Petrie A., Ross J.C., Page J., Martinez-Naharro A., Wechalekar A.D., Lachmann H.J., Quarta C.C., Rezk T., Mahmood S., Sachchithanatham S., Youngstein T., Whelan C.J., Lane T., Gilbertson J.A., Rowczenio D., Hawkins P.N., Gillmore J.D. Prognostic utility of the Perugini grading of 99mTc-DPD scintigraphy in transthyretin (ATTR) amyloidosis and its relationship with skeletal muscle and soft tissue amyloid. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2017;18(12):1344-1350. doi: 10.1093/ehjci/jew325.
49. Maurer M.S., Bokhari S., Damy T., Dorbala S., Drachman B.M., Fontana M., Grogan M., Kristen A.V., Lousada I., Nativi-Nicolau J., Cristina Quarta C., Rapezzi C., Ruberg F.L., Witteles R., Merlini G. Expert Consensus Recommendations for the Suspicion and Diagnosis of Transthyretin Cardiac Amyloidosis. *Circ Heart Fail.* 2019;12(9):e006075. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.119.006075.

REFERENCES

1. Hassan W., Al-Sergani H., Mourad W., Tabbaa R. Amyloid heart disease. New frontiers and insights in pathophysiology, diagnosis, and management. *Tex Heart Inst J.* 2005;32(2):178-84.
2. Benson M.D., Buxbaum J.N., Eisenberg D.S., Merlini G., Saraiva M.J.M., Sekijima Y., Sipe J.D., Westermark P. Amyloid nomenclature 2018: recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee. *Amyloid.* 2018 Dec;25(4):215-219. doi: 10.1080/13506129.2018.1549825.
3. Reznik E.V., Nguyen T.L., Stepanova E.A., Ustyuzhanin D.V., Nikitin I.G. Cardiac Amyloidosis: Internist and Cardiologist Insight. *The Russian Archives of Internal Medicine.* 2020; 10(6): 430-457. doi: 10.20514/2226-6704-2020-10-6-430-457. (In Russian)
4. Sperry B.W., Vranian M.N., Hachamovitch R., Joshi H., Ikram A., Phelan D., Hanna M. Subtype-Specific Interactions and Prognosis in Cardiac Amyloidosis. *J Am Heart Assoc.* 2016;5(3):e002877. doi: 10.1161/JAHA.115.002877.
5. Maleszewski J.J. Cardiac amyloidosis: pathology, nomenclature, and typing. *Cardiovasc Pathol.* 2015;24(6):343-50. doi: 10.1016/j.carpath.2015.07.008.
6. Tereshchenko S.N., Zhirov I.V., Moiseeva O.M., Adasheva T.V., Ansheles A.A., Barbarash O.L., Galyavich A.S., Gudkova A.Ja., Zateyshchikov D.A., Kostareva A.A., Nasonova S.N., Nedogoda S.V., Pecherina T.B., Ryzhkova D.V., Sergienko V.B. Practical guidelines for the diagnosis and treatment of transthyretin amyloid cardiomyopathy (ATTR-CM or transthyretin cardiac amyloidosis). *Terapevticheskie Arkhiv.* 2022;94(4):584-595. doi: 10.26442/00403660.2022.04.201465 (In Russian)
7. Maurer M.S., Schwartz J.H., Gundapaneni B., Elliott P.M., Merlini G., Waddington-Cruz M., Kristen A.V., Grogan M., Witteles R., Damy T., Drachman B.M., Shah S.J., Hanna M., Judge D.P., Barsdorf A.I., Huber P., Patterson T.A., Riley S., Schumacher J., Stewart M., Sultan M.B., Rapezzi C.; ATTR-ACT Study

Investigators. Tafamidis Treatment for Patients with Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy. *N Engl J Med.* 2018;379(11):1007-1016. doi: 10.1056/NEJMoa1805689.

8. Dzhioeva ON. Functional methods of amyloid cardiomyopathy diagnostic in practice and in expert centers: A review. *Terapevticheskii Arkhiv.* 2023;95(1):96–102. doi: 10.2644/2/00403660.2023.01.202081. (In Russ)

9. Lahuerta Pueyo C., Aibar Arregui M.Á., Gracia Gutierrez A., Bueno Juana E., Menao Guillén S. Estimating the prevalence of allelic variants in the transthyretin gene by analysing large-scale sequencing data. *Eur J Hum Genet.* 2019;27(5):783-791. doi: 10.1038/s41431-019-0337-1.

10. Narotsky D.L., Castano A., Weinsaft J.W., Bokhari S., Maurer M.S. Wild-Type Transthyretin Cardiac Amyloidosis: Novel Insights From Advanced Imaging. *Can J Cardiol.* 2016;32(9):1166.e1-1166.e10. doi: 10.1016/j.cjca.2016.05.008.

11. Gilstrap L.G., Dominici F., Wang Y., El-Sady M.S., Singh A., Di Carli M.F., Falk R.H., Dorbala S. Epidemiology of Cardiac Amyloidosis-Associated Heart Failure Hospitalizations Among Fee-for-Service Medicare Beneficiaries in the United States. *Circ Heart Fail.* 2019;12(6):e005407. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.118.005407.

12. Pinney J.H., Smith C.J., Taube J.B., Lachmann H.J., Venner C.P., Gibbs S.D., Dzungu J., Banyersad S.M., Wechalekar A.D., Whelan C.J., Hawkins P.N., Gillmore J.D. Systemic amyloidosis in England: an epidemiological study. *Br J Haematol.* 2013;161(4):525-32. doi: 10.1111/bjh.12286.

13. Ravichandran S., Lachmann H.J., Wechalekar A.D. Epidemiologic and Survival Trends in Amyloidosis, 1987-2019. *N Engl J Med.* 2020;382(16):1567-1568. doi: 10.1056/NEJMc1917321.

14. Mejia Baranda J., Ljungberg J., Wixner J., Anan I., Oskarsson V. Epidemiology of hereditary transthyretin amyloidosis in the northernmost region of Sweden: a retrospective cohort study. *Amyloid.* 2022;29(2):120-127. doi: 10.1080/13506129.2022.2026323.

15. Westin O., Butt J.H., Gustafsson F., Schou M., Salomo M., Køber L., Maurer M., Fosbol E.L. Two Decades of Cardiac Amyloidosis: A Danish Nationwide Study. *JACC CardioOncol.* 2021;3(4):522-533. doi: 10.1016/j.jacc.2021.05.004.

16. Zampieri M., Nardi G., Del Monaco G., Allinovi M., Gabriele M., Zocchi C., Casagrande S., Fumagalli C., Di Mario C., Olivetto I., Perfetto F., Cappelli F. Changes in the perceived epidemiology of amyloidosis: 20 year-experience from a Tertiary Referral Centre in Tuscany. *Int J Cardiol.* 2021;335:123-127. doi: 10.1016/j.ijcard.2021.04.023.

17. Reznik E.V., Stepanova E.A., Nguyen T., Sirenova I.O., Salikov A.V., Nikitin I.G. Retrospective analysis of cardiovascular involvement in patients with systemic amyloidosis. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2021;20(1):2496. doi: 10.15829/1728-8800-2021-2496 (In Russian)

18. Maurer M.S., Hanna M., Grogan M., Dispenzieri A., Witteles R., Drachman B., Judge D.P., Lenihan D.J., Gottlieb S.S., Shah S.J., Steidley D.E., Ventura H., Murali S., Silver M.A., Jacoby D., Fedson S., Hummel S.L., Kristen A.V., Damy T., Planté-Bordeneuve V., Coelho T., Mundayat R., Suhr O.B., Waddington Cruz M., Rapezzi C.; THAOS Investigators. Genotype and Phenotype of Transthyretin Cardiac Amyloidosis: THAOS (Transthyretin Amyloid Outcome Survey). *J Am Coll Cardiol.* 2016;68(2):161-72. doi: 10.1016/j.jacc.2016.03.596.

19. Cheng R.K., Vasbinder A., Levy W.C., Goyal P., Griffin J.M., Leedy D.J., Maurer M.S. Lack of Association Between Neurohormonal Blockade and Survival in Transthyretin Cardiac Amyloidosis. *J Am Heart Assoc.* 2021;10(24):e022859. doi: 10.1161/JAHA.121.022859.

20. Kocher F., Kaser A., Escher F., Doerler J., Zaruba M.M., Messner M., Mussner-Seeber C., Mayr A., Ulmer H., Schneiderbauer-Porod S., Ebner C., Poelzl G. Heart failure from ATTRwt amyloid cardiomyopathy is associated with poor prognosis. *ESC Heart Fail.* 2020;7(6):3919-3928. doi: 10.1002/ehf2.12986.

21. Connors L.H., Sam F., Skinner M., Salinaro F., Sun F., Ruberg F.L., Berk J.L., Seldin D.C. Heart Failure Resulting From Age-Related Cardiac Amyloid Disease Associated With Wild-Type Transthyretin: A Prospective, Observational Cohort Study. *Circulation.* 2016;133(3):282-90. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018852.

22. Cuscaden C., Ramsay S.C., Prasad S., Goodwin B., Smith

J. Estimation of prevalence of transthyretin (ATTR) cardiac amyloidosis in an Australian subpopulation using bone scans with echocardiography and clinical correlation. *J Nucl Cardiol.* 2021;28(6):2845-2856. doi: 10.1007/s12350-020-02152-x.

23. Tanskanen M., Peuralinna T., Polvikoski T., Notkola I.L., Sulkava R., Hardy J., Singleton A., Kiuru-Enari S., Paetau A., Tienari P.J., Myllykangas L. Senile systemic amyloidosis affects 25% of the very aged and associates with genetic variation in alpha2-macroglobulin and tau: a population-based autopsy study. *Ann Med.* 2008;40(3):232-9. doi: 10.1080/07853890701842988.

24. Porcari A., Bussani R., Merlo M., Varrà G.G., Pagura L., Rozze D., Sinagra G. Incidence and Characterization of Concealed Cardiac Amyloidosis Among Unselected Elderly Patients Undergoing Post-mortem Examination. *Front Cardiovasc Med.* 2021;8:749523. doi: 10.3389/fcvm.2021.749523.

25. Garcia-Pavia P., Rapezzi C., Adler Y., Arad M., Basso C., Brucato A., Burazor I., Caforio A.L.P., Damy T., Eriksson U., Fontana M., Gillmore J.D., Gonzalez-Lopez E., Grogan M., Heymans S., Imazio M., Kindermann I., Kristen A.V., Maurer M.S., Merlini G., Pantazis A., Pankuweit S., Rigopoulos A.G., Linhart A. Diagnosis and treatment of cardiac amyloidosis: a position statement of the ESC Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J.* 2021;42(16):1554-1568. doi: 10.1093/eurheartj/ehab072.

26. Lane T., Fontana M., Martinez-Naharro A., Quarta C.C., Whelan C.J., Petrie A., Rowcezenio D.M., Gilbertson J.A., Hutt D.F., Rezk T., Strehina S.G., Caringal-Galima J., Manwani R., Sharpley F.A., Wechalekar A.D., Lachmann H.J., Mahmood S., Sachchithanantham S., Drage E.P.S., Jenner H.D., McDonald R., Bertolli O., Calleja A., Hawkins P.N., Gillmore J.D. Natural History, Quality of Life, and Outcome in Cardiac Transthyretin Amyloidosis. *Circulation.* 2019;140(1):16-26. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.038169.

27. Porcari A., Merlo M., Rapezzi C., Sinagra G. Transthyretin amyloid cardiomyopathy: An uncharted territory awaiting discovery. *Eur J Intern Med.* 2020;82:7-15. doi: 10.1016/j.ejim.2020.09.025.

28. Panayioutou E., Fella E., Papacharalambous R., Malas S., Saraiva M.J., Kyriakides T. C1q ablation exacerbates amyloid deposition: A study in a transgenic mouse model of ATTRV30M amyloid neuropathy. *PLoS One.* 2017;12(4):e0175767. doi: 10.1371/journal.pone.0175767.

29. Nikitin S.S., Bardakov S.N., Suponeva N.A., Zhironov I.V., Adyan T.A., Grishina D.A., Deev R.V. Phenotypic heterogeneity and diagnostic features of trans thyretin amyloidosis with polyneuropathy. *Nervno-myshechnye bolezni = Neuromuscular Diseases* 2021;11(3):12–36. doi: 10.17650/2222 8721 2021 11 3 12 36. (In Russian)

30. Chandrashekar P., Alhuneafat L., Mannello M., Al-Rashdan L., Kim M.M., Dzungu J., Alexander K., Masri A. Prevalence and Outcomes of p.Val142Ile TTR Amyloidosis Cardiomyopathy: A Systematic Review. *Circ Genom Precis Med.* 2021;14(5):e003356. doi: 10.1161/CIRCGEN.121.003356.

31. Damy T., Kristen A.V., Suhr O.B., Maurer M.S., Planté-Bordeneuve V., Yu C.R., Ong M.L., Coelho T., Rapezzi C.; THAOS Investigators. Transthyretin cardiac amyloidosis in continental Western Europe: an insight through the Transthyretin Amyloidosis Outcomes Survey (THAOS). *Eur Heart J.* 2019;43(5):391–400. doi: 10.1093/eurheartj/ehz173.

32. Gillmore J.D., Maurer M.S., Falk R.H., Merlini G., Damy T., Dispenzieri A., Wechalekar A.D., Berk J.L., Quarta C.C., Grogan M., Lachmann H.J., Bokhari S., Castano A., Dorbala S., Johnson G.B., Glaudemans A.W., Rezk T., Fontana M., Palladini G., Milani P., Guidalotti P.L., Flatman K., Lane T., Vonberg F.W., Whelan C.J., Moon J.C., Ruberg F.L., Miller E.J., Hutt D.F., Hazenberg B.P., Rapezzi C., Hawkins P.N.. Nonbiopsy Diagnosis of Cardiac Transthyretin Amyloidosis. *Circulation.* 2016;133(24):2404-12. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.021612.

33. Narotsky D.L., Castano A., Weinsaft J.W., Bokhari S., Maurer M.S. Wild-Type Transthyretin Cardiac Amyloidosis: Novel Insights From Advanced Imaging. *Can J Cardiol.* 2016;32(9):1166.e1-1166.e10. doi: 10.1016/j.cjca.2016.05.008.

34. Aimo A., Merlo M., Porcari A., Georgiopoulos G., Pagura L., Vergaro G., Sinagra G., Emdin M., Rapezzi C. Redefining the epidemiology of cardiac amyloidosis. A systematic review and meta-analysis of screening studies. *Eur J Heart Fail.* 2022;24(12):2342-2351. doi: 10.1002/ehf.2532.

35. Rossi M., Varrà G.G., Porcari A., Saro R., Pagura L., Lalaro A., Dore F., Bussani R., Sinagra G., Merlo M. Re-Definition of the Epidemiology of Cardiac Amyloidosis. *Biomedicines*. 2022;10(7):1566. doi: 10.3390/biomedicines10071566.
36. Dzung J., Sattianayagam P.T., Whelan C.J., Gibbs S.D., Pinney J.H., Banyersad S.M., Rowczenio D., Gilbertson J.A., Lachmann H.J., Wechalekar A., Gillmore J.D., Hawkins P.N., Anderson L.J. The electrocardiographic features associated with cardiac amyloidosis of variant transthyretin isoleucine 122 type in Afro-Caribbean patients. *Am Heart J*. 2012;164(1):72-9. doi: 10.1016/j.ahj.2012.04.013.
37. Damy T., Maurer M.S., Rapezzi C., Planté-Bordeneuve V., Karayal O.N., Mundayat R., Suhr O.B., Kristen A.V. Clinical, ECG and echocardiographic clues to the diagnosis of TTR-related cardiomyopathy. *Open Heart*. 2016;3(1):e000289. doi: 10.1136/openhrt-2015-000289.
38. Bandera F., Martone R., Chacko L., Ganesanathan S., Gilbertson J.A., Ponticos M., Lane T., Martinez-Naharro A., Whelan C., Quarta C., Rowczenio D., Patel R., Razvi Y., Lachmann H., Wechelakar A., Brown J., Knight D., Moon J., Petrie A., Cappelli F., Guazzi M., Potena L., Rapezzi C., Leone O., Hawkins P.N., Gillmore J.D., Fontana M. Clinical Importance of Left Atrial Infiltration in Cardiac Transthyretin Amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2022;15(1):17-29. doi: 10.1016/j.jcmg.2021.06.022.
39. Chacko L., Karia N., Venneri L., Bandera F., Passo B.D., Buonamici L., Lazari J., Ioannou A., Porcari A., Patel R., Razvi Y., Brown J., Knight D., Martinez-Naharro A., Whelan C., Quarta C.C., Manisty C., Moon J., Rowczenio D., Gilbertson J.A., Lachmann H., Wechelakar A., Petrie A., Moody W.E., Steeds R.P., Potena L., Riefolo M., Leone O., Rapezzi C., Hawkins P.N., Gillmore J.D., Fontana M. Progression of echocardiographic parameters and prognosis in transthyretin cardiac amyloidosis. *Eur J Heart Fail*. 2022;24(9):1700-1712. doi: 10.1002/ejhf.2606.
40. Rapezzi C., Aimo A., Serenelli M., Barison A., Vergaro G., Passino C., Panichella G., Sinagra G., Merlo M., Fontana M., Gillmore J., Quarta C.C., Maurer M.S., Kittleson M.M., Garcia-Pavia P., Emdin M. Critical Comparison of Documents From Scientific Societies on Cardiac Amyloidosis: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol*. 2022;79(13):1288-1303. doi: 10.1016/j.jacc.2022.01.036.
41. Imdad U. Amyloidosis of the Heart: A Comprehensive Review. *Cureus*. 2023;15(2):e35264. doi: 10.7759/cureus.35264.
42. Merlo M., Pagura L., Porcari A., Cameli M., Vergaro G., Musumeci B., Biagini E., Canepa M., Crotti L., Imazio M., Forleo C., Cappelli F., Perfetto F., Favale S., Di Bella G., Dore F., Girardi F., Tomasoni D., Pvasini R., Rella V., Palmiero G., Caiazza M., Carella M.C., Igoen Guaricci A., Branzi G., Caponetti A.G., Satri G., La Malfa G., Merlo A.C., Andreis A., Bruno F., Longo F., Rossi M., Varrà G.G., Saro R., Di Ienno L., De Carli G., Giacomini E., Arzilli C., Limongelli G., Autore C., Olivotto I., Badano L., Parati G., Perlini S., Metra M., Emdin M., Rapezzi C., Sinagra G. Unmasking the prevalence of amyloid cardiomyopathy in the real world: results from Phase 2 of the AC-TIVE study, an Italian nationwide survey. *Eur J Heart Fail*. 2022;24(8):1377-1386. doi: 10.1002/ejhf.2504.
43. Devesa A., Cambor Blasco A., Pello Lázaro A.M., Askari E., Lapeña G., Gómez Talavera S., Taibo Urquía M., Rodríguez Olleros C., Tuñón J., Ibáñez B., Aceña Á. Prevalence of transthyretin amyloidosis in patients with heart failure and no left ventricular hypertrophy. *ESC Heart Fail*. 2021;8(4):2856-2865. doi: 10.1002/ehf2.13360.
44. Gonzalez-Lopez E., Escobar-Lopez L., Obici L., Satri G., Bezard M., Saith S.E., AbouEzzeddine O.F., Mussinelli R., Gagliardi C., Kharoubi M., Griffin J.M., Dispenziera A., Vilches S., Perlini S., Longhi S., Oghina S., Rivas A., Grogan M., Maurer M.S., Damy T., Palladini G., Rapezzi C., Garcia-Pavia P. Prognosis of Transthyretin Cardiac Amyloidosis Without Heart Failure Symptoms. *JACC CardioOncol*. 2022;4(4):442-454. doi: 10.1016/j.jacc.2022.07.007.
45. Zhao L., Tian Z., Fang Q. Diagnostic accuracy of cardiovascular magnetic resonance for patients with suspected cardiac amyloidosis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cardiovasc Disord*. 2016;16:129. doi: 10.1186/s12872-016-0311-6.
46. Musumeci M.B., Cappelli F., Russo D., Tini G., Canepa M., Milandri A., Bonfiglioli R., Di Bella G., My F., Luigetti M., Grandis M., Autore C., Perlini S., Perfetto F., Rapezzi C. Low Sensitivity of Bone Scintigraphy in Detecting Phe64Leu Mutation-Related Transthyretin Cardiac Amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2020;13(6):1314-1321. doi: 10.1016/j.jcmg.2019.10.015.
47. Dorbala S., Ando Y., Bokhari S., Dispenziera A., Falk R.H., Ferrari V.A., Fontana M., Gheysens O., Gillmore J.D., Glaudemans A.W.J.M., Hanna M.A., Hazenberg B.P.C., Kristen A.V., Kwong R.Y., Maurer M.S., Merlini G., Miller E.J., Moon J.C., Murthy V.L., Quarta C.C., Rapezzi C., Ruberg F.L., Shah S.J., Slart R.H.J.A., Verberne H.J., Bourque J.M. ASNC/AHA/ASE/EANM/HFSA/ISACMR/SNMMI Expert Consensus Recommendations for Multimodality Imaging in Cardiac Amyloidosis: Part 2 of 2-Diagnostic Criteria and Appropriate Utilization. *J Card Fail*. 2019;25(11):854-865. doi: 10.1016/j.cardfail.2019.08.002.
48. Hutt D.F., Fontana M., Burniston M., Quigley A.M., Petrie A., Ross J.C., Page J., Martinez-Naharro A., Wechalekar A.D., Lachmann H.J., Quarta C.C., Rezk T., Mahmood S., Sachchithanatham S., Youngstein T., Whelan C.J., Lane T., Gilbertson J.A., Rowczenio D., Hawkins P.N., Gillmore J.D. Prognostic utility of the Perugini grading of 99mTc-DPD scintigraphy in transthyretin (ATTR) amyloidosis and its relationship with skeletal muscle and soft tissue amyloid. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2017;18(12):1344-1350. doi: 10.1093/ehjci/jew325.
49. Maurer M.S., Bokhari S., Damy T., Dorbala S., Drachman B.M., Fontana M., Grogan M., Kristen A.V., Lousada I., Nativi-Nicolau J., Cristina Quarta C., Rapezzi C., Ruberg F.L., Witteles R., Merlini G. Expert Consensus Recommendations for the Suspicion and Diagnosis of Transthyretin Cardiac Amyloidosis. *Circ Heart Fail*. 2019;12(9):e006075. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.119.006075.

Для цитирования: Голубовская Д.П., Печерина Т.Б., Барбараш О.Л. Транстиретиновая (ATTR) амилоидная кардиомиопатия в наши дни. Распространенное заболевание с открытыми проблемами. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2024;13(3): 92-104. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-92-104

To cite: Golubovskaya D.P., Pecherina T.B., Barbarash O.L. Transtiretinic (ATTR) amyloid cardiomyopathy nowadays. A common disease with open problems. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2024;13(3): 92-104. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-92-104



УДК 616.13.002.2-004.6:576.3.57.015.3:575.224.2:616.155

DOI 10.17802/2306-1278-2024-13-3-105-110

РОЛЬ КЛЕТОЧНОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ КЛЕТОК СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ И КРОВЕТВОРНОЙ СИСТЕМЫ В АТЕРОГЕНЕЗЕ

А.А. Слепцов

Научно-исследовательский институт медицинской генетики федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», ул. Набережная реки Ушайки, 10, Томск, Российская Федерация, 634050

Основные положения

- Атеросклеротический процесс обусловлен фенотипической гетерогенностью и пластичностью клеток иммунной системы и сосудистой стенки.
- Соматические мутации и клональный гемопоэз с неопределенным потенциалом демонстрируют тесную связь с сердечно-сосудистыми заболеваниями и острыми сосудистыми событиями.

Резюме

Прогресс, достигнутый за последнее десятилетие в области кардиогенетики, ознаменован главным образом работами, основанными на оценке наследуемых герминативных мутаций. Новые направления продемонстрировали значительную роль клеточной пластичности, соматического мозаицизма и клонального гемопоэза в структуре риска развития ишемической болезни сердца, а также острых сосудистых нарушений атерогенного происхождения. Секвенирование единичных клеток и масс-цитометрия позволили раскрыть принципиально новые механизмы развития атеросклероза. В обзоре освещены современные данные в области изучения атеросклероза и сосудистых нарушений с фокусом на клеточную пластичность, соматический мозаицизм и клональный гемопоэз.

Ключевые слова

Атеросклероз • Клеточная пластичность • Соматическая мутация • Клональный гемопоэз с неопределенным потенциалом

Поступила в редакцию: 14.04.2024; поступила после доработки: 09.05.2024; принята к печати: 12.06.2024

THE ROLE OF CELLULAR PLASTICITY OF VASCULAR WALL CELLS AND HEMATOPOIETIC SYSTEM IN ATHEROGENESIS

A.A. Sleptsov

Research Institute of Medical Genetics, Federal State Budgetary Institution "Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences", 10, Embankment of the Ushayki River St., Tomsk, Russian Federation, 634050

Highlights

- The atherosclerotic process is caused by phenotypic heterogeneity and cellular plasticity of the immune system and vascular wall.
- Somatic mutations and clonal hematopoiesis with uncertain potential demonstrate a close association with cardiovascular diseases and acute vascular events.

Abstract

The last decade of cardiogenetic studies focused on inherited germline mutations. Recently researchers demonstrated a significant role of cellular heterogeneity, somatic mosaicism, and clonal hematopoiesis in the risk of coronary disease and acute vascular disorders. Up-to-date technologies, such as single-cell sequencing and mass cytometry, have made it possible to reveal fundamentally new mechanisms for the development of cardiovascular diseases. This review discloses cutting-edge data on atherosclerosis and vascular disorders, focusing on cellular heterogeneity, somatic mosaicism, and clonal hematopoiesis.

Keywords

Atherosclerosis • Cellular heterogeneity • Somatic mutation • Clonal hematopoiesis with uncertain potential

Received: 14.04.2024; received in revised form: 09.05.2024; accepted: 12.06.2024

Для корреспонденции: Алексей Анатольевич Слепцов, alexei.sleptcov@medgenetics.ru; адрес: ул. Набережная реки Ушайки, 10, Томск, Российская Федерация, 634050

Corresponding author: Alexey A. Sleptsov, alexei.sleptcov@medgenetics.ru; address: 10, Embankment of the Ushayki River St., Tomsk, Russian Federation, 634050

Список сокращений

ГМК – гладкомышечные клетки	КГНП – клональный гемопоэз с неопределенным потенциалом
ГСК – гемопоэтические стволовые клетки	ЛПНП – липопротеины низкой плотности

Введение

Атеросклеротическая бляшка представляет собой липидное накопление с коктейлем клеток различного происхождения в интиме артерии. Терминальной стадией утолщения интимы является окклюзия сосуда, в случае же дестабилизации покрышки атеросклеротической бляшки формируется пристеночный тромб, который может стать причиной жизнеугрожающих острых сосудистых состояний, таких как инфаркт миокарда и инсульт [1]. Современные методы лечения сердечно-сосудистых заболеваний, которые направлены на несколько факторов риска, таких как дислипидемия или артериальная гипертензия, сталкиваются с тем, что не существует универсально эффективных подходов, поскольку атеросклероз имеет высокую клеточную гетерогенность [2].

Прежде чем перейти к обсуждению, необходимо остановиться на терминах **клеточная гетерогенность** и **пластичность**. Классическое определение типов клеток сосудов, таких как эндотелиальные, гладкомышечные клетки, макрофаги, основано на их происхождении, расположении, морфологии и фенотипе. В настоящее время определение типов клеток стало возможно и на эпигенетическом и транскрипционном уровнях, которые в свою очередь показывают молекулярно-генетические различия между клетками одного типа, т. е. их гетерогенность и пластичность. Термины взаимозаменяемы, но не синонимичны, что порой вносит путаницу. Классическим примером клеточной гетерогенности являются работы в области культивирования индуцированных стволовых клеток, в которых ранее отмечено, что определением специфического антигена стволовых клеток CD34 в популяции культивируемых клеток не ограничивается их принадлежность только к стволовым клеткам [3]. Это указывает на то, что экспрессия ряда генов, связанных со стволовыми клетками, может отличаться от клетки к клетке, создавая тем самым **клеточную гетерогенность**. Следовательно, в обзоре под клеточной гетерогенностью понимаются эпигенетические и транскрипционные изменения в популяции клеток, не корректирующие канонические маркеры клеточной идентичности, а позволяющие выделить субфенотипы (подтипы) клеток. Клеточная гетерогенность вызвана неоднородностью микроокружения и локализации клетки, то есть проявлением клеточной адаптации или фенотипической пластичности. В ином случае, когда адаптационные изменения приводят к переключению фенотипа, т. е. трансдифференцировке или реверсии фенотипа, можно говорить о **клеточной пластичности**.

Клеточная гетерогенность и пластичность может наблюдаться не только на региональном уровне, но и носить системный характер, главным образом за счет гемопоэтических стволовых клеток. В онтогенезе гемопоэтические стволовые клетки могут приобретать соматические мутации с лейкомогенным потенциалом, способствующие преимущественной клеточной выживаемости и клональной экспансии. Подобный феномен клональной экспансии, не попадающий под критерии гематологических неоплазий, дисплазий или цитопений, именуется **клональным гемопоэзом с неопределенным потенциалом (КГНП)** [4].

Онтогенез человека сопровождается накоплением соматических мутаций во многих клетках. В среднем к 70 годам у человека уровень клональной экспансии в крови составляет 10% и продолжает активно расти [5]. Соматические мутации, приводящие к КГНП, как правило, наблюдаются в генах эпигенетической регуляции и репарации ДНК, например *DNMT3A*, *TET2*, *ASXL1* [6]. Клональная экспансия в кроветворной системе значительно увеличивает риск формирования не только лейкоза, но, как оказалось, и риска атерогенных сердечно-сосудистых событий, таких как инсульт и инфаркт миокарда [7].

В настоящем обзоре освещены результаты исследований в области клеточной пластичности и гетерогенности, включая клональный гемопоэз и соматические мутации, наблюдаемые при атеросклерозе, полученные в ходе применения таких передовых технологий, как секвенирование РНК единичных клеток и сортировка клеток с активированной флуоресценцией. Поиск произведен в информационно-поисковых и библиотечных базах данных PubMed Central, PubMed и Google Scholar за последние 7 лет (с 2016 г.) по ключевым словам: *atherosclerosis*, *cell plasticity*, *cell heterogeneity*, *somatic mosaicism*, *clonal hematopoiesis*, *single cell sequencing*, *fluorescence-activated cell sorting*. Критерии исключения: статьи в «хищнических» журналах, согласно списку Билла (Beall's List).

Клеточная пластичность при атеросклерозе

Атеросклеротический процесс начинается с дисфункции эндотелиальных клеток в атерогенных условиях, таких как гемодинамическое напряжение сдвига, который приводит к экстравазации липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и триглицеридов посредством трансэндотелиального транспорта и диффузии через межклеточные соединения [8]. В областях бифуркаций и ответвлений артерий возникает турбулентный поток, сдвигающий расположение эндоте-

лиальных клеток, что тем самым увеличивает проницаемость стенки сосудов. Результатом повышенной проницаемости в области интимы является накопление липопротеинов, частично за счет взаимодействия с гликозаминогликанами интимы [9]. В результате ЛПНП и остаточные липопротеины, богатые триглицеридами, фиксируются в интимае, агрегируются и подвергаются химическим модификациям. Гипотеза о роли окисленных ЛПНП как триггерного механизма оказалась несостоятельна ввиду отсутствия влияния антиоксидантных препаратов на атерогенез, считается, что сама по себе агрегация ЛПНП выступает триггером [10]. Окисленные ЛПНП могут модулировать воспалительную реакцию: так, на модельных животных показано, что ингибирование процесса окисления ЛПНП в макрофагах цистеамином может вызывать сильный противовоспалительный эффект [11]. Активация эндотелиальных клеток в ответ на агрегацию и окисление ЛПНП, а также медиаторов воспаления сопровождается экспрессией молекул адгезии (P-селектина, E-селектина, *VACMI* и *ICAMI*) и хемотаксисных факторов (*CCR2*, *CCR5*) [12], в результате чего происходит трансмиграция лейкоцитов в интиму сосуда.

В ответ на эндотелиальную дисфункцию, воспалительную реакцию и агрегацию липидов происходит адаптивное утолщение интимы, которое осуществляется за счет активации гладкомышечных клеток (ГМК) с последующей секрецией матричного протеогликана, коллагеновых и эластиновых волокон. Постепенное утолщение интимы приводит к тому, что ГМК мигрируют в его толщу, где происходит фенотипическое переключение ГМК из стабильного состояния с сократительным фенотипом в пролиферативное с синтетическим (секреторным) фенотипом, то есть они подвергаются трансдифференцировке в макрофагоподобные клетки [13]. Стоит отметить, что гетерогенность и пластичность ГМК в сосудах была обнаружена еще Н. Нао и коллегами в 2003 г. [14]. Трансдифференцировка ГМК сопровождается появлением маркеров макрофагов, таких как *LGALS3* и *CD68*, и утратой маркеров ГМК, таких как альфа-актин (*ACTA2*) и миозин (*MYH11*) [15]. Кроме того, выявлено, что ГМК могут трансформироваться и в остеохондрогенные клетки, ответственные за кальцификацию атеросклеротической бляшки фосфатами кальция [16]. Макрофагоподобные ГМК, поглощая липиды, превращаются в пенистые клетки, которые подвергаются апоптозу и подавляют эффероцитоз апоптотических тел. На модельных животных показано, что до 50% пенистых клеток являются макрофагоподобными ГМК [17].

В норме лишь небольшая часть ГМК сосудов имеет маркеры стволовых клеток (*Sca-1*) [18]. На модельных животных (нокаутные мыши по гену *ApoE^{-/-}*) обнаружено, что порядка 20% ГМК в атеросклеротической бляшке несут маркер стволовых клеток *Sca-1* [19]. При атеросклерозе также выяв-

ляется субпопуляция очень пластичных ГМК, которые имеют высокую пролиферативную активность, с последующим приобретением макрофагальных маркеров, таких как *CD107b* (*MAC3*) [20].

Ранее считалось, что только ГМК производят внеклеточный матрикс. В недавних исследованиях показано, что эндотелиальные клетки и макрофаги также могут быть источником секретирующих ГМК, которые подверглись эндотелиально-мезенхимальному или макрофагально-мезенхимальному переходу соответственно [21].

Мезенхимальные стволовые клетки активно участвуют в атеросклерозе и формируют миофибробластные и гладкомышечные клеточные линии [19]. Данные клетки берут начало из адвентиции и несут маркеры стволовых клеток (*Sca-1*, *Gli-1*, *CD34*, *c-Kit*) [22–24]. Показано, что мезенхимальные стволовые клетки способны дифференцировать в ГМК при стимуляции тромбоцитарным фактором роста (*PDGF-BB*). Еще одним их источником могут служить клетки эндотелия за счет эндотелиально-мезенхимального перехода, в результате которого эндотелиальные клетки утрачивают эндотелиальные маркеры (*CD31*, *eNOS*) и приобретают мезенхимальные (*FAP*, *ACTA2*, *SNAI1*, *SNAI2*) [25]. Как правило, подобные переходы наблюдаются при нестабильных атеросклеротических бляшках.

При атеросклерозе ранее показана поляризация макрофагов на провоспалительные M1, через липополисахариды или фактор некроза опухоли-альфа, и на противовоспалительные M2, через интерлейкин 4 или 10 [26]. Последние данные, однако, указывают на гораздо более разнообразный диапазон подтипов макрофагов при атеросклерозе [27]. Часть активированных макрофагов способствует Т-клеточной миграции [28], что само по себе порождает гетерогенность среди Т-лимфоцитов. В работе С. Cochain и соавт. (2018) при оценке клеточной гетерогенности клеток иммунной системы (*CD45⁺*) на модельном животном (мышь с нокаутом *Ldlr^{-/-}*) в норме и при атеросклерозе выявлено 13 кластеров Т-клеток с различным паттерном экспрессии, три из которых специфичны для атеросклероза [29]. Авторами найден высоко экспрессирующийся ген *TREM2* в одной субпопуляции атеросклеротических макрофагов, который участвует в метаболизме липидов, регуляции эффлюкса холестерина и ранее был ассоциирован с остеокластами и микроглией [29]. Эти результаты подтверждаются и в атеросклеротических бляшках каротидных артерий у человека, кроме того, были получены свидетельства эндотелиально-мезенхимального перехода и снижения цитотоксичности *CD4⁺* и *CD8⁺* Т-лимфоцитов [30]. По другим данным, напротив, наблюдалась высокая гетерогенность *CD4⁺* Т-лимфоцитов у пациентов с симптомами сосудистых осложнений [31].

Считается, что гетерогенность Т-клеточных субпопуляций в каротидных бляшках обратно пропорцио-

нально коррелирует с сердечно-сосудистыми событиями, что указывает на возможное участие Т-клеток в стабилизации бляшек [32]. Соотношение CD4⁺/CD8⁺ Т-лимфоцитов падает по сравнению с кровью, что характеризует позднюю стадию атеросклеротической бляшки [31]. Примечательно, что наличие субпопуляции CD4⁺ Т-лимфоцитов с экспрессией белков, связанной с их миграцией (Rho GTPase), активацией (PDGFR-β) и дифференцировкой (Wnt, IL-2), является предвестником цереброваскулярных событий. И, напротив, избирательное накопление субпопуляции Foxp3⁺CD4⁺ Т-регуляторных лимфоцитов, не продуцирующих нейропилин (Nrp1⁻), указывает на регрессию атеросклеротической бляшки [33].

Соматический мозаицизм и клональный гемопоэз с неопределенным потенциалом как фактор риска атерогенных сердечно-сосудистых событий

Гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) являются источником эритроидных, лимфоидных, миелоидных и тромбоцитарных клеток. В онтогенезе ГСК приобретают соматические мутации с лейкемогенным потенциалом, что может приводить к КГНП [4]. Наиболее распространенными соматическими мутациями при КГНП являются *DNMT3A*, *TET2* и *ASXL1* [37, 7]. Считается, что на данные гены приходится до 75% всех случаев КГНП [6]. Соматические мутации также регистрируются в гене *JAK2*, связанном с повышенной частотой тромбозов, а также в генах участников репарации ДНК (*PPM1D*, *TP53*) и факторов сплайсинга (*SRSF2* и *SF3B1*). Показано, что мутации, возникающие в *DNMT3A*, *TET2* и *ASXL1*, ассоциированы с двукратным увеличением риска инфаркта миокарда, тогда как мутации в остальных генах – с 12-кратным увеличением риска [7]. Вместе с тем в 90% случаев КГНП пациенты несут мутацию только в одном из упомянутых генов. При этом для мутаций в гене *JAK2* характерно раннее начало КГНП, тогда как для мутаций в генах *PPM1D*, *SRSF2* и *SF3B1*, напротив, позднее начало [6]. Уровень КГНП определяется при полногеномном и экзомном секвенировании образцов ДНК, выделенных из цельной периферической крови, поэтому какие типы или подтипы мутантных иммунных клеток с клональной экспансией воздействуют на фенотип в большей степени, еще предстоит исследовать [6].

Мутации в гене ДНК метилтрансферазы *DNMT3A* в структуре распространенности КГНП занимают 50% всех случаев [6]. Данный фермент является эпигенетическим регулятором экспрессии генов, и нарушение его функции приводит к пролиферации ГСК с активными генами мультипотентности и инактивированными факторами дифференцировки. Кроме того, мутации в гене *DNMT3A* индуцируют провоспалительную поляризацию Т-лимфоцитов и активируют их воспалительный комплекс. Результаты исследований на модельных животных показывают,

что *DNMT3A* может инактивироваться не только при соматических мутациях, но и при воспалении [35]. Обнаружено, что достаточно интерферона гамма (IFNγ), чтобы вызвать клональную экспансию мутантных по *DNMT3A* ГСК, которые благодаря повышенной устойчивости к стресс-индуцированному апоптозу и дифференцировке превосходят клеточные линии с диким типом *DNMT3A*.

Ген *TET2* является вторым геном, в котором встречаются соматические мутации в структуре КГНП (20% случаев). В отличие от *DNMT3A* ген *TET2* участвует в деметилировании ДНК и рекрутинге модификаторов гистонов. Но, как и в случае с *DNMT3A*, мутации гена *TET2* вызывают эпигенетическую дисрегуляцию, сопровождающуюся пролиферацией ГСК и клональной экспансией в сторону миелопоэза [36]. Авторы на мышинной модели показали, что даже пересадка костного мозга, содержащего всего 10% клонов с дефектом *TET2*, в значительной степени увеличивает клональную экспансию и развитие атеросклеротических бляшек по сравнению с пересадкой, содержащей только дикий тип. Также носители дефектного *TET2* имеют высокий уровень IL-1β в макрофагах вследствие индукции NLRP3-инфламмосомы и ускоренный фиброз миокарда. Другими исследователями выявлено, что ингибиторы NLRP3 обладают атеропротективным действием и защищают от развития сердечной недостаточности у *TET2*-нокаутных мышей [37, 38].

Соматические мутации в гене *ASXL1* в структуре распространенности КГНП занимают третье место (5–10%) [6]. Белковый продукт данного гена участвует в модификации гистонов. Нокаут по гену *ASXL1* приводит к миелоидной трансформации, однако механизмы усиления воспаления при этом не ясны [39]. Примечательным фактом является ассоциация курения с частыми соматическими мутациями в гене *ASXL1*. Так, в структуре распространенности КГНП большинство курильщиков (включая бросивших) имели соматические мутации преимущественно в гене *ASXL1* (69%) [40].

Отдельно хотелось бы остановиться на тирозинкиназе *JAK2*, которая фосфорилирует и активирует *TET2* в ответ на цитокины, тем самым являясь «мостом» между внеклеточными сигналами и эпигенетическими изменениями в гемопоэзе. Соматические мутации, возникающие в *JAK2*, приводят к ранней манифестации КГНП и сердечно-сосудистых осложнений [6, 7]. Наличие дефектного *JAK2* связано с высокими уровнями интерлейкинов 18 и 6. Примечательно, что КГНП с *JAK2* мутацией всегда приводит к атеросклерозу, включая случаи с низким уровнем ЛПНП [34]. Ранняя манифестация сердечно-сосудистых заболеваний связана с тем, что соматические мутации в гене *JAK2*, к примеру p.V617F, могут вызвать миелопролиферативные неоплазии, сопровождающиеся повышением вязкости крови, адгезией тромбоцитов и тромбоэмболическими осложнениями [41]. На мышинных моделях показано, что при мутации p.V617F в гене

JAK2 наблюдаются усиленная инфильтрация нейтрофилов и раннее формирование атеросклеротической бляшки и их дестабилизация [42]. В целом показано, что КГНП, вызванный соматическими мутациями в гене *JAK2*, ассоциирован с ранним проявлением сердечно-сосудистых заболеваний [43].

Формирование КГНП, как правило, сопровождается мутациями в драйверных генах и устанавливается при частоте мутантного аллеля свыше 2% в клетках крови пациентов, не имеющих при этом признаков гематологических нарушений [44]. Ряд исследователей считают, что идентификация новых мутаций в генах, ранее не ассоциированных с КГНП, не является основанием для установления КГНП [45]. Тем не менее любая мутантная клональная экспансия сопряжена с риском развития как онкологических заболеваний крови, так и сердечно-сосудистых заболеваний, несмотря на то, что данные моменты изучены недостаточно [46].

Соматический мозаицизм может сопровождаться и такими структурными вариациями, как делеции, дубликации и копий-нейтральные потери гетерозиготности [47]. Однако существует ряд наблюдений, при которых структурные вариации, включая охватывающие гены *DNMT3A* или *TET2*, не влияли на риск развития сердечно-сосудистых заболеваний [34, 46]. Соматический мозаицизм с крупными перестройками ДНК в клетках крови также определяется и при сахарном диабете. Показано, что такие мутации чаще выявляются вместе с симптомами микро- и макрососудистых нарушений, хотя и не ясно, являются ли мутации следствием сахарного диабета

или происходят независимо от него [48]. Несмотря на это, роль крупных соматических мутаций относительно КГНП не до конца ясна.

Заключение

Новые данные подчеркивают комплексность атеросклеротического процесса и всех вовлеченных типов клеток, в том числе тесную связь соматических мутаций и клонального гемопоэза с возраст-зависимыми сердечно-сосудистыми заболеваниями. Несомненно, клеточная пластичность и гетерогенность затрудняет изучение атеросклероза в контексте определения нормы и патологии, тем не менее современные технологии, такие как секвенирование единичных клеток и флуоресцентный сортирование клеток, дают значительно больше информации, чем раньше. Результаты подобных технологий позволяют раскрыть ряд важных биологических процессов, происходящих в тканях, а также выявить новые субпопуляции клеток. Дальнейшее изучение клеточной и функциональной пластичности и гетерогенности, а также межклеточных взаимодействий прольет свет на процессы, происходящие при атеросклерозе.

Конфликт интересов

А.А. Слепцов заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 22-25-00745.

Информация об авторах

Слепцов Алексей Анатольевич, кандидат медицинских наук научный сотрудник лаборатории популяционной генетики федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томск, Российская Федерация; ORCID 0000-0003-3226-1750

Author Information Form

Sleptsov Alexey A., PhD, Researcher at the Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Federal State Budgetary Institution "Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences", Tomsk, Russian Federation; ORCID 0000-0003-3226-1750

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Herrington W., Lacey B., Sherliker P., Armitage J., Lewington S. Epidemiology of Atherosclerosis and the Potential to Reduce the Global Burden of Atherothrombotic Disease. *Circ Res.* 2016;118:535–546. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.307611.
- Ridker P.M., MacFadyen J.G., Everett B.M., Libby P., Thuren T., Glynn R.J. Relationship of C-reactive protein reduction to cardiovascular event reduction following treatment with canakinumab: a secondary analysis from the CANTOS randomised controlled trial. *Lancet.* 2018;391:319–328. doi: 10.1016/S0140-6736(17)32814-3.
- Tang D.G. Understanding cancer stem cell heterogeneity and plasticity. *Cell Res.* 2012;22:457–472. doi: 10.1038/cr.2012.13.
- Jaiswal S., Ebert B.L. Clonal hematopoiesis in human aging and disease. *Science.* 2019;366(6465). doi:10.1126/science.aan4673
- Laurie C.C., Laurie C.A., Rice K., et al. Detectable clonal mosaicism from birth to old age and its relationship to cancer. *Nat Genet.* 2012;44:642–650. doi: 10.1038/ng.2271.
- Bick A.G., Weinstock J.S., Nandakumar S.K., et al. Inherited causes of clonal haematopoiesis in 97,691 whole genomes. *Nature.* 2020;586:763–768. doi: 10.1038/s41586-020-2819-2.
- Jaiswal S., Natarajan P., Silver A.J., et al. Clonal Hematopoiesis and Risk of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *N Engl J Med.* 2017;377:111–121. doi: 10.1056/NEJMoa1701719.
- Zhang X., Sessa W.C., Fernández-Hernando C. Endothelial Transcytosis of Lipoproteins in Atherosclerosis. *Front Cardiovasc Med.* 2018;5:130. doi: 10.3389/fcvm.2018.00130.
- Borén J., Williams K.J. The central role of arterial retention of cholesterol-rich apolipoprotein-B-containing lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis: a triumph of simplicity. *Curr Opin Lipidol.* 2016;27:473–483. doi: 10.1097/MOL.0000000000000330.
- Libby P. The changing landscape of atherosclerosis. *Nature.* 2021;592:524–533. doi: 10.1038/s41586-021-03392-8.
- Ahmad F., Mitchell R.D., Houben T., et al. Cysteamine Decreases Low-Density Lipoprotein Oxidation, Causes Regression of Atherosclerosis, and Improves Liver and Muscle Function in Low-Density Lipoprotein Receptor-Deficient Mice. *J Am Heart Assoc.* 2021;10:e017524. doi: 10.1161/JAHA.120.017524.
- Gimbrone M.A.J., García-Cardena G. Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circ Res.* 2016;118:620–636. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306301.
- Doran A.C., Meller N., McNamara C.A. Role of smooth muscle cells in the initiation and early progression of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28:812–819. doi: 10.1161/

ATVBAHA.107.159327.

14. Hao H., Gabbiani G., Bochaton-Piallat M.L. Arterial smooth muscle cell heterogeneity: implications for atherosclerosis and restenosis development. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:1510–1520. doi: 10.1161/01.ATV.0000090130.85752.ED.

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

16. Aherrahrou R., Guo L., Nagraj V.P., et al. Genetic Regulation of Atherosclerosis-Relevant Phenotypes in Human Vascular Smooth Muscle Cells. *Circ Res.* 2020;127:1552–1565. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317415.

17. Basatemur G.L., Jørgensen H.F., Clarke M.C.H., Bennett M.R., Mallat Z. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol.* 2019;16:727–744. doi: 10.1038/s41569-019-0227-9.

18. Dobnikar L., Taylor A.L., Chappell J., et al. Disease-relevant transcriptional signatures identified in individual smooth muscle cells from healthy mouse vessels. *Nat Commun.* 2018;9:4567. doi: 10.1038/s41467-018-06891-x.

19. El A.E., Kramann R., Schneider R.K., et al. Mesenchymal Stem Cells in Fibrotic Disease. *Cell Stem Cell.* 2017;21:166–177. doi: 10.1016/j.stem.2017.07.011.

20. Chappell J., Harman J.L., Narasimhan V.M., et al. Extensive Proliferation of a Subset of Differentiated, yet Plastic, Medial Vascular Smooth Muscle Cells Contributes to Neointimal Formation in Mouse Injury and Atherosclerosis Models. *Circ Res.* 2016;119:1313–1323. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.309799.

21. Newman A.A.C., Serbulea V., Baylis R.A., et al. Multiple cell types contribute to the atherosclerotic lesion fibrous cap by PDGFR β and bioenergetic mechanisms. *Nat Metab.* 2021;3:166–181. doi: 10.1038/s42255-020-00338-8.

22. Majesky M.W., Dong X.R., Hoglund V., Daum G., Mahoney W.M.J. The adventitia: a progenitor cell niche for the vessel wall. *Cells Tissues Organs.* 2012;195:73–81. doi: 10.1159/000331413.

23. Hu Y., Zhang Z., Torsney E., et al. Abundant progenitor cells in the adventitia contribute to atherosclerosis of vein grafts in ApoE-deficient mice. *J Clin Invest.* 2004;113:1258–1265. doi: 10.1172/JCI19628.

24. Kramann R., Goettsch C., Wongboonsin J., et al. Adventitial MSC-like Cells Are Progenitors of Vascular Smooth Muscle Cells and Drive Vascular Calcification in Chronic Kidney Disease. *Cell Stem Cell.* 2016;19:628–642. doi: 10.1016/j.stem.2016.08.001.

25. Evrard S.M., Lecce L., Michelis K.C., et al. Endothelial to mesenchymal transition is common in atherosclerotic lesions and is associated with plaque instability. *Nat Commun.* 2016;7:11853. doi: 10.1038/ncomms11853.

26. Wilson H.M. Macrophages heterogeneity in atherosclerosis - implications for therapy. *J Cell Mol Med.* 2010;14:2055–2065. doi: 10.1111/j.1582-4934.2010.01121.x.

27. Nagenborg J., Goossens P., Biessen E.A.L., Donners M.M.P.C. Heterogeneity of atherosclerotic plaque macrophage origin, phenotype and functions: Implications for treatment. *Eur J Pharmacol.* 2017;816:14–24. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.10.005.

28. Tse K., Tse H., Sidney J., Sette A., Ley K. T cells in atherosclerosis. *Int Immunol.* 2013;25:615–622. doi: 10.1093/intimm/dxt043.

29. Cochain C., Vafadarnejad E., Arampatzi P., et al. Single-Cell RNA-Seq Reveals the Transcriptional Landscape and Heterogeneity of Aortic Macrophages in Murine Atherosclerosis. *Circ Res.* 2018;122:1661–1674. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.312509.

30. Depuydt M.A.C., Prange K.H.M., Slenders L., et al. Microanatomy of the Human Atherosclerotic Plaque by Single-Cell Transcriptomics. *Circ Res.* 2020;127:1437–1455. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.316770.

31. Fernandez D.M., Rahman A.H., Fernandez N.F., et al.

Single-cell immune landscape of human atherosclerotic plaques. *Nat Med.* 2019;25:1576–1588. doi: 10.1038/s41591-019-0590-4.

32. Abplanalp W.T., Tucker N., Dimmeler S. Single-cell technologies to decipher cardiovascular diseases. *Eur Heart J.* 2022. doi: 10.1093/eurheartj/ehac095.

33. Sharma M., Schlegel M.P., Afonso M.S., et al. Regulatory T Cells License Macrophage Pro-Resolving Functions During Atherosclerosis Regression. *Circ Res.* 2020;127:335–353. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.316461.

34. Marnell C.S., Bick A., Natarajan P. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP): Linking somatic mutations, hematopoiesis, chronic inflammation and cardiovascular disease. *J Mol Cell Cardiol.* 2021;161:98–105. doi: 10.1016/j.yjmcc.2021.07.004.

35. Sano S., Oshima K., Wang Y., Katanasaka Y., Sano M., Walsh K. CRISPR-Mediated Gene Editing to Assess the Roles of Tet2 and Dnmt3a in Clonal Hematopoiesis and Cardiovascular Disease. *Circ Res.* 2018;123:335–341. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313225.

36. Fuster J.J., MacLauchlan S., Zuriaga M.A., et al. Clonal hematopoiesis associated with TET2 deficiency accelerates atherosclerosis development in mice. *Science.* 2017;355:842–847. doi: 10.1126/science.aag1381.

37. Sano S., Oshima K., Wang Y., et al. Tet2-Mediated Clonal Hematopoiesis Accelerates Heart Failure Through a Mechanism Involving the IL-1 β /NLRP3 Inflammasome. *J Am Coll Cardiol.* 2018;71:875–886. doi: 10.1016/j.jacc.2017.12.037.

38. Masamoto Y., Arai S., Sato T., et al. Adiponectin Enhances Antibacterial Activity of Hematopoietic Cells by Suppressing Bone Marrow Inflammation. *Immunity.* 2016;44:1422–1433. doi: 10.1016/j.immuni.2016.05.010.

39. Asada S., Kitamura T. Clonal hematopoiesis and associated diseases: A review of recent findings. *Cancer Sci.* 2021;112:3962–3971. doi: 10.1111/cas.15094.

40. Dawoud A.A.Z., Tapper W.J., Cross NCP. Clonal myelopoiesis in the UK Biobank cohort: ASXL1 mutations are strongly associated with smoking. *Leukemia.* 2020;34:2660–2672. doi: 10.1038/s41375-020-0896-8.

41. Misawa K., Yasuda H., Araki M., et al. Mutational subtypes of JAK2 and CALR correlate with different clinical features in Japanese patients with myeloproliferative neoplasms. *Int J Hematol.* 2018;107:673–680. doi: 10.1007/s12185-018-2421-7.

42. Wang W., Liu W., Fidler T., et al. Macrophage Inflammation, Erythrophagocytosis, and Accelerated Atherosclerosis in Jak2 V617F Mice. *Circ Res.* 2018;123:e35–e47. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313283.

43. Papa V., Marracino L., Fortini F., et al. Translating Evidence from Clonal Hematopoiesis to Cardiovascular Disease: A Systematic Review. *J Clin Med.* 2020;9. doi: 10.3390/jcm9082480.

44. Hsu J.I., Dayaram T., Tovy A., et al. PPM1D Mutations Drive Clonal Hematopoiesis in Response to Cytotoxic Chemotherapy. *Cell Stem Cell.* 2018;23:700–713.e6. doi: 10.1016/j.stem.2018.10.004.

45. Calvillo-Argüelles O., Jaiswal S., Shlush L.I., et al. Connections Between Clonal Hematopoiesis, Cardiovascular Disease, and Cancer: A Review. *JAMA Cardiol.* 2019;4:380–387. doi: 10.1001/jamacardio.2019.0302.

46. Zink F., Stacey S.N., Norddahl G.L., et al. Clonal hematopoiesis, with and without candidate driver mutations, is common in the elderly. *Blood.* 2017;130:742–752. doi: 10.1182/blood-2017-02-769869.

47. Nazarenko M.S., Sleptsov A.A., Lebedev I.N., et al. Genomic structural variations for cardiovascular and metabolic comorbidity. *Sci Rep.* 2017 Jan 25;7:41268. doi: 10.1038/srep41268.

48. Bonnefond A., Skrobek B., Lobbens S., et al. Association between large detectable clonal mosaicism and type 2 diabetes with vascular complications. *Nat Genet.* 2013;45:1040–1043. doi: 10.1038/ng.2700.

Для цитирования: Слепцов А.А. Роль клеточной пластичности клеток сосудистой стенки и кроветворной системы в атерогенезе. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2024;13(3): 105-110. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-105-110

To cite: Sleptsov A.A. The role of cellular plasticity of vascular wall cells and hematopoietic system in atherogenesis. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2024;13(3): 105-110. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-105-110



УДК 612.1 + 616.005

DOI 10.17802/2306-1278-2024-13-3-111-117

РОЛЬ ГРЕБЕНЧАТЫХ МЫШЦ В ФОРМИРОВАНИИ УСЛОВИЙ ГЕМОДИНАМИКИ В ПОЛОСТЯХ СЕРДЦА ЧЕЛОВЕКА

В.Е. Милюков¹, В.А. Брюханов², Х.М. Шарифова², К.К. Нгуен³

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Островитянова, 1, стр. 6., Москва, Российская Федерация, 117513; ² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Москва, Российская Федерация, 119048; ³ Университет им. Йерсена, ул. Тон Тхат Тунг, 27, Далат, Вьетнам

Основные положения

• Настоящий обзор предваряет планируемое исследование и представляет собой критический анализ доступных в литературе научных работ, посвященных роли гребенчатых мышц в формировании морфофункциональных условий организации внутриполостной гемодинамики в сердце.

Резюме

В обзоре проанализированы современные публикации по оценке функциональной роли гребенчатых мышц в организации условий движения крови в предсердиях. На основе данного анализа определен ряд вопросов для дальнейших исследований, ответы на которые будут способствовать разработке новых диагностических систем и критериев в кардиологии, а также созданию анатомо-физиологически обоснованных протезов клапанов в кардиохирургии с учетом индивидуальных гидродинамических закономерностей кровотока.

Ключевые слова

Гребенчатые мышцы • Гемодинамика • Закрученный поток крови • Ушко левого предсердия

Поступила в редакцию: 27.05.2024; поступила после доработки: 19.06.2024; принята к печати: 05.07.2024

ROLE OF PECTINATE MUSCLES IN HEMODYNAMICS IN THE CAVITIES OF THE HUMAN HEART

V.E. Milyukov¹, V.A. Bryukhanov², K.M. Sharifova², C.C. Nguyen³

¹ Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «N.I. Pirogov Russian National Research Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 1, bld. 6, Ostrovityanova St., Moscow, Russian Federation, 117513; ² 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), 8, Trubetskaya St., bld. 2, Moscow, Russian Federation, 119048; ³ Yersin university of Da Lat of Viet Nam, 27, Ton That Tung, Ward 8, Da Lat, Vietnam

Highlights

• This review precedes the planned study and is an analysis of the available works on the role of pectinate muscles in the development of morphological and functional conditions of intracavitary hemodynamics in the heart.

Abstract

This review presents an analysis of recent publications on the assessment of the functional role of the pectinate muscles in the development of morphological and functional conditions of blood flow in the atria. The results of this analysis helped us to identify a number of topics for further research. The results of this research should help us develop new diagnostic systems and criteria in cardiology field, and assist in furthering research regarding the development of anatomically and physiologically substantiated valve prostheses, taking into account the individual characteristics of the hydrodynamic patterns of blood flow.

Keywords

Pectinate muscles • Hemodynamics • Swirling blood flow • Left atrial appendage

Received: 27.05.2024; received in revised form: 19.06.2024; accepted: 05.07.2024

Для корреспонденции: Валерий Александрович Брюханов, bryuhanov02@mail.ru; адрес: ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Москва, Российская Федерация, 119048

Corresponding author: Valeriy A. Bryukhanov, bryuhanov02@mail.ru; address: 8, Trubetskaya St., bld. 2, Moscow, Russian Federation, 119048

Список сокращений

ФП – фибрилляция предсердий

Введение

Знание функциональной анатомии и физиологии сердечно-сосудистой системы является основным условием понимания всех звеньев патогенеза и, соответственно, разработки патогенетически обоснованных методов лечения заболеваний в кардиологии. Сердечные аритмии – распространенное клиническое проявление широкого спектра видов сердечной патологии. Нарушения ритма сердца обусловлены изменениями источников и регулярности частоты генерации электрических импульсов вследствие нарушения процесса их возникновения и/или проведения, а фибрилляция предсердий (ФП) представляет собой наиболее распространенный вид нарушения сердечного ритма, который характеризуется быстрой и неорганизованной электрической активацией сокращений миокарда предсердий. ФП также ассоциируется с повышенным риском тромбообразования в предсердиях [1]. В свою очередь отсутствие скоординированных сокращений предсердий при ФП приводит к нарушению организации движения крови в полостях сердца, способствуя тромбообразованию и возникновению грозного осложнения – кардиоэмболического инсульта [2, 3]. Доказано, что около трети случаев ишемического инсульта связаны с предшествующей ФП [4]. При этом ушко левого предсердия в 90–100% случаев является основным местом локализации тромбообразования у пациентов с клапанной, не связанной с ревматическими пороками ФП [5, 6]. Однако в современной литературе, по нашему мнению, в недостаточной степени описаны основы формирования гидродинамических условий движения крови внутри полостей сердца. В частности, исследователи мало уделили внимания влиянию гребенчатых мышц, формирующих неровную поверхность в ушках предсердий, на условия организации кровотока в предсердиях [7].

Морфология гребенчатых мышц

В правом предсердии гребенчатые мышцы расположены на внутренней поверхности правого ушка предсердия, начинаясь радиально от пограничного гребня, и представляют собой параллельные мышечные тяжи, которые своим видом напоминают гребни расчески. [8]. В левом предсердии гребенчатые мышцы расположены только на внутренней поверхности ушка левого предсердия, что создает неровную поверхность с углублениями между мышечными пучками [9]. Однако, в отличие от гребенчатых мышц в правом предсердии, расположение гребенчатых мышц в левом предсердии

похоже на листья пальмы или они имеют ремневидную форму [10].

Как предполагают А.Р. Stepanchuk с соавт. (2018), в систолу предсердий ушки предсердий за счет сокращающихся гребенчатых мышц и углублений между ними придают турбулентность потоку крови, который устремляется в желудочки [11]. Однако данная гипотеза является спорной, так как другие исследователи считают, что углубления между гребенчатыми мышцами, создавая турбулентность кровотока, могут способствовать тромбообразованию [7]. Также данное мнение противоречит положениям классической триады Вирхова, согласно которой турбулентность кровотока ассоциируется с застоем и является фактором тромбообразования [13].

Для оценки влияния гребенчатых мышц на организацию гемодинамики в предсердиях необходим подробный анализ особенностей кровотока в предсердных полостях.

Особенности гемодинамики в предсердиях

В гидродинамике жидкость считается сплошной (непрерывной) средой, заполняющей пространство без образования пустот. Все свойства жидкости (плотность, вязкость и др.), если не являются постоянными, то меняются в пространстве непрерывно, т. е. при бесконечно малом перемещении в пространстве получаются и бесконечно малые изменения свойств жидкости. Движение жидкости характеризуется следующими гидромеханическими элементами: скорость движения частиц и гидродинамическое давление.

Так как все реальные жидкости имеют вязкость, в них не может быть взаимного смещения (разрыва) прилегающих друг к другу частиц, поэтому скорости частиц меняются и во времени, и в пространстве непрерывно, т. е. являются в общем случае непрерывными функциями координат пространства и времени. Таким образом, чтобы полностью охарактеризовать картину движения жидкости, необходимо знать гидромеханические элементы во всех точках пространства, занятого движущейся жидкостью, а также ее механические свойства.

Виды движения крови в полостях сердца и по сосудам классически описывают как ламинарные и турбулентные потоки. Ламинарный кровоток характеризуется перемещением слоев жидкости параллельно стенке полости или сосуда, в отличие от турбулентного, где слои передвигаются как параллельно, так и перпендикулярно его стенке [14]. Ламинарное течение крови общепринято считается

преобладающим и физиологически нормальным для сосудов [15]. Однако в сердце при поступлении потоков крови из сосудов, впадающих в предсердия, а затем из предсердий в желудочки, периферийные слои крови могут отклоняться от центрального, что приводит к образованию вихрей, описываемых как закрученное движение крови [16]. Такой вид кровотока называют закручивающимся, или спиральным. Таким образом, очень важно различать понятия «турбулентный» и «закручивающийся» по отношению к виду кровотока, так как турбулентный кровоток характерен больше для сосудов и является фактором тромбообразования, а закручивающийся физиологичен и наблюдается в сердце [17, 18].

Впервые в 2000 г. в исследовании P.J. Kilner и коллег с помощью метода «магнитно-резонансного фазового картирования скорости» было продемонстрировано, что в правом предсердии при поступлении потоков крови в полость предсердия из верхней и нижней полых вен наблюдалось закручивание данных потоков в направлении по часовой стрелке. В левом же предсердии движение крови из легочных вен способствовало суммарному вращательному моменту потока крови против часовой стрелки [19]. F.M. Callaghan и соавт. (2016) заключили, что образующиеся вихри в правом предсердии необходимы для эффективного наполнения правого желудочка, в особенности вихревые образования в полости предсердия обеспечивают непрерывное движение крови во время наполнения и опорожнения, сохраняя кинетическую энергию текущей жидкости и предотвращая замедление перемещения [20]. В левом предсердии во время систолы желудочков при поступлении крови из легочных вен образуется вихревой поток, который далее в фазу быстрого наполнения желудочков гасится с последующим образованием вторичного транзитного предсердного вихревого потока, способствующего ускоренному поступлению крови в левый желудочек в систолу предсердий [21]. При обследовании пациентов, у которых наблюдается образование вихревых потоков, было обнаружено меньше органических заболеваний сердца, а также у них был меньший объем левого предсердия и левого желудочка по сравнению с лицами без вихревых потоков [22]. Таким образом, наличие образования вихревых потоков является нормальным физиологическим процессом. Однако в исследованиях влияние ушек предсердий на образование вихревых потоков не проанализировано в достаточной степени, что требует подробного разбора функциональной анатомии данной структуры.

Особенности гемодинамики в ушке левого предсердия

Ушко левого предсердия является пальцевидным выступом от полости левого предсердия и наиболее часто расположено между передней и

боковой стенкой левого предсердия [23]. Ушко левого предсердия активно сокращается за счет гребенчатых мышц, расположенных на внутренней поверхности, обеспечивая при этом адекватный поток крови внутри ушка [24, 25]. Кровоток в полости ушка левого предсердия при исследовании методом эхокардиографии в норме описывается как четырехфазный:

1) ранняя диастолическая фаза изгнания, которая предположительно возникает в результате падения давления в левом предсердии при открытии митрального клапана, а также при пассивном внешнем сдавлении ушка наполняющимся левым желудочком;

2) поздняя диастолическая фаза изгнания, возникающая после зубца Р на электрокардиограмме, служащая результатом активного сокращения ушка;

3) диастолическая фаза наполнения ушка, которая возникает сразу после сокращения ушка и является результатом комбинированных эффектов расслабления и упругости;

4) «фаза систолических отражательных волн», функциональное значение которых не до конца изучено [26].

В доступной литературе нам удалось найти исследование, выполненное L.T. Zhang и M. Gay (2008), в котором с помощью компьютерного моделирования подробно проанализирована функциональная роль левого предсердия при наличии и отсутствии ушка левого предсердия. Компьютерное моделирование показало, что предсердие с ушком создает более сильные вихри вблизи отверстия ушка. В начале ранней диастолы при открытии митрального клапана в предсердии с ушком развивается больше вихрей. Предсердие без ушка, в сравнении с предсердием с ушком, имеет несколько более слабые вихри, которых, кроме того, меньше [27]. A.V. Agafonov с соавт. (2021) считают, что образующиеся вихри при сокращении ушка левого предсердия обеспечивают непрерывное движение рабочего объема крови в левом предсердии в фазу медленного наполнения левого желудочка, а также при сокращении ушка увеличиваются азимутальная скорость и динамический градиент давления, что повышает скорость притока крови через легочные вены [28].

Таким образом, с учетом результатов данных исследований можно подтвердить гипотезу о создании закрученного потока крови при сокращении ушка левого предсердия. Однако остается неясным, являются ли вихри, создаваемые сокращением ушка, факторами тромбообразования.

Гемодинамика в ушках предсердий при фибрилляции предсердий

Как уже отмечено выше, ушко левого предсердия является самым частым местом тромбообразо-

вания при ФП. В ушке правого предсердия также возможно образование тромбов при ФП, приводящее к тромбоэмболии легочной артерии [29].

К основным факторам тромбообразования в ушке левого предсердия при ФП относятся застой крови, ремоделирование ушка при ФП, приводящее к расширению ушка и гипотрофии гребенчатых мышц, и сложная вариативная форма анатомии ушка [30–32]. К. Shinoda и коллеги (2016) выделили еще один фактор тромбообразования – количество и строение гребенчатых мышц. В ушке правого предсердия большинство гребенчатых мышц связаны друг с другом и образуют «дендритный вид», в отличие от ушка левого предсердия, для которого такое строение не характерно. Отмечено, что гребенчатых мышц в ушке правого предсердия меньше, чем в ушке левого предсердия, что может объяснять низкую частоту тромбообразования в нем [33].

ФП влияет на гемодинамику в предсердиях, приводя к застою крови в ушке левого предсердия и последующему тромбообразованию [34]. Как описано выше, сокращения ушка левого предсердия создают вихри, но при синусовом ритме во время систолы предсердий большинство вихревых потоков с массой крови смещается в желудочек [27]. При ФП же в течение всего сердечного цикла появляется больше вихрей. Во время ранней диастолы вихри, образующиеся во время систолы, остаются, сохраняя свою силу и количество. Далее некоторые вихри перераспределяются, в то время как другие остаются на первоначальном месте. В конце диастолы вихри остаются в предсердии, не будучи эффективно смыты в желудочек из-за отсутствия сокращения предсердия. Когда митральный клапан закрывается, эти вихри остаются, хотя их сила и уменьшается. При ФП снижается сократительная функция ушка левого предсердия, что не позволяет эффективно вымывать вихри и приводит впоследствии к застою крови [27, 35]. Не менее важным фактором является то, что при ФП происходит ремоделирование ушка левого предсердия, а именно расширение и растяжение ушка и уменьшение объема гребенчатых мышц в дополнение к эндокардиальному фиброэластозу [36].

Значимыми при изучении условий гемодинамики являются результаты, полученные группой авторов во главе с J. Garcia (2019). Установлено, что размер вихрей у пациентов с ФП в раннюю диастолу был значительно больше, чем у здоровых лиц. Крупные вихревые потоки наблюдались у пациентов с дилатацией левого предсердия, что в совокупности со сниженной сократимостью приводило к застою крови. Также продемонстрирована корреляция размеров вихревых потоков с увеличением возраста, выраженностью ремоделирования

левого предсердия и со шкалой риска CHA₂DS₂-VASc [37].

Гемодинамика в анатомических вариациях строения ушка левого предсердия

Согласно наиболее распространенной классификации, разработанной L. Di Base с соавт. (2012), выделяют следующие формы ушка левого предсердия:

- 1) «кактус» – одна доминирующая центральная доля, от которой вверх и вниз отходят доли поменьше;
- 2) «куриное крыло» – изгиб в средней или проксимальной части ушка;
- 3) «ветроуказатель» – вытянутое ушко;
- 4) «цветная капуста» – сложное внутреннее строение и большое количество долей [38].

Наиболее простые формы ушка (без дополнительных долей) ассоциируются с меньшей частотой тромбоза [39]. В исследовании G.M. Bosi и коллег (2018) с использованием компьютерного моделирования установлено, что лучше всего кровь элиминировалась из ушка формы ветроуказателя, в отличие от ушка с формой цветной капусты, что свидетельствует о более высоком риске тромбообразования при данной форме [40]. Данные исследования I.M. Khurram с соавт. (2013) подтверждают, что ушки, имеющие форму цветной капусты или приближенную к ней, из-за наличия маленьких долей и толстых гребенчатых мышц являются независимыми факторами тромбообразования у пациентов с ФП [41]. Однако следует отметить, что в других работах сообщается об уменьшении объема гребенчатых мышц при ФП [36]. В доступной нам литературе не удалось найти исследований, содержащих описание влияния разных морфологических форм ушка левого предсердия на создание закрученного движения крови в левом предсердии. Тем не менее, например в исследовании A. Masci и коллег (2019), в котором выполнено моделирование и оценка влияния разных форм ушка при ФП на гемодинамику, продемонстрировано, что при ФП не извилистые формы ушка с небольшой длинной меньше всего подвержены застою крови, при этом в них возникали вихревые потоки с большей величиной, чем в извилистых формах ушек [42].

Обсуждение

Активное развитие кардиологии и появление новых способов визуализации внутриполостного кровотока в сердце дает возможность для более подробного рассмотрения гидродинамических закономерностей и условий движения крови в предсердиях и желудочках как в норме, так и при различных заболеваниях, способствующих внутриполостному тромбообразованию. Классические теории, согласно которым выделяют ламинарный

и турбулентный виды кровотока, не позволяют ответить на ряд вопросов, связанных с ролью внутренних структур в организации потоков крови и индивидуальной предрасположенностью к тромбообразованию. Результаты многочисленных исследований показали, что в сердце наблюдается образование вихревых потоков крови [19–21]. Данный тип кровотока получил название «закручивающийся», или «спиральный», и в отличие от турбулентного кровотока сосудов является физиологичным, так как обеспечивает эффективное сохранение кинетической энергии крови во время сердечного цикла [43].

Проанализировав доступную литературу, мы пришли к выводу, что гребенчатые мышцы, которые располагаются на внутренней поверхности ушек предсердий, сокращаясь, не только способствуют сокращению ушек предсердий, но и благодаря сложному геометрическому расположению в ушках – созданию закрученного потока крови. Остается неизученной физиологическая роль образующегося закрученного потока крови, но некоторые авторы считают, что данный поток обеспечивает непрерывное движение рабочего объема крови в левом предсердии, повышая скорость притока крови через легочные вены [28]. В условиях ФП углубления между гребенчатыми мышцами становятся местами, предрасположенными к образованию тромбов из-за низких скоростей потока крови и турбулентности. Следовательно, гребенчатые мышцы способствуют как нормальной гемодина-

мике предсердий, так и являются фактором тромбообразования в патологических условиях.

Тем не менее представленные в литературе данные не позволяют точно ответить на следующие вопросы: каким образом анатомические вариации ушка левого предсердия влияют на создание закрученных потоков при синусовом ритме; какова функциональная роль закручивающегося потока, создаваемого гребенчатыми мышцами и ушком левого предсердия; какое влияние оказывают гребенчатые мышцы на гемодинамику в правом предсердии и его ушке. Ответы на данные вопросы и подтверждение гипотез, вероятнее всего, позволят разработать новые диагностические системы и критерии в кардиологии, а также создать анатомио-физиологически обоснованные протезы клапанов для нужд кардиохирургии с учетом индивидуальных гидродинамических закономерностей кровотока.

Конфликт интересов

В.Е. Милуков заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.А. Брюханов заявляет об отсутствии конфликта интересов. Х.М. Шарифова заявляет об отсутствии конфликта интересов. К.К. Нгуен заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Авторы заявляют об отсутствии финансирования исследования.

Информация об авторах

Милуков Владимир Ефимович, доктор медицинских наук, профессор и. о. заведующего кафедрой топографической анатомии и оперативной хирургии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8552-6727

Брюханов Валерий Александрович, студент Международной школы «Медицина будущего» 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** 0000-0001-8445-3688

Шарифова Хейля Муришуд кызы, кандидат медицинских наук старший преподаватель кафедры анатомии человека 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** 0000-0003-3966-0738

Нгуен Као Кыонг, кандидат медицинских наук декан факультета фармако-медсестринского дела Университета им. Йерсена, Далат, Вьетнам; **ORCID** 0000-0003-2190-6648

Author Information Form

Milyukov Vladimir E., PhD, Professor, Acting Head of the Department of Topographic Anatomy and Operative Surgery, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education “N.I. Pirogov Russian National Research Medical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8552-6727

Bryukhanov Valery A., student, International School “Medicine of the Future” of the 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, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-8445-3688

Sharifova Heyala Murshud kyzy, PhD, Senior Lecturer at the Department of Human Anatomy, 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, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3966-0738

Nguyen Cao Cuong, PhD, Dean of the Faculty of Pharmacy and Nursing, Yersin University of Da Lat of Vietnam, Da Lat, Vietnam; **ORCID** 0000-0003-2190-6648

Вклад авторов в статью

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

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

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

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

Author Contribution Statement

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Hindricks, Gerhard et al. “2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS): The Task Force for the diagnosis and management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association (EHRA) of the ESC.” *European heart journal* vol. 42,5 (2021): 373-498. doi:10.1093/eurheartj/ehaa612
- Best, J. G., Bell, R., Haque, M., Chandratheva, A., & Werring, D. J. (2019). Atrial fibrillation and stroke: a practical guide. *Practical Neurology*, practneurol-2018-002089. doi:10.1136/practneurol-2018-002089
- Jame, S., & Barnes, G. (2019). Stroke and thromboembolism prevention in atrial fibrillation. *Heart*, heartjnl-2019-314898. doi:10.1136/heartjnl-2019-314898
- Yiin, Gabriel S C et al. “Time Trends in Atrial Fibrillation-Associated Stroke and Premorbid Anticoagulation.” *Stroke*, vol. 50,1 STROKEAHA118022249. 29 Nov. 2018, doi:10.1161/STROKEAHA.118.022249
- Di Biase, Luigi et al. “Thrombogenic and Arrhythmogenic Roles of the Left Atrial Appendage in Atrial Fibrillation.” *Circulation* vol. 138,18 (2018): 2036-2050. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.118.034187
- Cresti, Alberto et al. “Prevalence of extra-appendage thrombosis in non-valvular atrial fibrillation and atrial flutter in patients undergoing cardioversion: a large transoesophageal echo study.” *EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology* vol. 15,3 e225-e230. 12 Jun. 2019, doi:10.4244/EIJ-D-19-00128
- Peter J. Bazira, Clinically applied anatomy of the heart, Surgery (Oxford), Volume 39, Issue 3, 2021, Pages 117-125, ISSN 0263-9319, doi.org:10.1016/j.jmps.2021.01.004
- Ueda, Akiko et al. “Right atrial appendage and vestibule: further anatomical insights with implications for invasive electrophysiology.” *Europace : European pacing, arrhythmias, and cardiac electrophysiology : journal of the working groups on cardiac pacing, arrhythmias, and cardiac cellular electrophysiology of the European Society of Cardiology* vol. 15,5 (2013): 728-34. doi:10.1093/europace/eus382
- Hensey, Mark et al. “A Review of the Anatomical and Histological Attributes of the Left Atrial Appendage with Descriptive Pathological Examination of Morphology and Histology.” *Journal of atrial fibrillation* vol. 10,6 1650. 30 Apr. 2018, doi:10.4022/jafib.1650
- The Left Atrial Appendage: Anatomy, Function, and Noninvasive Evaluation. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 7(12), 1251–1265. doi:10.1016/j.jcmg.2014.08.009
- Morphofunctional purpose of human atrial auricles / A. P. Stepanchuk, N. V. Royko, B. M. Fylenko, A. M. Pryshlyak // *Світ медицини та біології*. – 2018. – Vol. 14. – No 3(65). – P. 185-189. – DOI 10.26724/2079-8334-2018-3-65-185-189.
- Ding, W. Y., Gupta, D., & Lip, G. Y. H. (2020). Atrial fibrillation and the prothrombotic state: revisiting Virchow’s triad in 2020. *Heart*, heartjnl-2020-316977. doi:10.1136/heartjnl-2020-316977
- Ding, Wern Yew et al. “Atrial fibrillation and the prothrombotic state: revisiting Virchow’s triad in 2020.” *Heart (British Cardiac Society)* vol. 106,19 (2020): 1463-1468. doi:10.1136/heartjnl-2020-316977
- 4D MR flowmetry of vortical fluid flows in elastic tubes / A. Khe, V. Vanina, A. Cherevko [et al.] // *AIP Conference Proceedings*, Novosibirsk, 13–19 августа 2018 года. – Novosibirsk: American Institute of Physics Inc., 2018. – P. 030123. – DOI 10.1063/1.5065217.
- Thomas, B., & Sumam, K. S. (2016). Blood Flow in Human Arterial System-A Review. *Procedia Technology*, 24, 339–346. doi:10.1016/j.protecy.2016.05.045
- Advances in echocardiography: global longitudinal strain, intra-cardiac multidirectional flow imaging and automated 3d volume analysis / O. Baysan, E. P. Ocakli, Ya. Saglam, T. K. Altuner // *Heart, Vessels and Transplantation*. – 2018. – Vol. 2. – No 4. – P. 113-122. – DOI 10.24969/hvt.2018.83.
- Li, Yu et al. “Analysis and preparation of rotational flow mechanism of artificial blood vessel with spiral folds on inner wall.” *Biomechanics and modeling in mechanobiology* vol. 18,2 (2019): 411-423. doi:10.1007/s10237-018-1092-x
- Demirkiran, Ahmet et al. “Left ventricular four-dimensional blood flow distribution, energetics, and vorticity in chronic myocardial infarction patients with/without left ventricular thrombus.” *European journal of radiology* vol. 150 (2022): 110233. doi:10.1016/j.ejrad.2022.110233
- Kilner, P. J., Yang, G.-Z., Wilkes, A. J., Mohiaddin, R. H., Firmin, D. N., & Yacoub, M. H. (2000). Asymmetric redirection of flow through the heart. *Nature*, 404(6779), 759–761. doi:10.1038/35008075
- Callaghan, F. M., Arnott, C., Figtree, G. A., Kutty, S., Celermajer, D. S., & Grieve, S. M. (2016). Quantifying right atrial filling and emptying: A 4D-flow MRI study. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 45(4), 1046–1054. doi:10.1002/jmri.25457
- Gaeta, S., Dyverfeldt, P., Eriksson, J., Carlhäll, C.-J., Ebbers, T., & Bolger, A. F. (2018). Fixed volume particle trace emission for the analysis of left atrial blood flow using 4D Flow MRI. *Magnetic Resonance Imaging*, 47, 83–88. doi:10.1016/j.mri.2017.12.008
- Suwa, Kenichiro et al. “Characteristics of intra-left atrial flow dynamics and factors affecting formation of the vortex flow – analysis with phase-resolved 3-dimensional cine phase contrast magnetic resonance imaging.” *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society* vol. 79,1 (2015): 144-52. doi:10.1253/circj.CJ-14-0562
- Beigel, R., Wunderlich, N. C., Ho, S. Y., Arsanjani, R., & Siegel, R. J. (2014). The Left Atrial Appendage: Anatomy, Function, and Noninvasive Evaluation. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 7(12), 1251–1265. doi:10.1016/j.jcmg.2014.08.009
- Kim, Y. G., Shim, J., Oh, S.-K., Lee, K.-N., Choi, J.-I., & Kim, Y.-H. (2018). Electrical isolation of the left atrial appendage increases the risk of ischemic stroke and transient ischemic attack regardless of postisolation flow velocity. *Heart Rhythm*, 15(12),

1746–1753. doi:10.1016/j.hrthm.2018.09.012

25. Domínguez, H., Madsen, C. V., Westh, O. N. H., Pallesen, P. A., Carranza, C. L., Irmukhamedov, A., & Park-Hansen, J. (2018). Does Left Atrial Appendage Amputation During Routine Cardiac Surgery Reduce Future Atrial Fibrillation and Stroke? *Current Cardiology Reports*, 20(10). doi:10.1007/s11886-018-1033-4

26. Patti, Giuseppe et al. “The left atrial appendage: from embryology to prevention of thromboembolism.” *European heart journal* vol. 38,12 (2017): 877-887. doi:10.1093/eurheartj/ehw159

27. Zhang, L. T., & Gay, M. (2008). Characterizing left atrial appendage functions in sinus rhythm and atrial fibrillation using computational models. *Journal of Biomechanics*, 41(11), 2515–2523. doi:10.1016/j.jbiomech.2008.05.01

28. Agafonov, A V et al. “The Hydrodynamics of a Swirling Blood Flow in the Left Heart and Aorta.” *Actanaturae* vol. 13,4 (2021): 4-16. doi:10.32607/actanaturae.11439

29. Ptaszynska-Kopczynska, Katarzyna et al. “Atrial Fibrillation in Patients with Acute Pulmonary Embolism: Clinical Significance and Impact on Prognosis.” *BioMed research international* vol. 2019 7846291. 19 Aug. 2019, doi:10.1155/2019/7846291

30. Naksuk, N., Padmanabhan, D., Yogeswaran, V., & Asirvatham, S. J. (2016). Left Atrial Appendage. *JACC: Clinical Electrophysiology*, 2(4), 403–412. doi:10.1016/j.jacep.2016.06.006

31. Richardson, Aaron C et al. “Right Atrial Appendage Thrombus in Atrial Fibrillation: A Case Report and Review of the Literature.” *Journal of investigative medicine high impact case reports* vol. 9 (2021): 23247096211010048. doi:10.1177/23247096211010048

32. Yamamoto, Masayoshi et al. “Complex left atrial appendage morphology and left atrial appendage thrombus formation in patients with atrial fibrillation.” *Circulation. Cardiovascular imaging* vol. 7,2 (2014): 337-43. doi:10.1161/CIRCIMAGING.113.001317

33. Shinoda, Koichi et al. “Structural Comparison between the Right and Left Atrial Appendages Using Multidetector Computed Tomography.” *BioMed research international* vol. 2016 (2016): 6492183. doi:10.1155/2016/6492183

34. Koizumi, R., Funamoto, K., Hayase, T., Kanke, Y., Shibata, M., Shiraishi, Y., & Yambe, T. (2015). Numerical analysis of hemodynamic changes in the left atrium due to atrial fibrillation. *Journal of Biomechanics*, 48(3), 472–478. doi:10.1016/j.jbiomech.2014.12.02

35. Yildirim, T., Akin, F., Avci, E., Altun, I., Yildirim, S. E., & Soylu, M. O. (2018). Paroxysmal Atrial Fibrillation and Stroke. *The American Journal of Cardiology*, 121(8), e42. doi:10.1016/j.amjcard.2018.03.119

36. Whiteman, S., Saker, E., Courant, V., Salandy, S., Gielecki, J., Zurada, A., & Loukas, M. (2019). An anatomical review of the left atrium. *Translational Research in Anatomy*, 17, 100052. doi:10.1016/j.tria.2019.100052.

37. Garcia, Julio et al. “Left atrial vortex size and velocity distributions by 4D flow MRI in patients with paroxysmal atrial fibrillation: Associations with age and CHA2 DS2 -VASc risk score.” *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI* vol. 51,3 (2020): 871-884. doi:10.1002/jmri.26876

38. Di Biase, Luigi et al. “Does the left atrial appendage morphology correlate with the risk of stroke in patients with atrial fibrillation? Results from a multicenter study.” *Journal of the American College of Cardiology* vol. 60,6 (2012): 531-8. doi:10.1016/j.jacc.2012.04.032

39. He, Jionghong et al. “The predictive value of a concise classification of left atrial appendage morphology to thrombosis in non-valvular atrial fibrillation patients.” *Clinical cardiology* vol. 43,7 (2020): 789-795. doi:10.1002/clc.23381

40. Bosi, Giorgia Maria et al. “Computational Fluid Dynamic Analysis of the Left Atrial Appendage to Predict Thrombosis Risk.” *Frontiers in cardiovascular medicine* vol. 5 34. 4 Apr. 2018, doi:10.3389/fcvm.2018.00034

41. Khurram, Irfan M et al. “Relationship between left atrial appendage morphology and stroke in patients with atrial fibrillation.” *Heart rhythm* vol. 10,12 (2013): 1843-9. doi:10.1016/j.hrthm.2013.09.065

42. Masci, Alessandro et al. “The Impact of Left Atrium Appendage Morphology on Stroke Risk Assessment in Atrial Fibrillation: A Computational Fluid Dynamics Study.” *Frontiers in physiology* vol. 9 1938. 22 Jan. 2019, doi:10.3389/fphys.2018.01938

43. Kim, In-Cheol, and Geu-Ru Hong. “Intraventricular Flow: More than Pretty Pictures.” *Heartfailureclinics* vol. 15,2 (2019): 257-265. doi:10.1016/j.hfc.2018.12.005

Для цитирования: Милуков В.Е., Брюханов В.А., Шарифова Х.М., Нгуен К.К. Роль гребенчатых мышц в формировании условий гемодинамики в полостях сердца человека. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2024;13(3): 111-117. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-111-117

To cite: Milyukov V.E., Bryukhanov V.A., Sharifova K.M., Nguyen C.C. Role of pectinate muscles in hemodynamics in the cavities of the human heart. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2024;13(3): 111-117. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-111-117



УДК 616-092

DOI 10.17802/2306-1278-2024-13-3-118-129

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ МЕТОДОЛОГИИ ИЗУЧЕНИЯ НОРМАЛЬНОЙ И ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИОЛОГИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК В КУЛЬТУРЕ

Д.К. Шишкова, А.В. Фролов, В.Е. Маркова, Ю.О. Маркова, А.И. Лазебная, А.Г. Кутихин

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Основные положения

- Создание отечественного банка стандартизированных культур эндотелиальных клеток различных направлений дифференцировки (артериальной, венозной, микрососудистой, клапанной и лимфатической) и импортозамещенного технологического процесса для работы с ними является ключевой задачей для обеспечения возможности изучения физиологии эндотелия.
- Основная прикладная задача физиологии эндотелия включает культуральное и молекулярное обоснование выбора наилучшего источника аутологических эндотелиальных клеток с наиболее высоким регенеративным (в частности пролиферативным и ангиогенным) потенциалом.
- Методология исследования физиологии эндотелиальных клеток в нормальных и патологических условиях состоит из оценки их пролиферативных и ангиогенных свойств, а также анализа молекулярного профиля.

Резюме

Одной из основных целей изучения физиологии эндотелия является разработка биомедицинского клеточного продукта в виде аутологических эндотелиальных клеток с высоким регенеративным потенциалом для стимуляции ангиогенеза в ишемизированных тканях, а также для покрытия ими тканеинженерных конструкций (к примеру, сосудистых протезов) для их эндотелизации перед имплантацией в организм человека. В данном обзоре рассматриваются основные прикладные аспекты физиологии эндотелия, направленные на достижение данных целей, а именно: выбор источника эндотелиальных клеток для моделирования различных патологических процессов и регенеративной медицины, создание банка стандартизированных линий эндотелиальных клеток с различными направлениями дифференцировки для повышения эффективности данного моделирования, способы обеспечения адгезии, устойчивой пролиферации и физиологического функционирования первичных эндотелиальных клеток в культуре, а также методология оценки пролиферативной и ангиогенной активности в контексте анализа устойчивости эндотелиальных клеток к внешним воздействиям. В процессе обсуждения обосновывается необходимость сравнительного анализа регенеративных свойств микрососудистых эндотелиальных клеток из подкожной жировой ткани, колониеформирующих эндотелиальных клеток из периферической венозной крови и эндотелиальных клеток, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. Отдельно рассматривается текущее состояние процесса импортозамещения различных компонентов технологий работы с эндотелиальными клетками (стандартизированных клеточных линий, функционального белкового покрытия и трехмерного матрикса для оценки ангиогенеза, питательных сред для выделения, культивирования и проведения экспериментов с эндотелиальными клетками, иных реагентов для выделения и субкультивирования эндотелиальных клеток, культуральной посуды, антител для проточно-цитометрического и флуоресцентно-микроскопического иммунофенотипирования). Анализируются перспективы импортозамещения недостающих звеньев работы: ряда линий эндотелиальных клеток, магнитных бус с иммобилизованными антителами для их выделения, конъюгированных с различными флуорофорами антител.

Ключевые слова

Эндотелиальные клетки • Пролiferация • Ангиогенез • Регенеративная медицина • Питательные среды • Иммунофенотипирование • Импортозамещение

Поступила в редакцию: 19.07.2024; поступила после доработки: 13.07.2024; принята к печати: 04.09.2024

Для корреспонденции: Дарья Кирилловна Шишкова, shishkovadk@gmail.com; адрес: бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Corresponding author: Daria K. Shishkova, shishkovadk@gmail.com; address: 6, academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

IMPROVING METHODOLOGY OF ENDOTHELIAL CELL RESEARCH: SYNOPSIS AND PROSPECTS

D.K. Shishkova, A.V. Frolov, V.E. Markova, Y.O. Markova, A.I. Lazebnaya, A.G. Kutikhin

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

Highlights

- The creation of a domestic bank of standardized endothelial cell cultures (arterial, venous, microvascular, valvular, and lymphatic lineages) and the development of an import-substituting technological process for working with them is a key task to enable next-generation endothelial physiology studies.
- The cultural and molecular justification for selecting the best source of autologous endothelial cells with the highest regenerative potential (in particular in context of their proliferative and angiogenic capacities) represents a primary task for endothelial physiology.
- The research methodology for studying endothelial cell physiology under normal and pathological conditions includes assessing their proliferative and angiogenic properties and molecular profiling.

Abstract

One of the primary goals in studying endothelial physiology is the development of a biomedical cell product in the form of autologous endothelial cells with high regenerative potential. These cells would be used to stimulate angiogenesis in ischemic tissues and to coat tissue-engineered constructs (such as vascular grafts) for their endothelialization prior to implantation into the human body. This review examines the key applied aspects of endothelial physiology aimed at achieving these objectives, including the selection of endothelial cell sources for modeling various pathological processes and regenerative medicine, the creation of a bank of standardized endothelial cell lines with various differentiation directions to enhance the effectiveness of this modeling, methods to ensure adhesion, sustained proliferation, and physiological functioning of primary endothelial cells in culture, as well as the methodology for assessing proliferative and angiogenic activity in the context of analyzing endothelial cell resistance to external influences. The discussion emphasizes the need for a comparative analysis of the regenerative properties of microvascular endothelial cells from subcutaneous adipose tissue, colony-forming endothelial cells from peripheral venous blood, and endothelial cells differentiated from induced pluripotent stem cells. Additionally, the current state of import substitution for various components of endothelial cell technology is reviewed, including standardized cell lines, functional protein coatings, and three-dimensional matrices for angiogenesis assessment, culture media for isolation, cultivation, and experimentation with endothelial cells, as well as other reagents for the isolation and subculturing of endothelial cells, culture dishes, and antibodies for flow cytometric and fluorescent microscopic immunophenotyping. The review also analyzes the prospects for import substitution of missing components, such as certain endothelial cell lines, magnetic beads with immobilized antibodies for their isolation, and antibodies conjugated with various fluorophores.

Keywords

Endothelial cells • Proliferation • Angiogenesis • Regenerative medicine • Cell culture medium • Immunophenotyping • Import substitution industrialization

Received: 19.07.2024; received in revised form: 13.07.2024; accepted: 04.09.2024

Изучение нормальной и патологической физиологии эндотелия: эндотелиальные клетки пупочной вены человека или подбор эндотелиальных линий в соответствии с направленностью экспериментов?

Моделирование физиологических или патологических процессов подразумевает воспроизведение или максимально возможное приближение к усло-

виям, наблюдаемым в организме человека. В лабораторной практике, однако, данный принцип соблюдается далеко не всегда в силу затруднительности получения различных компонентов модельных систем или возможности замещения более сложных компонентов их более простыми аналогами. В частности, при моделировании связанных с эндотелием процессов возникает вопрос о целесообразности

использования первичных артериальных, взрослых венозных и микрососудистых эндотелиальных клеток, для получения которых необходим интраоперационный или аутопсийный материал. В качестве примеров хирургических вмешательств для прижизненного выделения эндотелиальных клеток можно выделить коронарное шунтирование, в процессе которого становится возможным одновременное извлечение сегментов большой подкожной вены, внутренней грудной или лучевой артерий, а также фрагментов подкожной и эпикардиальной жировой ткани, содержащих большое количество микрососудов. Другими подходящими для этой цели хирургическими вмешательствами являются каротидная эндартерэктомия (в результате которой становится возможным получать сегменты сонных артерий), удаление варикозно расширенных вен (флебэктомия), а также протезирование аортального или митрального клапанов сердца. Тем не менее получаемый в результате данных хирургических вмешательств биоматериал естественным образом доступен исключительно для лабораторий, непосредственно находящихся в соответствующих медицинских центрах. Кроме того, при выполнении указанных операций не всегда удается получить достаточное для выделения эндотелиальных клеток количество биоматериала, так как в ряде случаев удается забрать лишь короткие сегменты сосудов или малое количество жировой ткани. Некоторые из приведенных оперативных вмешательств (каротидная эндартерэктомия, флебэктомия, протезирование клапанов сердца) по определению подразумевают удаление исключительно пораженных патологическим процессом сосудов, что лишает исследователей возможности выделения эндотелиальных клеток в их физиологическом состоянии. Следует отметить, что выделяемые из таких тканей линии эндотелиальных клеток (в частности, эндотелиальные клетки аортального клапана человека) активно используются в научных исследованиях и не имеют выраженных недостатков при культивировании в сравнении с эндотелиальными клетками, выделяемыми из относительно неизменных сосудов (внутренняя грудная артерия, большая подкожная вена, сосуды микроциркуляторного русла подкожной или эпикардиальной жировой ткани).

В то же время подобных проблем лишено использование пупочной вены человека, которая выделяется из отсекаемой в процессе родов пуповины и по этой причине является относительно легкодоступным биоматериалом; кроме того, длины пуповины и пупочной вены достаточно для выделения значительного количества эндотелиальных клеток [1–3]. Протоколы выделения эндотелиальных клеток пупочной вены человека (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) детально описаны в литературе и обладают высокой стандартизиру-

емостью, что делает процесс менее зависимым от оператора и легко внедряемым в лаборатории вне зависимости от их специализации [1–3]. По этим причинам именно эндотелиальные клетки пупочной вены человека являются наиболее широко применяемой популяцией эндотелиальных клеток при исследованиях биоматериалов [4], болезней системы кровообращения [5] и в целом при изучении биологии эндотелия [6, 7]. Большинство российских лабораторий, занимающихся биологией эндотелия, также используют для своих экспериментов эндотелиальные клетки пупочной вены человека. Кроме того, фактическое отсутствие возможности поставок артериальных и микрососудистых эндотелиальных клеточных линий из-за рубежа в силу логистических сложностей временно замедлило их распространение в России.

Недостатки использования эндотелиальных клеток пупочной вены человека заключаются в первую очередь в несоответствии их физиологии таковой у клеток человека во взрослом возрасте (и тем более при различных патологических состояниях). В процессе жизни соматические клетки неминуемо накапливают геномные и эпигенетические модификации, о чем свидетельствуют доказанные различия молекулярного профиля гематопоетических клеток-предшественников [8], фибробластов [9] и эндотелиальных клеток [10, 11], при этом колониеформирующие эндотелиальные клетки различаются даже при выделении из периферической крови у доношенных и недоношенных младенцев [12]. При этом данные и подобные им работы весьма убедительно показывают, что эндотелиальные клетки, полученные от субъектов различного возраста, сохраняют определенные различия даже вне движения потока крови [10–12]. Степень глобальной молекулярной гетерогенности между неонатальными и взрослыми венозными эндотелиальными клетками и ее функциональные последствия остаются неясными. В силу фактического отсутствия возможности получения неонатальных и взрослых эндотелиальных клеток от одного и того же субъекта (особенно с учетом необходимости хранения неонатальных клеток на протяжении 50–60 лет), а также естественного отсутствия пупочной вены во взрослом возрасте их прямое и объективное сравнение достаточно затруднительно. Более реальной задачей представляется сравнение молекулярных профилей эндотелиальных клеток пупочной вены человека с эндотелиальными клетками большой подкожной вены пациентов, перенесших коронарное шунтирование. В таком сценарии используемый для шунтирования сегмент большой подкожной вены является относительно интактным (в отличие от аналогичных сегментов вен, получаемых при флебэктомии) и более сопоставимым с не пораженной никаким патологическим процессом

пупочной веной. Влияние межиндивидуальной вариабельности линий эндотелиальных клеток на результат в данном случае, однако, исключить возможным не представляется.

Методология такого исследования, как и в целом методология изучения гетерогенности эндотелиальных клеток, остается предметом активных дискуссий [13–18]. Полнотранскриптомное секвенирование с последующей верификацией методом количественной полимеразной цепной реакции после обратной транскрипции является наиболее популярным методом изучения молекулярной гетерогенности эндотелия в силу сочетания технической возможности глобального анализа геной экспрессии, относительно высокой доступности и приемлемой стоимости. В то же время существенные различия между количеством и составом дифференциально экспрессируемых молекул в транскриптомных и протеомных исследованиях ограничивают реальную функциональную значимость анализа транскриптома (в том числе единичных клеток). Несмотря на очевидное преимущество полнотранскриптомного анализа для оценки молекулярной эволюции, мерой которой служит расстояние при анализе методом главных компонент и дискриминантном анализе, а также количество дифференциально экспрессированных генов, данный метод не позволяет в полной мере оценить патофизиологические последствия молекулярной гетерогенности эндотелия в силу слабой корреляции с данными масс-спектрометрического анализа, мультиплексного иммунофлюоресцентного анализа на основе магнитных микросфер, дот-блот-профилирования классического иммуноблоттинга и иммуноферментного анализа. В отличие от полнотранскриптомного анализа все указанные методы анализа белков не позволяют в полной мере оценить молекулярную эволюцию вследствие ограниченной чувствительности (coverage), однако позволяют провести функциональный анализ последствий молекулярной гетерогенности. Ключевым преимуществом методом белкового анализа над транскриптомным в эндотелиальном контексте является возможность анализа клеточного секретата, поскольку большинство эффектов эндотелиальных клеток обусловлено молекулами, секретлируемыми ими в микроокружение и системный кровоток. Вероятно, оптимальной методологией для сравнения физиологии венозных эндотелиальных клеток в неонатальном и взрослом возрасте является сочетание полнотранскриптомного и масс-спектрометрического анализа либо полнотранскриптомного анализа и мультиплексного иммунофлюоресцентного анализа на основе магнитных микросфер либо дот-блот-профилирования.

В продолжение дискуссии о гетерогенности эндотелия *in vitro* следует сказать, что его объектив-

ное изучение затруднено вследствие: 1) сложности успешного выделения нескольких клеточных линий от одного и того же пациента; 2) различной эффективности такого выделения (количеством успешно выделенных на первом пассаже эндотелиальных клеток); 3) различной пролиферативной активности эндотелиальных клеток на первых пассажах (которая в первую очередь определяется долей эндотелиальных клеток с высоким прогениторным потенциалом в составе выделенных клеток); 4) различного соотношения эндотелиальных клеток и фибробластов (определяющего необходимость реселекции и количество ее повторов для очистки культуры); 5) рассинхронизации темпов клеточного старения вследствие различного количества изначально выделенных эндотелиальных клеток, количества раундов реселекции и делений, которые необходимо совершить эндотелиальным клеткам для достижения конfluence и наращивания необходимого количества клеток для проведения эксперимента. Указанные факторы в действительности являются артефактами выделения эндотелиальных клеток и не имеют отношения к их гетерогенности *in vivo* (в дополнение к естественным гемодинамическим различиям, сопровождающим жизнедеятельность различных эндотелиальных клеток). Кроме того, остается туманной степень изменений эндотелиальной физиологии в зависимости от количества совершенных эндотелиальными клетками делений или выполненных при их культивировании пассажей при отсутствии каких-либо внешних воздействий. Объективное исследование данного аспекта является возможным при помощи измерения геной экспрессии после трипсинизации клеток с их частичным лизисом для выделения РНК и частичным субкультивированием (пассированием или пересевом). Следует отметить, что и такой дизайн исследования не лишен недостатков: в частности, время трипсинизации и эффективность снятия эндотелиальных клеток с функционального белкового покрытия или культурального пластика неминуемо различается при различных пассажах независимо от их порядкового номера.

Следует подчеркнуть неопровержимость того факта, что гемодинамические параметры потока (ламинарный и турбулентный поток в различных сосудистых сегментах), газовый состав крови (артериальная, капиллярная, венозная) и иные метаболические аспекты (к примеру, различная насыщенность жирными кислотами в зависимости от сегмента сосудистого русла) *in vivo*, а также условия культивирования *in vitro* (статическое или динамическое, двух- или трехмерное культивирование, на культуральном пластике или на различных видах функционального белкового покрытия, в присутствии или отсутствии различных культуральных добавок) модулируют физиологию эндотелиаль-

ных клеток и определяют свойства конечного клеточного продукта. Остается неясным, существует ли некая безусловная гетерогенность различных типов эндотелиальных клеток независимо от внешних обстоятельств, а также техническая возможность ее определения.

Выходом из дилеммы между повсеместным использованием эндотелиальных клеток пупочной вены человека и индивидуальным подбором эндотелиальных клеточных линий в зависимости от проводимого эксперимента может стать создание в России банка стандартизированных линий эндотелиальных клеток, аналогичного таковым у крупных научно-производственных компаний (Cell Applications, PromoCell, Lonza Bioscience и др.). Наличие коллекции чистых линий различных артериальных, венозных, микрососудистых, клапанных и лимфатических эндотелиальных клеток (с чистотой от ≥ 98 до $\geq 99,5\%$) на относительно раннем пассаже (то есть с большим запасом клеточных делений до окончательной потери пролиферативной активности) могло бы удовлетворить экспериментальные потребности российских исследователей и привести *in vitro* моделирование физиологии и патофизиологии эндотелия к мировым стандартам. В частности, для изучения нормальной и патологической физиологии эндотелия (в том числе для моделирования паракринных взаимодействий эндотелиальных клеток с расположенными в непосредственной близости клеточными популяциями) депонированию в таком банке подлежат эндотелиальные клетки:

1) коронарной, сонной и бедренной артерий (для изучения атеросклероза соответствующих сосудистых бассейнов);

2) аорты (для изучения аортального атеросклероза и аневризм грудного и брюшного отделов);

3) легочной артерии (для исследования легочной артериальной гипертензии);

4) внутренней грудной артерии и большой подкожной вены (для исследования состояния относительно интактного эндотелия во взрослом возрасте перед коронарным шунтированием);

5) сосудов микроциркуляторного русла различного происхождения, наиболее легкодоступны из которых сосуды микроциркуляторного русла жировой ткани. Среди патофизиологически важных сосудов микроциркуляторного русла особенно важно выделить микрососуды сетчатки, поражаемые при диабетической ретинопатии, и микрососуды почек, поражаемые при диабетической нефропатии;

6) пупочной вены (по вышеуказанным причинам);

7) аортального и митрального клапанов сердца (для изучения приобретенных пороков сердца);

8) лимфатических сосудов (для изучения состояния эндотелия при инфекционных заболеваниях и злокачественных новообразованиях).

Выделение и культивирование первичных эндотелиальных клеток для создания коллекции стандартизированных культур: прикладные аспекты

Как уже отмечено, депонирование клеточных культур в вышеописанную коллекцию подразумевает их ранний пассаж (что в первую очередь определяется количеством и состоянием биоматериала для выделения) и ультравысокую ($\geq 99,5\%$) либо высокую ($\geq 98\%$) чистоту культуры для отсутствия влияния иных клеточных популяций (прежде всего фибробластов) на результат эксперимента. В процессе культивирования эндотелиальных клеток чистота этой культуры постепенно повышается при помощи их реселекции на магнитных бусинах, несущих антитела к одному из наиболее обильных эндотелиальных маркеров – CD31/PECAM1, что в конечном счете позволяет получать от некоторых доноров культуры ультравысокой чистоты. Иммунофенотипирование эндотелиальных клеток методом проточной цитометрии подразумевает использование антител к нескольким антигенам, в числе которых маркеры зрелых эндотелиальных клеток CD31/PECAM1 и CD146/MCAM, CD34 (маркер прогениторных клеток) и CD90 (маркер мезенхимальных клеток, доля экспрессии которого отражает количество фибробластов и клеток в состоянии эндотелиально-мезенхимального перехода). При такой комбинации антител клетки с положительной экспрессией CD31 и CD146 и отрицательной экспрессией CD90 (CD31⁺CD146⁺CD90⁻) имеют истинный эндотелиальный фенотип, клетки с положительной экспрессией всех указанных маркеров (CD31⁺CD146⁺CD90⁺) – фенотип эндотелиально-мезенхимального перехода, а клетки с отрицательной экспрессией CD31 и CD146 и положительной экспрессией CD90 (CD31⁻CD146⁻CD90⁺) – мезенхимальный фенотип. Экспрессия CD34 в данном контексте опциональна (поскольку данный маркер экспрессируется во многих клетках-предшественниках, а не только в эндотелиальных прогениторных клетках), однако ее определение позволяет провести ассоциативный или корреляционный анализ этого параметра с пролиферативной активностью культуры (оцененной при помощи колориметрических микропланшетных тестов с использованием водорастворимых солей тетразолия типа WST-8).

Помимо собственно эндотелиального фенотипа коллекционные культуры также должны обладать высокой пролиферативной активностью в течение длительного времени для получения достаточной для экспериментов клеточной массы. Как правило, эндотелиальные клетки культивируют на функциональном покрытии из желатина или фибронектина (с возможной сменой фибронектина непосред-

ственно после выделения эндотелиальных клеток на желатин для последующей пролиферации и наращивания клеточной массы), поскольку данные белки в большом количестве присутствуют в составе базальной мембраны, относительно легкодоступны для выделения и недороги в получении. Тем не менее существует потребность в исследовании молекулярного профиля эндотелиальных клеток, культивируемых и на более дорогих и менее доступных белковых покрытиях (ателоколлаген I типа из хвостовых сухожилий мыши и крысы либо сухожилий свиньи и быка, коллаген I типа из плаценты человека, коллаген IV типа из плаценты быка и человека, ламинин из плаценты быка и человека), а также на фибронектине из плазмы крови крысы, быка и человека в сравнении с желатином. Помимо собственно пролиферативной активности (определяемой посредством инкубации с водорастворимыми солями тетразолия или биоимпендансометрии) и визуальных характеристик культуры (детектируемых при помощи фазово-контрастной микроскопии или микроскопии в проходящем свете) представляется актуальным проводить анализ генной экспрессии с целью измерения экспрессии провоспалительных молекул (цитокинов и рецепторов клеточной адгезии) и транскрипционных факторов эндотелиально-мезенхимального перехода. Важно отметить, что данное исследование едва ли приведет к принципиальным изменениям в уже существующей культуральной практике, однако может повлиять на последовательность использования различных функциональных покрытий или на выбор источника происхождения того или иного белка базальной мембраны. Культуры клеток ультравысокой чистоты ($\geq 99,5\%$) в зависимости от обстоятельств также могут выращиваться на пластике, однако с целью имитации базальной мембраны все же предпочтительнее культивирование на покрытии, состоящем из основных белков базальной мембраны (желатина и фибронектина).

Ключевым фактором, определяющим скорость и стабильность культивирования эндотелиальных клеток, является питательная среда. В состав питательной среды для культивирования эндотелиальных клеток входит собственно основа (содержащая аминокислоты, витамины, неорганические соли и энергетические субстраты (в том числе глюкозу), фетальная бычья сыворотка, факторы роста, культуральные добавки (в частности пируват натрия и гидрокортизон), буферный раствор HEPES, антибиотики и антимикотик. При этом в зависимости от эксперимента концентрации указанных компонентов среды могут существенно варьировать для индукции эндотелиальной дифференцировки, обеспечения устойчивой и быстрой пролиферации или поддержания жизнеспособности в отсутствие сыворотки крови для последующего анализа клеточ-

ного секретома. В силу коммерческих наименований данных сред анализировать возможный дизайн исследования по сравнению их эффективности с позиции выбора экспериментальных групп представляется достаточно затруднительным. Методология такого исследования может быть достаточно схожей с применяемой при сравнительном анализе функциональных белковых покрытий (тест на интенсивность клеточной пролиферации и метаболизма с использованием водорастворимых солей тетразолия, биоимпендансометрия, динамический мониторинг по временным точкам при помощи фазово-контрастной микроскопии, анализ генной экспрессии).

Отдельно стоит рассмотреть проблемы выделения колониеформирующих эндотелиальных клеток из периферической венозной крови человека, которые потенциально являются одним из наиболее многообещающих источников эндотелиальных клеток для регенеративной медицины [19–24]. Успешность выделения данной клеточной популяции, которая в конечном счете приобретает классический эндотелиальный фенотип $CD31^+CD146^+CD90^-$ (с опциональной экспрессией белка CD34), определяется рядом факторов; к примеру, ранее было показано, что вероятность выделения данных клеток существенно повышается при выделении из крови, взятой интраоперационно в процессе чрескожного коронарного вмешательства или непосредственно после него [25]. Вероятно, причиной этому является сдувание эндотелиальных клеток в просвет кровеносного сосуда и, соответственно, их попадание в циркулирующий кровоток [25]. При выделении колониеформирующих эндотелиальных клеток из периферической венозной крови асимптоматических субъектов успешность процедуры не превышает 25% (если говорить об итоговом получении культуры клеток высокой или ультравысокой чистоты с устойчивой и высокой пролиферативной активностью), что является недостаточным показателем и требует оптимизации компонентов питательной среды. Вероятно, решение этой проблемы представляет один из наиболее актуальных вызовов в разработке и серийном производстве питательных сред для культивирования эндотелиальных клеток.

Выбор оптимальной линии эндотелиальных клеток для регенеративной медицины: колониеформирующие эндотелиальные клетки, микрососудистые эндотелиальные клетки и эндотелиальные клетки, дифференцированные из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток

Конечная цель исследования физиологии эндотелия заключается в создании биомедицинских клеточных продуктов для прямой цитотерапии и тканеинженерных медицинских изделий нового

поколения. Основной научно-производственной проблемой при достижении данной задачи является быстрое получение большого количества аутологичных эндотелиальных клеток, пригодных для непосредственного введения в организм пациента или к покрытию ими тканеинженерных конструкций [25, 26]. Сосудистые, клапанные или лимфатические эндотелиальные клетки, активно применяемые для изучения различных аспектов нормальной и патологической физиологии эндотелия, в подавляющем большинстве случаев не подходят для этой задачи в силу высокой инвазивности вмешательств, необходимых для извлечения сосудистых сегментов. Вероятно, единственным относительно доступным из сосудов для их получения является большая подкожная вена, однако ее удаление является травматичным вмешательством. Кроме того, несмотря на ограниченную эффективность венозных кондуитов для коронарного шунтирования в сравнении с артериальными, отсутствие коммерчески доступных клеточнозаселенных тканеинженерных сосудистых протезов с доказанной при коронарном шунтировании клинической эффективностью не позволяет проводить вмешательство, направленное на сознательный отказ от венозных кондуитов с большой доказательной базой. Активное развитие технологий клеточного, в том числе эндотелиального репрограммирования, пока что не привело к практическому результату, который бы мог быть транслирован в регенеративную медицину [27–30].

Тем не менее существуют два относительно легкодоступных источника для выделения клеточных популяций с большим регенеративным потенциалом: первым, наиболее доступным, является периферическая кровь, из которой возможно получать описанные выше колониеформирующие эндотелиальные клетки [31, 32], а также моно- и лимфоциты для их последующего репрограммирования в индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК), что ранее неоднократно успешно выполнено российскими учеными [33–36]. Вторым, менее доступным, является подкожная жировая ткань, из которой также возможно относительно малоинвазивно выделить различные клеточные популяции в результате липоаспирации, позволяющей получать большой объем биоматериала [37–40]. С учетом возможности получения периферической крови и подкожной жировой ткани у одного и того же субъекта сравнение регенеративного потенциала колониеформирующих эндотелиальных клеток из периферической венозной крови, дифференцированных из ИПСК эндотелиальных клеток и выделенных из подкожной жировой ткани эндотелиальных клеток представляет собой значительный интерес. При этом экстренное наращивание большой массы эндотелиальных клеток для клиниче-

ских нужд регенеративной медицины возможно исключительно в случае их предварительной дифференцировки из ИПСК либо в случае предварительного выделения из периферической крови или подкожной жировой ткани с последующим хранением. В отсутствие заранее сохраненных запасов аутологичных эндотелиальных клеток их быстрое наращивание теоретически возможно лишь при выделении большого количества подкожной жировой ткани или моноклеарной фракции крови, при этом как минимум первый и второй пассажи неизбежно будут достаточно долго достигать конfluence (в случае с колониеформирующими эндотелиальными клетками из периферической крови) или потребовать неоднократной реселекции (в случае с эндотелиальными клетками из подкожной жировой ткани). Дедифференцировка клеток моноклеарной фракции крови в ИПСК и получение из ИПСК эндотелиальных клеток являются длительными, затратными и сложными процессами (хотя наличие заранее готовых ИПСК частично решает эту проблему).

Обогащение популяций эндотелиальных клеток для регенеративной медицины в случае необходимости целесообразно осуществлять при помощи магнитной сепарации (на магнитных бусах с иммобилизованными антиген-специфичными антителами, к примеру антителами к CD31/PECAM1). Следует отметить, что применение биомедицинских клеточных продуктов (в том числе на основе эндотелиальных клеток) в обязательном порядке требует отсутствия продуктов животного происхождения в составе технологического процесса их культивирования (так называемый принцип xeno-free). Примерами изменения технологического процесса при реализации этого правила являются:

1. Отсутствие фетальной бычьей сыворотки в средах для поддержания пролиферации и мультипотентности, а также для направленной дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток. В качестве альтернативы используются сыворотка крови человека, лизат тромбоцитов человека, надосадок, полученный из свежзамороженной плазмы крови человека, или искусственно воссозданный из рекомбинантных белков человека заменитель сыворотки крови. Вероятно, аналогичный подход должен быть справедлив и для использования биомедицинских клеточных продуктов на основе эндотелиальных клеток. При этом важно отметить, что тромбоцитарный фактор роста не входит в состав компонентов питательных сред для культивирования эндотелиальных клеток, следовательно, альтернативой фетальной бычьей сыворотке является сыворотка крови человека, полученный из свежзамороженной плазмы крови надосадок (криосупернатант) или искусственно воссозданный из рекомбинантных белков человека замени-

тель сыворотки крови. Последний является наиболее оптимальным вариантом (поскольку лишает технологический процесс производства продукта какой-либо гетерогенности по аналогии с defined medium), однако требует для своего создания поставленного производства рекомбинантных белков или их оптовых поставок для обеспечения рентабельности процесса изготовления биомедицинского клеточного продукта.

2. Отсутствие использования гипоталамического бычьего экстракта (добавляемого в эндотелиальные питательные среды первого поколения) и применение питательных сред с заранее известной концентрацией факторов роста и иных культуральных добавок, не содержащих бычьего гипоталамического экстракта (defined medium, второе поколение питательных сред для культивирования эндотелиальных клеток).

3. Человеческое происхождение функционального белкового покрытия, вследствие чего наиболее подходящим его вариантом при производстве биомедицинских клеточных продуктов является фибронектин из плазмы крови человека.

4. Замена трипсина (получаемого из поджелудочной железы быка или свиньи) на ферменты беспозвоночных или растительного происхождения для диссоциации тканей и клеток, протеолиза и коллагенолиза, а также ингибирование данных ферментов при помощи вышеупомянутого искусственного заменителя сыворотки крови, ингибитора трипсина из плодов сои или сочетания специализированных ингибиторов.

Соблюдение принципов xeno-free и defined по отношению к питательным средам, функциональному белковому покрытию, сыворотке крови (либо к различным ее заменителям), а также диссоциативно-протеолитическому раствору и его ингибиторам в известной степени повышает стоимость производства стандартизированных биомедицинских клеточных продуктов в сравнении со стандартным технологическим процессом, принятым в научно-исследовательской практике.

Методология сравнительной оценки регенеративного потенциала указанных клеточных популяций в первую очередь должна включать оценку их пролиферативной, миграционной и ангиогенной активности, поскольку наиболее важной причиной использования аутологичных эндотелиальных клеточных популяций в качестве биомедицинских клеточных продуктов является восстановление кровотока в ишемизированных тканях. Вероятно, наиболее подходящим тестом для комбинированной оценки пролиферативной и миграционной активности является scratch assay, при котором посередине конфлюэнтной эндотелиальной культуры при помощи специального разреза в крышке культурального планшета и соответствующего скребка создается

геометрически правильный дефект, который далее заполняется эндотелиальными клетками [41]. Основным оцениваемым параметром при этом является скорость заполнения дефекта эндотелиальными клетками. Ангиогенная активность эндотелиальных клеток классически оценивается по их способности формировать капилляроподобные структуры в трехмерном матриксе, состоящем из основных белков базальной мембраны: ламинина, коллагена IV типа, энтактина и перлекана [42, 43]. Кроме того, при оценке регенеративного потенциала эндотелиальных клеток принципиальным моментом является их устойчивость к внешним воздействиям, в частности к различным пусковым факторам дисфункции эндотелия [44, 45]. Иными словами, для обеспечения надлежащей пролиферации и ангиогенеза эндотелиальные клетки должны обладать высокой устойчивостью к повышенным концентрациям основных триггеров, связанным с коморбидными состояниями: глюкозы крови (сахарный диабет), жирных кислот (избыточная масса тела и ожирение), мочевины и кальципротеиновых частиц (острое повреждение или хроническая болезнь почек). Сохранение высокой пролиферативной, миграционной и ангиогенной активности при воздействии указанных триггеров является одной из ключевых характеристик эндотелиальных клеточных популяций, применяемых в регенеративной медицине [46–48].

Технологии работы с эндотелиальными клетками: обзор текущего состояния товарной номенклатуры и перспективы ее импортозамещения

В свете текущих геополитических и макроэкономических обстоятельств следует отметить высокую степень импортозамещения технологий работы с эндотелиальными клетками, а также высокий потенциал к импортозамещению проблемных технологических звеньев. В этом контексте можно выделить следующие компоненты:

1. Собственно стандартизированные и прошедшие пролиферативный и проточно-цитометрический контроль качества культуры эндотелиальных клеток (в частности указанные выше при описании соответствующей коллекции). В настоящее время в российских лабораториях отработаны технологии собственного получения всех типов эндотелиальных клеток (артериальных, венозных, микрососудистых, клапанных и лимфатических), и вопрос выделения линий для каждого конкретного сосуда ограничен исключительно потребностями и временем (проблема заключается скорее в отсутствии единой верифицированной и стандартизированной коллекции эндотелиальных клеток, чем в технологических проблемах их получения).

2. Функциональное белковое покрытие для

устойчивой адгезии эндотелиальных клеток (фибронектин, желатин, коллаген и другие белки базальной мембраны). Данный компонент можно отнести к успешно импортозамещенным; в настоящее время на российском рынке представлен широкий спектр таких белков от различных биологических видов (производство ООО «Имтек»), что позволяет в случае необходимости оптимизировать их выбор под конкретные линии эндотелиальных клеток. К этой же категории товарной номенклатуры можно условно отнести и трехмерный матрикс для оценки способности эндотелиальных клеток формировать капилляроподобные структуры, производимый в КНР и доступный к приобретению на российском рынке.

3. Питательные среды для культивирования и проведения экспериментов с эндотелиальными клетками (в частности для анализа изменения их пролиферативных, миграционных, метаболических и ангиогенных свойств, а также для оценки их жизнеспособности и барьерной функции при различных внешних воздействиях). Этот компонент также является успешно импортозамещенным (компания AppScience Products). Так, к коммерческому приобретению в России доступны соответствующие питательные среды в различных вариациях: 1) стандартная среда с фетальной бычьей сывороткой, факторами роста, культуральными добавками, буферным раствором, антибиотиками и антимикотиком (для обеспечения устойчивой пролиферации эндотелиальных клеток); 2) аналогичная среда в бессывороточном варианте (для поддержания физиологического состояния эндотелиальных клеток при проведении экспериментов); 3) аналогичная среда с увеличенным содержанием фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) в сывороточном (для выделения, запуска пролиферации и ускоренного культивирования первичных эндотелиальных клеток) и бессывороточном (для поддержания физиологического состояния эндотелиальных клеток при проведении экспериментов) варианте; 4) аналогичная среда без VEGF в сывороточном варианте (для поддержания барьерной функции эндотелиальных клеток). Следует подчеркнуть важность индивидуального подбора питательной среды в зависимости от цели эксперимента, поскольку анализ различных функций эндотелиальных клеток подразумевает различное содержание VEGF – основного фактора, обеспечивающего пролиферацию эндотелиальных клеток, проницаемость эндотелиального монослоя и ангиогенез [49, 50]. Кроме того, в настоящее время также ведется разработка питательной среды для стабильного запуска эндотелиальной дифференцировки и стимуляции ангиогенеза в *in vivo* эксплантах с повышенным содержанием сразу нескольких факторов роста.

4. Реагенты для выделения и субкультивирова-

ния (пассирования или пересева) эндотелиальных клеток, которые в большинстве своем производятся ООО НПП «Панэко» и ООО «Биолот». Исключение составляют микро- или наноразмерные магнитные бусы с иммобилизованным на них антителом к CD31/PESAM1, которые поставляются исключительно западными производителями. Тем не менее проводимые на момент написания статьи научно-исследовательские и опытно-конструкторские работы (НИОКР) также позволяют надеяться на разработку аналогичного продукта российского производства (AppScience Products).

5. Культуральная посуда и криопротекторы (в частности диметилсульфоксид высокой чистоты), в широком ассортименте производимые в КНР. Помимо стандартных разновидностей чашек Петри, культуральных планшетов и флаконов следует также выделить культуральные планшеты, оснащенные дополнительными крышками с удлиненными отверстиями и соответствующими скребками для создания правильного дефекта.

6. Антитела для проточно-цитометрического и флюоресцентно-микроскопического иммунофенотипирования эндотелиальных клеток, которые также производятся в КНР и заранее конъюгированы с широким спектром флюорофоров. Определенные перспективы получения таких антител есть и в России (AppScience Products), однако данный продукт все еще находится на стадии НИОКР.

Таким образом, степень импортозамещенности стандартных технологий работы с эндотелиальными клетками позволяет говорить о возможности непрерывной научно-исследовательской работы в этом направлении. Отдельным пунктом следует выделить компоненты технологии получения и направленной эндотелиальной дифференцировки ИПСК (в частности питательные среды), которые также имеют высокий потенциал к импортозамещению, однако в силу относительно высокой сложности самого технологического процесса и необходимости его калибровки с помощью стандартных компонентов данная НИОКР может занять длительное время. Тем не менее высокий регенеративный потенциал ИПСК и возможность их дифференцировки в различных направлениях (не только в эндотелиальном) диктуют необходимость локализации производства основных компонентов данной технологии в России и апробации соответствующего технологического процесса с их использованием.

Конфликт интересов

Д.К. Шишкова заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.В. Фролов заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.Е. Маркова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Ю.О. Маркова заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.И. Лазебная заявляет об отсутствии конфликта

интересов. А.Г. Кутихин входит в редакционную коллегию журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний».

Финансирование

Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0419-2024-0001 «Разработка новых фармакологических подходов к экспериментальной терапии атеросклероза, технологий серийного про-

изводства реактивов и расходных материалов для изучения физиологии и патофизиологии сердечно-сосудистой системы и программного обеспечения на основе искусственного интеллекта для автоматизированной диагностики патологий системы кровообращения и автоматизированного расчета сердечно-сосудистого риска» и финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках национального проекта «Наука и университеты».

Информация об авторах

Шишкова Дарья Кирилловна, кандидат биологических наук заведующая лабораторией молекулярной, трансляционной и цифровой медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-1518-3888

Фролов Алексей Витальевич, доктор медицинских наук старший научный сотрудник лаборатории рентгенэндоваскулярной и реконструктивной хирургии сердца и сосудов отдела хирургии сердца и сосудов федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-1746-8895

Маркова Виктория Евгеньевна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6652-5745

Маркова Юлия Олеговна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0009-0007-6734-3787

Лазебная Анастасия Ивановна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-1867-6354

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

Вклад авторов в статью

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

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

Author Information Form

Shishkova Daria K., PhD, Head of the Laboratory for Molecular, Translational, and Digital Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-1518-3888

Frolov Alexey V., MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory for Endovascular and Reconstructive Cardiovascular Surgery, Department of Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-1746-8895

Markova Victoria E., Junior Researcher, Laboratory for Molecular, Translational, and Digital Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6652-5745

Markova Yulia O., Junior Researcher, Laboratory for Molecular, Translational, and Digital Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0009-0007-6734-3787

Lazebnaya Anastasia I., Junior Researcher, Laboratory for Molecular, Translational, and Digital Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-1867-6354

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

Author Contribution Statement

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Crampton S.P., Davis J., Hughes C.C. Isolation of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). *J Vis Exp.* 2007;(3):183. doi: 10.3791/183.
- Lei J., Peng S., Samuel S.B., Zhang S., Wu Y., Wang P., Li Y.F., Liu H. A simple and biosafe method for isolation of human umbilical vein endothelial cells. *Anal Biochem.* 2016;508:15-8. doi: 10.1016/j.ab.2016.06.018.
- Chandel S., Kumaragurubaran R., Giri H., Dixit M. Isolation and Culture of Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVECs). *Methods Mol Biol.* 2024;2711:147-162. doi: 10.1007/978-1-0716-3429-5_12.
- Hauser S., Jung F., Pietzsch J. Human Endothelial Cell Models in Biomaterial Research. *Trends Biotechnol.* 2017;35(3):265-277. doi: 10.1016/j.tibtech.2016.09.007.
- Medina-Leyte D.J., Domínguez-Pérez M., Mercado I., Villarreal-Molina M.T., Jacobo-Albavera L. Use of Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC) as a Model to Study Cardiovascular Disease: A Review. *Appl Sci.* 2020;10(3):938. doi: 10.3390/app10030938.
- Dienemann S., Schmidt V., Fleischhammer T., Mueller J.H., Lavrentieva A. Comparative analysis of hypoxic response of human microvascular and umbilical vein endothelial cells in 2D and 3D cell culture systems. *J Cell Physiol.* 2023;238(5):1111-1120. doi: 10.1002/jcp.31002.
- Lau S., Gossen M., Lendlein A., Jung F. Venous and Arterial Endothelial Cells from Human Umbilical Cords: Potential Cell Sources for Cardiovascular Research. *Int J Mol Sci.* 2021;22(2):978. doi: 10.3390/ijms22020978.
- Mayani H. Biological differences between neonatal and adult human hematopoietic stem/progenitor cells. *Stem Cells Dev.* 2010;19(3):285-98. doi: 10.1089/scd.2009.0327.
- Sun H., Pratt R.E., Dzau V.J., Hodgkinson C.P. Neonatal and adult cardiac fibroblasts exhibit inherent differences in cardiac regenerative capacity. *J Biol Chem.* 2023;299(5):104694. doi: 10.1016/j.jbc.2023.104694.
- Legros H., Launay S., Roussel B.D., Marcou-Labarre A., Calbo S., Catteau J., Leroux P., Boyer O., Ali C., Marret S., Vivien D., Laudénbach V. Newborn- and adult-derived brain microvascular endothelial cells show age-related differences in phenotype and glutamate-evoked protease release. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2009;29(6):1146-58. doi: 10.1038/jcbfm.2009.39.
- Robertson J.O., Erzurum S.C., Asosingh K. Pathological Roles for Endothelial Colony-Forming Cells in Neonatal and Adult Lung Disease. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2023;68(1):13-22. doi: 10.1165/rcmb.2022-0318PS.
- Bertagnolli M., Xie L.F., Paquette K., He Y., Cloutier A., Fernandes R.O., Béland C., Sutherland M.R., Delfrate J., Curnier D., Bigras J.L., Rivard A., Thébaud B., Luu T.M., Nuyt A.M. Endothelial Colony-Forming Cells in Young Adults Born Preterm: A Novel Link Between Neonatal Complications and Adult Risks for Cardiovascular Disease. *J Am Heart Assoc.* 2018;7(14):e009720. doi: 10.1161/JAHA.118.009720.
- McAleese C. Insights into endothelial metabolic heterogeneity. *Nat Rev Cardiol.* 2024 Jun 5. doi: 10.1038/s41569-024-01049-3. Online ahead of print.
- Trimm E., Red-Horse K. Vascular endothelial cell development and diversity. *Nat Rev Cardiol.* 2023;20(3):197-210. doi: 10.1038/s41569-022-00770-1.
- Jung R., Trivedi C.M. Unveiling the Spatiotemporal Diversity of the Endothelium in Development: A Multi-Omics Approach. *Circ Res.* 2024;134(5):547-549. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.124.324328.
- Chen J., Zhang X., DeLaughter D.M., Trembley M.A., Saifee S., Xiao F., Chen J., Zhou P., Seidman C.E., Seidman J.G., Pu W.T. Molecular and Spatial Signatures of Mouse Embryonic Endothelial Cells at Single-Cell Resolution. *Circ Res.* 2024;134(5):529-546. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.123.323956.
- Becker L.M., Chen S.H., Rodor J., de Rooij L.P.M.H., Baker A.H., Carmeliet P. Deciphering endothelial heterogeneity in health and disease at single-cell resolution: progress and perspectives. *Cardiovasc Res.* 2023;119(1):6-27. doi: 10.1093/cvr/cvac018.
- Liu Z., Ruter D.L., Quigley K., Tanke N.T., Jiang Y., Bautch V.L. Single-Cell RNA Sequencing Reveals Endothelial Cell Transcriptome Heterogeneity Under Homeostatic Laminar Flow. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2021;41(10):2575-2584. doi: 10.1161/ATVBAHA.121.316797.
- Salybekov A.A., Kobayashi S., Asahara T. Characterization of Endothelial Progenitor Cell: Past, Present, and Future. *Int J Mol Sci.* 2022;23(14):7697. doi: 10.3390/ijms23147697.
- Zhang Q., Cannavici A., Kutryk M.J.B. Exploring Endothelial Colony-Forming Cells to Better Understand the Pathophysiology of Disease: An Updated Review. *Stem Cells Int.* 2022;2022:4460041. doi: 10.1155/2022/4460041.
- Chambers S.E.J., Pathak V., Pedrini E., Soret L., Gendron N., Guerin C.L., Stitt A.W., Smadja D.M., Medina R.J. Current concepts on endothelial stem cells definition, location, and markers. *Stem Cells Transl Med.* 2021;10 (Suppl 2):S54-S61. doi: 10.1002/sctm.21-0022.
- Dight J., Zhao J., Styke C., Khosrotehrani K., Patel J. Resident vascular endothelial progenitor definition and function: the age of reckoning. *Angiogenesis.* 2022;25(1):15-33. doi: 10.1007/s10456-021-09817-2.
- Kutikhin A.G., Sinitsky M.Y., Yuzhalin A.E., Velikanova E.A. Shear stress: An essential driver of endothelial progenitor cells. *J Mol Cell Cardiol.* 2018;118:46-69. doi: 10.1016/j.yjmcc.2018.03.007.
- Liao G., Zheng K., Shorr R., Allan D.S. Human endothelial colony-forming cells in regenerative therapy: A systematic review of controlled preclinical animal studies. *Stem Cells Transl Med.* 2020;9(11):1344-1352. doi: 10.1002/sctm.20-0141.
- Deng D., Zhang Y., Tang B., Zhang Z. Sources and applications of endothelial seed cells: a review. *Stem Cell Res Ther.* 2024;15(1):175. doi: 10.1186/s13287-024-03773-6.
- Nguyen H.T., Peirsman A., Tirpakova Z., Mandal K., Vanlauwe F., Maity S., Kawakita S., Khorsandi D., Herculanu R., Umemura C., Yilgor C., Bell R., Hanson A., Li S., Nanda

- H.S., Zhu Y., Najafabadi A.H., Jucaud V., Barros N., Dokmeci M.R., Khademhosseini A. Engineered Vasculature for Cancer Research and Regenerative Medicine. *Micromachines* (Basel). 2023;14(5):978. doi: 10.3390/mi14050978.
27. Wingo M., Rafii S. Endothelial reprogramming for vascular regeneration: Past milestones and future directions. *Semin Cell Dev Biol.* 2022;122:50-55. doi: 10.1016/j.semcdb.2021.09.003.
28. Cho S., Aakash P., Lee S., Yoon Y.S. Endothelial cell direct reprogramming: Past, present, and future. *J Mol Cell Cardiol.* 2023;180:22-32. doi: 10.1016/j.yjmcc.2023.04.006.
29. Loh K.M., Ang L.T. Building human artery and vein endothelial cells from pluripotent stem cells, and enduring mysteries surrounding arteriovenous development. *Semin Cell Dev Biol.* 2024;155(Pt C):62-75. doi: 10.1016/j.semcdb.2023.06.004.
30. Florido M.H.C., Ziats N.P. Endothelial dysfunction and cardiovascular diseases: The role of human induced pluripotent stem cells and tissue engineering. *J Biomed Mater Res A.* 2024;112(8):1286-1304. doi: 10.1002/jbm.a.37669.
31. Matveeva V., Khanova M., Sardin E., Antonova L., Barbarash O. Endovascular Interventions Permit Isolation of Endothelial Colony-Forming Cells from Peripheral Blood. *Int J Mol Sci.* 2018;19(11):3453. doi: 10.3390/ijms19113453.
32. Kutikhin A.G., Tupikin A.E., Matveeva V.G., Shishkova D.K., Antonova L.V., Kabilov M.R., Velikanova E.A. Human Peripheral Blood-Derived Endothelial Colony-Forming Cells Are Highly Similar to Mature Vascular Endothelial Cells yet Demonstrate a Transitional Transcriptomic Signature. *Cells.* 2020;9(4):876. doi: 10.3390/cells9040876.
33. Malakhova A.A., Grigor'eva E.V., Pavlova S.V., Malankhanova T.B., Valetdinova K.R., Vyatkin Y.V., Khabarova E.A., Rzaev J.A., Zakian S.M., Medvedev S.P. Generation of induced pluripotent stem cell lines ICGi021-A and ICGi022-A from peripheral blood mononuclear cells of two healthy individuals from Siberian population. *Stem Cell Res.* 2020;48:101952. doi: 10.1016/j.scr.2020.101952.
34. Zakharova I.S., Shevchenko A.I., Tmoyan N.A., Elisaphenko E.A., Zubkova E.S., Sleptcov A.A., Nazarenko M.S., Ezhov M.V., Kukharchuk V.V., Parfyonova Y.V., Zakian S.M. Induced pluripotent stem cell line ICGi036-A generated by reprogramming peripheral blood mononuclear cells from a patient with familial hypercholesterolemia caused due to compound heterozygous p.Ser177Leu/p.Cys352Arg mutations in LDLR. *Stem Cell Res.* 2022;59:102653. doi: 10.1016/j.scr.2022.102653.
35. Zakharova I.S., Shevchenko A.I., Tmoyan N.A., Elisaphenko E.A., Zubkova E.S., Sleptcov A.A., Nazarenko M.S., Ezhov M.V., Kukharchuk V.V., Parfyonova Y.V., Zakian S.M. Induced pluripotent stem cell line ICGi038-A, obtained by reprogramming peripheral blood mononuclear cells from a patient with familial hypercholesterolemia due to compound heterozygous c.1246C > T/c.940 + 3_940 + 6del mutations in LDLR. *Stem Cell Res.* 2022;60:102702. doi: 10.1016/j.scr.2022.102702.
36. Zakharova I.S., Shevchenko A.I., Tmoyan N.A., Elisaphenko E.A., Kalinin A.P., Sleptcov A.A., Nazarenko M.S., Ezhov M.V., Kukharchuk V.V., Parfyonova Y.V., Zakian S.M. Induced pluripotent stem cell line ICGi037-A, obtained by reprogramming peripheral blood mononuclear cells from a patient with familial hypercholesterolemia due to heterozygous p.Trp443Arg mutations in LDLR. *Stem Cell Res.* 2022;60:102703. doi: 10.1016/j.scr.2022.102703.
37. Gimble J.M., Ray S.P., Zanata F., Wu X., Wade J., Khoobehi K., Ferreira L.M., Bunnell B.A. Adipose Derived Cells and Tissues for Regenerative Medicine. *ACS Biomater Sci Eng.* 2017;3(8):1477-1482. doi: 10.1021/acsbiomaterials.6b00261.
38. Laschke M.W., Seifert M.S., Scheuer C., Kontaxi E., Metzger W., Menger M.D. High glucose exposure promotes proliferation and in vivo network formation of adipose-tissue-derived microvascular fragments. *Eur Cell Mater.* 2019;38:188-200. doi: 10.22203/eCM.v038a13.
39. Antonyshyn J.A., Mazzoli V., McFadden M.J., Gramolini A.O., Hofer S.O.P., Simmons C.A., Santerre P.J. Immunomagnetic Isolation and Enrichment of Microvascular Endothelial Cells from Human Adipose Tissue. *Bio Protoc.* 2022;12(10):e4422. doi: 10.21769/BioProtoc.4422.
40. Antonyshyn J.A., MacQuarrie K.D., McFadden M.J., Gramolini A.O., Hofer S.O.P., Santerre J.P. Paracrine cross-talk between human adipose tissue-derived endothelial cells and perivascular cells accelerates the endothelialization of an electrospun ionomeric polyurethane scaffold. *Acta Biomater.* 2024;175:214-225. doi: 10.1016/j.actbio.2023.12.037.
41. Jonkman J.E., Cathcart J.A., Xu F., Bartolini M.E., Amon J.E., Stevens K.M., Colarusso P. An introduction to the wound healing assay using live-cell microscopy. *Cell Adh Migr.* 2014;8(5):440-51. doi: 10.4161/cam.36224.
42. Aisenbrey E.A., Murphy W.L. Synthetic alternatives to Matrigel. *Nat Rev Mater.* 2020;5(7):539-551. doi: 10.1038/s41578-020-0199-8.
43. Passaniti A., Kleinman H.K., Martin G.R. Matrigel: history/background, uses, and future applications. *J Cell Commun Signal.* 2022;16(4):621-626. doi: 10.1007/s12079-021-00643-1.
44. Gao Y., Galis Z.S. Exploring the Role of Endothelial Cell Resilience in Cardiovascular Health and Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2021;41(1):179-185. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.314346.
45. Tombor L.S., Dimmeler S. Why is endothelial resilience key to maintain cardiac health? *Basic Res Cardiol.* 2022;117(1):35. doi: 10.1007/s00395-022-00941-8.
46. Mühleder S., Fernández-Chacón M., Garcia-Gonzalez I., Benedito R. Endothelial sprouting, proliferation, or senescence: tipping the balance from physiology to pathology. *Cell Mol Life Sci.* 2021;78(4):1329-1354. doi: 10.1007/s00018-020-03664-y.
47. Jerka D., Bonowicz K., Piekarska K., Gokyer S., Derici U.S., Hindy O.A., Altunay B.B., Yazgan I., Steinbrink K., Kleszczyński K., Yilgor P., Gagat M. Unraveling Endothelial Cell Migration: Insights into Fundamental Forces, Inflammation, Biomaterial Applications, and Tissue Regeneration Strategies. *ACS Appl Bio Mater.* 2024;7(4):2054-2069. doi: 10.1021/acsbm.3c01227.
48. Qiu J., Hirschi K.K. Endothelial Cell Development and Its Application to Regenerative Medicine. *Circ Res.* 2019;125(4):489-501. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.311405.
49. Pérez-Gutiérrez L., Ferrara N. Biology and therapeutic targeting of vascular endothelial growth factor A. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2023;24(11):816-834. doi: 10.1038/s41580-023-00631-w.
50. Simons M., Gordon E., Claesson-Welsh L. Mechanisms and regulation of endothelial VEGF receptor signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2016;17(10):611-25. doi: 10.1038/nrm.2016.87.

Для цитирования: Шижкова Д.К., Фролов А.В., Маркова В.Е., Маркова Ю.О., Лазебная А.И., Кутихин А.Г. Актуальные проблемы методологии изучения нормальной и патологической физиологии эндотелиальных клеток в культуре. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2024;13(3): 118-129. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-118-129

To cite: Shishkova D.K., Frolov A.V., Markova V.E., Markova Y.O., Lazebnaya A.I., Kutikhin A.G. Improving methodology of endothelial cell research: synopsis and prospects. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2024;13(3): 118-129. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-118-129



ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПРИВЕРЖЕННОСТИ СИПАП-ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ КАРДИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

Л.Г. Евлампиева, В.Е. Харац, О.А. Гуськова, О.И. Сергейчик, Н.Е. Широков, А.Д. Сталлингс,
Е.А. Горбатенко, Е.И. Ярославская

Тюменский кардиологический научный центр – филиал Федерального государственного бюджетного научно-учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», ул. Мельникайте, 111, Тюмень, Российская Федерация, 625026

Основные положения

- Приверженность СИПАП-терапии у пациентов с тяжелой степенью синдрома обструктивного апноэ сна и сердечно-сосудистыми заболеваниями можно прогнозировать, используя модель, включающую индекс десатурации и проявления тревоги.

Цель

Оценить результаты СИПАП-терапии (Continuous Positive Airway Pressure, CPAP – поддержание постоянного положительного давления в дыхательных путях) у пациентов кардиологического профиля с тяжелым течением синдрома обструктивного апноэ сна (СОАС) и выявить факторы прогнозирования приверженности данной терапии.

Материалы и методы

Из регистра пациентов кардиологического профиля с СОАС ($n = 138$) в проспективное исследование включены 52 пациента с тяжелой степенью СОАС (82,7% мужчин, возраст $55,6 \pm 8,8$ года), обследованные в 2019–2022 гг. Артериальная гипертония диагностирована у 96,1%, ишемическая болезнь сердца (ИБС) – у 42,3%, хроническая сердечная недостаточность – у 86,5%. Оценены клинические, инструментальные параметры, данные скрининговых шкал СОАС, ночной пульсоксиметрии, диагностических шкал тревоги, депрессии, качества жизни и когнитивной сферы до и через $12,3 \pm 7,0$ мес. после начала терапии. Так, 8 человек адекватно использовали СИПАП-терапию (группа с СИПАП) и 44 пациента отказались от ее применения либо использовали неадекватно (группа без СИПАП).

Результаты

При сравнении групп исходно не выявлено различий по возрасту, полу, индексу массы тела и клиническим характеристикам. Предикторами приверженности СИПАП-терапии были более высокий индекс десатурации (отношение шансов 1,264, 95% доверительный интервал 1,017–1,569, $p = 0,034$) и проявления тревоги (отношение шансов 1,056, 95% доверительный интервал 1,01–1,115, $p = 0,049$). Чувствительность модели составила 85,7%, специфичность – 78%; площадь под ROC-кривой – 0,843 (95% доверительный интервал 0,712–0,974; $p = 0,004$). В группе с СИПАП не определено новых случаев ИБС, в группе без СИПАП за время наблюдения развилось 5 новых случаев ИБС.

Заключение

Приверженность СИПАП-терапии среди пациентов с тяжелой степенью СОАС и сердечно-сосудистыми заболеваниями можно прогнозировать с использованием модели, включающей индекс десатурации и проявления тревоги. СИПАП-терапия, возможно, связана со вторичной профилактикой ИБС.

Ключевые слова

Синдром обструктивного апноэ сна • Сердечно-сосудистые заболевания • СИПАП терапия • Приверженность

Поступила в редакцию: 11.05.2024; поступила после доработки: 02.06.2024; принята к печати: 13.07.2024

Для корреспонденции: Лариса Геннадьевна Евлампиева, evlampieva.l.g@gmail.com; адрес: ул. Мельникайте, 111, Тюмень, Российская Федерация, 625026

Corresponding author: Larisa G. Evlampieva, evlampieva.l.g@gmail.com; address: 111, Melnikayte St., Tyumen, Russian Federation, 625026

PREDICTION OF ADHERENCE TO CPAP THERAPY IN CARDIAC PATIENTS

L.G. Evlampieva, V.E. Kharats, O.A. Guskova, O.I. Sergeichik, N.E. Shirokov, A.D. Stallings, E.A. Gorbatenko, E.I. Yaroslavskaya

Tyumen Cardiology Research Center, Branch of Tomsk National Research Medical Center, 111, Melnikayte St., Tyumen, Russian Federation, 625026

Highlights

- Adherence to CPAP therapy in patients with severe obstructive sleep apnea and cardiovascular diseases can be predicted using a model that includes the desaturation index and anxiety.

Aim

To evaluate the results of CPAP therapy (Continuous Positive Airway Pressure) in cardiac patients with severe obstructive sleep apnea (OSA) and to identify factors predicting adherence to CPAP therapy using prospective follow-up data.

Methods

The study included 52 patients with severe OSA (82.7% men, 55.6 ± 8.8 years) examined in 2019–2022, the data was collected from the registry of cardiac patients with OSA ($n = 138$). Arterial hypertension was diagnosed in 96.1% of patients, coronary artery disease (CAD) was diagnosed in 42.3% of patients, chronic heart failure was diagnosed in 86.5% of patients. Clinical and laboratory parameters, data from OSA screening scales, overnight pulse oximetry, diagnostic scales of anxiety, depression, quality of life and cognitive function were assessed before the start of CPAP therapy and 12.3 ± 7.0 months after its start. 8 patients adequately used CPAP therapy (group with CPAP) and 44 patients either refused to use it or used it inadequately (group without CPAP).

Results

When comparing the groups at baseline, there were no differences in age, gender, body mass index and clinical characteristics. Predictors of adherence to CPAP therapy were a higher desaturation index (odds ratio (OR) 1.264, 95% confidence interval (CI) 1.017–1.569, $p = 0.034$) and manifestations of anxiety (OR 1.056, 95% CI 1.01–1.115, $p = 0.049$). The sensitivity of the model was 85.7%, specificity was 78%, and area under the ROC curve was 0.843 (95% CI 0.712–0.974, $p = 0.004$). There were no new cases of CAD in the group with CPAP, in the group without CPAP, 5 new cases of CAD developed during follow-up.

Conclusion

Adherence to CPAP therapy in patients with severe OSA and cardiovascular disease can be predicted with high sensitivity and specificity using the model that includes the desaturation index and anxiety. Supposedly, CPAP therapy is relevant for secondary prevention of coronary artery disease.

Keywords

Obstructive sleep apnea • Cardiovascular diseases • CPAP therapy • Adherence

Received: 11.05.2024; received in revised form: 02.06.2024; accepted: 13.07.2024

Список сокращений

ИАГ	– индекс апноэ/гипопноэ	СОАС	– синдром обструктивного апноэ сна
ИБС	– ишемическая болезнь сердца	ССЗ	– сердечно-сосудистые заболевания
СиПАП-терапия (Continuous Positive Airway Pressure)	– поддержание постоянного положительного давления в дыхательных путях		

Введение

Синдром обструктивного апноэ сна (СОАС) – состояние с рекуррентным коллапсом верхних дыхательных путей, нарушением легочной вентиляции, снижением уровня кислорода крови, выраженной фрагментацией сна и чрезмерной дневной сонливостью [1].

Установлено, что обструктивное апноэ сна явля-

ется неотъемлемым этапом развития и прогрессирования большинства клинически наиболее значимых сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ): артериальной гипертензии [2], ишемической болезни сердца (ИБС) [3], хронической сердечной недостаточности [4], нарушений ритма и проводимости, в частности фибрилляции предсердий [5].

Распространенность СОАС среди пациентов

кардиологического профиля достигает 80% [6]. Клинически значимые формы СОАС являются маркером неблагоприятного исхода [7].

Сегодня СОАС можно отнести к независимым и модифицируемым факторам риска развития ССЗ. Методом выбора в лечении СОАС тяжело течения является СиПАП-терапия (Continuous Positive Airway Pressure, CPAP – поддержание постоянного положительного давления в дыхательных путях). Положительное влияние СиПАП-терапии на течение ССЗ является подтверждением двунаправленной взаимосвязи СОАС и ССЗ. Доказано, что СиПАП-терапия повышает качество жизни у пациентов с кардиоваскулярной патологией и СОАС [8].

Приверженность долгосрочной СиПАП-терапии остается сложной задачей для большинства пациентов. Результаты предыдущих наблюдений показали, что 50% больных прекращают использовать СиПАП-терапию через год после лечения [9], а значит, продолжают оставаться в группе высокого кардиоваскулярного риска. Анализ результатов динамического наблюдения и лечения больных СОАС и ССЗ позволит персонализировать подход к назначению СиПАП-терапии и повысить ее эффективность.

Цель исследования – оценить результаты СиПАП-терапии у пациентов кардиологического профиля с тяжелым течением СОАС и выявить факторы прогнозирования приверженности данной терапии.

Материалы и методы

Исследование выполнено по данным «Регистра пациентов кардиологического профиля с синдромом обструктивного апноэ сна» (дата регистрации: 14.06.2022). Набор больных в регистр осуществлялся с мая 2019 г. по декабрь 2022 г. Исследование проспективное, наблюдательное, соответствует стандартам надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и положениям Хельсинкской декларации ВМА (пересмотра 2013 г.). Протокол исследования одобрен этическим комитетом учреждения (протокол № 141 от 15.10.2018). Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Критериями невключения в регистр были отказ от участия в исследовании, СОАС без ССЗ, возраст старше 75 лет, острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения, наличие транзиторной ишемической атаки за предшествующие 6 мес., хроническая обструктивная болезнь легких, острые и хронические воспалительные заболевания в стадии обострения, клинически значимое нарушение функции почек и печени, гемодинамически значимые пороки сердца, фракция выброса левого желудочка < 50%, а также прием снотворных и психотропных лекарственных препаратов. Критерии включения: наличие ССЗ и тяжелой сте-

пени СОАС. Анализ нозологий осуществлялся по историям болезни пациентов и включал верифицированные в условиях кардиологического стационара артериальную гипертензию, ИБС, хроническую сердечную недостаточность, нарушения сердечного ритма и проводимости, нарушения функции щитовидной железы, нарушение гликемического профиля (нарушение толерантности к глюкозе и гликемии натощак), сахарный диабет 2-го типа, хроническую болезнь почек.

Из 138 пациентов регистра были отобраны 52 с тяжелой степенью СОАС (индекс апноэ/гипопноэ (ИАГ) ≥ 30 событий в час), преимущественно мужчины (82,7%), средний возраст – $55,6 \pm 8,8$ года. Почти у всех пациентов зарегистрирована артериальная гипертензия (96,1%), причем у 68% больных 3-й степени с очень высоким сердечно-сосудистым риском. Хроническая сердечная недостаточность по классификации Нью-Йоркской ассоциации сердца (NYHA) зарегистрирована у большинства пациентов (86,5%).

Расчет индекса массы тела производился по формуле Кетле. С целью верификации СОАС проводили скрининговую ночную пульсоксиметрию прибором PulseOx 7500 (SPO Medical, Израиль), запрограммированную с помощью компьютерного обеспечения в программе VITABASE. При индексе десатурации более 15 в час выполнялся кардиореспираторный мониторинг ночного сна. Для проведения мониторинга использовали аппарат полифункционального холтер-монитор диагностической системы КТ-07-АД-3/12Р («Инкар», Россия) с оценкой ИАГ в ночной период с целью определения степени тяжести СОАС. Согласно критериям Американской академии медицины сна (AASM) [10], СОАС легкой степени тяжести диагностировали при ИАГ 5,0 – 14 событий в час, средней степени – при ИАГ 15–30 событий в час, тяжелой – при ИАГ ≥ 30 событий в час и более.

Для скринингового обследования на предмет выявления СОАС выполнялось анкетирование по шкалам NoSAS [11], STOP-BANG, шкале сонливости Эпворта и Берлинскому опроснику [12].

Для оценки признаков тревоги и депрессии использовали диагностические шкалы Generalized Anxiety Disorder Scale (GAD-7) и Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9) [13]. Качество жизни пациентов оценивали с помощью опросника 36-Item Short Form Survey Instrument (SF-36) [14]. Состояния когнитивной сферы определяли по Монреальской шкале оценки когнитивных функций (Montreal Cognitive Assessment, MoCA) [15].

Диагноз ИБС верифицирован на основании анамнеза, типичной клинической картины в сочетании с данными электрокардиограммы, эхокардиографического обследования, нагрузочного эхокардиографического теста с чреспищеводной электрости-

муляцией, суточного мониторирования электрокардиограммы, селективной коронарной ангиографии по методу Judkins (1967 г.). Гемодинамически значимыми считали коронарные поражения более 75% просвета как минимум одной артерии.

Всем пациентам в стационаре была инициирована пробная СИПАП-терапия в автоматическом режиме. Подбор терапии осуществлялся на аппаратах Somnolance E и Prisma 25 S Loewenstein Medical (Weinmann, Германия). Длительность пробной СИПАП-терапии составила от 2–3 дней. Эффективность терапии оценивали при достижении остаточного ИАГ < 5 эпизодов в час либо при уменьшении количества эпизодов апноэ на $\geq 50\%$ от исходного значения. Из 52 пациентов только 8 (15,4%) использовали СИПАП-терапию согласно рекомендациям (более 4 ч за ночь в течение 5 дней в неделю – не менее 70% ночей) [16], период лечения составил $12,3 \pm 7,0$ мес. Сравнивали параметры клинического и инструментального обследования пациентов, находившихся на СИПАП-терапии (группа с СИПАП, n = 8), с параметрами сопоставимых по полу и возрасту пациентов, имевших показания для проведения СИПАП-терапии, но не получавших ее (группа без СИПАП, n = 44), также оценивали внутригрупповую динамику исследуемых параметров. Средний интервал между точками обследования (визит 1 и 2) составил 13,0 [11,0; 20,5] мес.

Статистический анализ

Статистическая обработка проводилась с использованием программ IBM SPSS Statistics, вер-

сия 21 (IBM Corp., США), и Statistica 12.0 (StatSoft, США). Распределение количественных данных проверяли критерием Колмогорова – Смирнова, в зависимости от распределения данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$) или медиана и интерквартильный размах – Me [Q1; Q3]. Сравнение показателей проводили в зависимости от распределения данных: критерием Стьюдента для независимых и зависимых выборок или критерием Манна – Уитни и критерием Уилкоксона. Для сравнения качественных переменных использовали критерий хи-квадрат или точный критерий Фишера и критерий МакНемара. Многофакторный регрессионный анализ применяли для выявления наиболее значимых предикторов приверженности СИПАП терапии. С помощью ROC-анализа определено оптимальное пороговое значение критерия комплаентности. Результаты оценивались как статистически значимые при уровне $p < 0,05$.

Результаты

Сравнительный анализ клинико-демографических характеристик групп представлен в (табл. 1).

Пациенты мужского пола составили большую часть всех включенных в исследование. Средний индекс массы тела в обеих группах на обоих визитах соответствовал ожирению III степени. Однако в конце наблюдения в группе без СИПАП появилась тенденция к уменьшению числа пациентов с III степенью ожирения и увеличению числа лиц с I и II степенью.

У пациентов с СИПАП отмечена тенденция к

Таблица 1. Динамический внутри- и межгрупповой анализ демографических и клинических параметров пациентов кардиологического профиля с тяжелым течением СОАС в зависимости от наличия СИПАП-терапии
Table 1. Dynamic intra- and intergroup analysis of demographic and clinical parameters of cardiac patients with severe OSA depending on the presence of CPAP therapy

Параметр / Parameter		Без СИПАП / Without CPAP, n = 44	С СИПАП / With CPAP, n = 8	p*	
Возраст, лет / Age, years	визит 1 / visit 1	55,1 \pm 8,4	53,0 \pm 13,2	0,911	
Мужчины / Men, n (%)		36 (81,8)	7 (87,5)	1,000	
Индекс массы тела, кг/м ² / Body mass index, kg/m ²	визит 1 / visit 1	40,6 \pm 7,3	40,7 \pm 5,7	0,526	
	визит 2 / visit 2	40,7 \pm 8,3	40,6 \pm 5,8	0,510	
	p	0,937	0,500		
Ожирение / Obesity, n (%)	визит 1 / visit 1	избыток массы тела / excess body weight	2 (4,5)	0 (0,0)	0,321
		I степень / I degree	7 (15,9)	2 (25,0)	
		II степень / II degree	12 (27,3)	0 (0,0)	
		III степень / III degree	23 (52,3)	6 (75,0)	
	визит 2 / visit 2	избыток массы тела / excess body weight	1 (2,3)	0 (0,0)	0,128
		I степень / I degree	10 (22,7)	2 (25,0)	
		II степень / II degree	17 (38,6)	0 (0,0)	
	III степень / III degree	16 (36,4)	6 (75,0)		
	p	0,088	1,000		
Артериальная гипертензия / Arterial hypertension, n (%)	визит 1 / visit 1	42 (95,5)	8 (100,0)	0,539	
	визит 2 / visit 2	42 (95,5)	8 (100,0)	0,539	
	p	1,000	1,000		

САД, мм рт. ст. / SBP mm Hg	визит 1 / visit 1	140,0 [130,0; 150,0]	137,5 [118,8; 143,8]	0,254	
	визит 2 / visit 2	140,0 [124,3; 160,0]	141,0 [130,0; 148,8]	0,959	
	p	0,880	0,089		
ДАД, мм рт. ст. / DBP mm Hg	визит 1 / visit 1	90,0 [80,0; 100,0]	80,0 [72,5; 96,0]	0,204	
	визит 2 / visit 2	87,5 [80,0; 94,3]	82,5 [80,0; 93,8]	0,621	
	p	0,753	0,351		
Степень артериальной гипертонии / Degree of arterial hypertension, n (%)	визит 1 / visit 1	1	1 (2,4)	0 (0,0)	0,844
		2	13 (31,0)	2 (25,0)	
		3	28 (66,7)	6 (75,0)	
	визит 2 / visit 2	1	1 (2,4)	0 (0,0)	0,797
		2	14 (33,3)	2 (25,0)	
		3	27 (64,3)	6 (75,0)	
p		0,317	1,000		
Риск артериальной гипертонии / Risk of arterial hypertension, n (%)	визит 1 / visit 1	2	1 (2,4)	0 (0,0)	0,375
		3	11 (26,2)	4 (50,0)	
		4	30 (71,4)	4 (50,0)	
	визит 2 / visit 2	2	1 (2,4)	0 (0,0)	0,751
		3	11 (26,2)	3 (37,5)	
		4	30 (71,4)	5 (62,5)	
p		1,000	1,000		
Ишемическая болезнь сердца / Coronary artery disease, n (%)	визит 1 / visit 1	18 (40,9)	4 (50,0)	0,632	
	визит 2 / visit 2	23 (52,3)	4 (50,0)	0,906	
	p	0,063	1,000		
ФК стенокардии напряжения / FC of angina pectoris, n (%)	визит 1 / visit 1	I ФК / I FC	3 (18,8)	1 (50,0)	0,703
		II ФК / II FC	12 (75,0)	1 (50,0)	
		III ФК / III FC	1 (6,3)	0 (0,0)	
	визит 2 / visit 2	I ФК / I FC	6 (35,3)	1 (50,0)	0,865
		II ФК / II FC	11 (64,7)	1 (50,0)	
		III ФК / III FC	0 (0,0)	0 (0,0)	
p		0,680	1,000		
Хроническая сердечная недостаточность по классификации NYHA / Chronic heart failure according to NYHA classification, n (%)	визит 1 / visit 1	1 ФК / 1 FC	13 (33,3)	0 (0,0)	0,301
		2 ФК / 2 FC	20 (51,3)	5 (83,3)	
		3 ФК / 3 FC	6 (15,4)	1 (16,7)	
	визит 2 / visit 2	1 ФК / 1 FC	12 (30,0)	1 (14,3)	0,373
		2 ФК / 2 FC	21 (52,5)	6 (85,7)	
		3 ФК / 3 FC	7 (17,5)	0 (0,0)	
p		0,821	1,000		
Нарушения сердечного ритма / Heart rhythm disturbances, n (%)	визит 1 / visit 1	29 (65,9)	6 (75,0)	1,000	
	визит 2 / visit 2	32 (72,7)	6 (75,0)	1,000	
	p	0,374	1,000		
Терапия бета-блокаторами / Beta blocker therapy, n (%)	визит 1 / visit 1	26 (59,1)	8 (100,0)	0,039	
	визит 2 / visit 2	20 (45,5)	3 (37,5)	0,677	
	p	0,109	0,063		
Терапия блокаторами рецепторов ангиотензин II / Therapy angiotensin II receptor blockers, n (%)	визит 1 / visit 1	21 (47,7)	7 (87,5)	0,056	
	визит 2 / visit 2	25 (56,8)	8 (100,0)	0,021	
	p	0,388	1,000		

Примечание: здесь и далее в табл. 2–4 данные представлены в виде Me [Q1; Q3], M ± SD, числа пациентов – n (%); p – различия между параметрами в одной и той же группе в динамике; p* – различия между группами; САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давление; СиПАП – поддержание постоянного положительного давления в дыхательных путях; ФК – функциональный класс; NYHA – Нью-Йоркская ассоциация сердца.

Note: Here and further in tables 2–4 the data is presented as Me [Q1; Q3], M ± SD, number of patients – n (%); p – differences between parameters in the same group over time; p* – differences between groups; CPAP – Continuous Positive Airway Pressure; DBP – diastolic blood pressure; FC – functional class; NYHA – New York Heart Association; SBP – systolic blood pressure.

увеличению систолического артериального давления на 2-м визите, что, вероятно, связано с недостаточным терапевтическим эффектом СИПАП. За время наблюдения у пациентов без СИПАП определено увеличение частоты выявления ИБС (на 11,4%). В группе с СИПАП число больных ИБС осталось прежним.

У большинства пациентов выявлены признаки хронической сердечной недостаточности: 75,0% в группе с СИПАП и 88,6% в группе без СИПАП. В двух группах на обеих точках наблюдения чаще выявляли хроническую сердечную недостаточность II функционального класса. У значимой доли пациентов обеих групп зарегистрирована высокая частота встречаемости нарушений ритма – 75,0% в группе с СИПАП и 65,9% без СИПАП. У пациентов без СИПАП на 2-м визите отмечено увеличение частоты нарушений ритма на 6,8%, однако статистически это увеличение оказалось не значимым. Группы без СИПАП и с СИПАП на обоих визитах статистически значимо не различались: по инфаркту миокарда в анамнезе (на 1-м и 2-м визитах – 13,6 против 12,5% соответственно, $p = 0,931$), нарушению гликемического профиля (на 1-м визите – 52,2 против 37,5%, $p = 0,564$; на 2-м визите – 54,6 против 37,5%, $p = 0,646$), нарушению функции щитовидной железы (на 1-м визите – 31,8 против 37,5%, $p = 0,937$; на 2-м визите – 34,1 против 50,0%, $p = 0,119$), хронической болезни почек (на 1-м визите – 18,2 против 0,0%, $p = 0,330$; на 2-м визите – 18,2 против 12,5%, $p = 0,696$).

Проводимая антиангинальная, антиишемическая, гипотензивная, антиаритмическая, гиполипидемическая терапия в обеих группах была сопоставимой. Следует отметить, что группы используемых гипотензивных препаратов у пациентов без СИПАП и с СИПАП – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (на 1-м визите – 29,5 против 12,5% соответственно, $p = 0,423$; на 2-м визите –

27,3 против 0,0%, $p = 0,174$), блокаторы кальциевых каналов (на 1-м визите – 31,8 против 37,5%, $p = 0,753$; на 2-м визите – 27,3 против 50,0%, $p = 0,231$), петлевые и тиазидоподобные диуретики (на 1-м визите – 43,2 против 62,5%, $p = 0,447$; на 2-м визите – 61,4 против 75,0%, $p = 0,694$) – на обоих визитах не различались, доза препаратов корректировалась с учетом целевых уровней основных оцениваемых параметров: артериального давления и частоты сердечных сокращений. Исключение составили два класса препаратов – бета-блокаторы и блокаторы рецепторов ангиотензина II (см. табл. 1): в группе с СИПАП на 1-м визите чаще принимали бета-блокаторы, на 2-м визите отмечена тенденция снижения частоты их применения. Это было связано с выявленными у пациентов данной группы нарушениями проводимости: атриовентрикулярной и синоатриальной блокадами, а также урежением частоты сердечных сокращений и гипотонией. Исходно в группе с СИПАП определена тенденция более частого применения блокаторов рецепторов ангиотензина II. В течение наблюдения одному пациенту этой группы потребовалось дополнительное назначение блокаторов рецепторов ангиотензина II с целью коррекции артериального давления, что сделало применение этой группы препаратов у пациентов с СИПАП значимо более частым.

Анализ респираторных данных представлен показателями ночной пульсоксиметрии (табл. 2) и кардиореспираторного мониторинга (табл. 3).

По результатам анализа ночной пульсоксиметрии, на 2-м визите появились различия между группами по показателю индекса десатурации – он стал ниже у пациентов с СИПАП. В группе пациентов без СИПАП в динамике отмечено увеличение минимальной сатурации – насыщения кислородом гемоглобина артериальной крови (SpO_2) во сне, что, возможно, связано с уменьшением числа лиц с

Таблица 2. Динамический внутри- и межгрупповой анализ параметров ночной компьютерной пульсоксиметрии пациентов кардиологического профиля с тяжелым течением СОАС в зависимости от наличия СИПАП-терапии

Table 2. Dynamic intra- and intergroup analysis of overnight computer pulse oximetry parameters in cardiac patients with severe OSA depending on the presence of CPAP therapy

Параметр / Parameter		Без СИПАП / Without CPAP, n = 44	С СИПАП / With CPAP, n = 8	P^*	
Общее время записи, мин / Total recording time, minutes	визит 1 / visit 1	428,0 [333,3; 536,0]	490,5 [335,3; 567,3]	0,599	
	визит 2 / visit 2	420,0 [330,5; 512,5]	411,0 [361,5; 508,3]	0,929	
	p	0,961	0,779		
Сатурация SpO_2 / SpO_2 saturation, %	максимальная / maximum	визит 1 / visit 1	98,8 ± 0,4	99,0 ± 0,0	0,141
		визит 2 / visit 2	98,7 ± 0,9	98,9 ± 0,4	0,777
	p	0,967	0,317		
	средняя / average	визит 1 / visit 1	89,4 ± 4,6	91,4 ± 2,8	0,361
		визит 2 / visit 2	89,8 ± 6,0	93,1 ± 3,0	0,171
	p	0,253	0,161		
минимальная / minimum	визит 1 / visit 1	65,3 ± 10,7	68,6 ± 11,2	0,446	
	визит 2 / visit 2	69,0 ± 11,2	74,5 ± 9,2	0,223	
p	0,072	0,351			

Частота пульса, ударов в минуту / Pulse rate, beats per minute	максимальная / maximum	визит 1 / visit 1	100,1 ± 19,2	110,8 ± 23,8	0,150	
		визит 2 / visit 2	100,2 ± 22,1	99,4 ± 10,8	0,621	
			p	0,775	0,123	
	средняя / average	визит 1 / visit 1	65,6 ± 10,6	64,8 ± 13,2	1,000	
		визит 2 / visit 2	63,2 ± 9,1	65,7 ± 11,2	0,621	
			p	0,177	0,866	
минимальная / minimum	визит 1 / visit 1	42,5 ± 7,9	42,0 ± 5,9	0,901		
	визит 2 / visit 2	40,8 ± 8,9	38,5 ± 6,7	0,585		
		p	0,255	0,051		
Общее количество эпизодов десатурации / Total number of desaturation episodes, n	визит 1 / visit 1		218,5 [130,0; 356,5]	254,5 [69,0; 310,3]	0,678	
	визит 2 / visit 2		212,0 [129,3; 336,3]	156,0 [96,3; 231,5]	0,287	
			p	0,405	0,327	
Индекс десатурации, событий в час / Desaturation index, events per hour	визит 1 / visit 1		42,4 [22,0; 54,6]	37,0 [29,1; 41,4]	0,268	
	визит 2 / visit 2		37,2 [24,5; 47,2]	25,6 [13,7; 34,1]	0,080	
			p	0,136	0,123	
Исходная сатурация SpO ₂ / Initial saturation, SpO ₂ , %	визит 1 / visit 1		92,2 ± 4,1	94,3 ± 2,3	0,203	
	визит 2 / visit 2		93,0 ± 3,9	94,5 ± 2,4	0,432	
			p	0,262	0,889	
Общая продолжительность эпизодов снижения сатурации SpO ₂ < 89%, минут / Total duration of episodes of decreased SpO ₂ saturation < 89%, minutes	визит 1 / visit 1		97,0 [32,3; 209,3]	44,0 [34,8; 183,3]	0,354	
	визит 2 / visit 2		89,0 [38,0; 191,5]	81,0 [32,3; 166,0]	0,722	
			p	0,882	0,499	
Максимальный постоянный период снижения сатурации SpO ₂ < 89%, минут / Maximum constant period of SpO ₂ saturation reduction < 89%, minutes	визит 1 / visit 1		14,5 [5,5; 37,3]	7,0 [2,2; 15,7]	0,174	
	визит 2 / visit 2		14,3 [5,8; 26,8]	9,6 [2,1; 24,2]	0,522	
			p	0,902	0,208	

Примечание: СиПАП – поддержание постоянного положительного давления в дыхательных путях; SpO₂ – насыщение кислородом гемоглобина артериальной крови.

Note: CPAP – Continuous Positive Airway Pressure; SpO₂ – oxygen saturation of hemoglobin in arterial blood.

Таблица 3. Динамический внутри- и межгрупповой анализ параметров кардиореспираторного мониторинга пациентов кардиологического профиля с тяжелым течением СОАС в зависимости от наличия СиПАП-терапии

Table 3. Dynamic intra- and intergroup analysis of cardiorespiratory monitoring parameters in cardiac patients with severe OSA depending on the presence of CPAP therapy

Параметр / Parameter		Без СиПАП / Without CPAP, n = 44	С СиПАП / With CPAP, n = 8	p*
Общее время сна, мин / Total sleep time, minutes	визит 1 / visit 1	376,0 [316,3; 412,0]	369,5 [294,3; 387,0]	0,790
	визит 2 / visit 2	366,5 [288,8; 426,0]	420,0 [318,5; 446,5]	0,368
	p	0,966	0,484	
Количество эпизодов апноэ за время мониторинга / Number of apnea episodes during monitoring, n	визит 1 / visit 1	256,0 [179,3; 352,0]	317,0 [203,8; 417,8]	0,462
	визит 2 / visit 2	218,5 [161,8; 290,5]	390,0 [222,0; 515,8]	0,051
	p	0,066	0,484	
Количество эпизодов гипопноэ за время мониторинга / Number of hypopnea episodes during monitoring, n	визит 1 / visit 1	10,5 [3,0; 28,8]	7,0 [1,3; 10,5]	0,204
	визит 2 / visit 2	5,0 [1,0; 13,8]	22,0 [1,5; 36,5]	0,212
	p	0,024	0,068	
Индекс апноэ/гипопноэ, событий в час / Apnea/hypopnea index, events per hour	визит 1 / visit 1	49,5 [38,0; 61,0]	51,5 [37,5; 71,0]	0,603
	визит 2 / visit 2	43,0 [29,0; 61,8]	57,5 [51,3; 71,5]	0,131
	p	0,028	0,398	
Число апноэ обструктивного характера / Number of obstructive apneas, %	визит 1 / visit 1	73,0 [49,0; 86,0]	59,0 [54,0; 80,8]	0,746
	визит 2 / visit 2	86,0 [64,0; 96,0]	79,0 [67,3; 92,3]	0,501
	p	0,007	0,352	
Число апноэ центрального характера / Number of central apneas, %	визит 1 / visit 1	19,0 [9,0; 41,0]	27,0 [18,8; 45,5]	0,351
	визит 2 / visit 2	11,0 [2,0; 26,0]	21,0 [7,8; 32,8]	0,195
	p	0,007	0,398	

Число апноэ центрального характера / Number of central apneas, %		визит 1 / visit 1	19,0 [9,0; 41,0]	27,0 [18,8; 45,5]	0,351
		визит 2 / visit 2	11,0 [2,0; 26,0]	21,0 [7,8; 32,8]	0,195
		p	0,007	0,398	
Количество эпизодов апноэ/гипопноэ, сопровождающихся храпом / Number of apnea/hyporpea episodes accompanied by snoring, n		визит 1 / visit 1	193,0 [134,0; 261,0]	195,0 [126,3; 287,0]	0,948
		визит 2 / visit 2	182,0 [95,0; 210,0]	245,0 [147,0; 413,8]	0,057
		p	0,033	0,128	
Количество эпизодов апноэ/гипопноэ, сопровождающихся храпом, от общего количества эпизодов апноэ/гипопноэ / Number of apnea/hyporpea episodes accompanied by snoring, out of the total number of apnea/hyporpea episodes, %		визит 1 / visit 1	72,0 [57,0; 83,0]	65,0 [57,8; 71,8]	0,311
		визит 2 / visit 2	73,0 [59,0; 79,0]	69,0 [42,5; 91,8]	0,800
		p	0,659	0,612	
Количество эпизодов апноэ/гипопноэ, сопровождающихся десатурацией / Number of apnea/hyporpea episodes accompanied by desaturation, n		визит 1 / visit 1	206,0 [127,0; 301,0]	260,5 [171,3; 397,3]	0,422
		визит 2 / visit 2	202,0 [117,0; 274,0]	387,0 [228,5; 500,8]	0,015
		p	0,246	0,123	
Количество эпизодов апноэ/гипопноэ, сопровождающихся десатурацией, от общего количества эпизодов апноэ/гипопноэ / Number of apnea/hyporpea episodes accompanied by desaturation, out of the total number of apnea/hyporpea episodes, %		визит 1 / visit 1	88,0 [55,0; 93,0]	93,0 [82,5; 95,0]	0,259
		визит 2 / visit 2	84,0 [75,0; 94,0]	95,0 [90,3; 97,8]	0,026
		p	0,260	0,553	
Уровень SpO ₂ за период сна / SpO ₂ level during sleep period, %	максимальный / maximum	визит 1 / visit 1	92,8 ± 3,8	90,7 ± 5,3	0,344
		визит 2 / visit 2	90,1 ± 4,4	88,9 ± 4,4	0,378
		p	0,001	0,441	
	минимальный / minimum	визит 1 / visit 1	65,8 ± 9,9	60,6 ± 11,5	0,126
		визит 2 / visit 2	67,9 ± 9,6	68,3 ± 10,4	0,736
		p	0,016	0,012	
Средняя десатурация / Average desaturation, %		визит 1 / visit 1	7,7 [5,2; 8,9]	14,2 [7,5; 21,1]	0,088
		визит 2 / visit 2	8,2 [6,2; 10,1]	11,2 [7,6; 18,7]	0,223
		p	0,670	0,144	
Индекс десатурации, событий в час / Desaturation index, events per hour		визит 1 / visit 1	47,0 [30,8; 62,3]	59,0 [53,8; 70,3]	0,076
		визит 2 / visit 2	48,0 [36,8; 62,8]	58,0 [58,0; 70,5]	0,097
		p	0,776	1,000	
Максимальная длительность эпизода (10 сек. и более) десатурации, сек. / Maximum duration of an episode (10 seconds or more) of desaturation, seconds		визит 1 / visit 1	179,0 [129,8; 482,3]	171,0 [126,0; 302,0]	0,643
		визит 2 / visit 2	180,0 [139,8; 550,5]	177,0 [96,8; 197,3]	0,560
		p	0,618	0,575	
Общая длительность эпизодов десатурации, мин / Total duration of desaturation episodes, minutes		визит 1 / visit 1	159,0 [96,8; 269,5]	230,5 [143,8; 267,5]	0,315
		визит 2 / visit 2	159,5 [103,0; 206,8]	225,5 [183,0; 323,5]	0,062
		p	0,180	0,575	
Непрерывный максимальный эпизод (10 сек. и более) снижения сатурации SpO ₂ < 89%, секунд / Continuous maximum episode (10 seconds or more) of decreased in SpO ₂ saturation < 89%, seconds		визит 1 / visit 1	166,0 [83,0; 503,5]	144,0 [72,8; 292,8]	0,551
		визит 2 / visit 2	147,0 [69,0; 615,0]	103,5 [52,8; 165,0]	0,290
		p	0,595	0,161	
Общая длительность эпизодов снижения сатурации SpO ₂ < 89%, мин / Total duration of episodes of decreased SpO ₂ saturation < 89%, minutes		визит 1 / visit 1	98,0 [54,0; 190,0]	140,5 [43,08; 217,3]	0,551
		визит 2 / visit 2	98,0 [52,0; 167,5]	132,0 [77,8; 270,8]	0,195
		p	0,586	1,000	
Суммарное время, при котором сатурация SpO ₂ < 90%, мин / Total time at which SpO ₂ saturation < 90%, minutes		визит 1 / visit 1	140,0 [65,0; 225,3]	218,0 [101,8; 245,5]	0,233
		визит 2 / visit 2	129,0 [79,0; 214,5]	185,0 [106,5; 288,5]	0,300
		p	0,574	0,735	
Суммарное время, при котором сатурация SpO ₂ < 85%, мин / Total time at which SpO ₂ saturation < 85%, minutes		визит 1 / visit 1	44,0 [16,0; 81,0]	105,0 [44,8; 207,3]	0,105
		визит 2 / visit 2	27,0 [15,0; 114,0]	45,0 [26,5; 185,8]	0,199
		p	0,091	0,058	
Суммарное время, при котором сатурация SpO ₂ < 80%, мин / Total time at which SpO ₂ saturation < 80%, minutes		визит 1 / visit 1	17,0 [5,0; 35,0]	69,0 [20,0; 169,0]	0,031
		визит 2 / visit 2	11,0 [4,0; 50,0]	8,0 [5,0; 133,0]	0,344
		p	0,155	0,018	

Примечание: СИПАП – поддержание постоянного положительного давления в дыхательных путях; SpO₂ – насыщение кислородом гемоглобина артериальной крови.

Note: CPAP – Continuous Positive Airway Pressure; SpO₂ – oxygen saturation of hemoglobin in arterial blood.

III степенью ожирения в данной группе. По нашим данным, исходно и в динамике у больных с СИПАП уровень средней сатурации SpO_2 превышал это значение, тогда как у пациентов без СИПАП был ниже, что соответствует клинически значимой гипоксемии в этой группе. У пациентов с СИПАП на 2-м визите прослеживалась тенденция урежения минимальной частоты пульса за период ночного сна. Показатель общего количества эпизодов десатурации между группами не достиг значимых различий на обоих визитах, однако исходно в группе с СИПАП был выше и в динамике оказался ниже значений группы без СИПАП.

У пациентов с СИПАП по результатам кардиореспираторного мониторинга исходно респираторные показатели, такие как индекс десатурации, средняя десатурация, суммарное время сатурации SpO_2 ниже 80%, были хуже в сравнении с пациентами без СИПАП, что говорит о более тяжелом течении СОАС в группе с СИПАП на 1-м визите. Согласно нашим данным, десатурация и суммарное время сатурации SpO_2 ниже 80% (показатель уменьшился более чем 8 раз от исходного) являются более чувствительными для динамической оценки эффективности СИПАП-терапии. При сохраняющейся комплаентности пациентов к СИПАП-терапии респираторные показатели ночной пульсоксиметрии и кардиореспираторного мониторинга на 2-м визите оставались в пределах высоких значений, что свидетельствует о недостаточной эффективности терапии и необходимости ее коррекции. Оказалось, что трем пациентам в группе с СИПАП показана терапия двухуровневого положительного давления в дыхательных путях – БиПАП-терапия (от англ. Bi-level Positive Airway Pressure), один пациент нуждался в титрации давления СИПАП в сторону его увеличения, у двух пациентов на фоне терапии отмечены побочные эффекты в виде сухости слизистой носа и глотки. В результате динамического наблюдения определена низкая приемлемость (удовлетворенность СИПАП-терапией) (25,0%) и высокая приверженность (100%) долгосрочной терапии.

По данным скрининговых шкал обструктивного апноэ, пациенты обеих групп исходно соответствовали высокому риску СОАС. В динамике у пациентов без СИПАП значительно снизились средние баллы по всем оцениваемым шкалам: STOP-BANG – с $6,6 \pm 1,4$ балла на 1-м визите до $4,9 \pm 2,6$ балла на 2-м визите ($p = 0,001$); NoSAS – с $14,1 \pm 2,4$ балла на 1-м визите до $11,3 \pm 6,3$ балла на 2-м визите ($p = 0,029$); шкала сонливости Эпворта – с $9,5 \pm 5,4$ балла на 1-м визите до $5,9 \pm 5,1$ балла на 2-м визите ($p = 0,003$). У пациентов с СИПАП определено снижение среднего балла по шкале STOP-BANG – с $7,1 \pm 0,9$ балла на 1-м визите до $5,7 \pm 1,6$ балла на 2-м визите ($p = 0,088$). Тем не менее за время наблюдения пациенты обеих групп по количеству набранных

баллов шкал STOP-BANG и NoSAS оставались в группе высокого риска значимого СОАС, что также свидетельствует о недостаточной эффективности проводимой терапии. При анализе данных Берлинского опросника отмечена положительная балльная оценка в трех категориях исходно и в динамике в обеих группах, что соответствовало высокому риску СОАС.

При оценке когнитивного статуса динамика в группе с СИПАП отсутствовала, в группе без СИПАП зарегистрировано значимое улучшение функционирования познавательных процессов – с 24 [19–26] баллов на 1-м визите до 25,5 [23–27] балла на 2-м визите ($p = 0,012$).

При изучении показателей эмоциональной сферы на 1-м визите в группе с СИПАП значительно выше был средний балл, набранный по шкале тревоги (5,00 [4,00–7,00] против 0,00 [0,00–3,25] баллов, $p = 0,011$), и соответствовал наличию тревоги в этой группе в отличие от пациентов без СИПАП. Распространенность проявлений тревоги в группе с СИПАП также была выше в сравнении с пациентами без СИПАП (71,4 против 19,0%, $p = 0,010$). В динамике ситуация изменилась: в группе без СИПАП проявления тревоги нарастали, а в группе с СИПАП – уменьшались, что нивелировало к концу наблюдения исходные межгрупповые различия. Показатели качества жизни, представленные результатами обобщающих шкал опросника SF-36, физический и психологический компоненты здоровья не имели значимых различий как в динамике внутри групп пациентов, так и при сопоставлении между группами.

Распространенность тревоги до начала терапии была выше в группе пациентов, впоследствии адекватно использовавших СИПАП аппарат. Нерезко выраженные проявления тревоги, которые мы наблюдали у пациентов, могут выступать в роли мотивирующего к высокой комплаентности фактора, что и подтвердили результаты проведенного нами многофакторного регрессионного анализа. В него включили исходно различающиеся группы факторы (показатель тревоги по шкале GAD-7 и индекс десатурации), а также потенциально значимые факторы – ИБС, артериальная гипертензия, нарушение ритма сердца, результат МоСА-теста и ИАГ по данным кардиореспираторного мониторинга (табл. 4).

Оказалось, что у пациентов с тяжелым СОАС предикторами приверженности СИПАП-терапии были более высокий индекс десатурации (отношение шансов 1,264, 95% доверительный интервал 1,017–1,569, $p = 0,034$; повышение его на каждую единицу увеличивало вероятность адекватного применения СИПАП-терапии на 26,4%) и проявления тревоги (отношение шансов 1,056, 95% доверительный интервал 1,01–1,115, $p = 0,049$) (т. е. их наличие усиливало эту вероятность на 5,6%). ROC-кривая показала чувствительность модели

85,7% и специфичность 78% (рисунок). Площадь под ROC-кривой составила 0,843 (95% доверительный интервал 0,712–0,974; $p = 0,004$).

Обсуждение

Высокая встречаемость СОАС тяжелого течения среди мужчин кардиологического профиля в нашей работе согласуется с ранее проведенными исследованиями [17]. Доказано, что мужской пол является значимым фактором риска возникновения обструктивного апноэ [18]. Вполне ожидаемым оказался высокий индекс массы тела у обследованных нами пациентов, поскольку представляет собой наиболее мощный предиктор СОАС [19].

Связь между СОАС и нарушением когнитивного функционирования достаточно хорошо изучена и объясняется эпизодической гипоксемией, фрагментацией естественного сна (нарушением качества сна), оксидативным стрессом, сосудистым воспалением и наличием коморбидных состояний. Важным вопросом остается обратимость когнитивных функций у пациентов с СОАС. Полученные нами данные свидетельствуют об отсутствии динамики в оценке когнитивного статуса в группе СИПАП. В более ранних исследованиях показано, что СИПАП-терапия улучшает когнитивное состояние таких пациентов [20]. Однако результаты последнего метаанализа показали улучшение функционирования познавательных процессов только при краткосрочной СИПАП-терапии, продолжительность которой составила менее 8 нед. При более продолжительном использовании положительное влияние на когнитивное функционирование пропадает, что, вероятно, обусловлено стойкими патологическими изменениями, вызванными дегенерацией и гибелью нейронов, а также дисфункцией гематоэнцефалического барьера вследствие накопления токсических метаболитов [21]. Таким образом, наши результаты оказались сопоставимыми с мировыми данными.

В литературе описан ряд факторов, влияющих на приверженность СИПАП-терапии при СОАС: социально-демографические и экономические, тяжесть соматического состояния, психологические

аспекты (такие как показатель ценности здоровья, самоэффективность), технические особенности аппарата и маски, уровень лечебного давления, побочные эффекты использования аппарата, информированность о СОАС и его последствиях [22]. По результатам нашего исследования, уровень лечебного давления и наличие побочных эффектов в виде сухости слизистых носоглотки снижали приемлемость лечению и не влияли на приверженность терапии. По данным Ю.В. Овчинникова и коллег [23], приверженность долгосрочной СИПАП-терапии можно прогнозировать, используя один из следующих критериев: значение уровня сатурация $SpO_2 \leq 91,5\%$, значение минимальной SpO_2 на фоне апноэ $\leq 76,5\%$, показатели максимальной длительности апноэ $\geq 60,5$ сек., показатели общей длительности апноэ ≥ 67 мин. В представленном нами исследовании впервые показана независимая связь приверженности СИПАП с индексом десатурации (показатель тяжести СОАС) и показателем тревоги, выступившим в роли мотивирующего фактора. По данным регрессионного анализа, более тяжелое течение апноэ сна и более выраженная тревога являются предикторами приверженности СИПАП-терапии.

Обобщая вышесказанное, следует отметить, что, возможно, влияние СИПАП-терапии проявилось отсутствием новых случаев развития ИБС,

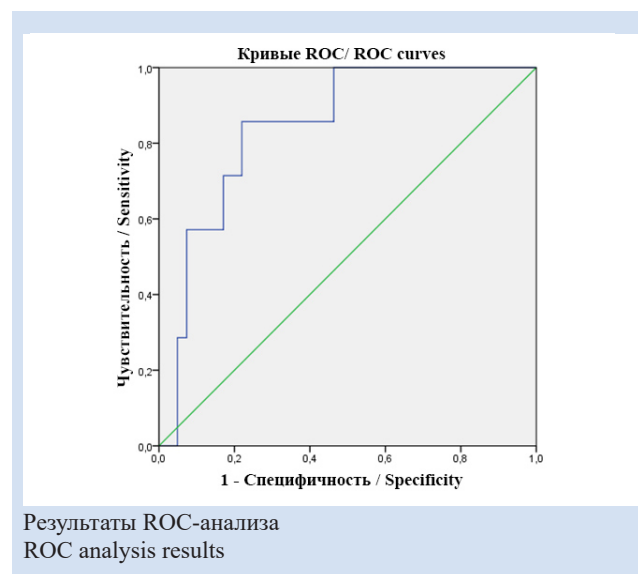


Таблица 4. Многофакторный регрессионный анализ факторов приверженности СИПАП-терапии
Table 4. Multivariate regression analysis to assess factors of adherence to CPAP therapy

Предиктор / Predictor	B	Стандартная ошибка / Standard error	Статистика Вальда / Wald statistics	P	ОШ / OR	95% ДИ для ОШ / 95% CI for OR	
						Нижняя граница / Lower limit	Верхняя граница / Upper limit
Проявление тревоги / Manifestation of anxiety	0,234	0,111	4,480	0,034	1,264	1,017	1,569
Индекс десатурации / Desaturation index	0,054	0,028	3,834	0,049	1,056	1,010	1,115
Константа / Constant	-5,642	1,935	8,504	0,004	0,004		

Примечание: ДИ – доверительный интервал; ОШ – отношение шансов.
Note: CI – confidence interval; OR – odds ratio.

снижением уровня средней десатурации, индекса десатурации, общей длительности эпизодов десатурации и суммарного времени сатурации SpO₂ менее 80%. Отсутствие положительной динамики после СИПАП-терапии по остальным клиническим параметрам объясняется тяжелым течением СОАС и низкой приемлемостью лечению, требующей как более сложного режима терапии – БиПАП, так в отдельных случаях и коррекции СИПАП. Трудности с последним объяснимы тем, что большая часть исследования пришлось на период пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19).

Заключение

Приверженность СИПАП-терапии у пациентов с тяжелой степенью СОАС и ССЗ можно прогнозировать с использованием модели, включающей индекс десатурации и проявления тревоги. СИПАП-терапия, вероятно, связана со вторичной профилактикой ИБС.

Ограничения исследования

Необходимо отметить, что малый объем выборки в представленном исследовании обусловлен небольшим количеством пациентов, приверженных

СИПАП-терапии, что могло повлиять на полученные результаты. Также ограничением исследования является длительный интервал между визитами (один год) вследствие пандемии COVID-19. Исследование является пилотным, в связи с чем для подтверждения настоящих выводов требуется продолжение наблюдения и увеличение количества пациентов.

Конфликт интересов

Л.Г. Евлампиева заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.Е. Харац заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.А. Гуськова заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.И. Сергейчик заявляет об отсутствии конфликта интересов. Н.Е. Широков заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Д. Сталлингс заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.А. Горбатенко заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.И. Ярославская заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Авторы заявляют об отсутствии финансирования исследования.

Информация об авторах

Евлампиева Лариса Геннадьевна, кандидат медицинских наук младший научный сотрудник лаборатории инструментальной диагностики научного отдела инструментальных методов исследования Тюменского кардиологического научного центра – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Тюмень, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-3554-0659

Харац Всеволод Евсеевич, кандидат медицинских наук заведующий отделением хирургического лечения сложных нарушений ритма и электрокардиостимуляции, старший научный сотрудник отделения нарушений ритма сердца научного отдела инструментальных методов исследования Тюменского кардиологического научного центра – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Тюмень, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6297-7859

Гуськова Ольга Александровна, младший научный сотрудник лаборатории инструментальной диагностики научного отдела инструментальных методов исследования Тюменского кардиологического научного центра – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Тюмень, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-8552-1646

Сергейчик Оксана Ивановна, лаборант-исследователь лаборатории инструментальной диагностики научного отдела инструментальных методов исследования Тюменского кардиологического научного центра – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Тюмень, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-8979-0827

Author Information Form

Evlampieva Larisa G., PhD, Junior Researcher at the Laboratory of Instrumental Diagnostics, Department of Instrumental Research Methods, Tyumen Cardiology Research Center, Branch of Tomsk National Research Medical Center, Tyumen, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3554-0659

Kharats Vsevolod E., PhD, Head of the Department of Surgical Treatment of Complex Heart Rhythm Disorders and Pacing, Senior Researcher at the Department of Cardiac Rhythm Disorders, Scientific Department of Instrumental Research Methods, Tyumen Cardiology Research Center, Branch of Tomsk National Research Medical Center, Tyumen, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6297-7859

Guskova Olga A., Junior Researcher at the Laboratory of Instrumental Diagnostics, Department of Instrumental Research Methods, Tyumen Cardiology Research Center, Branch of Tomsk National Research Medical Center, Tyumen, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-8552-1646

Sergeichik Oksana I., Research Assistant at the Laboratory of Instrumental Diagnostics, Department of Instrumental Research Methods, Tyumen Cardiology Research Center, Branch of Tomsk National Research Medical Center, Tyumen, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-8979-0827

Широков Никита Евгеньевич, кандидат медицинских наук научный сотрудник лаборатории инструментальной диагностики научного отдела инструментальных методов исследования Тюменского кардиологического научного центра – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Тюмень, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4325-2633

Сталлингс Анастасия Дмитриевна, лаборант-исследователь лаборатории инструментальной диагностики научного отдела инструментальных методов исследования Тюменского кардиологического научного центра – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Тюмень, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-0961-2348

Горбатенко Елена Александровна, младший научный сотрудник лаборатории инструментальной диагностики научного отдела инструментальных методов исследования Тюменского кардиологического научного центра – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Тюмень, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-3675-1503

Ярославская Елена Ильинична, доктор медицинских наук заведующая лабораторией инструментальной диагностики научного отдела инструментальных методов исследования Тюменского кардиологического научного центра – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Тюмень, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-1436-8853

Shirokov Nikita E., PhD, Researcher at the Laboratory of Instrumental Diagnostics, Department of Instrumental Research Methods, Tyumen Cardiology Research Center, Branch of Tomsk National Research Medical Center, Tyumen, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4325-2633

Stallings Anastasia D., Research Assistant at the Laboratory of Instrumental Diagnostics, Department of Instrumental Research Methods, Tyumen Cardiology Research Center, Branch of Tomsk National Research Medical Center, Tyumen, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-0961-2348

Gorbatenko Elena A., Junior Researcher at the Laboratory of Instrumental Diagnostics, Department of Instrumental Research Methods, Tyumen Cardiology Research Center, Branch of Tomsk National Research Medical Center, Tyumen, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3675-1503

Yaroslavskaya Elena I., PhD, Head of the Laboratory of Instrumental Diagnostics, Department of Instrumental Research Methods, Tyumen Cardiology Research Center, Branch of Tomsk National Research Medical Center, Tyumen, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-1436-8853

Вклад авторов в статью

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

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

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

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

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

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

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

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

Author Contribution Statement

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

KhVE – 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

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

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

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Медведева Е.А., Коростовцева Л.С., Сазонова Ю.В., Бочкарёв М.В., Свирияев Ю.В., Конради А.О. Синдром обструктивного апноэ во сне при хронической сердечной недостаточности: взгляд кардиолога. *Российский кардиологический журнал*. 2018;1(153):78-82. doi: 10.15829/1560-4071-1018-1-78-82
2. Бормина С.О., Коростовцева Л.С., Бочкарёв М.В., Свирияев Ю.В., Конради А.О., Тихоненко В.М. Полифункциональный мониторинг: возможна ли одновременная оценка артериального давления и нарушений дыхания во сне? *Кардиология*. 2020;60(1):10–15. doi: 10.18087/cardio.2020.1.n482
3. Осипова О.А., Гостева Е.В., Жернакова Н.И., Шепель Р.Н., Пономаренко Е.Н., Иншакова К.Ю., Драпкина О.М. Особенности суточного профиля артериального давления и системного воспаления у больных стабильной ишемической болезнью сердца с обструктивным апноэ сна. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023;22(9):3705. doi: 10.15829/1728-8800-2023-3705
4. Крупичка К.С., Агалцов М.В., Береговская С.А., Мясников Р.П., Драпкина О.М. Нарушения дыхания во сне у пациентов с хронической сердечной недостаточностью со сниженной и умеренно сниженной фракцией выброса левого желудочка: представленность основных типов и их зависимость от этиологии хронической сердечной недостаточности. *Российский кардиологический журнал*. 2023;28(1S):5261. doi: 10.15829/1560-4071-2023-5261.
5. Тюрин В.П., Савчук О.В., Проскурнова В.В., Добриков Е.А., Кулагина А.М. Синдром обструктивного апноэ сна, как независимый предиктор сердечно-сосудистой смертности. *Вестник НМХЦ им. Н.И. Пирогова*. 2020;15(2):126-128. doi: 10.25881/BPNMSC.2020.95.30.022.
6. Costa L.E., Uchôa C.H., Harmon R.R., Bortolotto L.A., Lorenzi-Filho G., Drager L.F. Potential underdiagnosis of obstructive sleep apnoea in the cardiology outpatient setting. *Heart*. 2015;101(16):1288–1292. doi: 10.1136/heartjnl-2014-307276
7. Тардов М.В., Кунельская Н.Л., Филин А.А., Артемьев М.Е., Студеный М.Е. Остановка сердца при синдроме обструктивного апноэ сна: возможности лечения. *Серия случаев*. *Вестник оториноларингологии*. 2020;85(4):43-45. doi: 10.17116/otorino20208504143
8. Timkova V., Nagyova I., Reijneveld S.A., Tkacova R., Dijk J.P., Bultmann U. Quality of life of obstructive sleep apnoea patients receiving continuous positive airway pressure treatment: A systematic review and meta-analysis. *Hear Lung*. 2020;49(1):10-24. doi: 10.1016/J.HRTLNG.2019.10.004
9. Bakker J.P., Weaver T.E., Parthasarathy S., Aloia M.S. Adherence to CPAP what should we be aiming for, and how can we get there? *Chest J*. 2019;155(6):1272-1287. doi: 10.1016/j.chest.2019.01.012
10. Kapur V.K., Auckley D.H., Chowdhuri S., Kuhlmann D.C., Mehra R., Ramar K., Harrod C.G. Clinical Practice Guideline for Diagnostic Testing for Adult Obstructive Sleep Apnea: An American Academy of Sleep Medicine Clinical Practice Guideline. *J Clin Sleep Med*. 2017;13(3):479-504. doi: 10.5664/jcsm.6506
11. Marti-Soler H., Hirotsu C., Marques-Vidal P., Vollenweider P., Waeber G., Preisig M., Tafti M., Tufik S.B., Bittencourt L., Tufik S., Haba-Rubio J., Heinzer R. The NoSAS score for screening of sleep-disordered breathing: a derivation and validation study. *Lancet Respir Med*. 2016;4(9):742-748. doi: 10.1016/S2213-2600(16)30075-3
12. Amra B., Javani M., Soltaninejad F., Penzel T., Fietze I., Schoebel C., Farajzadegan Z. Comparison of Berlin Questionnaire, Stop-Bang, and Epworth Sleepiness Scale for Diagnosing Obstructive Sleep Apnea in Persian Patients. *Int J Prev Med*. 2018;9(1):28. doi: 10.4103/ijpvm.IJPVM_131_17
13. Instruction manual. Instructions for Patient Health Questionnaire (PHQ) and GAD-7 Measures. London: Pfizer; 2021. Available at: <https://www.phqscreeners.com/images/sites/g/files/g10016261/f/201412/instructions.pdf> [access: 15.01.2021].
14. Рябова Т.А., Бахтерева Е.В., Терехов Н.Л. Эффективность реабилитационных мероприятий у пациентов с посттравматическими осложнениями на основании анкетирования SF-36. *Профилактическая медицина*. 2022;25(10):79-83. doi: 10.17116/profmed2022510179.
15. Сереброва Е.В. Структура когнитивных нарушений у пациентов с апноэ во сне в остром периоде инфаркта мозга. *Рецепт*. 2022;25(1):52-60. doi: 10.34883/Pl.2022.25.1.007
16. Sawyer A.M., Gooneratne N.S., Marcus C.L., Ofer D., Richards K.C., Weaver T.E. A systematic review of CPAP adherence across age groups: clinical and empiric insights for developing CPAP adherence interventions. *Sleep Med Rev*. 2011;15(6):343-356. doi: 10.1016/j.smrv.2011.01.003
17. Елфимова Е.М., Михайлова О.О., Хачатрян Н.Т., Литвин А.Ю., Чазова И.Е. Клинический профиль пациентов с синдромом обструктивного апноэ сна в кардиологическом стационаре. *Терапевтический архив*. 2020;92(4):9–16. doi: 10.26442/00403660.2020.04.000553
18. Mazzuca E., Battaglia S., Marrone O., Marotta A.M., Castrogiovanni A., Esguinás C., Barcelo A., Barbe F., Bonsignore M.R. Gender-specific anthropometric markers of adiposity, metabolic syndrome and visceral adiposity index (VAI) in patients with obstructive sleep apnea. *J Sleep Res*. 2014;23(1):13-21. doi: 10.1111/jsr.12088
19. Черкасова С.А., Шварц Ю.Г. Клинические и эхокардиографические особенности хронической сердечной недостаточности у пациентов с сочетанием синдрома обструктивного апноэ сна и фибрилляции предсердий. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2016;12(3):349–353.
20. Patel A., Chong D.J. Obstructive Sleep Apnea: Cognitive Outcomes. *Clin Geriatr Med*. 2021;37(3):457-467. doi: 10.1016/j.cger.2021.04.007
21. Li J., Yan W., Yi M., Lin R., Huang Z., Zhang Y. Efficacy of CPAP duration and adherence for cognitive improvement in patients with obstructive sleep apnea: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Sleep Breath*. 2023;27(3):973-982. doi: 10.1007/s11325-022-02687-y
22. Mehrtash M., Bakker J.P., Ayas N. Predictors of Continuous Positive Airway Pressure Adherence in Patients with Obstructive Sleep Apnea. *Lung*. 2019;197(2):115-121. doi: 10.1007/s00408-018-00193-1
23. Овчинников Ю.В., Мостовой Л.В., Зайцев А.А. Анализ комплаентности к СИПАП-терапии у пациентов пожилого возраста с синдромом обструктивного апноэ сна и артериальной гипертензией. *Клиническая геронтология*. 2020;26(7-8): 26-32. doi: 10.26347/1607-2499202007-08026-032

REFERENCES

1. Medvedeva E.A., Korostovtseva L.S., Sazonova Yu.V., Bochkarev M.V., Sviryaev Yu.V., Konradi A.O. Obstructive sleep apnea syndrome in congestive heart failure: cardiologist perspective. *Russian Journal of Cardiology*. 2018;1(153):78-82. doi: 10.15829/1560-4071-1018-1-78-82 (In Russian)
2. Bormina S.O., Korostovtseva L.S., Bochkarev M.V., Sviryaev Y.V., Konradi A.O., Tikhonenko V.M. Multifunctional Monitoring: is it Possible to Simultaneously Evaluate Blood Pressure and Sleep-Disordered Breathing? *Kardiologiya*. 2020;60(1):10–15. doi: 10.18087/cardio.2020.1.n482 (In Russian)
3. Osipova O.A., Gosteva E.V., Zhermakova N.I., Shepel

R.V., Ponomarenko T.N., Inshakova K.Yu., Drapkina O.M. 24-hour blood pressure profile and systemic inflammation in patients with stable coronary artery disease with obstructive sleep apnea. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(9):3705. doi: 10.15829/1728-8800-2023-3705 (In Russian)

4. Krupichka K.S., Agaltsov M.V., Beregovskaya S.A., Myasnikov R.P., Drapkina O.M. Sleep-related breathing disorders in patients with heart failure with reduced and mildly reduced ejection fraction: main types and their dependence on heart failure etiology. *Russian Journal of Cardiology*. 2023;28(1S):5261. doi: 10.15829/1560-4071-2023-5261 (In Russian)

5. Tyurin V.P., Savchuk O.V., Proskurnova V.V., Dobrikov E.A., Kulagina A.M. Obstructive sleep apnea as an independent predictor of cardiovascular mortality. *Bulletin of Pirogov National Medical and Surgical Center*. 2020;15(2):126-128. doi: 10.25881/BPNMSC.2020.95.30.022 (In Russian)

6. Costa L.E., Uchôa C.H., Harmon R.R., Bortolotto L.A., Lorenzi-Filho G., Drager L.F. Potential underdiagnosis of obstructive sleep apnoea in the cardiology outpatient setting. *Heart*. 2015;101(16):1288-1292. doi: 10.1136/heartjnl-2014-307276

7. Tardov M.V., Kunelskaya N.L., Filin A.A., Artemiev M.E., Studeny M.E. Cardiac arrest in obstructive sleep apnea syndrome: treatment options. Case series. *Russian Bulletin of Otorhinolaryngology*. 2020;85(4):43-45. doi: 10.17116/otorino20208504143 (In Russian)

8. Timkova V., Nagyova I., Reijneveld S.A., Tkacova R., Dijk J.P., Bultmann U. Quality of life of obstructive sleep apnoea patients receiving continuous positive airway pressure treatment: A systematic review and meta-analysis. *Hear Lung*. 2020;49(1):10-24. doi: 10.1016/J.HRTLNG.2019.10.004

9. Bakker J.P., Weaver T.E., Parthasarathy S., Aloia M.S. Adherence to CPAP what should we be aiming for, and how can we get there? *Chest J*. 2019;155(6):1272-1287. doi: 10.1016/j.chest.2019.01.012

10. Kapur V.K., Auckley D.H., Chowdhuri S., Kuhlmann D.C., Mehra R., Ramar K., Harrod C.G. Clinical Practice Guideline for Diagnostic Testing for Adult Obstructive Sleep Apnea: An American Academy of Sleep Medicine Clinical Practice Guideline. *J Clin Sleep Med*. 2017;13(3):479-504. doi: 10.5664/jcsm.6506

11. Marti-Soler H., Hirotsu C., Marques-Vidal P., Vollenweider P., Waeber G., Preisig M., Tafti M., Tufik S.B., Bittencourt L., Tufik S., Haba-Rubio J., Heinzer R. The NoSAS score for screening of sleep-disordered breathing: a derivation and validation study. *Lancet Respir Med*. 2016;4(9):742-748. doi: 10.1016/S2213-2600(16)30075-3

12. Amra B., Javani M., Soltaninejad F., Penzel T., Fietze I., Schoebel C., Farajzadegan Z. Comparison of Berlin Questionnaire, Stop-Bang, and Epworth Sleepiness Scale for Diagnosing Obstructive Sleep Apnea in Persian Patients. *Int J*

Prev Med. 2018;9(1):28. doi: 10.4103/ijpvm.IJPVM_131_17

13. Instruction manual. Instructions for Patient Health Questionnaire (PHQ) and GAD-7 Measures. London: Pfizer; 2021. Available at: <https://www.phqscreeners.com/images/sites/g/files/g10016261/f/201412/instructions.pdf> [access: 15.01.2021].

14. Ryabkova T.A., Bakhtereva E.V., Terekhov N.L. Effectiveness of rehabilitation measures in patients with posttraumatic complications based on the SF-36 questionnaire. *Profilakticheskaya Meditsina*. 2022;25(10):79-83. doi: 10.17116/profmed20222510179 (In Russian)

15. Serebrova E.V. Structure of cognitive impairment in patients with sleep apnea in the acute period of cerebral infarction. *Recipe*. 2022;25(1):52-60. doi: 10.34883/PI.2022.25.1.007 (In Belarussian)

16. Sawyer A.M., Gooneratne N.S., Marcus C.L., Ofer D., Richards K.C., Weaver T.E. A systematic review of CPAP adherence across age groups: clinical and empiric insights for developing CPAP adherence interventions. *Sleep Med Rev*. 2011;15(6):343-356. doi: 10.1016/j.smrv.2011.01.003

17. Elfimova E.M., Mikhailova O.O., Khachatryan N.T., Litvin A.Y., Chazova I.E. Clinical profile of patients with obstructive sleep apnea syndrome in a cardiology hospital. *Terapevticheskii Arkhiv*. 2020;92(4):9-16. doi: 10.26442/00403660.2020.04.000553 (In Russian)

18. Mazzuca E., Battaglia S., Marrone O., Marotta A.M., Castrogiovanni A., Esguinás C., Barcelo A., Barbe F., Bonsignore M.R. Gender-specific anthropometric markers of adiposity, metabolic syndrome and visceral adiposity index (VAI) in patients with obstructive sleep apnea. *J Sleep Res*. 2014;23(1):13-21. doi: 10.1111/jsr.12088

19. Cherkasova S.A., Shvarts Yu.G. Clinical and echocardiographic features of heart failure in patients with obstructive sleep apnea and atrial fibrillation. *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2016;12(3):349-353. (In Russian)

20. Patel A., Chong D.J. Obstructive Sleep Apnea: Cognitive Outcomes. *Clin Geriatr Med*. 2021;37(3):457-467. doi: 10.1016/j.cger.2021.04.007

21. Li J., Yan W., Yi M., Lin R., Huang Z., Zhang Y. Efficacy of CPAP duration and adherence for cognitive improvement in patients with obstructive sleep apnea: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Sleep Breath*. 2023;27(3):973-982. doi: 10.1007/s11325-022-02687-y

22. Mehrtash M., Bakker J.P., Ayas N. Predictors of Continuous Positive Airway Pressure Adherence in Patients with Obstructive Sleep Apnea. *Lung*. 2019;197(2):115-121. doi: 10.1007/s00408-018-00193-1

23. Ovchinnikov Yu.V., Mostovoy L.V., Zaitsev A.A. Analysis of compliance to CPAP-treatment in elderly patients with obstructive sleep apnea syndrome and arterial hypertension. *Clin. Gerontol*. 2020;26(7-8):26-32. doi: 10.26347/1607-2499202007-08026-032 (In Russian)

Для цитирования: Евлампиева Л.Г., Харац В.Е., Гуськова О.А., Сергейчик О.И., Широков Н.Е., Сталлингс А.Д., Горбатенко Е.А., Ярославская Е.И. Прогнозирование приверженности СИПАП-терапии у пациентов кардиологического профиля. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2024;13(3): 130-143. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-130-143

To cite: Evlampieva L.G., Kharats V.E., Guskova O.A., Sergeichik O.I., Shirokov N.E., Stallings A.D., Gorbatenko E.A., Yaroslavskaia E.I. Prediction of adherence to CPAP therapy in cardiac patients. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2024;13(3): 130-143. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-130-143



КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ТАКТИКА ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ТРОМБОЭМБОЛИЕЙ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ В КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ В СРАВНЕНИИ С РЕЗУЛЬТАТАМИ РОССИЙСКОГО РЕГИСТРА «СИРЕНА»

Е.А. Шмидт¹, С.А. Бернс², О.А. Ложкина¹, В.Н. Каретникова¹, Т.Б. Печерина¹,
О.Л. Барбараш¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002; ² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Петроверигский пер., 10, стр. 3, Москва, Российская Федерация, 101990

Основные положения

- Пациенты с тромбоэмболией легочной артерии в Кемеровской области имеют отягощенный коморбидный фон и более старший возраст в сравнении с лицами, включенными в российский регистр, при этом демонстрируют значимо меньшее число случаев тромбоэмболии, спровоцированных хирургическими вмешательствами. Тактика лечения данной группы больных в Кузбассе включает активную реканализацию ветвей легочной артерии как с помощью применения фибринолизиса, так и хирургических методов элиминации тромба.

Цель

Сравнительный анализ особенностей диагностики, лечения и исходов у пациентов с тромбоэмболией легочной артерии (ТЭЛА), составивших регистр больных Кузбасса, с результатами российского регистра «СИРЕНА».

Материалы и методы

В регистровое проспективное одноцентровое исследование включены 185 пациентов с ТЭЛА из Кемеровской области. Также проанализированы данные 609 пациентов из общероссийского регистра ТЭЛА «СИРЕНА» (наблюдательное проспективное многоцентровое исследование), которым было проведено стандартное обследование.

Результаты

Пациенты из Кемеровской области имели большее количество неблагоприятных факторов риска ТЭЛА в сравнении с участниками регистра «СИРЕНА»: хроническая сердечная недостаточность – 23,30 против 50,80%, ишемическая болезнь сердца – 8,50 против 36,20%, острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе – 9,90 против 12,40%, артериальная гипертензия – 65,70 против 78,40%, сахарный диабет 2-го типа – 15,20 против 20,50%, хроническая болезнь почек – 9,00 против 12,40% случаев соответственно.

Заключение

Пациенты с ТЭЛА Кемеровской области отличались более высокой распространенностью сердечно-сосудистых заболеваний (ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии, хронической сердечной недостаточности, венозной тромбоэмболии в анамнезе), более старшим возрастом, преобладанием лиц женского пола, более частым применением фибринолизиса по сравнению с пациентами, включенными в российский регистр «СИРЕНА». Хирургические методы удаления тромба из легочных артерий применялись только в Кузбассе.

Ключевые слова

Тромбоэмболия легочной артерии • Российский регистр тромбоэмболии легочной артерии («СИРЕНА») • Регистровое проспективное одноцентровое исследование тромбоэмболии легочной артерии (Кузбасс)

Поступила в редакцию: 02.04.2024; поступила после доработки: 16.05.2024; принята к печати: 18.07.2024

Для корреспонденции: Евгения Александровна Шмидт, e.a.shmidt@mail.ru; адрес: бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Corresponding author: Evgeniya A. Shmidt, e.a.shmidt@mail.ru; address: 6, academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

CLINICAL AND ANAMNESTIC FEATURES AND MANAGEMENT OF PATIENTS WITH PULMONARY EMBOLISM IN THE KEMEROVO REGION IN COMPARISON WITH THE RESULTS OF THE “SIRENA” RUSSIAN REGISTRY

E.A. Schmidt¹, S.A. Berns², O.A. Lozhkina¹, V.N. Karetnikova¹, T.B. Pecherina¹, O.L. Barbarash¹

¹ Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, 6, academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002; ² Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 10, bld. 3, Petroverigsky per., Moscow, Russian Federation, 101990

Highlights

- Patients with pulmonary embolism in the Kemerovo region have severe comorbidities and are older than those included in the Russian registry, however, these patients show a significantly lower rate of thromboembolism provoked by surgical interventions. The management of this group of patients in Kuzbass region includes active recanalization of the pulmonary artery branches with the help of fibrinolysis and surgical methods of thrombus removal.

Aim	To comparatively analyze the features of diagnosis, treatment and outcomes in patients with pulmonary embolism (PE) from the Kuzbass patient registry and the results of the “SIRENA” Russian registry.
Methods	The registry-based prospective single-center study included 185 patients with PE residing in the Kemerovo region. Moreover, we analyzed the data of 609 patients from the SIRENA registry (observational prospective multicenter study) who underwent a standard examination for patients with PE. Statistical processing of the study results was carried out using the MedCalc Version 16.2.1 software package (Softwa, Belgium).
Results	Patients from the Kemerovo region have more adverse risk factors for pulmonary embolism compared with patients from the SIRENA registry: chronic heart failure (CHF) (23.30% versus 50.80%), coronary artery disease (CAD) (8.50% versus 36.20%), acute stroke) in history (9.90% versus 12.40%), arterial hypertension (AH) (65.70% versus 78.40%), type 2 diabetes mellitus (type 2 diabetes) (15.20% vs. 20.50%), chronic kidney disease (CKD) (9.00% vs. 12.40%).
Conclusion	Patients with PE in the Kemerovo region are characterized by a higher prevalence of cardiovascular diseases (coronary artery disease, arterial hypertension, chronic heart failure, venous thromboembolism in the anamnesis), older age, predominance of women, more frequent use of fibrinolysis compared with patients included in the SIRENA Russian registry. Only in Kuzbass specialists used surgical methods of thrombus removal.
Keywords	Pulmonary embolism • Russian registry of patients with pulmonary embolism (SIRENA) • Registry-based prospective single-center study of pulmonary embolism (Kuzbass)

Received: 02.04.2024; received in revised form: 16.05.2024; accepted: 18.07.2024

Список сокращений

МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография ЭхоКГ – эхокардиография
ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии

Введение

Венозные тромбозы, включающие тромбоз глубоких вен и тромбоз легочной артерии (ТЭЛА), являются третьей по частоте причиной смерти среди всех сердечно-сосудистых заболеваний [1]. ТЭЛА представляет собой одно из наиболее угрожающих жизни и здоровью состояний – как в терапевтической, так и хирургической прак-

тике. Однако данные о характере течения ТЭЛА, об особенностях диагностики, лечения и исходах в реальной клинической практике ограничены, особенно в Российской Федерации. Наиболее крупное наблюдательное исследование пациентов с ТЭЛА (n = 2 454) – регистр ICOPER – проведено более 15 лет назад в Европе [2]. В 2011 г. опубликованы данные регистра ТЭЛА EMPEROR (n = 1 880) [3].

При этом ни в один европейский регистр не были включены российские пациенты. В литературе представлены результаты лишь нескольких одноцентровых регистров ТЭЛА в России [4, 5]. В 2016 г. в Кузбассе стартовал регистр пациентов, госпитализированных с подтвержденным диагнозом ТЭЛА [6]. Результаты данного локального регистра послужили пилотным проектом для начала более масштабного многоцентрового исследования «СИРЕНА» (Российский Регистр пациентов с тромбозом легочной Артерии; Russian Registry of pulmonary embolism), основные тезисы которого опубликованы в 2020 г. [7].

Цель данного исследования заключалась в изучении особенностей диагностики, лечения и исходов у пациентов с ТЭЛА по данным кузбасского регистра в сравнении с результатами российского многоцентрового исследования «СИРЕНА».

Материалы и методы

В регистровое проспективное одноцентровое исследование, выполненное в ГБУЗ КО «КОККД им. акад. Л.С. Барбараша» (Кемерово), методом сплошного включения в период с 2016 по 2018 г. (36 мес.) вошли 185 пациентов, которые находились на стационарном лечении с верифицированным и подтвержденным по результатам мультиспиральной компьютерной томографии-ангиопульмонографии (МСКТ-ангиопульмонография) диагнозом ТЭЛА. Пациенты очно посещали медицинское учреждение через 3, 6 и 12 мес. после выписки.

В российский регистр ТЭЛА «СИРЕНА» (наблюдательное проспективное многоцентровое исследование) с период с 2018 по 2019 г. (12 мес.) было включено 609 пациентов. Наблюдение за включенными больными до выписки из стационара/смерти в период госпитализации осуществлялось очно, после выписки (через 3, 6 и 12 мес.) – методом телефонных опросов. Информацию о включенных пациентах предоставили 20 стационаров из 15 российских городов (Биробиджан, Казань, Кемерово, Майкоп, Нижний Новгород, Пермь, Рязань, Самара, Санкт-Петербург, Сочи, Тверь, Томск, Ульяновск, Улан-Удэ).

Исследование одобрено локальным этическим комитетом участвующих клинических центров (протокол № 1 от 24 января 2017 г.). До включения в исследование от всех участников получено письменное информированное согласие. Исследование выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации ВМА (пересмотра 2013 г.).

Схема обследования включала сбор анамнеза и жалоб, оценку объективного статуса и определение прогностического индекса 30-дневной летальности у больных ТЭЛА (Pulmonary Embolism Severity

Index, PESI). В последующем определены лабораторные показатели (общий анализ крови, биохимический анализ крови, D-димер, коагулограмма) и инструментальные показатели (эхокардиография (ЭхоКГ), МСКТ-ангиопульмонография, цветное дуплексное сканирование вен нижних конечностей).

Статистический анализ. Статистическая обработка результатов регистра Кемеровской области осуществлена с помощью пакета программ MedCalc, версия 16.2.1 (MedCalc Software Ltd, Бельгия). Для сбора полученных в ходе регистра «СИРЕНА» данных специалистами Zelenograd.ru была создана специализированная онлайн-система. Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета программ STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., США). Расчет относительного риска выполнен при помощи онлайн-калькулятора, представленном на сайте <https://www.medstatistic.ru>. Различия считали статистически значимыми при значениях $p < 0,05$.

Результаты

В общероссийском регистре «СИРЕНА» половина пациентов были женского пола – 308 (50,50%) лиц, средний возраст составил 63 (59–70) года. В кемеровском регистре пациенты женского пола статистически значимо преобладали, 115 (62,20%) лиц, и были старше участников исследования «СИРЕНА» – средний возраст 66 (64–67) лет (табл. 1).

В российском регистре ТЭЛА в анамнезе больных прослеживалась значительно реже, чем среди участников регистра Кемеровской области, в то время как хроническая венозная недостаточность значимо чаще отмечена в анамнезе общероссийского регистра, а частота тромбоза глубоких вен в анамнезе определена в равных долях в обоих исследованиях.

Регулярному приему назначенных ранее антикоагулянтов были привержены только 63,90% пациентов кемеровского регистра и лишь 5% лиц российского регистра. Неспровоцированная ТЭЛА чаще встречалась в регистре «СИРЕНА» – 20,03% случаев по сравнению с 12,43% случаев по данным регистра Кузбасса.

Участники российского регистра «СИРЕНА» чаще, в сравнении с пациентами с ТЭЛА из регистра Кузбасса, имели следующие факторы риска развития тромбозомических осложнений: иммобилизация в течение 12 мес. до эпизода (12,6 против 8,1%), хирургическая операция за последние 12 мес. (15,6 против 5,9%) и хроническая обструктивная болезнь легких в прошлом (8,90 против 4,30% соответственно). Ряд факторов риска встречались с одинаковой частотой в обоих регистрах: известная онкопатология в анамнезе – 17,10 против 16,20%, фибрилляция предсердий – 19,00 против 17,80%, прием гормональных препаратов в последние 12 мес. –

3,10 против 3,20% случаев соответственно. При этом по ряду факторов риска пациенты с ТЭЛА Кемеровской области демонстрировали более неблагоприятную картину: хроническая сердечная недостаточность – 23,30 против 50,80%, ишемическая болезнь сердца – 8,50 против 36,20%, острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе

– 9,90 против 12,40%, артериальная гипертензия – 65,70 против 78,40%, сахарный диабет 2-го типа – 15,20 против 20,50%, хроническая болезнь почек – 9,00 против 12,40% случаев соответственно. Также отмечено, что больные ТЭЛА в Кузбассе чаще имели такие классические симптомы, как одышка/нехватка воздуха (96,80%) и боль/дискомфорт в

Таблица 1. Сравнительная клиническая характеристика пациентов с ТЭЛА регистра Кемеровской области и российского регистра «СИРЕНА»
Table 1. Comparative clinical characteristics of patients with PE included in the Kemerovo region registry and the SIRENA Russian registry

Показатель / Parameter	Регистр Кузбасса / Kuzbass Registry, n = 185	«СИРЕНА» / SIRENA, n = 609	P
Возраст, лет / Age, years, Me (Q25; Q75)	66 (64;67)	63 (59;70)	0,002
Женский пол / Female gender, n (%)	115 (62,20)	308 (50,50)	0,008
Онкопатология / Oncopathology, n (%)	30 (16,20)	104 (17,10)	0,152
СД 2 / DM 2, n (%)	38 (20,50)	90 (15,20)	0,07
ТЭЛА в анамнезе / PE in the anamnesis, n (%)	36 (19,50)	56 (9,20)	0,0002
Приверженность АКТ / Adherence to the ACT, n (%)	118 (63,78)	31(5,09)	0,003
Иммобилизация в течение 12 мес. до эпизода / Immobilization for 12 months prior to the episode, n (%)	15 (8,10)	77 (12,60)	0,110
Хирургическое вмешательство в течение 12 мес. / Surgical intervention within 12 months, n (%)	15 (8,10)	95 (15,60)	0,001
ХСН / CHF, n (%)	94 (50,80)	142 (23,30)	0,0001
ИБС / CAD, n (%)	67 (36,20)	52 (8,50)	0,0001
АГ / AH, n (%)	145 (78,40)	400 (65,70)	0,001
ТГВ / DVT, n (%)	30 (16,20)	118 (19,40)	0,652
ХВН / CVI, n (%)	15 (8,10)	191 (31,40)	0,001
ФП / AF, n (%)	33 (17,80)	116 (19,00)	0,790
ОНМК / Stroke, n (%)	23 (12,40)	60 (9,90)	0,385
Прием гормональных препаратов в последние 12 мес. / Taking hormonal drugs in the last 12 months, n (%)	6 (3,20)	19 (3,10)	0,238
ХОБЛ / COPD, n (%)	8 (4,30)	54 (8,90)	0,06
ХБП / CKD, n (%)	23 (12,40)	55 (9,00)	0,22
Неспровоцированная ТЭЛА / Unprovoked PE, n (%)	23(12,43)	122 (20,03)	0,001
Классы шкалы PESI / PESI scale classes			
Низкий риск по шкале PESI (I–II класс) / Low risk on the PESI scale (Grade I–II), n (%)	43 (23,24)	270 (44,33)	0,002
Промежуточный риск по шкале PESI (III класс) / Intermediate risk on the PESI scale (Grade III), n (%)	55 (29,73)	119 (19,55)	0,003
Высокий риск по шкале PESI (IV–V класс) / High risk on the PESI scale (IV–V class), n (%)	87 (47,03)	220 (36,12)	0,004
Симптомы ТЭЛА / PE Symptoms			
Одышка/нехватка воздуха / Shortness of breath/lack of air, n (%)	179 (96,80)	540 (88,70)	0,001
Боль/дискомфорт в грудной клетке / Chest pain/discomfort, n (%)	78 (41,60)	178 (29,80)	0,001
Синкопальное/пресинкопальное состояние / Syncopal/pre-syncopal condition, n (%)	50 (27,20)	179 (30,00)	0,59
Кашель и кровохарканье / Cough and hemoptysis, n (%)	14 (7,60)	51 (8,50)	0,63

Примечание: АГ – артериальная гипертензия; АКТ – антикоагулянтная терапия; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения; СД 2 – сахарный диабет 2-го типа; ТГВ – тромбоз глубоких вен; ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии; ФП – фибрилляция предсердий; ХБП – хроническая болезнь почек; ХВН – хроническая венозная недостаточность; ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; ХСН – хроническая сердечная недостаточность; PESI – индекс тяжести легочной эмболии.

Note: ACT – anticoagulant therapy; AF – atrial fibrillation; AH – arterial hypertension; CAD – coronary artery disease; CHF – chronic heart failure; CKD – chronic kidney disease; COPD – chronic obstructive pulmonary disease; CVI – chronic venous insufficiency; DM – diabetes mellitus; DVT – deep vein thrombosis; PE – pulmonary embolism; PESI – Pulmonary Embolism Severity Index.

грудной клетке (41,60%). Более редкие симптомы, такие как синкопальное состояние, определены у трети пациентов, а кашель с кровохарканьем – у 8% пациентов обоих регистров (см. табл. 1).

В регистре «СИРЕНА» распределение больных по степени риска 30-дневной смерти согласно шкале PESI показало, что четверть пациентов изучаемой выборки имели очень высокий риск смерти (V класс), при этом к категории высокого риска (V и IV класс) относились 36,12% лиц. Категорию низкого риска (I и II класс) составили 44,33%, а промежуточного – 19,55% больных ТЭЛА. Пациенты с ТЭЛА высокого риска характеризовались более старшим возрастом, большей частотой таких заболеваний, как артериальная гипертензия и онкологические заболевания, а также наиболее высокой медианой давления в легочной артерии; у 28,20% лиц наблюдалось повышение маркера некроза миокарда (тропонина Т). Наиболее интересны характеристики пациентов промежуточного риска, так как по клиническим параметрам они были близки к пациентам высокого риска и у них наблюдалась наибольшая частота коморбидных заболеваний, таких как сахарный диабет 2-го типа, хроническая обструктивная болезнь легких и хроническая сердечная недостаточность. Большинство участников регистра Кузбасса соответствовали III–V классу по шкале PESI, что значимо отличало данную когорту от пациентов из российского регистра (см. табл. 1).

В ходе диагностических мероприятий ЭхоКГ выполнена 545 (89,50%) пациентам регистра «СИРЕНА», в кемеровском кардиоцентре – в 100% случаев. Визуализация методом МСКТ легочной артерии выполнена 532 (87,40%) участникам российского регистра, в кемеровском кардиологическом центре – в 100% случаев. Частота поражения главных и долевых ветвей легочной артерии была сравнительно одинакова, составив около 70% случаев в обоих регистрах. Поражение ствола легочной артерии наблюдалось менее чем в 10% случаев, более чем в 80% случаев определено двустороннее поражение. Не выявлено достоверных различий в исследуемых показателях по данным ЭхоКГ между участниками регистров. В обоих исследованиях установлено значимое повышение концентрации D-димера в крови – от 2 500 до 6 000 нг/мл (референсное значение показателя менее 500 нг/мл).

Лечебные стратегии значимо не различались в российском регистре и регистре пациентов Кузбасса. Так, в общероссийском исследовании «СИРЕНА» тромболитическая терапия проведена 152 (25,00%) пациентам с ТЭЛА – против 56 (30,30%) больных регистра Кузбасса. По эффективности антикоагулянтной терапии изучаемые группы также были сопоставимы, лишь частота введения нефракционированного гепарина была значимо выше в российском регистре – в кардиологическом стационаре Кузбасса

наиболее часто использовалось введение низкомолекулярных гепаринов, что более целесообразно, так как не требует жесткого контроля активированного частичного тромбинового времени (табл. 2).

Установлено, что хирургическая элиминация тромбоза из главных ветвей легочной артерии не применяется в рутинной практике стационаров РФ. В Кемеровском кардиоцентре проведено 8 (4,30%) процедур эмболэктомии из ветвей легочной артерии и 3 (1,62%) процедуры эндоваскулярной фрагментации тромба в стволе легочной артерии с локальным введением тромболитика (см. табл. 2). По результатам общероссийского и кемеровского регистров пациентов с ТЭЛА не выявлено статистически значимых различий в частоте развития летальных исходов на госпитальном и однолетнем этапах наблюдения, летальность не превысила 9%. Однако, по данным регистра «СИРЕНА», у 25 (12,70%) человек во время госпитализации случилось кровотечение на фоне тромболитической терапии. Среди пациентов Кемеровской области не отмечено ни одного случая кровотечения на стационарном этапе лечения.

Обсуждение

Пациенты регистра Кузбасса были старше участников общероссийского исследования «СИРЕНА», однако возраст больных Кузбасса был сопоставим с таковым у лиц регистра Томска (2013–2016 гг.) и трех зарубежных регистров (REITE, DNPR, Framingham study) [8–10].

Отмечено, что в регистрах Кузбасса и Томска преобладали пациенты с ТЭЛА женского пола, в то время как в российском регистре и наиболее крупных зарубежных исследованиях больные по полу распределялись равномерно. У больных Кузбасса преобладали факторы риска неблагоприятного течения ТЭЛА, связанные с сердечно-сосудистой патологией (хронической сердечной недостаточностью, ишемической болезнью сердца и артериальной гипертензией), а также чаще наблюдалась ТЭЛА в анамнезе в сравнении с регистром РФ и зарубежными исследованиями RIETE [8] и DNPR [9]. Данный факт, несомненно, отражает локальную особенность пациентов Кузбасса, так как в близком географически регионе (Томск) продемонстрировано лишь 6,80% случаев ТЭЛА в анамнезе обследованных участников [5] (см. табл. 2). В регистре «СИРЕНА» чаще отмечен такой классический и наиболее неблагоприятный фактор риска ТЭЛА, как хирургическое вмешательство за 12 мес. перед индексным событием. Сравнительный анализ с результатами регистрового исследования EMPEROR (2011 г.) показал, что российские пациенты имеют сопоставимую с европейцами частоту факторов риска [3].

Распространенность онкопатологии в регистрах пациентов Кузбасса и РФ сопоставима с данными

исследований PREFER VTE и DNPR [9, 11] Наиболее часто онкопатология встречалась в регистре Томска (28%). В Фраменгемском исследовании установлено, что пациенты с ТЭЛА характеризовались более молодым возрастом, а у 31% выявлена онкопатология. Однако статистически значимо с развитием ТЭЛА были ассоциированы более старший возраст больных и наличие ожирения [10]. Распространенность сахарного диабета 2-го типа в регистре Кузбасса сопоставима с такой в регистре «СИРЕНА» и близка к данным регистра RIETE [8] (см. табл. 2).

Полученные данные наиболее вероятно связаны с тем, что пациенты регистра Кузбасса были более старшего возраста и чаще имели сопутствующие патологии в сравнении с участниками российского регистра «СИРЕНА». Так, среди 1 247 лиц, включенных в регистр венозных тромбозов SWIVTER (2012 г.), 52% были старше 65 лет. У пожилых больных наблюдалась тенденция более частого развития массивной ТЭЛА [12]. В регистрах REITE (2008 г.) и ICOPER (1999 г.) риск неблагоприятного исхода также ассоциирован с возрастом старше 75 и 70 лет соответственно [2, 8]. Приведенные данные о более высоком риске фатального исхода при ТЭЛА у пожилых пациентов, при наличии тяжелой соматической патологии, неоднократно подтверждались в других работах [10, 13–15].

Риск рецидивов венозной тромбозии также

выше среди лиц пожилого возраста, страдающих ожирением, имеющих онкопатологию и антифосфолипидный синдром, а также в случае неспровоцированной индексной ТЭЛА [16]. Однако значительно реже в зарубежных исследованиях встречается высокая частота таких факторов риска, как хроническая сердечная недостаточность и перенесенное острое нарушение мозгового кровообращения: так, среди пациентов США в регистре EMPERIOR данные факторы риска определены в 7,50 и 2,80% случаев соответственно [3]. Полученные результаты могут быть обусловлены более старшим возрастом пациентов с ТЭЛА российской популяции, а также меньшей приверженностью лечению сердечно-сосудистой патологии адекватными дозами лекарственных препаратов. Однако пожилой возраст, как мощный немодифицируемый фактор риска, способен оказывать влияние как на летальный риск, так и частоту развития нефатальных неблагоприятных исходов. Именно возраст, по нашему мнению, внес вклад в расчетный балл по индексу PESI, и большинство пациентов были стратифицированы в группы промежуточного и высокого риска в регистре Кузбасса. На одышку/нехватку воздуха и боль/дискомфорт в грудной клетке также чаще жаловались пациенты регистра Кузбасса, что, вероятно, вызвано присутствием более тяжелой сопутствующей патологии в данной выборке. Однако даже при

Таблица 2. Сравнительная характеристика лечебной тактики у пациентов с ТЭЛА регистра Кемеровской области и российского регистра «СИРЕНА»

Table 2. Comparative characteristics of management of patients with PE included in the Kemerovo region registry and the SIRENA registry

Показатель / Parameter	Регистр Кузбасса / Kuzbass Registry, n = 185	«СИРЕНА» / SIRENA, n = 609	
ТЛТ / TLT, n (%)	56 (30,30)	152 (25,00)	0,179
Нефракционированный гепарин / Unfractionated heparin, n (%)	19 (10,27)	132 (21,67)	0,012
НМГ / LMWH, n (%)	167 (90,27)	538 (88,34)	0,354
Дабигатран / Dabigatran, n (%)	76 (41,08)	183 (30,04)	0,875
Варфарин / Warfarin, n (%)	30 (16,22)	110 (18,06)	0,369
Апиксабан / Apixaban, n (%)	20 (10,81)	46 (7,55)	0,527
Ривароксабан / Rivaroxaban, n (%)	53 (28,65)	202 (33,16)	0,378
Целевой уровень достижения МНО при приеме варфарина в стационаре / The target level of achieving INR on warfarin in the hospital, n (%)	100,00	59 (48,40)	0,008
Установка кава-фильтра / Installing a cava filter, n (%)	0	8 (1,30)	–
Эмболектомия из ЛА / Embolectomy from PA, n (%)	8 (4,30)	0	–
Эндоваскулярная фрагментация тромба в ЛА с локальным тромболитическим / Endovascular fragmentation of a blood clot in PA with local thrombolysis, n (%)	3 (1,62)	0	–
Госпитальные исходы / Hospital outcomes			
Летальный госпитальный исход / In-hospital mortality, n (%)	15 (8,10)	60 (9,90)	0,59
Кровотечение на стационарном этапе наблюдения / Bleeding at the inpatient stage of follow-up, n (%)	0	25 (12,70)	–

Примечание: ЛА – легочная артерия; МНО – международное нормализованное отношение; НМГ – низкомолекулярные гепарины; ТЛТ – тромболитическая терапия.

Note: INR – international normalized ratio; LMWH – low molecular weight heparins; PA – pulmonary artery; TLT – thrombolytic therapy.

наличии клинических симптомов ТЭЛА они могут быть неверно интерпретированы ввиду их неспецифичности [17]. По частоте встречаемости ключевых симптомов результаты регистра СИРЕНА во многом совпали с данными регистра 20-летней давности ICOPER. В частности, в регистрах СИРЕНА и ICOPER пациенты в качестве дебюта заболевания отмечали одышку в 89 и 80% случаев, синкопальное/пресинкопальное состояние – в 30 и 20%, кашель – в 17 и 20%, боль в нижней конечности или их асимметрию – в 9 и 15%, кровохарканье – в 9 и 10% случаев соответственно [2]. Многогранность первых симптомов ТЭЛА показана и в американском регистре 2011 г., в котором наиболее частыми симптомами были одышка (72%), боль в груди (39%) и отек конечностей, свидетельствующий о тромбозе глубоких вен (24%), лишь у 5% пациентов заболевание дебютировало с синкопальных состояний [18].

Следует отметить высокий уровень диагностических и лечебных мероприятий в Кузбасском кардиологическом центре. Так, согласно современным рекомендациям, всем пациентам, поступившим с подозрением на ТЭЛА, были выполнены ЭхоКГ и МСКТ, а результаты российского регистра показали, что данные процедуры были проведены только в 80% случаев. Также регистр «СИРЕНА» продемонстрировал недостижение целевого активированного частичного тромбопластинового времени на фоне лечения антикоагулянтами, среди пациентов с ТЭЛА из регистра Кузбасса 90% получали НМГ в острой стадии заболевания, что наиболее эффективно согласно современным рекомендациям. Кроме того, в Кемеровском кардиологическом центре применяются хирургические технологии по элиминации эмбола из ветвей легочной артерии, в том числе эндоваскулярные, что соответствует европейским тенденциям лечения ТЭЛА [19]. Различия в хирургической тактике ведения пациентов объяснимы специализацией центров и наличием хирургической базы – безусловно, лечение наиболее эффективно при госпитализации больного в сосудистый центр [20].

В проведенном анализе пациенты регистров не различались по госпитальным летальным исходам (8 и 10% соответственно). В регистре EMPERIOR 30-дневная смертность от всех причин составила лишь 5,4% (95% доверительный интервал 4,4–6,6) [3]. Общая летальность в течение 3 мес. после индексной ТЭЛА в регистре ICOPER (1999 г.) составила 17%, при этом вследствие рецидива ТЭЛА – 45%, а онкопатологии – 18% [2]; в регистре REITE (2008 г.) зарегистрирован более низкий уровень общей смертности и смертности от рецидива ТЭЛА – 8,65 и 1,68% соответственно [8], на более позднем этапе наблюдения этого же регистра (2018 г.) – уже 5,3% [21]. В регистре DNPR 30- и 90-дневная смертность снизилась в период с 2004 по 2014 г. с 17 до 11% и с 23 до 18% соответственно [9, 11]. На госпитальном этапе

наблюдения в регистре Томска госпитальная летальность составила лишь 4,4%. Причинами фатальной ТЭЛА в регистре Томска выступили такие факторы, как рецидивирующее течение (30,80%) и онкопатология (18%), крупные оперативные вмешательства (19%) и длительная иммобилизация (86%) [5].

Таким образом, проведенный анализ показывает различие возраста, пола и сопутствующей соматической патологии у пациентов как российских, так и зарубежных регистров ТЭЛА. Участники российских исследований в целом сопоставимы по полученным результатам, но отличаются от пациентов зарубежных регистров высокой частотой сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний. Следует отметить, что регистры ТЭЛА проведены в разное время и с разными тактиками ведения и лечения больных.

Заключение

Пациенты с ТЭЛА в Кемеровской области характеризуются преобладанием лиц женского пола, более старшим возрастом и наличием сердечно-сосудистой патологии (артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, застойная сердечная недостаточность, а также венозная тромбоземболия в анамнезе) в сравнении с лицами, включенными в общероссийский регистр «СИРЕНА». При этом среди кемеровских пациентов значительно меньше случаев хирургических вмешательств, спровоцировавших развитие ТЭЛА, что, вероятно, связано с эффективной антикоагулянтной профилактикой осложнений. В лечении больных ТЭЛА обращает внимание частое применение фибринолизиса. Пациенты Кемеровской области не отличались от лиц российского регистра по степени риска 30-дневной смерти, показателям ЭхоКГ и МСКТ. При этом только в Кузбассе применялись хирургические методы элиминации тромба из легочных артерий.

Конфликт интересов

Е.А. Шмидт заявляет об отсутствии конфликта интересов. С.А. Бернс заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.А. Ложкина заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.Н. Каретникова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.Б. Печерина заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.Л. Барбараш является главным редактором журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний».

Финансирование

Исследование проведено в рамках фундаментальной темы НИИ № 0419-2022-0002 «Разработка инновационных моделей управления риском развития болезней системы кровообращения с учетом коморбидности на основе изучения фундаментальных, клинических, эпидемиологических механизмов и организационных технологий медицинской

помощи в условиях промышленного региона Сибири (научный руководитель – академик РАН О.Л.

Барбараш), № госрегистрации 122012000364-5 от 20.01.2022.

Информация об авторах

Шмидт Евгения Александровна, доктор медицинских наук, доцент ведущий научный сотрудник лаборатории патологии кровообращения отдела клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-3215-2140

Бернс Светлана Александровна, доктор медицинских наук профессор кафедры терапии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-1002-1895

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

Каретникова Виктория Николаевна, доктор медицинских наук заведующая лабораторией патологии кровообращения отдела клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-9801-9839

Печерина Тамара Борзалиевна, кандидат медицинских наук старший научный сотрудник лаборатории патологии кровообращения отдела клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4771-484X

Барбараш Ольга Леонидовна, академик 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

Вклад авторов в статью

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

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

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

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

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

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

Author Information Form

Shmidt Evgenia A., PhD, Associate Professor, Leading Researcher at the Laboratory of Circulatory Pathology, Department of Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3215-2140

Berns Svetlana A., PhD, Professor at the Department of Therapy, Federal State Budgetary Institution “National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-1002-1895

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

Karetnikova Victoria N., PhD, Head of the Laboratory of Circulatory Pathology, Department of Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-9801-9839

Pecherina Tamara B., PhD, Senior Researcher at the Laboratory of Circulatory Pathology, Department of Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4771-484X

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

Author Contribution Statement

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

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

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Konstantinides S.V., Meyer G., Becattini C., Bueno H., Geersing G.-J., Harjola V.-P., Huisman M.V., Humbert M. и др. Рекомендации ESC по диагностике и лечению острой легочной эмболии, разработанные в сотрудничестве с Европейским респираторным обществом (ERS), 2019. Российский кардиологический журнал. 2020;25(8):180-239. doi:10.15829/1560-4071-2020-3848
2. Goldhaber S.Z., Visani L., De Rosa M. Acute pulmonary embolism: clinical outcomes in the International Cooperative Pulmonary Embolism Registry (ICOPER). *Lancet*. 1999;353(9162):1386-1389. doi: 10.1016/s0140-6736(98)07534-5
3. Pollack C.V., Schreiber D., Goldhaber S.Z., Slattery D., Fanikos J., O'Neil B.J., Thompson J.R., Hiestand B., Briese B.A., Pendleton R.C., Miller C.D., Kline J.A. Clinical characteristics, management, and outcomes of patients diagnosed with acute pulmonary embolism in the emergency department: initial report of EMPEROR (Multicenter Emergency Medicine Pulmonary Embolism in the Real World Registry). *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(6):700-706. doi: 10.1016/j.jacc.2010.05.071
4. Ботова С.Н., Починка И.Г., Дворникова М.И., Стронгин Л.Г., Гурьева Т.М. Клиническая характеристика тромбоемболии лёгочной артерии по данным госпитального регистра. *Кардиология: новости, мнения, обучение*. 2016;3:95-99.
5. Васильцева О.Я., Ворожцова И.Н., Крестинин А.В., Стефанова Е.В., Карпов Р.С. Факторы риска новых случаев госпитальной тромбоемболии легочной артерии и ее исход по данным аутопсий. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2012;11(5):45-48. doi: 10.15829/1728-8800-2012-5-45-48
6. Бернс С.А., Шмидт Е.А., Пенская Т.Ю., Груздева О.В., Жидкова И.И., Неешпапа А.Г., Барбараш О.Л. Метод пространственной тромбодинамики как инструмент контроля эффективности антикоагулянтной терапии у пациентов с тромбоемболией легочной артерии. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2020;9(4):12-20. doi: 10.17802/2306-1278-2020-9-4-12-20
7. Эрлих А.Д., Атаканова А.Н., Неешпапа А.Г., Черепанова Н.А., Барбараш О.Л., Муллова И.С., Бернс С.А., Шмидт Е.А., Дупляков Д.В. Российский регистр острой тромбоемболии легочной артерии СИРЕНА: характеристика пациентов и лечение в стационаре. *Российский кардиологический журнал*. 2020;25(10):159-167. doi: 10.15829/1560-4071-2020-3849
8. Laporte S., Mismetti P., Décousus H., Uresandi F., Otero R., Lobo J.L., Monreal M.; RIETE Investigators. Clinical predictors for fatal pulmonary embolism in 15,520 patients with venous thromboembolism: findings from the Registro Informatizado de la Enfermedad TromboEmbolica venosa (RIETE) Registry. *Circulation*. 2008;117(13):1711-1716. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.726232
9. Lehnert P., Lange T., Møller C.H., Olsen P.S., Carlsen J. Acute Pulmonary Embolism in a National Danish Cohort: Increasing Incidence and Decreasing Mortality. *Thromb Haemost*. 2018;118(03):539-546. doi: 10.1160/TH17-08-0531
10. Puurunen M.K., Gona P.N., Larson M.G., Murabito J.M., Magnani J.W., O'Donnell C.J. Epidemiology of venous thromboembolism in the Framingham Heart Study. *Thrombosis Research*. 2016;145:27-33. doi: 10.1016/j.thromres.2016.06.033
11. Willich S.N., Chuang L.H., van Hout B., Gumbs P., Jimenez D., Kroep S., Bauersachs R., Monreal M., Agnelli G., Cohen A. Pulmonary embolism in Europe - Burden of illness in relationship to healthcare resource utilization and return to work. *Thrombosis Research*. 2018;170:181-191. doi: 10.1016/j.thromres.2018.02.009
12. Spirk D., Husmann M., Hayoz D., Baldi T., Frauchiger B., Engelberger R., Amann-Vesti B., Baumgartner I., Kucher N. Predictors of in-hospital mortality in elderly patients with acute venous thrombo-embolism: the SWISS Venous ThromboEmbolism Registry (SWIVTER). *Eur Heart J*. 2012;33(7):921-926. doi: 10.1093/eurheartj/ehr392
13. Barco S., Mahmoudpour S.H., Planquette B., Sanchez O., Konstantinides S.V., Meyer G. Prognostic value of right ventricular dysfunction or elevated cardiac biomarkers in patients with low-risk pulmonary embolism: a systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J*. 2019;40:902-910. doi: 10.1093/eurheartj/ehy873
14. Kempny A., McCabe C., Dimopoulos K., Price L.C., Wilde M., Limbrey R., Gatzoulis M.A., Wort S.J. Incidence, mortality and bleeding rates associated with pulmonary embolism in England between 1997 and 2015. *International Journal of Cardiology*. 2019;277:229-234. doi: 10.1016/j.ijcard.2018.10.001
15. Васильцева О.Я., Едемский А.Г., Гранкин Д.С., Кливер Е.Н., Чернявский А.М. Путь от тромбоемболии легочной артерии к хронической тромбоемболической легочной гипертензии: факторы риска. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2021;25(3):11-19. doi: 10.21688/1681-3472-2021-3-11-19
16. Heit J.A. Predicting the risk of venous thromboembolism recurrence. *Am J Hematol*. 2012;87(Suppl_1):S63-7. doi: 10.1002/ajh.23128
17. Никулина Н.Н., Тереховская Ю.В. Эпидемиология тромбоемболии легочной артерии в современном мире: анализ заболеваемости, смертности и проблем их изучения. *Российский кардиологический журнал*. 2019;6:103-108. doi: 10.15829/1560-4071-2019-6-103-108
18. Wiener R.S., Schwartz L.M., Woloshin S. Time trends in pulmonary embolism in the United States: evidence of overdiagnosis. *Arch Intern Med*. 2011;171(9):831-837. doi: 10.1001/archinternmed.2011
19. Palm V., Rengier F., Rajiah P., Heussel C.P., Partovi S. Acute Pulmonary Embolism: Imaging Techniques, Findings, Endovascular Treatment and Differential Diagnoses. *Rofo*. 2020;192(1):38-49. doi: 10.1055/a-0900-4200
20. Homenko A.M., Kusmenko E.A., Pichugin V.V., Medvedev A.P. Endovascular Mechanical Thromboembolus Fragmentation in the Treatment of Critical Pulmonary Thromboembolism in Patients with Acute Hemorrhagic Stroke. *Sovrem Tekhnologii Med*. 2020;12(1):72-76. doi: 10.17691/stm2020.12.1.09
21. Bikdeli B., Lobo J.L., Jiménez D., Green P., Fernández-Capitán C., Bura-Riviere A., Otero R., DiTullio M.R., Galindo S., Ellis M., Parikh S.A., Monreal M.; RIETE Investigators. Early use of echocardiography in patients with acute pulmonary embolism: Findings from the RIETE registry. *J Am Heart Assoc*. 2018;7:e009042. doi: 10.1161/JAHA.118.009042

REFERENCES

1. Konstantinides S.V., Meyer G., Becattini C., Bueno H., Geersing G.-J., Harjola V.-P., Huisman M.V., Humbert M. et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS). *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(8):180-239. doi: 10.15829/1560-4071-2020-3848 (In Russian)
2. Goldhaber S.Z., Visani L., De Rosa M. Acute pulmonary embolism: clinical outcomes in the International Cooperative Pulmonary Embolism Registry (ICOPER). *Lancet*. 1999;353(9162):1386-1389. doi: 10.1016/s0140-6736(98)07534-5
3. Pollack C.V., Schreiber D., Goldhaber S.Z., Slattery D., Fanikos J., O'Neil B.J., Thompson J.R., Hiestand B., Briese B.A.,

- Pendleton R.C., Miller C.D., Kline J.A. Clinical characteristics, management, and outcomes of patients diagnosed with acute pulmonary embolism in the emergency department: initial report of EMPEROR (Multicenter Emergency Medicine Pulmonary Embolism in the Real World Registry). *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(6):700-706. doi: 10.1016/j.jacc.2010.05.071
4. Botova S.N., Pochinka I.G., Dvornikova M.I., Strongin L.G., Guryeva T.M. Clinical attributes of pulmonary embolism according to the hospital register. *Cardiology: news, opinions, training.* 2016;3:95-99 (In Russian)]
5. Vasil'tseva O.Y., Vorozhtsova I.N., Krestinin A.V., Stefanova E.V., Karpov R.S. Risk factors of incident in-hospital pulmonary embolism and its outcomes: autopsy study data. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2012;11(5):45-48. doi: 10.15829/1728-8800-2012-5-45-48 (In Russian)
6. Berns S.A., Shmidt E.A., Penskaya T.Yu., Gruzdeva O.V., Zhidkova I.I., Neeshpapa A.G., Barbarash O.L. Thrombodynamics as a tool for monitoring the effectiveness of anticoagulant therapy in patients with pulmonary embolism. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2020;9(4):12-20. doi: 10.17802/2306-1278-2020-9-4-12-20 (In Russian)
7. Erlikh A.D., Atakanova A.N., Neeshpapa A.G., Cherepanova N.A., Mullova I.S., Barbarash O.L., Berns S.A., Shmidt E.A., Duplyakov D.V. Russian register of acute pulmonary embolism SIRENA: characteristics of patients and in-hospital treatment. *Russian Journal of Cardiology.* 2020;25(10):159-167. doi: 10.15829/1560-4071-2020-3849 (In Russian)
8. Laporte S., Mismetti P., Décousus H., Uresandi F., Otero R., Lobo J.L., Monreal M.; RIETE Investigators. Clinical predictors for fatal pulmonary embolism in 15,520 patients with venous thromboembolism: findings from the Registro Informatizado de la Enfermedad TromboEmbolica venosa (RIETE) Registry. *Circulation.* 2008;117(13):1711-1716. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.726232
9. Lehnert P., Lange T., Møller C.H., Olsen P.S., Carlsen J. Acute Pulmonary Embolism in a National Danish Cohort: Increasing Incidence and Decreasing Mortality. *Thromb Haemost.* 2018;118(03):539-546. doi: 10.1160/TH17-08-0531
10. Puurunen M.K., Gona P.N., Larson M.G., Murabito J.M., Magnani J.W., O'Donnell C.J. Epidemiology of venous thromboembolism in the Framingham Heart Study. *Thrombosis Research.* 2016;145:27-33. doi: 10.1016/j.thromres.2016.06.033
11. Willich S.N., Chuang L.H., van Hout B., Gumbs P., Jimenez D., Kroep S., Bauersachs R., Monreal M., Agnelli G., Cohen A. Pulmonary embolism in Europe - Burden of illness in relationship to healthcare resource utilization and return to work. *Thrombosis Research.* 2018;170:181-191. doi: 10.1016/j.thromres.2018.02.009
12. Spirk D., Husmann M., Hayoz D., Baldi T., Frauchiger B., Engelberger R., Amann-Vesti B., Baumgartner I., Kucher N. Predictors of in-hospital mortality in elderly patients with acute venous thrombo-embolism: the SWISS Venous ThromboEmbolic Registry (SWIVTER). *Eur Heart J.* 2012;33(7):921-926. doi: 10.1093/eurheartj/ehr392
13. Barco S., Mahmoudpour S.H., Planquette B., Sanchez O., Konstantinides S.V., Meyer G. Prognostic value of right ventricular dysfunction or elevated cardiac biomarkers in patients with low-risk pulmonary embolism: a systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J.* 2019;40:902-910. doi: 10.1093/eurheartj/ehy873
14. Kempny A., McCabe C., Dimopoulos K., Price L.C., Wilde M., Limbrey R., Gatzoulis M.A., Wort S.J. Incidence, mortality and bleeding rates associated with pulmonary embolism in England between 1997 and 2015. *International Journal of Cardiology.* 2019;277:229-234. doi: 10.1016/j.ijcard.2018.10.001
15. Vasil'tseva O.Ya., Edemskiy A.G., Grankin D.S., Kliver E.N., Chernyavskiy A.M. From pulmonary embolism to chronic thromboembolic pulmonary hypertension: risk factors. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery.* 2021;25(3):11-19. doi: 10.21688/1681-3472-2021-3-11-19 (In Russian)
16. Heit J.A. Predicting the risk of venous thromboembolism recurrence. *Am J Hematol.* 2012;87(Suppl_1):S63-7. doi: 10.1002/ajh.23128
17. Nikulina N.N., Terekhovskaya Yu.V. Epidemiology of pulmonary embolism in today's context: analysis of incidence, mortality and problems of their study. *Russian Journal of Cardiology.* 2019;(6):103-108. doi: 10.15829/1560-4071-2019-6-103-108 (In Russian)
18. Wiener R.S., Schwartz L.M., Woloshin S. Time trends in pulmonary embolism in the United States: evidence of overdiagnosis. *Arch Intern Med.* 2011;171(9):831-837. doi: 10.1001/archinternmed.2011
19. Palm V., Rengier F., Rajiah P., Heussel C.P., Partovi S. Acute Pulmonary Embolism: Imaging Techniques, Findings, Endovascular Treatment and Differential Diagnoses. *Rofo.* 2020;192(1):38-49. doi: 10.1055/a-0900-4200
20. Homenko A.M., Kusmenko E.A., Pichugin V.V., Medvedev A.P. Endovascular Mechanical Thromboembolism Fragmentation in the Treatment of Critical Pulmonary Thromboembolism in Patients with Acute Hemorrhagic Stroke. *Sovrem Tekhnologii Med.* 2020;12(1):72-76. doi: 10.17691/stm2020.12.1.09
21. Bikdeli B., Lobo J.L., Jiménez D., Green P., Fernández-Capitán C., Bura-Riviere A., Otero R., DiTullio M.R., Galindo S., Ellis M., Parikh S.A., Monreal M.; RIETE Investigators. Early use of echocardiography in patients with acute pulmonary embolism: Findings from the RIETE registry. *J Am Heart Assoc.* 2018;7:e009042. doi: 10.1161/JAHA.118.009042

Для цитирования: Шmidt E.A., Бернс С.А., Ложкина О.А., Каретникова В.Н., Печерина Т.Б., Барбараш О.Л. Клинико-anamnestические особенности и тактика ведения пациентов с тромбозом легочной артерии в Кемеровской области в сравнении с результатами российского регистра «СИРЕНА». *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2024;13(3): 144-153. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-144-153

To cite: Shmidt E.A., Berns S.A., Lozhkina O.A., Karetnikova V.N., Pecherina T.B., Barbarash O.L. Clinical and anamnestic features and management of patients with pulmonary embolism in the Kemerovo region in comparison with the results of the "SIRENA" Russian registry. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2024;13(3): 144-153. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-144-153

ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ КЛЕТКАМИ ЛИНИИ ТНР-1 ПРИ СТИМУЛЯЦИИ *IN VITRO*

А.Д. Акино¹, А.А. Рубинштейн², И.А. Головкин³, П.В. Тирикова¹, А.С. Трулев²,
И.В. Кудрявцев^{1,2}, А.С. Головкин¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Акkuratова, 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341; ² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», ул. Академика Павлова, 12, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197022; ³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО», Кронверкский пр., 49А, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197101

Основные положения

- Внеклеточные везикулы (ВВ) – мембранные объекты с молекулярным грузом внутри себя и на поверхности, выполняющие разнообразные биологические функции, связанные с межклеточным взаимодействием, поэтому являются перспективным объектом для диагностических и терапевтических целей.
- Культура клеток острого миелоидного лейкоза человека (ТНР-1) – классическая модельная моноцитарно-макрофагальная система. Спектр секретируемых этой культурой ВВ гетерогенен и недостаточно охарактеризован к настоящему времени.
- В работе проведено сравнение продуцируемых клетками ТНР-1 ВВ при воздействии различных стимуляторов.

Цель

Количественная и качественная характеристика внеклеточных везикул (ВВ), продуцируемых клетками линии ТНР-1, в зависимости от использованного стимулятора и его дозы.

Материалы и методы

В исследовании использованы клетки культуры ТНР-1. Для стимуляции клеток применены 4-форбол-12-миристинат-13-ацетат (РМА) в дозах 5, 16 и 50 нг/мл, липополисахарид (ЛПС) в дозах 0,1, 0,3 и 1,0 нг/мл и фактор некроза опухоли (ФНО) в дозах 5, 10 и 20 нг/мл. Активация клеток оценена изменением уровня экспрессии CD54, а наличие апоптоза/некроза – посредством подсчета DAPI (4',6-диамидино-2-фенилиндола)-позитивных клеток с помощью высокочувствительной проточной цитометрии (hs-FCM). Размерность продуцируемых везикул и их количественная характеристика приведены с использованием анализа траектории наночастиц (NTA). Качественная характеристика экспрессируемых поверхностных молекулярных маркеров (CD9, CD63, CD54) представлена с помощью высокочувствительной многоцветной проточной цитометрии (hs-FCM).

Результаты

Стимуляция ФНО и РМА в средних и высоких дозировках приводит к нарастанию секретируемой фракции малых (30–150 нм) ВВ, экспрессирующих тетраспаниновые маркеры (CD9, CD63). Малые дозы ФНО и РМА не приводили к достоверному приросту количества ВВ. При использовании всех дозировок ЛПС отмечено некоторое количественное снижение ВВ в диапазоне 30–150 нм (малые ВВ). Однако средние и высокие дозы ЛПС вызывали достоверную селективную секрецию CD63-положительных ВВ при полном отсутствии динамики изменения CD9-позитивных везикул. Активация клеток, оцениваемая по экспрессии CD54, носила дозозависимый характер и была наиболее выражена при стимуляции РМА.

Заключение

Каждый вид использованной стимуляции клеток ТНР-1 провоцирует изменение функциональной активности клеток в отношении продуцируемых ими ВВ. При этом может меняться не только количественный, но и качественный состав продуцируемых объектов. Наиболее предпочтительными в стимуляции везикуляции оказались средние и высокие дозы ФНО и РМА.

Стимуляция ЛПС в средних и высоких дозах может быть использована для получения изолированной CD63-положительной фракции ВВ.

Ключевые слова

ТНР-1 • Внеклеточные везикулы • Экзосомы • Микровезикулы • Фактор некроза опухоли • Липополисахарид • 4-форбол-12-миристан-13-ацетат

Поступила в редакцию: 04.04.2024; поступила после доработки: 31.05.2024; принята к печати: 04.06.2024

FEATURES OF EXTRACELLULAR VESICLE PRODUCTION BY THP-1 CELLS DURING *IN VITRO* STIMULATION

A.D. Aquino¹, A.A. Rubinstein², I.A. Golovkin³, P.V. Tirikova¹, A.S. Trulioff², I.V. Kudryavtsev^{1,2}, A.S. Golovkin¹

¹ Federal State Budgetary Institution “Almazov National Medical Research Centre” of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2, Akkuratova St., St. Petersburg, Russian Federation, 197341; ² Federal State Budgetary Scientific Institution “Institute of Experimental Medicine”, 12, Akademika Pavlova St., St. Petersburg, Russian Federation, 197022; ³ ITMO University, 49A, Kronverksky Ave., St. Petersburg, Russian Federation, 197101

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Highlights

- Extracellular vesicles (EVs) are membrane objects with inner and surface molecular cargo performing various biological functions associated with intercellular connection. Therefore, they are a promising object for diagnostic and therapeutic purposes.
- THP-1 is a human leukemia monocytic cell line and a classic model for monocyte/macrophage function and differentiation. Spectrum of THP-1-derived extracellular vesicles are heterogenic and understudied.
- The review presents the comparison of EVs produced by stimulated THP-1 cells.

Aim

To quantitatively and qualitatively characterize THP-1-derived extracellular vesicles in depending on type and dose of used stimulators.

Methods

THP-1 cells were stimulated by PMA (4-phorbol 12-myristate 13-acetate), LPS (lipopolysaccharide) and TNF (tumor necrosis factor). Cell activation and viability were assessed by the expression of CD54 and DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) staining respectively. Size and quantitative characteristics were assessed using nanoparticle tracking analysis (NTA). Qualitative assessment of surface molecular markers (CD9, CD63, CD54) was performed by high-sensitivity multicolor flow cytometry (hs-FCM).

Results

TNF and PMA stimulation in medium and high doses led to an increase in quantity of small EVs (30–150 nm) that express tetraspanins CD9 and CD63. Low doses of TNF and PMA did not lead to a significant increase of EVs compared to control. There was a decrease in amount of small EVs (30–150 nm) in LPS-stimulated probes. However, medium and high doses of LPS stimulated selective CD63-positive EVs secretion with absence of CD9-positive events. Cell activation assessed by CD54 expression have been dose-dependent and was most prominent under PMA stimulation.

Conclusion

Every type of THP-1 cell activators promotes changes in the functional activity of cells towards production of extracellular vesicles. Moreover, we have demonstrated quantitative and qualitative difference in THP-1-derived vesicles under different stimulation conditions. Medium and high doses of PMA and TNF were the most relevant in stimulation of vesiculation. LPS-stimulation could be used to selectively obtain CD63-positive fraction of EV.

Keywords

THP-1 • Extracellular vesicles • Exosomes • Microvesicles • Tumor necrosis factor • Lipopolysaccharide • 4-forbol-12-myristate-13-acetate

Received: 04.04.2024; received in revised form: 31.05.2024; accepted: 04.06.2024

Список сокращений

ВВ	–	внеклеточные везикулы	ICAM1	–	молекула межклеточной адгезии 1
ЛПС	–	липополисахарид	PMA	–	4-форбол-12-миристан-13-ацетат
ФНО	–	фактор некроза опухоли			

Введение

Внеклеточные везикулы (ВВ) представляют собой гетерогенную группу мембранных структур клеточного происхождения, включающую экзосомы, микровезикулы и апоптотические тельца [1–3]. Во многих исследованиях показана их вовлеченность в межклеточную коммуникацию за счет переносимого ими груза как внутри одного организма, так и между видами [4–7]. Клетки иммунной системы человека, в частности клетки моноцитарно-макрофагального ростка, также используют везикулы для внеклеточного взаимодействия. Уже продемонстрировано, что моноцитарные и макрофагальные везикулы участвуют в регуляции ангиогенеза, коагуляционного и костного гомеостаза [8–15].

Так, в 2008 г. в эксперименте *in vitro* определено, что микровезикулы, полученные из культуры клеток THP-1, активированной эндотоксином и ионофором кальция или голоданием, вызывают апоптоз и дисбаланс тромбогенных/анти тромбогенных факторов в сторону прокоагуляции у эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVEC) [11]. Кроме того, в этой же работе показана их возможная вовлеченность в ангиогенез за счет стимуляции образования трубочек, схожих с человеческими сосудами [11]. В дополнение к вышесказанному внеклеточные везикулы, полученные от THP-1, обработанные пальмитиновой кислотой, стимулируют эндотелиальную миграцию и увеличение экспрессии молекул адгезии (VCAM1, ICAM1) у тех же эндотелиальных клеток [16]. Однако везикулы из макрофагов, дифференцированных из THP, угнетают миграцию клеток эндотелия (HUVEC) за счет изменения экспрессии интегринов на их поверхности [17]. Стоит отметить, что везикулы, полученные из клеточной линии макрофагов крыс (Raw 264.7), оказывают противоположный эффект, а именно стимулируют ангиогенез *in vitro* и ускоряют рост сосудов *in vivo* [8].

Кроме того, внеклеточные везикулы вовлечены в процесс воспаления. Например, ВВ, полученные непосредственно из культуры клеток THP-1, обладают иммуномодулирующей функцией во время инфекционного процесса [18]. Более того, везикулы из M1-поляризованных макрофагов за счет входящей в их состав *miR-1246* способствуют воспалению в височно-нижнечелюстном суставе посредством активации пути Wnt/ β -катенин, а везикулы из M2-макрофагов, несущих длинную некодирующую РНК MEG3, участвуют в воспалительных реакциях при язвенном колите [14, 19]. Также показана роль

ВВ в воспалительных процессах в эндотелии при артериальной гипертензии [20] и в различных инфекционных и неинфекционных заболеваниях печени [21, 22]. С другой стороны, в ряде случаев у макрофагальных везикул отмечают противовоспалительные эффекты. Так, макрофагальные везикулы оказывали противовоспалительный эффект путем подавления продукции цитокинов макрофагами в мышинной модели острого гепатита, индуцированного конканавалином А [23]. А.С. Shi и коллеги обнаружили в везикулах из культуры THP-1 белок теплового шока 27 (HSP27), оказывающий противовоспалительное действие, ингибирующий атерогенез и снижающий уровень холестерина [24]. Все это свидетельствует о плейотропном действии внеклеточных везикул в зависимости от стадии дифференцировки клеток моноцитарно-макрофагального ряда или стимулятора, подействовавшего на них.

Использованная во многих описанных выше экспериментах культура THP-1 – это клетки моноцитарного ряда человека, полученные от больного острым миелоидным лейкозом. Данная культура уже показала свою состоятельность в моделировании поляризации и функциональных особенностей моноцитов и макрофагов [25–27]. В литературе описано множество способов стимуляции и поляризации THP-1, в том числе применяют протоколы стимуляции с использованием липополисахарида (ЛПС) [21, 25, 28–32], форбол 12-миристан 13-ацетата (phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA) [27, 33–36] и фактора некроза опухолей (ФНО) [37, 38]. Однако внеклеточные везикулы, выделяемые стимулированными клетками THP-1, а также обуславливающие их множественную биологическую функцию, изучены недостаточно. **Целью настоящей работы** стала количественная и качественная характеристика внеклеточных везикул, продуцируемых клетками линии THP-1, в зависимости от использованного стимулятора и его дозы.

Материалы и методы

Культивирование и стимуляция клеток культуры THP-1

Культура опухолевых моноцитоподобных клеток линии THP-1 («Российская коллекция клеточных культур института цитологии РАН», Россия) содержалась и выращивалась в питательной среде RPMI-1640 («Биолот», Санкт-Петербург) с добавлением L-глутамина («Биолот», Санкт-Петербург), гентамицина и 10% эмбриональной сыворотки те-

ленка (Hyclone, США) во флаконе для культивирования клеток в условиях инкубатора при температуре 37 °C и с 5%-м содержанием CO₂ в воздухе, как это было описано ранее [39]. Пассажи́рование клеток проводилось два раза в неделю с интервалом в 2–3 дня. Кратность пересева составляла 1:4.

Затем собрали 22,5 млн клеток, отмыли в свежей среде RPMI1640 («Биолот», Москва, Россия) без сыворотки и развели в RPMI1640 с 10% FBS (Gibco, ThermoFisher, США) в концентрации 500 тыс. клеток в миллилитре. После этого вносили клетки в лунки 6-луночного планшета в объеме 3 мл на лунку (по $1,5 \times 10^6$ клеток). Затем к клеткам добавили стимуляторы TNF (BioLegend, США; конечные концентрации 5, 10 и 20 нг/мл), PMA (Sigma Aldrich, США; конечные концентрации 5, 16 и 50 нг/мл) или бактериальный ЛПС (Sigma Aldrich, США; конечные концентрации 0,1, 0,3, 1,0 нг/мл). В качестве отрицательного контроля к клеткам добавили равный объем питательной среды PRMI-1640. После чего клетки инкубировали в течение суток при 37 °C и 5% CO₂. По окончании инкубации содержимое лунок собирали и центрифугировали 15 мин со скоростью 1 500 g, надосадки отбирали в свежие пробирки и повторно центрифугировали 15 мин со скоростью 1 500 g, затем надосады переносили в свежие пробирки и центрифугировали 15 мин со скоростью 3 000 g. Надосады отбирали в свежие пробирки, замораживали и хранили при –70 °C до дальнейшего использования. Все эксперименты делали в тройных повторах.

После разморозки при комнатной температуре образцы фракционировали при помощи центрифугирования (30 мин при 16 000 g). После чего надосады удаляли, а осадок ресуспендировали в 100 µl DPBS без Ca и Mg («Биолот», Россия).

Имунофенотипирование клеток ТНР-1

Окрашивание клеток культуры ТНР-1 проводили через 24 ч после стимуляции с использованием моноклональных антител, конъюгированных с флюорофорами anti-CD54-PE (Beckman Coulter, США), anti-CD209-PE (Beckman Coulter, США) и anti-CD16-PC7 (Beckman Coulter, США). Окрашивали образцы в соответствии с рекомендациями производителя: 100 мкл суспензии клеток ТНР-1 окрашивали вышеуказанными антителами при комнатной температуре в течение 20 мин в темноте. Затем все образцы дважды промывали (330 г в течение 7 мин) стерильным PBS с добавлением 2% фетальной телячьей сыворотки (FCS) (Sigma-Aldrich Co., США), ресуспендировали в 200 мкл свежего PBS. Для удаления погибших клеток из зоны анализа, а также для определения жизнеспособности клеток линии ТНР-1 в ответ на стимуляцию применяли ДНК-связывающий краситель DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole, BioLegend,

США) в финальной концентрации 10 нг/мл, как это показано ранее [40].

Имунофенотипирование внеклеточных везикул

Окрашивание внеклеточных везикул проводили с использованием следующих моноклональных антител, конъюгированных с флюорофорами anti-CD54-PE (Beckman Coulter, США), Annexin V-FITC (BioLegend, США), anti-CD14-KromeOrange (Beckman Coulter, США), anti-CD9-PE/Cy7 (BioLegend, США), anti-CD63-APC (BioLegend, США). 100 мкл ранее фракционированного образца окрашивали 1 мкл соответствующих антител в течение 20 мин при комнатной температуре в темноте. Окрашенный образец разбавляли DPBS до исчезновения эффекта наложения (coincidence) по ранее описанной методике [41–43]. Рабочими разведениями для цитометрии были 1:50 и 1:100 в зависимости от использованной панели и концентрации детектируемых частиц.

Анализировали внеклеточные везикулы с использованием проточного лазерного цитометра CytoFLEX S (Beckman Coulter, США). Настройка калибровки прибора выполнена с помощью эталонного набора Cytometry Sub-Micron Particle Size Reference Kit, молекулярных зондов от Life Technologies, а также Megamix-Plus FSC и Megamix-Plus SSC (Bioscytex, Франция), содержащих FITC-меченые частицы различных известных диаметров. Все контроли, в том числе контроль наличия мембран с использованием детергентов, контроль ложноположительных и ложноотрицательных результатов, выполнены в соответствии с ранее опубликованными требованиями [6, 44] и ранее описанной нами методикой [41, 42, 45].

Анализ и оценку полученных результатов фенотипирования клеток и внеклеточных везикул проводили в программной среде Cytexpert 2.4 (Beckman Coulter, США) и Kaluza 2.1 (Beckman Coulter, США).

Анализ траектории наночастиц (NTA)

Для определения размера и концентрации исследуемых внеклеточных везикул использовали прибор NanoSight (NanoSight Ltd, Великобритания), оборудованный синим лазером (488 нм). Перед анализом образцы были разбавлены в 1 мл ультраочищенной воды, полученной из прибора MilliPore (Merck Milipore, США), в соотношении 1:10 для создания оптимальной концентрации частиц для проведения анализа. Видеофиксацию результатов исследования проводили в режиме равномерной потоковой подачи образца в 5 технических повторах в течение 60 сек каждый.

Полученные изображения оценивали визуально с использованием программного обеспечения NTA 3.4 NanoSight (NanoSight Ltd, Великобритания).

Полученные видео процессировали с использованием программного обеспечения NTA 3.4 для отслеживания траекторий движения всех частиц. Результаты количества частиц анализировали в 4 диапазонах размерности: менее 30, 30–150, 150–400 и более 400 нм. Частицы менее 30 и более 400 нм были исключены из анализа для нивелирования влияния нецелевых частиц и апоптотических тел соответственно. Согласно литературным данным, в диапазоне размерности 30–150 нм находятся популяции внеклеточных везикул, называемые экзосомы (далее малые ВВ), а частицы в диапазоне 150–400 нм являются популяцией микровезикул (далее средние ВВ) [1, 2, 46, 47]. Все измерения проводили при температуре 26,1–27,1 °С, определенной с помощью термометра, прикрепленного к камере с образцом. Фон всех видеоданных автоматически извлечен перед отслеживанием частиц. Диаграммы распределения по размерам, значения среднего и стандартные отклонения рассчитаны в программе NTA 3.4 и использованы для последующего анализа.

Статистический анализ

Статистическую обработку проводили с использованием программ Statistica 12.0 (StatSoft, США) и GraphPad Prism 8 (GraphPad Software Inc., США).

Данные с проточного цитометра представлены в виде количества положительных событий в микролитре, а результаты с анализатора траектории наночастиц – в виде количества частиц в миллилитре. Результаты представлены в виде медианы и межквартильного размаха: Me (25; 75). Сравнение средних значений в выборках осуществляли с помощью непараметрического U-критерия Манна – Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Активация клеток культуры ТНР-1

Для оценки активации клеток изучали изменение уровня экспрессии молекул клеточной адгезии CD54 (ICAM1), CD209, CD16 и CD14. При стимуляции клеток ТНР-1 в возрастающих концентрациях ФНО (5, 10, 20 нг/мл), ЛПС (0,1, 0,3, 1,0 нг/мл) и РМА (5, 16, 50 нг/мл) во всех образцах наблюдалось увеличение экспрессии CD54 по сравнению с контрольными образцами (рис. 1). Наиболее выраженное усиление экспрессии было при стимуляции РМА и носило дозозависимый характер (см. рис. 1, В).

Все клетки, как в контроле, так и при стимуляции, конститутивно экспрессировали CD16, CD14 и CD209. Уровень их экспрессии не менялся при использовании стимуляторов.

Стимуляция ФНО и ЛПС не приводила к значи-

мому апоптозу/некрозу. Соотношение живых и погибших клеток в опытных образцах значимо не отличалось от такового в контрольных. При использовании РМА наблюдалось достоверное увеличение количества погибших клеток, повышающееся по мере увеличения дозы РМА (рис. 2).

Размерность и концентрация внеклеточных везикул

Средние размеры ВВ, измеренные с помощью NTA, по фракциям и суммарно представлены в табл. 1. Статистически значимых различий размера частиц при использовании разных стимуляторов не наблюдалось как в сравнении с контролем, так и между собой.

Концентрации ВВ рассчитаны с помощью анализа траектории наночастиц в каждом диапазоне размерности. Конечные концентрации представлены в табл. 2.

При всех видах стимуляции во всех дозах в диапазоне размерности частиц 150–400 нм не обнаружилось статистически значимых отличий в концентрациях частиц как по сравнению с контролем,

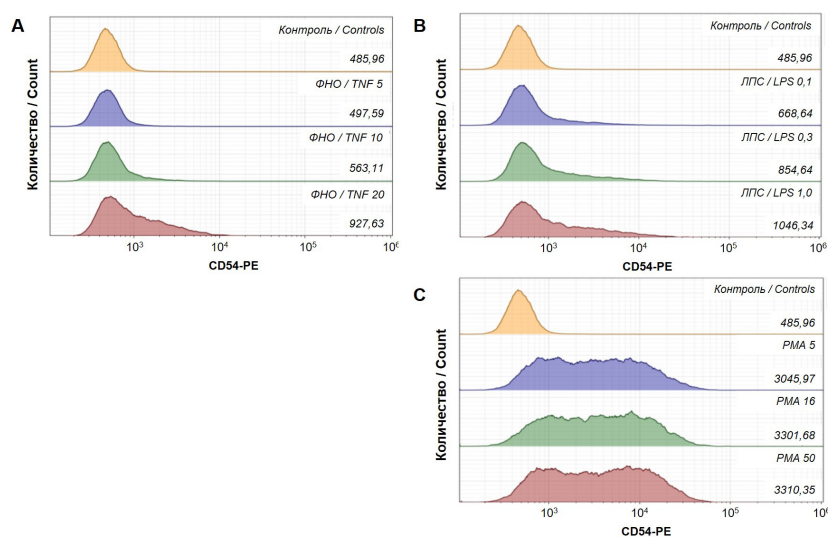


Рисунок 1. Сравнительная характеристика активации клеток ТНР-1 по интенсивности флуоресценции флуорохромов связавшихся антител: А – интенсивность флуоресценции при стимуляции ФНО в дозах 5, 10 и 20 нг/мл; В – интенсивность флуоресценции при стимуляции ЛПС в дозах 0,1, 0,3 и 1,0 нг/мл; С – интенсивность флуоресценции при стимуляции РМА в дозах 5, 16 и 50 нг/мл

Примечание: данные представлены в виде геометрического значения интенсивности флуоресценции CD54 по каналу фикоэритрина (PE). ЛПС – липополисахарид; ФНО – фактор некроза опухоли; РМА – 4-форбол-12-миристан-13-ацетат.

Figure 1. Comparative characteristics of THP-1 cells activation by fluorescence intensity: А – fluorescence intensity during LPS stimulation at doses of 5 ng/mL, 10 ng/mL and 20 ng/mL; В – fluorescence intensity during LPS stimulation at doses of 0.1 ng/mL, 0.3 ng/mL and 1.0 ng/mL; С – fluorescence intensity during PMA stimulation at doses of 5 ng/mL, 16 ng/mL, 50 ng/mL

Note: Data are presented as a geometric value of CD54 fluorescence intensity over the phycoerythrin (PE) channel. Doses of stimulants are provided as nanograms per milliliter (ng/mL). LPS – lipopolysaccharide; PMA – 4-phorbol-12-myristate-13-acetate; TNF – tumor necrosis factor.

так и между группами. Все достоверные различия обнаружены у частиц размером 30–150 нм. Определено достоверное увеличение концентрации частиц при стимуляции ФНО в дозах 10 и 20 нг/мл по сравнению с контролем ($p = 0,0002$ и $p < 0,0001$ соответственно). При воздействии ЛПС в дозах 0,3 и 1,0 нг/мл установлено достоверное снижение количества частиц по сравнению с контрольными образцами ($p = 0,0193$ и $p = 0,0080$ соответственно). При дозах РМА 16 и 50 нг/мл количество продуцируемых частиц увеличивалось в сравнении с контролем в 3,4 и в 2,3 раза соответственно ($p = 0,0057$ и $p = 0,0007$). Низкие дозы каждого из стимуляторов (ФНО 5 нг/мл, ЛПС 0,1 нг/мл и РМА 5 нг/мл) не приводили к достоверному изменению концентрации продуцируемых частиц.

Имунофенотипирование внеклеточных везикул, продуцируемых клетками линии ТНР-1

Количество аннексин V-положительных событий достоверно увеличивалось по сравнению с контролем только в случае стимуляции ФНО в высокой дозировке. Стимуляция другими индукторами во всех дозировках не приводила к достоверному изменению концентрации аннексин V-позитивных ВВ.

Количество CD9-позитивных событий не менялось при стимуляции ЛПС во всех дозах, а также при воздействии низких доз ФНО и РМА. Наблюдалось увеличение CD9-положительных событий при стимуляции ФНО и РМА в средних и высоких дозировках. Так, после стимуляции ФНО в дозе 10 и 20 нг/мл отмечено достоверное увеличение по сравнению с контролем ($p = 0,0014$ и $p = 0,0084$ соответственно). Аналогично при сравнении с кон-

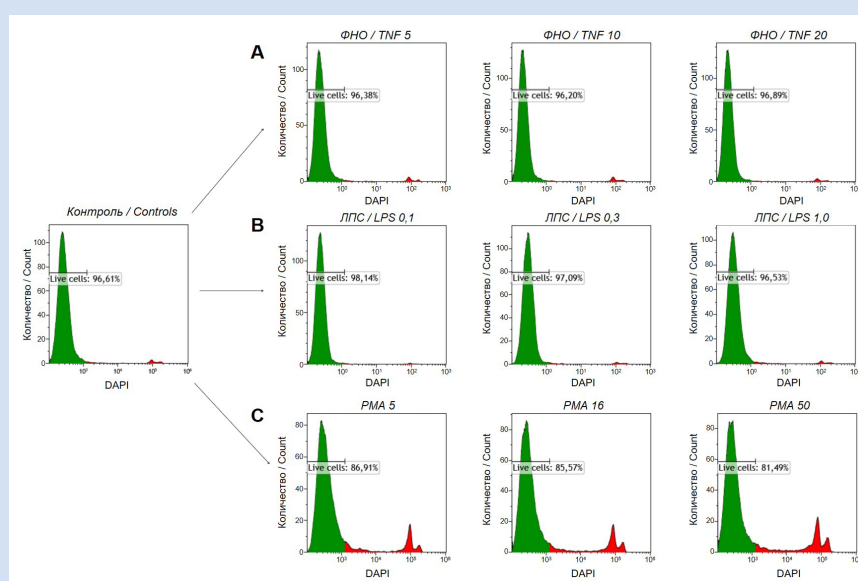


Рисунок 2. Процент живых и клеток в раннем апоптозе из культуры ТНР-1 через 24 ч после стимуляции, оцененный с помощью DAPI: А – стимуляция ФНО в дозах 5, 10 и 20 нг/мл; В – стимуляция ЛПС в дозах 0,1, 0,3 и 1,0 нг/мл; С – РМА в дозах 5, 16 и 50 нг/мл

Примечание: ЛПС – липополисахарид; ФНО – фактор некроза опухоли; РМА – 4-форбол-12-миристан-13-ацетат.

Figure 2. Percentage of live cells from THP-1 culture 24 hours after stimulation estimated using DAPI: А – TNF stimulation at doses of 5 ng/mL, 10 ng/mL, 20 ng/mL; В – LPS stimulation at doses of 0.1 ng/mL, 0.3 ng/mL, 1.0 ng/mL; С – PMA at doses of 5 ng/mL, 16 ng/mL and 50 ng/mL

Note: LPS – lipopolysaccharide; PMA – 4-phorbol-12-myristate-13-acetate; TNF – tumor necrosis factor.

Таблица 1. Размеры внеклеточных везикул

Table 1. Sizes of extracellular vesicles

Контроль / Control	30–150 нм / nm	150–400 нм / nm
Контроль / Control	89,8 ± 1,0	191,4 ± 2,3
ФНО / TNF 5	88,9 ± 1,3	196,2 ± 4,1
ФНО / TNF 10	88,7 ± 1,0	196,0 ± 3,2
ФНО / TNF 20	87,0 ± 1,0	187,8 ± 1,3
ЛПС / LPS 0,1	89,9 ± 1,5	190,5 ± 4,2
ЛПС / LPS 0,3	93,9 ± 1,7	193,7 ± 2,0
ЛПС / LPS 1,0	90,8 ± 2,8	192,3 ± 3,9
РМА 5	91,1 ± 1,2	186,5 ± 3,0
РМА 16	89,8 ± 0,7	184,5 ± 2,1
РМА 50	88,8 ± 0,4	187,6 ± 3,5

Примечание: ЛПС – липополисахарид; ФНО – фактор некроза опухоли; РМА – 4-форбол-12-миристан-13-ацетат.
Note: LPS – lipopolysaccharide; PMA – 4-phorbol-12-myristate-13-acetate; TNF – tumor necrosis factor.

Таблица 2. Концентрации продуцируемых внеклеточных везикул (частиц/мл) в диапазоне 30–150 и 150–400 нм, Ме (25; 75)

Table 2. Concentrations of THP-derived EVs (particles/mL) in the range of 30–150 nm and 150–400 nm Me (25; 75)

Контроль / Control	30–150 нм / nm	150–400 нм / nm
Контроль / Control	11,3 × 10 ⁸ (8,53 × 10 ⁸ ; 11,7 × 10 ⁸)	1,57 × 10 ⁸ (1,46 × 10 ⁸ ; 1,64 × 10 ⁸)
ФНО / TNF 5	13,0 × 10 ⁸ (12,0 × 10 ⁸ ; 13,5 × 10 ⁸)	1,87 × 10 ⁸ (1,57 × 10 ⁸ ; 2,31 × 10 ⁸)
ФНО / TNF 10	29,3 × 10 ⁸ (16,9 × 10 ⁸ ; 38,3 × 10 ⁸) [^]	2,43 × 10 ⁸ (1,74 × 10 ⁸ ; 2,80 × 10 ⁸)
ФНО / TNF 20	29,7 × 10 ⁸ (19,9 × 10 ⁸ ; 38,3 × 10 ⁸) [^]	2,35 × 10 ⁸ (1,68 × 10 ⁸ ; 2,95 × 10 ⁸)
ЛПС / LPS 0,1	8,34 × 10 ⁸ (5,27 × 10 ⁸ ; 9,33 × 10 ⁸)	1,11 × 10 ⁸ (0,95 × 10 ⁸ ; 1,33 × 10 ⁸)
ЛПС / LPS 0,3	5,57 × 10 ⁸ (4,65 × 10 ⁸ ; 7,31 × 10 ⁸) [^]	1,21 × 10 ⁸ (0,97 × 10 ⁸ ; 1,24 × 10 ⁸)
ЛПС / LPS 1,0	6,84 × 10 ⁸ (6,08 × 10 ⁸ ; 7,68 × 10 ⁸) [^]	1,48 × 10 ⁸ (1,44 × 10 ⁸ ; 1,61 × 10 ⁸)
РМА 5	9,57 × 10 ⁸ (9,30 × 10 ⁸ ; 12,1 × 10 ⁸)	1,37 × 10 ⁸ (1,33 × 10 ⁸ ; 1,73 × 10 ⁸)
РМА 16	37,5 × 10 ⁸ (12,1 × 10 ⁸ ; 44,8 × 10 ⁸) [^]	1,80 × 10 ⁸ (1,75 × 10 ⁸ ; 1,84 × 10 ⁸)
РМА 50	25,8 × 10 ⁸ (16,4 × 10 ⁸ ; 43,2 × 10 ⁸) [^]	2,37 × 10 ⁸ (1,93 × 10 ⁸ ; 2,55 × 10 ⁸)

Примечание: ^ $p < 0,01$ достоверность отличий с контролем. ЛПС – липополисахарид; ФНО – фактор некроза опухоли; РМА – 4-форбол-12-миристан-13-ацетат.
Note: ^ $p < 0.01$ statistically significant difference compared to controls. LPS – lipopolysaccharide; PMA – 4-phorbol-12-myristate-13-acetate; TNF – tumor necrosis factor.

тролем определено достоверное увеличение уровня ВВ после воздействия РМА в дозе 16 и 50 нг/мл ($p = 0,0003$ и $p = 0,0002$ соответственно).

При воздействии всех видов стимуляторов в низких дозах не найдено отличий по сравнению с контрольным образцом в уровне продуцируемых CD63-позитивных ВВ. При стимуляции ФНО в дозе и 20 нг/мл количество CD63⁺-везикул увеличивалось по сравнению с контролем ($p = 0,0016$ и $p = 0,0101$ соответственно). Количество CD63-положительных событий достоверно возрастало по сравнению с контролем после обработки РМА в дозе 16 и 50 нг/мл ($p = 0,0303$ и $p = 0,0062$ соответственно). После стимуляции ЛПС в дозе 0,3 и 1,0 нг/мл количество CD63-позитивных ВВ также

достоверно повышалось ($p = 0,0357$ и $p = 0,0357$ соответственно).

Количество продуцируемых CD54⁺ ВВ при стимуляции ФНО 10 и 20 нг/мл увеличивалось в 18 и в 29 раз соответственно. При использовании других стимулов изменения были менее выраженными. При применении РМА количество ВВ достоверно возрастало с случае использования всех дозировок, в то время как ЛПС, наоборот, в любой из дозировок не вызывал достоверного увеличения продуцируемых CD54⁺ ВВ. Количество продуцируемых CD14⁺ ВВ во всех случаях было незначительным и не менялось при использовании стимуляторов. Результаты фенотипирования внеклеточных везикул представлены в табл. 3.

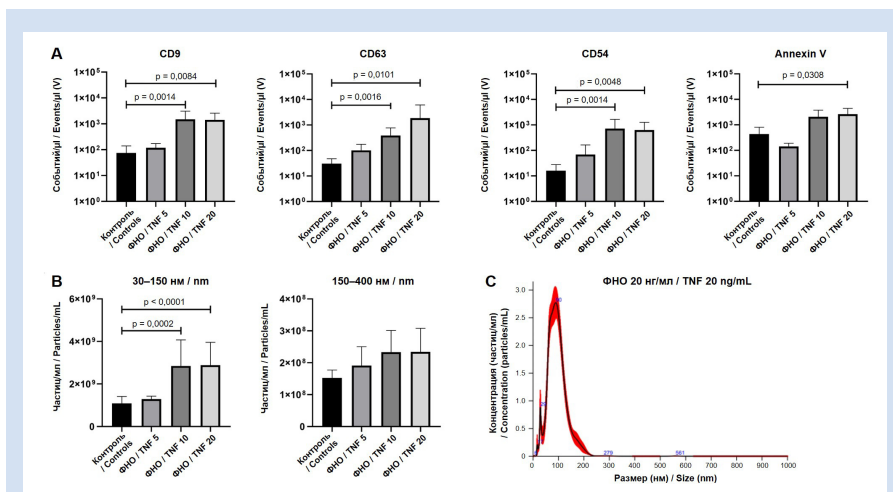


Рисунок 3. Характеристика ВВ, продуцируемых клетками THP-1 при их стимуляции ФНО: *A* – сравнительная характеристика эффектов различных доз ФНО на продукцию ВВ; *B* – количественная характеристика ВВ в различных диапазонах размерности; *C* – график концентрация/размер ВВ после стимуляции ФНО в дозе 20 нг/мл
Примечание: ВВ – внеклеточные везикулы; ФНО – фактор некроза опухоли.

Figure 3. Characteristics of THP-derived EVs upon TNF stimulation: *A* – comparative characterization of the effects of different doses of TNF on the EVs production; *B* – quantitative characterization of different size ranges of EVs; *C* – concentration/size graph of EVs after TNF stimulation at a dose of 16 ng/mL

Note: TNF – tumor necrosis factor.

Обсуждение

Стимуляция клеток ФНО во всех использованных дозах не приводила к значимой гибели клеток по сравнению с контролем (см. рис. 2). Вместе с тем продукция внеклеточных везикул имела определенный профиль. При использовании средней и высокой дозы стимула отмечено достоверное увеличение продукции ВВ до 150 нм в диаметре, но не более крупных объектов (рис. 3). Достоверно увеличивалось количество CD9⁺, CD63⁺, CD54⁺ ВВ. При этом уровень аннексин-позитивных событий менялся только в случае использования максимальной дозировки ФНО, но изменение было незначительное ($p = 0,030$). Также

Таблица 3. Результаты иммунофенотипирования внеклеточных везикул, продуцируемые клетками THP-1 (событий/мкл), Ме (25; 75)

Table 3. Results of immunophenotyping of THP-derived EVs (events/ μ l), Me (25;75)

Контроль / Control	Annexin V	CD9	CD63	CD54	CD14
ФНО / TNF 5	140,00 (99,00; 190,00)	121,00 (63,50; 170,00)	97,50 (28,00; 177,50)	31,5 (9,50; 128,75)*	11,50 (9,25; 13,75)
ФНО / TNF 10	2491,00 (309,75; 3200,00)	897,50 (445,75; 2123,50)*	280,50 (172,50; 445,50)*	329 (43; 1177)*	12,50 (10,00; 13,00)
ФНО / TNF 20	3378,00 (215,00; 4242,00)*	872,00 (286,50; 2746,00)*	240,00 (190,00; 509,00)*	538,25 (27,50; 1215,50)*	11,00 (8,00; 15,75)
ЛПС / LPS 0,1	92,50 (86,50; 195,00)	11,00 (10,50; 39,00)	98,00 (43,00; 315,00)	9,5 (8,00; 15,50)	7,00 (6,00; 11,50)
ЛПС / LPS 0,3	141,50 (104,00; 298,00)	17,50 (8,00; 86,00)	194,00 (191,50; 1005,00)*	18,75 (12,25; 26,50)	10,25 (9,50; 16,75)
ЛПС / LPS 1,0	129,50 (95,50; 317,00)	19,50 (10,50; 167,00)	178,00 (63,00; 746,00)*	24,25 (18,00; 49,50)	10,25 (7,75; 15,25)
РМА 5	155,00 (133,50; 197,00)	282,00 (115,50; 320,00)	56,00 (21,00; 142,00)	28,75 (28,00; 37,00)	8,00 (5,00; 11,50)
РМА 16	1596,00 (132,00; 2246,00)	684,00 (358,00; 1590,00)*	158,00 (58,00; 560,50)*	44,50 (32,00; 77,50)*	8,50 (5,00; 16,50)
РМА 50	2085,00 (315,50; 2630,50)	946,75 (647,50; 2255,50)*	196,50 (92,00; 640,00)*	37,00 (27,50; 77,00)*	15,25 (13,50; 17,00)

Примечание: * $p < 0,05$ достоверность отличий с контролем. ЛПС – липополисахарид; ФНО – фактор некроза опухоли; РМА – 4-форбол-12-миристан-13-ацетат.

Note: * $p < 0.05$ statistically significant difference compared to controls. LPS – lipopolysaccharide; PMA – 4-phorbol-12-myristate-13-acetate; TNF – tumor necrosis factor.

важным может оказаться, что экспрессия CD54 на цитоплазматической мембране клеток THP-1 была увеличена в результате стимуляции фактором некроза опухоли.

Использование ЛПС в качестве стимулятора также не приводило к увеличению уровня апоптоза клеток. Вместе с тем повышенная экспрессия ICAM1 на цитоплазматической мембране ЛПС-активированных клеток THP-1 не привела к увеличению уровня CD54-позитивных везикул. Отмечено увеличение количества только продуцируемых CD63⁺ ВВ при средних и высоких дозировках индуктора. Уровень продукции везикул, позитивных по другим изучаемым маркерам, достоверно не менялся (рис. 4). Кроме того, в отличие от двух других стимуляторов воздействие ЛПС приводило не к увеличению, а к снижению продукции ВВ даже в высоких дозировках.

Применение PMA в любых дозировках приводило к увеличению доли DAPI-позитивных событий, то есть к росту доли клеток в апоптозе/некрозе. Вместе с тем отмечен достоверный прирост количества ВВ в диапазоне размеров 30–150 нм при стимуляции PMA в дозе 16 и 50 нг/мл, однако в диапазоне 150–400 нм прироста не установлено (рис. 5). По-видимому, прирост происходил за счет CD9⁺, CD63⁺, CD54⁺ ВВ. При этом количество CD54⁺ ВВ повышалось при всех дозах стимулятора и положительно коррелировало с выраженной экспрессией ICAM1 на поверхности THP-1.

Таким образом, использование трех разных клеточных активаторов приводило к изменению функциональной активности THP-1, проявляющейся в изменении профиля продуцируемых внеклеточных везикул. Для оценки активации клеток изучали уровень экспрессии молекулы межклеточной адгезии (ICAM1), или CD54. Известно, что при действии провоспалительных цитокинов, в том числе ФНО- α , в лейкоцитах наблюдается увеличение

экспрессии ICAM1. Более того, CD54 может быть использован как косвенный маркер активации антигенпрезентирующих клеток, а его экспрессию связывают с активацией и сборкой NLRP3-инфламсомы в клетках THP-1 [48, 49].

Для изучения профиля продуцируемых ВВ проводили их фенотипирование. Наличие мембраны в изучаемых образцах подтверждали позитивным окрашиванием на аннексин V, связывающийся с фосфатидилсерином фосфолипидов. Кроме того, оценивали уровень везикул, позитивных по на-

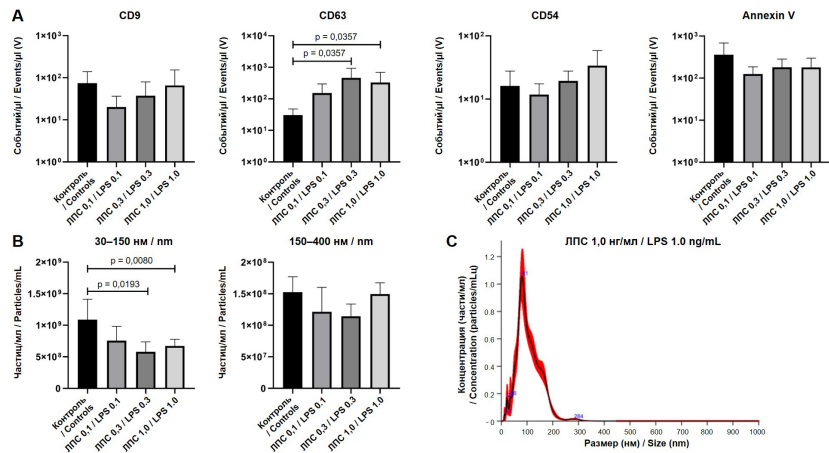


Рисунок 4. Характеристика ВВ, продуцируемых клетками THP-1 при их стимуляции ЛПС: *A* – сравнительная характеристика эффектов различных доз ЛПС на продукцию ВВ; *B* – количественная характеристика ВВ в различных диапазонах размерности; *C* – график концентрация/размер ВВ после стимуляции ЛПС в дозе 1,0 нг/мл

Примечание: ВВ – внеклеточные везикулы; ЛПС – липополисахарид.

Figure 4. Characteristics of THP-derived EVs upon LPS stimulation: *A* – comparative characterization of the effects of different doses of LPS on the EVs production; *B* – quantitative characterization of different size ranges of EVs; *C* – concentration/size graph of EVs after LPS stimulation at a dose of 16 ng/mL

Note: LPS – lipopolysaccharide.

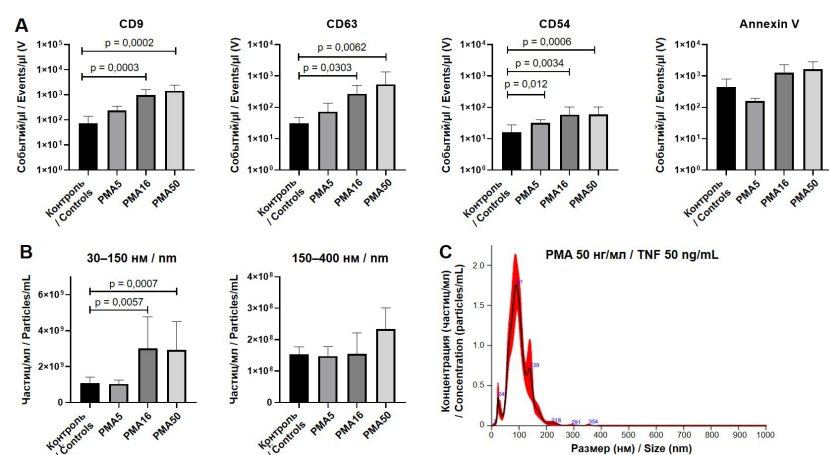


Рисунок 5. Характеристика ВВ, секретируемых клетками линии THP-1 при стимуляции PMA: *A* – сравнительная характеристика влияния различных доз PMA на продукцию ВВ; *B* – количественная характеристика ВВ в различных диапазонах размерности; *C* – график концентрация/размер ВВ после стимуляции PMA в дозе 16 нг/мл

Примечание: ВВ – внеклеточные везикулы; PMA – 4-форбол-12-миристан-13-ацетат.

Figure 5. Characteristics of THP-derived EVs upon PMA stimulation: *A* – comparative characterization of the effects of different doses of PMA on the production of EVs; *B* – quantitative characterization in different size ranges of EVs; *C* – concentration/size graph of EVs after PMA stimulation at a dose of 16 ng/mL

Note: PMA – 4-phorbol-12-myristate-13-acetate.

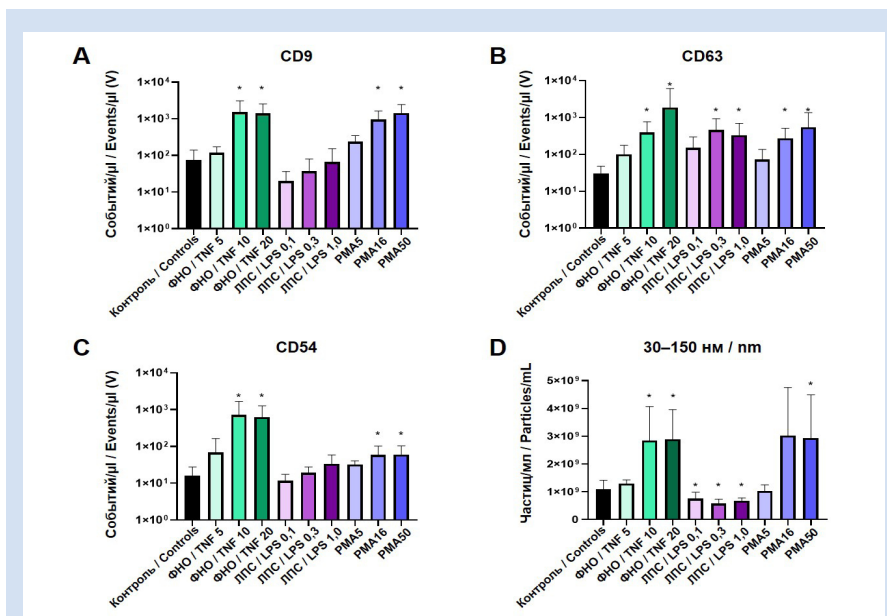


Рисунок 6. Сравнительная характеристика продуцируемых ВВ клетками THP-1 при использовании различных стимуляторов: *A* – количество CD9⁺ ВВ; *B* – количество CD63⁺ ВВ; *C* – количество CD54⁺ ВВ; *D* – общее количество ВВ в диапазоне размерности 30–150 нм по данным NTA

Примечание: ВВ – внеклеточные везикулы; ЛПС – липополисахарид; ФНО – фактор некроза опухоли; PMA – 4-форбол-12-миристан-13-ацетат.

Figure 6. Comparative characterization of THP-derived EVs using various stimulants. *A* – number of CD9⁺ EVs; *B* – number of CD63⁺ EVs; *C* – number of CD54⁺ EVs; *D* – the total number of EVs in the 30–150 nm range according to NTA data

Note: LPS – lipopolysaccharide; PMA – 4-phorbol-12-myristate-13-acetate; TNF – tumor necrosis factor.

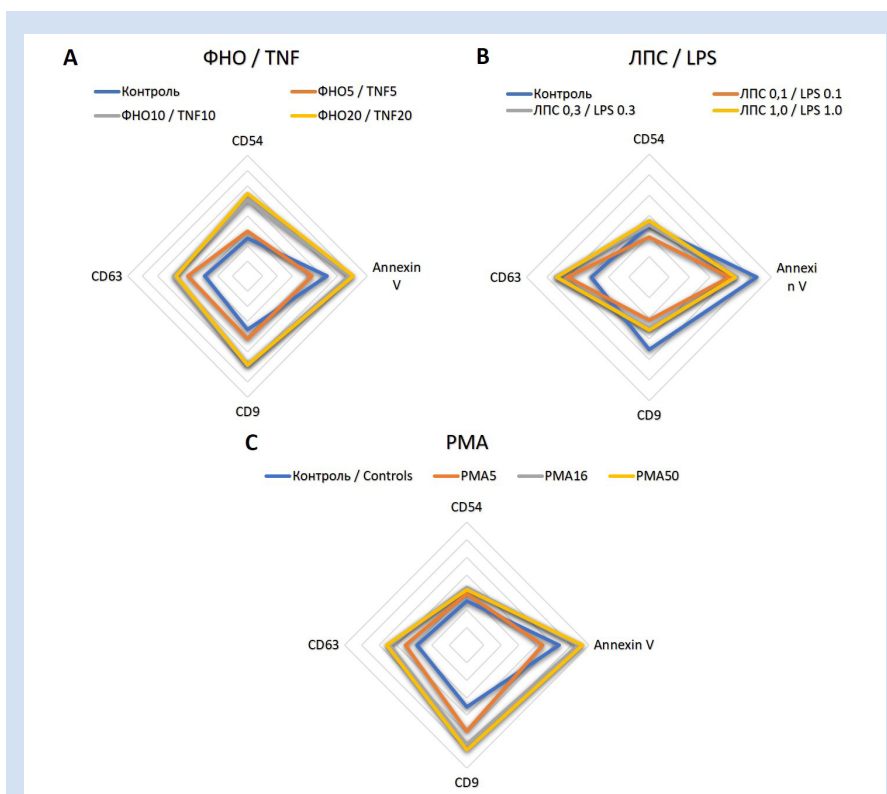


Рисунок 7. Фенотипический профиль продуцируемых клетками THP-1 внеклеточных везикул при воздействии различных стимуляторов

Примечание: значения количества положительных событий в микролитре представлены в виде десятичного логарифма. ЛПС – липополисахарид; ФНО – фактор некроза опухоли; PMA – 4-форбол-12-миристан-13-ацетат.

Figure 7. Phenotypic profile of THP-derived EVs upon exposure to various stimulants **Note:** Values for the number of positive events per microliter are presented as a base 10 logarithm. LPS – lipopolysaccharide; PMA – 4-phorbol-12-myristate-13-acetate; TNF – tumor necrosis factor.

личию в их структуре тетраспаниновых рецепторов – CD9 и CD63. Все тесты и методы рекомендованы к применению в случае проведения исследовательских работ по изучению ВВ [6]. Наличие на поверхности мембраны тетраспаниновых рецепторов связано с процессом упаковки груза во время их образования в мультивезикулярных тельцах, поэтому именно тетраспанин-положительные везикулы представляют интерес с точки зрения переноса сигнальных молекул [50–53]. При анализе везикул также использовался CD54, с помощью которого оценивалась активация клеток THP-1. И последним выбранным маркером был CD14, как маркер дифференцировки моноцитарно-макрофагального звена, а также молекула, способная связывать LPS/LBP-комплексы [54].

Стимуляция клеток с помощью ФНО и PMA показала схожие результаты в количественном и качественном отношении (рис. 6, 7). Однако стоит отметить, что только при применении средних и высоких доз ФНО и PMA наблюдалось достоверное повышение уровня внеклеточных везикул, хотя по количеству продуцируемых клетками везикул при использовании двух стимуляторов они не отличались. Вместе с тем, несмотря на фенотипическую схожесть продуцируемых ВВ при действии ФНО и PMA, их внутренний состав может оказаться различным. Важным моментом при обеих стимуляциях стало отсутствие дубль-положительных популяций CD9⁺ и CD63⁺ ВВ, что может свидетельствовать об их независимом образовании. Таким образом, в общей массе внеклеточных везикул отчетливо формируются везикулы, несущие либо один, либо другой тетраспаниновый маркер.

Наличие молекулы ICAM1 на поверхности ВВ может указывать на то, что часть полученных везикул образовалась путем «почкования» от цитоплазматической мембраны и является микровезикулами, а не экзосомами [55, 56]. В пользу этого свидетельствует и наличие дубль-позитивных событий по CD54 и аннексину V, так как последний связывает фосфотидилсерин, который конститутивно присутствует в структуре клеточных мембран [57].

Отличительной особенностью стимуляции РМА оказалась наибольшая в процентном соотношении активация клеток, оцененная по экспрессии CD54, по сравнению с контролем и другими видами стимуляции. Кроме того, нельзя не отметить, что при воздействии РМА во всех дозах наблюдалась клеточная гибель, которая усугублялась с увеличением дозы. И хотя при оценке самих везикул по сравнению с полученными при стимулировании ФНО достоверной разницы не определено, необходимо учитывать возможное присутствие апоптотических тел. Низкие дозы ФНО и РМА не являются предпочтительными в выборе доз стимуляции для получения везикул ввиду отсутствия достоверного изменения количественного и качественного профиля продуцируемых ВВ.

Стимуляция ЛПС во всех дозировках достаточна для активации клеток ТНР-1, но негативно сказывается на общем фоне образования внеклеточных везикул. При использовании всех дозировок ЛПС отсутствовало количественное нарастание продукции ВВ и даже отмечено некоторое их снижение в диапазоне размерности 30–150 нм (малые ВВ). Однако ЛПС в дозе 0,3 и 1,0 нг/мл вызывал

селективную секрецию CD63-положительных ВВ при полном отсутствии динамики изменения CD9-позитивных везикул. Подобную особенность можно в дальнейшем использовать для получения изолированной CD63-положительной популяции внеклеточных везикул. Более того, такой эффект может быть связан с функциональными особенностями CD63-положительной фракции при взаимодействии с ЛПС грамотрицательных бактерий.

Заключение

Таким образом, каждый вид использованной стимуляции клеток ТНР-1 провоцирует изменение функциональной активности клеток в отношении продуцируемых ими внеклеточных везикул. При этом может меняться не только количественный, но и качественный состав продуцируемых объектов.

Конфликт интересов

А.Д. Акино заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.А. Рубинштейн заявляет об отсутствии конфликта интересов. И.А. Головкин заявляет об отсутствии конфликта интересов. П.В. Тирикова заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.С. Трулев заявляет об отсутствии конфликта интересов. И.В. Кудрявцев заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.С. Головкин заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 19-75-20076).

Информация об авторах

Акино Артур Даниил, младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории аутоиммунных и аутовоспалительных заболеваний научно-исследовательского центра неизвестных, редких и генетически обусловленных заболеваний научного центра мирового уровня «Центр персонализированной медицины», ассистент кафедры клеточной биологии и гистологии и кафедры патологической физиологии института медицинского образования федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова», Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-6516-7184

Рубинштейн Артем Аркадьевич, лаборант-исследователь лаборатории клеточной иммунологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8493-5211

Головкин Иван Алексеевич, студент федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО», Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0009-0003-8873-0314

Тирикова Полина Валерьевна, студентка лечебного факультета института медицинского образования федерального

Author Information Form

Aquino Arthur D., Junior Researcher at the Research Laboratory of Autoimmune and Autoinflammatory Diseases, Research Center of Unknown, Rare and Genetically Determined Diseases, World-Class Research Center “Center for Personalized Medicine”, Assistant at the Department of Cell Biology and Histology and the Department of Pathophysiology, Institute of Medical Education, Federal State Budgetary Institution “V. A. Almazov National Medical Research Center” of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-6516-7184

Rubinstein Artem A., Research Assistant at the Laboratory of Cellular Immunology, Federal State Budgetary Scientific Institution “Institute of Experimental Medicine”, St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8493-5211

Golovkin Ivan A., Student at the ITMO University, St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0009-0003-8873-0314

Tirikova Polina V., Student at the Medical Faculty, Institute of Medical Education of the Federal State Budgetary Institution

государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова», Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4433-1640

Трулёв Андрей Сергеевич, кандидат биологических наук научный сотрудник лаборатории общей иммунологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-7495-446X

Кудрявцев Игорь Владимирович, кандидат биологических наук заведующий научно-исследовательской лаборатории аутоиммунных и аутовоспалительных заболеваний научно-исследовательского центра неизвестных, редких и генетически обусловленных заболеваний научного центра мирового уровня «Центр персонализированной медицины», доцент кафедры клеточной биологии и гистологии института медицинского образования федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова», Санкт-Петербург, Российская Федерация; заведующий лабораторией клеточной иммунологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-7204-7850

Головкин Алексей Сергеевич, доктор медицинских наук руководитель группы генно-клеточной инженерии Института молекулярной биологии и генетики, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории аутоиммунных и аутовоспалительных заболеваний научно-исследовательского центра неизвестных, редких и генетически обусловленных заболеваний научного центра мирового уровня «Центр персонализированной медицины», профессор кафедры клеточной биологии и гистологии института медицинского образования федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова», Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-7577-628X

“V. A. Almazov National Medical Research Center” of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4433-1640

Trulioff Andrey S., PhD, Researcher at the Laboratory of General Immunology, Federal State Budgetary Scientific Institution “Institute of Experimental Medicine”, St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-7495-446X

Kudryavtsev Igor V., PhD, Head of the Research Laboratory of Autoimmune and Autoinflammatory Diseases, Research Center of Unknown, Rare and Genetically Determined Diseases, World-Class Research Center “Center for Personalized Medicine”, Associate Professor at the Department of Cell Biology and Histology, Institute of Medical Education, Federal State Budgetary Institution “V. A. Almazov National Medical Research Center” of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation; Head of the Laboratory of Cellular Immunology, Federal State Budgetary Scientific Institution “Institute of Experimental Medicine”, St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-7204-7850

Golovkin Aleksey S., PhD, Head of the Group of Genetic Cell Engineering, Institute of Molecular Biology and Genetics; Leading Researcher at the Research Laboratory of Autoimmune and Autoinflammatory Diseases, Research Center of Unknown, Rare and Genetically Determined Diseases, World-Class Research Center “Center for Personalized Medicine”; Professor at the Department of Cell Biology and Histology, Institute of Medical Education, Federal State Budgetary Institution “V. A. Almazov National Medical Research Center” of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-7577-628X

Вклад авторов в статью

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

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

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

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

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

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

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

Author Contribution Statement

AAD – 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

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

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

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Zaborowski M.P., Balaj L., Breakefield X.O., Lai C.P. Extracellular Vesicles: Composition, Biological Relevance, and Methods of Study. *Bioscience*. 2015;65(8):783–97. doi:10.1093/biosci/biv084
2. Yáñez-Mó M., Siljander P.R.M., Andreu Z., Bedina Zavec A., Borràs F.E., Buzas E.I., Casal E., Cappello F. et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J Extracell Vesicles*. 2015;4(1):27066. doi:10.3402/jev.v4.27066
3. Borges F.T., Reis L.A., Schor N. Extracellular vesicles: structure, function, and potential clinical uses in renal diseases. *Brazilian J Med Biol Res*. 2013;46(10):824–30. doi:10.1590/1414-431X20132964
4. Mathivanan S., Ji H., Simpson R.J. Exosomes: Extracellular organelles important in intercellular communication. *J Proteomics*. 2010;73(10):1907–20. doi:10.1016/j.jprot.2010.06.006
5. Ludwig A.K., Giebel B. Exosomes: Small vesicles participating in intercellular communication. *Int J Biochem Cell Biol*. 2012;44(1):11–5. doi:10.1016/j.biocel.2011.10.005
6. Théry C., Witwer K.W., Aikawa E., Alcaraz M.J., Anderson J.D., Andriantsitohaina R., Antoniou A., Arab T. et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*. 2018;7(1):1535750. doi:10.1080/20013078.2018.1535750
7. Reales-Calderón J.A., Vaz C., Monteoliva L., Molero G., Gil C. *Candida albicans* Modifies the Protein Composition and Size Distribution of THP-1 Macrophage-Derived Extracellular Vesicles. *J Proteome Res*. 2017;16(1):87–105. doi:10.1021/acs.jproteome.6b00605
8. Gangadaran P., Rajendran R.L., Oh J.M., Hong C.M., Jeong S.Y., Lee S.W., Lee J., Ahn B.C. Extracellular vesicles derived from macrophage promote angiogenesis *In vitro* and accelerate new vasculature formation *In vivo*. *Exp Cell Res*. 2020;394(2):112146. doi:10.1016/j.yexcr.2020.112146
9. Liu S., Chen J., Shi J., Zhou W., Wang L., Fang W., Zhong Y., Chen X., Chen Y., Sabri A., Liu S. M1-like macrophage-derived exosomes suppress angiogenesis and exacerbate cardiac dysfunction in a myocardial infarction microenvironment. *Basic Res Cardiol*. 2020;115(2):22. doi:10.1007/s00395-020-0781-7
10. Chen B., Luo L., Wei X., Gong D., Li Z., Li S., Tang W., Jin L. M1 Bone Marrow-Derived Macrophage-Derived Extracellular Vesicles Inhibit Angiogenesis and Myocardial Regeneration Following Myocardial Infarction via the MALAT1/MicroRNA-25-3p/CDC42 Axis. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:1–26. doi:10.1155/2021/9959746
11. Aharon A., Tamari T., Brenner B. Monocyte-derived microparticles and exosomes induce procoagulant and apoptotic effects on endothelial cells. *Thromb Haemost*. 2008;100(05):878–85. doi:10.1160/TH07-11-0691
12. Pieters B.C.H., Cappariello A., van den Bosch M.H.J., van Lent P.L.E.M., Teti A., van de Loo F.A.J. Macrophage-Derived Extracellular Vesicles as Carriers of Alarmins and Their Potential Involvement in Bone Homeostasis. *Front Immunol*. 2019;10:1901. doi:10.3389/fimmu.2019.01901
13. Kang M., Huang C.C., Lu Y., Shirazi S., Gajendrareddy P., Ravindran S., Cooper L.F. Bone regeneration is mediated by macrophage extracellular vesicles. *Bone*. 2020;141:115627. doi:10.1016/j.bone.2020.115627
14. Ding J., Zhang Y., Cai X., Zhang Y., Yan S., Wang J., Zhang S., Yin T., Yang C., Yang J. Extracellular vesicles derived from M1 macrophages deliver miR-146a-5p and miR-146b-5p to suppress trophoblast migration and invasion by targeting TRAF6 in recurrent spontaneous abortion. *Theranostics*. 2021;11(12):5813–30. doi:10.7150/thno.58731
15. Singht N., Kanlaya R., Nilnumkhum A., Thongboonkerd V. Roles of Macrophage Exosomes in Immune Response to Calcium Oxalate Monohydrate Crystals. *Front Immunol*. 2018;9. doi:10.3389/fimmu.2018.00316
16. Gao W., Guo X., Wang Y., Jian D., Li M. Monocyte-derived extracellular vesicles upon treated by palmitate promote endothelial migration and monocytes attachment to endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2020;523(3):685–91. doi:10.1016/j.bbrc.2019.12.095
17. Lee H.D., Kim Y.H., Kim D.S. Exosomes derived from human macrophages suppress endothelial cell migration by controlling integrin trafficking. *Eur J Immunol*. 2014;44(4):1156–69. doi:10.1002/eji.201343660
18. Volgers C., Benedikter B.J., Grauls G.E., Savelkoul P.H.M., Stassen F.R.M. Immunomodulatory role for membrane vesicles released by THP-1 macrophages and respiratory pathogens during macrophage infection. *BMC Microbiol*. 2017;17(1):216. doi:10.1186/s12866-017-1122-3
19. Wang Y.X., Lin C., Cui L.J., Deng T.Z., Li Q.M., Chen F.Y., Miao X.P. Mechanism of M2 macrophage-derived extracellular vesicles carrying lncRNA MEG3 in inflammatory responses in ulcerative colitis. *Bioengineered*. 2021;12(2):12722–39. doi:10.1080/21655979.2021.2010368
20. Osada-Oka M., Shiota M., Izumi Y., Nishiyama M., Tanaka M., Yamaguchi T., Sakurai E., Miura K., Iwao H. Macrophage-derived exosomes induce inflammatory factors in endothelial cells under hypertensive conditions. *Ortega A, editor. Hypertens Res*. 2017;40(4):353–60. doi:10.1038/hr.2016.163
21. Wang G., Jin S., Ling X., Li Y., Hu Y., Zhang Y., Huang Y., Chen T., Lin J., Ning Z., Meng Y., Li X. Proteomic Profiling of LPS-Induced Macrophage-Derived Exosomes Indicates Their Involvement in Acute Liver Injury. *Proteomics*. 2019;19(3):1800274. doi:10.1002/pmic.201800274
22. Shao J., Li S., Liu Y., Zheng M. Extracellular vesicles participate in macrophage-involved immune responses under liver diseases. *Life Sci*. 2020;240:117094. doi:10.1016/j.lfs.2019.117094
23. Kawata R., Oda S., Koya Y., Kajiyama H., Yokoi T. Macrophage-derived extracellular vesicles regulate concanavalin A-induced hepatitis by suppressing macrophage cytokine production. *Toxicology*. 2020;443:152544. doi:10.1016/j.tox.2020.152544
24. Shi C., Ulke-Lemée A., Deng J., Batulan Z., O'Brien E.R. Characterization of heat shock protein 27 in extracellular vesicles: a potential anti-inflammatory therapy. *FASEB J*. 2019;33(2):1617–30. doi:10.1096/fj.201800987R
25. Chanput W., Mes J.J., Wichers H.J. THP-1 cell line: An *in vitro* cell model for immune modulation approach. *Int Immunopharmacol*. 2014;23(1):37–45. doi:10.1016/j.intimp.2014.08.002
26. Bosshart H., Heinzelmänn M. THP-1 cells as a model for human monocytes. *Ann Transl Med*. 2016;4(21):438–438. doi:10.21037/atm.2016.08.53
27. Tedesco S., De Majo F., Kim J., Trenti A., Trevisi L., Fadini G.P., Bolego C., Zandstra P.W., Cignarella A., Vitiello L. Convenience versus Biological Significance: Are PMA-Differentiated THP-1 Cells a Reliable Substitute for Blood-Derived Macrophages When Studying *In Vitro* Polarization? *Front Pharmacol*. 2018;9. doi:10.3389/fphar.2018.00071
28. Wang J.G., Williams J.C., Davis B.K., Jacobson K., Doerschuk C.M., Ting J.P., Mackman N. Monocytic microparticles activate endothelial cells in an IL-1 β -dependent manner. *Blood*. 2011;118(8):2366–74. doi:10.1182/blood-2011-01-330878
29. Li X., Lei Y., Wu M., Li N. Regulation of Macrophage Activation and Polarization by HCC-Derived Exosomal lncRNA TUC339. *Int J Mol Sci*. 2018;19(10):2958. doi:10.3390/ijms19102958
30. Chen L., Yao X., Yao H., Ji Q., Ding G., Liu X. Exosomal miR-103-3p from LPS-activated THP-1 macrophage contributes to the activation of hepatic stellate cells. *FASEB J*. 2020;34(4):5178–92. doi:10.1096/fj.201902307RRR
31. Liu H., Zhang L., Li M., Zhao F., Lu F., Zhang F., Chen S.,

- Guo J., Zhang R., Yin H. Bone mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles inhibit DAPK1-mediated inflammation by delivering miR-191 to macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 2022;598:32–9. doi:10.1016/j.bbrc.2022.02.009
32. McDonald M.K., Tian Y., Qureshi R.A., Gormley M., Ertel A., Gao R., Aradillas Lopez E., Alexander G.M., Sacan A., Fortina P., Ajit S.K. Functional significance of macrophage-derived exosomes in inflammation and pain. *Pain.* 2014;155(8):1527–39. doi:10.1016/j.pain.2014.04.029
33. Maeß M.B., Wittig B., Cignarella A., Lorkowski S. Reduced PMA enhances the responsiveness of transfected THP-1 macrophages to polarizing stimuli. *J Immunol Methods.* 2014;402(1–2):76–81. doi:10.1016/j.jim.2013.11.006
34. Park E.K., Jung H.S., Yang H.I., Yoo M.C., Kim C., Kim K.S. Optimized THP-1 differentiation is required for the detection of responses to weak stimuli. *Inflamm Res.* 2007;56(1):45–50. doi:10.1007/s00011-007-6115-5
35. Daigneault M., Preston J.A., Marriott H.M., Whyte M.K.B., Dockrell D.H. The Identification of Markers of Macrophage Differentiation in PMA-Stimulated THP-1 Cells and Monocyte-Derived Macrophages. *PLoS One.* 2010;5(1):e8668. doi:10.1371/journal.pone.0008668
36. Kim Y.K., Hwang J.H., Lee H.T. Differential susceptibility to lipopolysaccharide affects the activation of toll-like-receptor 4 signaling in THP-1 cells and PMA-differentiated THP-1 cells. *Innate Immun.* 2022;28(3–4):122–9. doi:10.1177/17534259221100170
37. Sindhu S., Akhter N., Wilson A., Thomas R., Arefanian H., Al Madhoun A., Al-Mulla F., Ahmad R. MIP-1 α Expression Induced by Co-Stimulation of Human Monocytic Cells with Palmitate and TNF- α Involves the TLR4-IRF3 Pathway and Is Amplified by Oxidative Stress. *Cells.* 2020;9(8):1799. doi:10.3390/cells9081799
38. Akhter N., Wilson A., Thomas R., Al-Rashed F., Kochumon S., Al-Roub A., Arefanian H., Al-Madhoun A., Al-Mulla F., Ahmad R., Sindhu S. ROS/TNF- α Crosstalk Triggers the Expression of IL-8 and MCP-1 in Human Monocytic THP-1 Cells via the NF- κ B and ERK1/2 Mediated Signaling. *Int J Mol Sci.* 2021;22(19):10519. doi:10.3390/ijms221910519
39. Dubashynskaya N.V., Golovkin A.S., Kudryavtsev I.V., Prikhodko S.S., Trulioff A.S., Bokaty A.N., Poshina D.N., Raik S.V., Skorik Y.A. Mucoadhesive cholesterol-chitosan self-assembled particles for topical ocular delivery of dexamethasone. *Int J Biol Macromol.* 2020;158:811–8. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.04.251
40. Nurkhametova D., Kudryavtsev I., Guselnikova V., Serebryakova M., Giniatullina R.R., Wojciechowski S., Tore F., Rizvanov A., Koistinaho J., Malm T., Giniatullin R. Activation of P2X7 Receptors in Peritoneal and Meningeal Mast Cells Detected by Uptake of Organic Dyes: Possible Purinergic Triggers of Neuroinflammation in Meninges. *Front Cell Neurosci.* 2019;13. doi:10.3389/fncel.2019.00045
41. Kondratov K., Nikitin Y., Fedorov A., Kostareva A., Mikhailovskii V., Isakov D., Ivanov A., Golovkin A. Heterogeneity of the nucleic acid repertoire of plasma extracellular vesicles demonstrated using high-sensitivity fluorescence-activated sorting. *J Extracell Vesicles.* 2020;9(1):1743139. doi:10.1080/20013078.2020.1743139
42. Fedorov A., Kondratov K., Kishenko V., Mikhailovskii V., Kudryavtsev I., Belyakova M., Sidorkevich S., Vavilova T., Kostareva A., Sirotkina O., Golovkin A. Application of high-sensitivity flow cytometry in combination with low-voltage scanning electron microscopy for characterization of nanosized objects during platelet concentrate storage. *Platelets.* 2020;31(2):226–35. doi:10.1080/09537104.2019.1599337
43. Nolan J.P. Flow Cytometry of Extracellular Vesicles: Potential, Pitfalls, and Prospects. *Curr Protoc Cytom.* 2015;73(1). doi:10.1002/0471142956.cy1314s73
44. Welsh J.A., Van Der Pol E., Arkesteijn G.J.A., Bremer M., Brisson A., Coumans F., Dignat-George F., Duggan E. et al. MIFlowCyt-EV: a framework for standardized reporting of extracellular vesicle flow cytometry experiments. *J Extracell Vesicles.* 2020;9(1):1713526. doi:10.1080/20013078.2020.1713526
45. Kudryavtsev I., Kalinina O., Bezrukikh V., Melnik O., Golovkin A. The Significance of Phenotyping and Quantification of Plasma Extracellular Vesicles Levels Using High-Sensitivity Flow Cytometry during COVID-19 Treatment. *Viruses.* 2021;13(5):767. doi:10.3390/v13050767
46. Kowal J., Tkach M., Théry C. Biogenesis and secretion of exosomes. *Curr Opin Cell Biol.* 2014;29:116–25. doi:10.1016/j.ceb.2014.05.004
47. Crenshaw B.J., Gu L., Sims B., Matthews Q.L. Exosome Biogenesis and Biological Function in Response to Viral Infections. *Open Virol J.* 2018;12(1):134–48. doi:10.2174/1874357901812010134
48. Sheikh N.A., Jones L.A. CD54 is a surrogate marker of antigen presenting cell activation. *Cancer Immunol Immunother.* 2008;57(9):1381–90. doi:10.1007/s00262-008-0474-9
49. Mitachi T., Kouzui M., Maruyama R., Yamashita K., Ogata S., Kojima H., Itagaki H. Some non-sensitizers upregulate CD54 expression by activation of the NLRP3 inflammasome in THP-1 cells. *J Toxicol Sci.* 2019;44(3):213–24. doi:10.2131/jts.44.213
50. Andreu Z., Yáñez-Mó. M. Tetraspanins in extracellular vesicle formation and function. *Front Immunol.* 2014;5:442. doi:10.3389/fimmu.2014.00442
51. MacDonald C., Payne J.A., Aboian M., Smith W., Katzmann D.J., Piper R.C. A Family of Tetraspanns Organizes Cargo for Sorting into Multivesicular Bodies. *Dev Cell.* 2015;33(3):328–42. doi:10.1016/j.devcel.2015.03.007
52. MacDonald C., Starnes M.A., Katzmann D.J., Piper R.C. Tetraspan cargo adaptors usher GPI-anchored proteins into multivesicular bodies. *Cell Cycle.* 2015;14(23):3673–8. doi:10.1080/15384101.2015.1100773
53. Larios J., Mercier V., Roux A., Gruenberg J. ALIX- and ESCRT-III-dependent sorting of tetraspanins to exosomes. *J Cell Biol.* 2020;219(3). doi:10.1083/jcb.201904113
54. Ziegler-Heitbrock H.W.L., Ulevitch R.J. CD14: Cell surface receptor and differentiation marker. *Immunol Today.* 1993;14(3):121–5. doi:10.1016/0167-5699(93)90212-4
55. Raposo G., Stoorvogel W. Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol.* 2013;200(4):373–83. doi:10.1083/jcb.201211138
56. van Niel G., D'Angelo G., Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2018;19(4):213–28. doi:10.1038/nrm.2017.125
57. Reutelingsperger C.P.M., van Heerde W.L. Annexin V, the regulator of phosphatidylserine-catalyzed inflammation and coagulation during apoptosis. *Cell Mol Life Sci.* 1997;53(6):527–32. doi:10.1007/s000180050067

Для цитирования: Акино А.Д., Рубинштейн А.А., Головкин И.А., Тирикова П.В., Трулев А.С., Кудрявцев И.В., Головкин А.С. Особенности продукции внеклеточных везикул клетками линии THP-1 при стимуляции *in vitro*. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2024;13(3): 154-166. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-154-166

To cite: Aquino A.D., Rubinstein A.A., Golovkin I.A., Tirikova P.V., Trulioff A.S., Kudryavtsev I.V., Golovkin A.S. Features of extracellular vesicle production by THP-1 cells during *in vitro* stimulation. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2024;13(3): 154-166. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-154-166

ИССЛЕДОВАНИЕ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРОВАННОГО КАЛЬЦИЯ, КАЛЬЦИПРОТЕИНОВЫХ МОНОМЕРОВ И КАЛЬЦИПРОТЕИНОВЫХ ЧАСТИЦ НА ПЕРВИЧНЫЕ АРТЕРИАЛЬНЫЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ

Д.К. Шишкова, В.Е. Маркова, Ю.О. Маркова, Е.А. Великанова, А.В. Сеницкая, М.Ю. Сеницкий, А.Е. Тюрина, А.Д. Степанов, Ю.А. Дылева, В.Г. Матвеева, А.Г. Кутихин
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Основные положения

- Для повышения молярной концентрации ионизированного кальция в бессывороточной среде для культивирования эндотелиальных клеток и сыворотке крови крыс Wistar на 10% (в 1,1 раза) с целью моделирования «высокого нормального» уровня ионизированного кальция необходимо добавлять 10 мкг кальция (к примеру, используя хлорид кальция в виде донора Ca^{2+}) на 1 мл среды или сыворотки.
- Добавление ионизированного кальция и кальципротеиновых мономеров в концентрации 10 мкг/мл не вызывает патологических эффектов в культурах первичных артериальных эндотелиальных клеток, при этом кальципротеиновые мономеры интернализируются эндотелиальными клетками по аналогии с кальципротеиновыми частицами.
- Добавление кальципротеиновых частиц к первичным эндотелиальным клеткам коронарной артерии человека в концентрации 10 мкг/мл вызывает их провоспалительную активацию, которая проявляется повышением экспрессии генов молекул адгезии лейкоцитов *VCAM1*, *ICAM1* и *SELE* и генов провоспалительных цитокинов *IL6*, *CXCL8* и *CXCL1*.

Цель

Сравнительный анализ патологических эффектов различных форм кальция, добавленных к эндотелиальным клеткам в равной концентрации в виде ионов кальция, кальципротеиновых мономеров (КПМ) и кальципротеиновых частиц (КПЧ).

Материалы и методы

Искусственный синтез КПМ и КПЧ проводили путем перенасыщения солевого раствора NaCl, содержащего физиологическую концентрацию альбумина, ионами кальция (используя в качестве донора катиона кальция CaCl_2) и фосфора (используя в качестве донора фосфат-анионов Na_2HPO_4). Разделение КПМ и КПЧ производили последовательно путем ультрацентрифугирования (для выделения КПЧ) и ультрафильтрации (для разделения КПМ и свободных минеральных ионов). Измерение концентрации кальция в КПМ и КПЧ проводили колориметрическим методом на основе реакции ортокрезолфалеинкомплексона с ионами кальция в щелочной среде. Анализ интернализации флуоресцентно меченных КПМ и КПЧ эндотелиальными клетками проводили после их совместной одночасовой инкубации в системе пульсирующего потока при помощи конфокальной микроскопии. Ионизированный кальций (в виде CaCl_2), КПМ и КПЧ добавляли к конфлюэнтным первичным культурам эндотелиальных клеток коронарной и внутренней грудной артерий ($n = 6$ лунок на группу) в концентрации 10 мкг/мл (моделируя повышение молярной концентрации ионизированного кальция на 10%). Через 24 ч проводили анализ генной экспрессии методом количественной полимеразной цепной реакции после обратной транскрипции.

Результаты

В течение часа циркуляции в пульсирующем потоке КПМ и КПЧ интернализовались эндотелиальными клетками. Добавление ионизированного кальция и кальципротеиновых мономеров в концентрации 10 мкг/мл не вызывало патологических эффектов в культурах артериальных эндотелиальных клеток, в то время как добавление кальципротеиновых частиц в указанной концентрации вызывало повышение экспрессии генов молекул адгезии лейкоцитов *VCAM1*, *ICAM1* и *SELE* и генов провоспалительных цитокинов *IL6*, *CXCL8* и *CXCL1* в первичных эндотелиальных клетках коронарной артерии.

Заключение

Поскольку дисфункцию эндотелия в физиологической концентрации вызывали исключительно КПЧ, а не КПМ или свободные ионы кальция, можно сделать вывод о том, что патологические эффекты кальция в значительной степени определяются формой его добавления, а не только добавляемой концентрацией.

Ключевые слова

Кальций • Ионизированный кальций • Кальципротеиновые мономеры • Кальципротеиновые частицы • Минеральный стресс • Эндотелиальные клетки • Дисфункция эндотелия

Поступила в редакцию: 07.04.2024; поступила после доработки: 17.05.2024; принята к печати: 26.06.2024

PATHOLOGICAL EFFECTS OF IONIZED CALCIUM, CALCIPROTEIN MONOMERS AND CALCIPROTEIN PARTICLES ON ARTERIAL ENDOTHELIAL CELLS

D.K. Shishkova, V.E. Markova, Y.O. Markova, E.A. Velikanova, A.V. Sinitskaya, M.Yu. Sinitsky, A.E. Tyurina, A.D. Stepanov, Yu.A. Dyleva, V.G. Matveeva, A.G. Kutikhin

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

Highlights

- To achieve a 10% (i.e., 1.1-fold) increase in ionized calcium level in the serum-free cell culture medium and Wistar rat serum, 10 $\mu\text{g/mL}$ calcium (e.g. with CaCl_2) should be added; this corresponds to the upper quartile of ionized calcium in the human population.
- Incubation with ionized calcium or calciprotein monomers (10 $\mu\text{g/mL}$ calcium) does not induce any pathological effects in primary arterial endothelial cells, although calciprotein monomers are internalised by endothelial cells similar to calciprotein particles.
- Incubation of primary human coronary artery endothelial cells with calciprotein particles (10 $\mu\text{g/mL}$ calcium) triggers an increased expression of *VCAMI*, *ICAMI*, and *SELE* genes (i.e., those encoding cell adhesion molecules) as well as *IL6*, *CXCL8*, and *CXCL1* genes (i.e., those encoding pro-inflammatory cytokines), together indicating endothelial activation.

Aim

To compare the pathological effects of ionized calcium, calciprotein monomers (CPMs), and calciprotein particles (CPPs) after their addition to endothelial cells.

Methods

CPMs and CPPs were synthesized by the supersaturation of albumin-supplemented NaCl solution with calcium (by adding CaCl_2) and phosphate ions (by adding Na_2HPO_4). CPMs and CPPs were separated by sequential ultracentrifugation (to isolate CPPs) and ultrafiltration (to separate CPMs and free mineral ions). Calcium concentration in CPMs and CPPs was measured by an o-cresolphthalein complexone-based colorimetric assay. Internalization of fluorescent-labeled CPMs and CPPs by endothelial cells was interrogated by confocal microscopy after their 1-hour co-incubation under flow. Primary coronary artery and internal thoracic artery endothelial cells were incubated with ionized calcium (CaCl_2), CPMs, or CPPs (10 $\mu\text{g/mL}$ calcium) upon reaching confluence ($n = 6$ wells per group) to simulate a 10% increase in ionized calcium concentration. After 24 hours, we collected RNA and analyzed the gene expression pattern by reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction.

Results

CPMs and CPPs were internalized by endothelial cells as soon as after 1 hour of co-incubation under flow. Treatment with ionized calcium or CPMs (10 $\mu\text{g/mL}$ calcium) did not cause any pathological effects in arterial endothelial cells. In contrast, CPPs promoted an expression of *VCAMI*, *ICAMI*, and *SELE* genes (i.e., those encoding cell adhesion molecules) as well as *IL6*, *CXCL8*, and *CXCL1* genes (i.e., those encoding pro-inflammatory cytokines) in primary human coronary artery endothelial cells, together indicating their pro-inflammatory activation.

Conclusion

Pathological effects of calcium stress are defined by the calcium source and not simply by its concentration.

Keywords

Calcium • Ionized calcium • Calciprotein monomers • Calciprotein particles • Mineral stress • Endothelial cells • Endothelial dysfunction

Received: 07.04.2024; received in revised form: 17.05.2024; accepted: 26.06.2024

Список сокращений

КПЧ – кальципротеиновые частицы ЭК – эндотелиальные клетки
 КПМ – кальципротеиновые мономеры

Введение

Кальципротеиновые частицы (КПЧ) являются универсальным инструментом регуляции минерального гомеостаза, агрегируя избыточные ионы кальция и фосфора и таким образом препятствуя развитию внескелетной кальцификации [1–3]. Несмотря на физиологическую значимость как депо циркулирующих ионов кальция, КПЧ также обладают и патологическими эффектами, вызывая дисфункцию эндотелия после своей интернализации [4–9]. Пациенты с болезнями системы кровообращения характеризуются повышенной молярной концентрацией как общего, так и ионизированного кальция (Ca^{2+}) независимо от остальных биохимических параметров [10–13], а также повышенной склонностью сыворотки крови к преципитации КПЧ в условиях минерального стресса на фоне сниженных концентраций белка-скевенджера альбумина и исходной концентрации самих КПЧ [14, 15], что свидетельствует об истощении циркулирующих кальциевых депо. Ранее показано, что сниженная концентрация белков-скевенджеров кальция альбумина и фетуина-А также ассоциирована с повышенным риском острых сердечно-сосудистых событий [16–18]. В совокупности эти данные свидетельствуют о минеральном стрессе как о самостоятельном факторе сердечно-сосудистого риска.

В последние годы внимание исследователей привлекли так называемые кальципротеиновые мономеры (КПМ), в которых по теоретическим оценкам содержится около половины циркулирующего кальция и более 90% фетуина-А крови [19, 20]. КПМ представляют собой кластеры кислых белков сыворотки крови и фосфата кальция с диаметром 9–10 нм, циркулирующие в коллоидном виде и неспособные к осаждению в отличие от корпускулярных КПЧ, диаметр которых варьирует от 50 до 200 нм [19, 20]. Кроме того, КПМ являются аморфным фосфатом кальция и предположительно могут диссоциировать, в то время как КПЧ состоят из покрытого белками крови нерастворимого карбонат-гидроксиапатита [19, 20]. Таким образом, целесообразно выделить четыре формы циркулирующего в крови кальция: 1) ионизированный (свободный или несвязанный) кальций (Ca^{2+}); 2) ионы кальция, связанные с белками-скевенджерами; 3) кальций в составе КПМ; 4) кальций в составе КПЧ. На долю первой фракции (Ca^{2+}) приходится около половины общего кальция крови, в то время как три остальные фракции включают кальций, связанный с белками и/или фосфором. Следует отметить, что за исключением фетуина-А роль

остальных кислых белков сыворотки (в частности альбумина) в формировании КПМ не была показана, однако они принимают активное участие в образовании КПЧ [6] и, следовательно, могут взаимодействовать с фосфатом кальция, а не только с его ионами.

За исключением КПЧ влияние всех остальных указанных форм циркулирующего кальция на развитие дисфункции эндотелия остается неясным. Молярная концентрация Ca^{2+} является одной из наиболее жестко регулируемых в организме человека констант (доказательством чему является такое количество соответствующих буферных систем крови в дополнение к костному депо), поэтому при исследованиях патологических эффектов кальция *in vitro* и *in vivo* целесообразно моделировать именно «высокий нормальный» уровень кальция, примерно соответствующее верхнему квартилю в популяции (то есть повышение от уже имеющегося не более чем на 10%). В настоящее время расчет дозы добавляемых КПЧ основывается именно на концентрации добавляемого *in vitro* или *in vivo* кальция, однако остается неясным, определяются ли патогенные эффекты кальциевого стресса исключительно массой поступающего в клетку кальция или также его формой (Ca^{2+} , КПМ или КПЧ). Кроме того, остается не вполне понятным, могут ли в принципе эндотелиальные клетки (ЭК) поглощать циркулирующие в кровотоке КПМ по аналогии с КПЧ, поскольку связывание КПЧ с мембраной ЭК и их последующая интернализация в значительной степени обусловлены связыванием КПЧ со специфическими скевенджер-рецепторами [20–22].

В данном исследовании была поставлена цель оценить интернализацию КПМ и КПЧ ЭК в условиях пульсирующего потока, а также исследовать патогенные эффекты добавления равных концентраций кальция в виде Ca^{2+} и в составе КПМ и КПЧ к культурам первичных артериальных ЭК в контексте развития дисфункции эндотелия.

Материалы и методы

Искусственный синтез КПМ и КПЧ

С целью приготовления биохимической системы для параллельного синтеза КПМ и КПЧ навеску в 0,34 г бычьего сывороточного альбумина (A3059, Sigma-Aldrich, США) аккуратно ресуспендировали в 4 мл стерильного физиологического раствора NaCl (154 ммоль/л, H-1401, Akzo Nobel Salts, США) и далее последовательно добавляли 2 мл раствора Na_2HPO_4 (24 ммоль/л, 94046, Sigma-Aldrich, США) и 2 мл раствора CaCl_2 (40 ммоль/л, 21115, Sigma-

Aldrich, США) с аккуратным ресуспендированием после добавления каждого реактива. Итоговая концентрация альбумина в смеси составляла 42 мг/мл, CaCl_2 – 10 ммоль/л, Na_2HPO_4 – 6 ммоль/л, итоговая масса кальция – 3200 мг. После этого смесь аликвотировали по 8 пробиркам типа «эппендорф» (по 1 мл смеси в каждом из «эппендорфов»), которые помещали в предварительно нагретый до 37 °С твердотельный термостат («Термит», «ДНК-Технология», Россия) и инкубировали в течение 10 мин. В результате проведенной процедуры в рабочей смеси образовывались КПМ и КПЧ, а также оставались свободные ионы кальция, фосфора, натрия и хлора. Все указанные процедуры осуществляли в стерильных условиях (ламинарный шкаф для работы с клеточными культурами).

Далее рабочую смесь аликвотировали по четырем стерильным ультрацентрифужным пробиркам (по 2 мл на одну пробирку, 8 мл на цикл) и производили ультрацентрифугирование при $200\,000 \times g$ в течение часа при 4 °С. В результате выполнения данной процедуры осадок представлял собой сформированные КПЧ, а надосадок – КПМ и свободные ионы кальция, фосфора, натрия и хлора. Надосадок в объеме 8 мл переносили в новые пробирки типа «эппендорф», а осадок (КПЧ) в каждой из четырех ультрацентрифужных пробирок ресуспендировали: 1) либо в 100 мкл воды для инъекций («Гротекс», Россия) и далее сливали в одну пробирку типа «эппендорф» (таким образом, общий объем суспензии КПЧ в пробирке составлял 400 мкл) для последующей визуализации при помощи сканирующей электронной микроскопии; 2) либо в 100 мкл HCl (здесь и далее 0,5 моль/л, 3.04.0390, «Экросхим», Россия) и далее сливали в одну стеклянную пробирку (таким образом, общий объем суспензии КПЧ в пробирке составлял 400 мкл) для последующего анализа концентрации кальция при помощи колориметрического анализа и расчета общей массы кальция в КПЧ. Измерение концентрации кальция проводили в тот же день во избежание испарения соляной кислоты и изменения объема исходного раствора для исключения погрешности при пересчете концентрации кальция в его общую массу в растворе.

Надосадок после ультрацентрифугирования в стерильных условиях (ламинарный шкаф для работы с клеточными культурами) тщательно ресуспендировали и аликвотировали из расчета 4 мл на один центрифужный концентратор с порогом отсечения молекулярной массы (molecular weight cut-off, MWCO) 30 кДа (FTT130150, Китай). Концентраторы предварительно активировали 2 мл воды для инъекций при $1800 \times g$ в течение 15 мин на низкоскоростной настольной центрифуге (5804R, Eppendorf, Германия). Центрифугирование надосадка осуществляли при $1\,800 \times g$ в течение 25

мин (5804R, Eppendorf, Германия) при комнатной температуре. После этого 0,5 мл оставалось внутри концентратора (обессоленный ретентат, содержащий КПМ), а 3,5 мл – в центрифужной пробирке (фильтрат, содержащий свободные ионы кальция, фосфора, натрия и хлора). Количество повторностей в эксперименте составляло 16.

Измерение концентрации кальция и альбумина в КПМ и КПЧ

Для измерения концентрации кальция в КПЧ ($n = 15$) и КПМ (ретентат после ультрафильтрации) использовали различные разведения исходно получаемых растворов. Аликвоту КПЧ разводили в 30 (5 мкл раствора КПЧ в HCl + 145 мкл HCl), 60 (5 мкл раствора КПЧ в HCl + 295 мкл HCl) и 120 (5 мкл раствора КПЧ в HCl + 595 мкл HCl) раз, аликвоту КПМ – в 10 раз (5 мкл ретентата с КПМ + 45 мкл HCl). Колориметрическое определение концентрации кальция в КПЧ, КПМ и контрольном растворе CaCl_2 (0,2 ммоль/л) проводили при помощи оригинального набора CalciScore (Molecular Wings), основанного на реакции ортокрезолфталеинкомплексона с ионами кальция в щелочной среде ($\text{pH} = 10.6 - 10.8$). Измерение проводили на спектрофотометре Multiskan Sky (Thermo Fisher Scientific, США) на длине волны 575 нм.

Для измерения концентрации альбумина в КПМ (ретентат после ультрафильтрации, $n = 15$) аликвоту КПМ разводили в 200 раз (10 мкл ретентата с КПМ + 1 990 мкл воды для инъекций) и использовали 25 мкл из данного разведения в качестве образца при измерении концентрации альбумина колориметрическим методом при помощи набора BCA Protein Assay Kit (23227, Thermo Fisher Scientific, США) согласно инструкциям производителя. Измерение проводили на спектрофотометре Multiskan Sky (Thermo Fisher Scientific, США) на длине волны 562 нм.

Культивирование эндотелиальных клеток

Для экспериментов использовали коммерческие культуры первичных ЭК коронарной артерии (300K-05a, Cell Applications, США) и первичных ЭК внутренней грудной артерии (308K-05a, Cell Applications, США) человека. Все эксперименты по воздействию КФБ на ЭК проводили строго параллельно на обеих клеточных линиях для повышения воспроизводимости и достоверности полученных результатов. Согласно информации поставщика, первичные ЭК человека были получены из здоровых артерий доноров (первичные ЭК коронарной артерии человека – мужчина, 27 лет; первичные ЭК внутренней грудной артерии человека – мужчина, 50 лет) с криоконсервацией на втором пассаже (500 000 клеток в базальной среде MesoEndo Cell Basal Medium (212K-500, Cell Applications, США)), содер-

жашей 10% фетальной телячьей сыворотки и 10% диметилсульфоксида. Для проведения экспериментов ЭК размораживали и культивировали во флаконах T-75 (N-708003, Wuxi NEST Biotechnology Co., Ltd, США) согласно рекомендациям производителя в среде для роста клеток EndoBoost (Molecular Wings). Пересев производили по достижении 80% конfluence. После двух пассажей и достижения 100% конfluence во флаконе T-75 ЭК рассеивали в проточные культуральные камеры (80126, Ividi, Германия) из расчета один флакон T-75 на 6 камер либо в 6-луночные плоскодонные культуральные планшеты (N-703001, Wuxi NEST Biotechnology Co., Ltd, США) из расчета один флакон T-75 на 2 планшета и культивировали до достижения 100% конfluence. Все эксперименты с ЭК проводили в стерильных условиях при 37 °С, поддержании атмосферы 95% воздуха: 5% CO₂ и высокой влажности (MCO-18AIC, Sanyo, Япония).

Подбор дозы добавляемого к эндотелиальным клеткам кальция

Подбор дозы осуществляли путем добавления 5, 10, 15, 20, 25 или 37,5 мкг кальция (в составе CaCl₂), растворенного в водном растворе альбумина с концентрацией 300 мг/мл (средняя концентрация альбумина в ретентате), на 1 мл бессывороточной культуральной среды для ЭК EndoLife (Molecular Wings) или добавления 8, 10, 12,5, 15, 20, 40, 60, 80, 100 или 150 мкг кальция, растворенного в водном растворе альбумина с концентрацией 300 мг/мл (средняя концентрация альбумина в ретентате), на 1 мл сыворотки крысы Wistar (Molecular Wings) с последующим тщательным ресуспендированием, инкубацией смеси в течение часа и последующим измерением молярной концентрации Ca²⁺ (Konelab 70i) в сравнении с контрольной средой EndoLife или сывороткой крысы без добавления CaCl₂. Для последующих экспериментов использовалась доза кальция, повышающая молярную концентрацию Ca²⁺ в бессывороточной культуральной среде для ЭК (EndoLife) или в сыворотке крысы на 10% (в 1,1 раза), поскольку именно такое повышение (на 0,10–0,14 ммоль/л, в среднем 0,12 ммоль/л) составляет межквартильный интервал (разницу между верхним и нижним квартилями) по Ca²⁺ у здоровых людей, пациентов с инфарктом миокарда и ишемическим инсультом [4, 15]. Как указано выше, субъекты с верхним квартилем по молярной концентрации Ca²⁺ имеют повышенный риск развития острых сердечно-сосудистых событий в сравнении с таковыми с нижним квартилем [4, 13, 15].

Анализ интернализации КПК и КПК эндотелиальными клетками

С целью анализа интернализации КПК и КПК ЭК проводили мечение КПК и КПК флюоресце-

ин-5-изотиоцианат (ФИТЦ)-меченным альбумином: в процессе синтеза (добавляя к смеси 750 мкг ФИТЦ-меченного альбумина в концентрации 5 мкг/мкл, A23015, Thermo Fisher Scientific, США) либо после синтеза путем инкубации осажденных КПК со 125 мкг (25 мкл) ФИТЦ-меченного альбумина и последующей инкубации 500 мкл ретентата (КПК) с 250 мкг (50 мкл) ФИТЦ-меченного альбумина после их перемешивания.

При использовании первого подхода (с инкорпорацией ФИТЦ-меченного альбумина в КПК и КПК в процессе их синтеза) искусственный синтез проводился не ранее чем за 24 ч до эксперимента и при отсутствии прямого воздействия света для минимизации снижения интенсивности ФИТЦ со временем. Осадок КПК дополнительно ресуспендировали в 1,5 мл физиологического раствора NaCl и центрифугировали при 13 000 × g (Microfuge 20R, Beckman Coulter, США) в течение 10 мин для отмывки КПК от несвязавшегося ФИТЦ-меченного альбумина. Осадок КПК повторно ресуспендировали в 400 мкл стерильного физиологического раствора NaCl. Ретентат от несвязавшегося ФИТЦ-меченного альбумина не отмывали ввиду технической невозможности осуществления этого процесса.

При использовании второго подхода (с инкубацией уже синтезированных КПК и КПК с ФИТЦ-меченным альбумином) инкубация КПК или КПК с ФИТЦ-меченным альбумином длилась в течение часа при 4 °С без доступа света. После инкубации КПК осаждали посредством центрифугирования при 13 000 × g (Microfuge 20R, Beckman Coulter, США) в течение 10 мин при 4 °С, ресуспендировали в 1 мл физиологического раствора NaCl и повторно центрифугировали при 13 000 × g (Microfuge 20R, Beckman Coulter, США) в течение 10 мин для отмывки КПК от несвязавшегося ФИТЦ-меченного альбумина. Осадок КПК повторно ресуспендировали в 400 мкл стерильного физиологического раствора NaCl. Измерение концентрации кальция и белка в полученных образцах ФИТЦ-КПК и ФИТЦ-КПК проводили в день их синтеза по указанным выше протоколам.

Для моделирования пульсирующего ламинарного потока (15 дин/см²) применяли систему Ividi Pump System Quad (Ividi, Германия) и набор коннекторов для перфузии (Perfusion Set Yellow/Green, 10964, Ividi, Германия). Первичные ЭК коронарной артерии и внутренней грудной артерии человека, предварительно культивированные до 100% конfluence в проточные камеры (350 000 клеток на проточную камеру, 80126, Ividi, Германия), прекоинкубировали ламинарным потоком (15 дин/см²) в бессывороточной обогащенной факторами роста культуральной среде EndoLife (Molecular Wings) в течение 24 ч. Далее в систему добавляли ФИТЦ-КПК и ФИТЦ-КПК (10 мкг

кальция на 1 мл среды, всего 150 мкг кальция на один модуль системы пульсирующего потока, то есть на одну проточную камеру). Первый запуск системы проводился с КПМ и КПЧ, в которые ФИТЦ-меченный альбумин был инкорпорирован в процессе их синтеза, второй запуск – с КПМ и КПЧ, которые были инкубированы с ФИТЦ-меченным альбумином после синтеза, третий запуск – с контрольными клетками, к которым добавляли КПМ и КПЧ без мечения ФИТЦ. Продолжительность инкубации ЭК с КПМ и КПЧ в системе пульсирующего потока составляла один час. Контрастирование ядер проводили с использованием красителя Hoechst 33342 (2 мкг/мл, H3570, Thermo Fisher Scientific, США), разбавленного в бессывороточной культуральной среде EndoLife, в течение 5 мин. Визуализацию КПМ и КПЧ в живых ЭК выполняли после тщательной отмывки в свободной от красителя бессывороточной культуральной среде EndoLife с использованием конфокальной микроскопии (LSM 700, Carl Zeiss, Германия).

Анализ ответа эндотелиальных клеток на добавление Ca^{2+} , КПМ и КПЧ

Для изучения реакции ЭК на инкубацию с равными концентрациями Ca^{2+} , КПМ и КПЧ к предварительно высаженным в 6-луночные плоскодонные культуральные планшеты (N-703001, Wuxi NEST Biotechnology Co., Ltd, США) первичным ЭК коронарной и внутренней грудной артерий добавляли Ca^{2+} (в виде смеси $CaCl_2$), КПМ или КПЧ в дозировке 10 мкг кальция на 1 мл бессывороточной культуральной среды EndoLife (20 мкг кальция на лунку 6-луночного планшета, $n = 6$ лунок на группу) и проводили инкубацию в течение 24 ч. Во все лунки также добавлялось соответствующее средней концентрации альбумина в ретентате количество альбумина (12 мг) во избежание нивелирования возможных протективных эффектов данного белка. В качестве контрольной группы использовали клетки, к которым добавляли аналогичный объем фосфатно-солевого буфера по Дульбекко (DPBS) без кальция и магния (1.2.4.7., «БиолоТ», Россия). Замену сывороточной культуральной среды на бессывороточную (EndoLife) для наращивания клеточной массы (EndoBoost) осуществляли непосредственно перед проведением эксперимента. После 24-часовой инкубации с избыточной дозой кальция проводили микротомосъемку клеток при помощи фазово-контрастной микроскопии, культуральную среду отбирали, центрифугировали при $2000 \times g$ для осаждения клеточного дебриса и замораживали при $-80^\circ C$, клетки промывали ледяным ($4^\circ C$) раствором DPBS без кальция и магния (1.2.4.7., «БиолоТ», Россия) и лизировали монофазным водным раствором фенола и гуанидин-изотиоцианата для выделения РНК ExtractRNA (BC032,

«Евроген», Россия).

Обратную транскрипцию выделенной РНК выполняли с использованием набора High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (4368814, Thermo Fisher Scientific, США). Измерение генной экспрессии проводили при помощи количественной полимеразной цепной реакции после обратной транскрипции (ОТ-кПЦР) с использованием самостоятельно разработанных праймеров (500 нмоль/л каждый, «Евроген», Россия; табл. 1), кДНК (20 нг) и мастер-микса PowerUp SYBR Green (A25778, Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с протоколом производителя для $T_m \geq 60^\circ C$ (стандартные настройки амплификатора). Для каждой биологической повторности ($n = 6$, по числу лунок в каждом планшете) при измерении уровня генной экспрессии выполняли три технических повторности. Реакцию считали успешно проведенной при эффективности 90–105% и $R_2 \geq 0,98$. Количественный анализ уровней мРНК в лизате ЭК человека (*VCAM1*, *ICAM1*, *SELE*, *SELP*, *IL6*, *CXCL8*, *CCL2*, *CXCL1*, *MIF*, *NOS3*, *SNAI1*, *SNAI2*, *TWIST1*, *ZEB1*, *KLF2*, *KLF4*, *NFE2L2*) выполняли с использованием метода $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Такой набор генов позволил оценить провоспалительную активацию эндотелия (гены рецепторов ЭК для лейкоцитов *VCAM1*, *ICAM1*, *SELE* и *SELP*), синтез провоспалительных цитокинов ЭК (гены провоспалительных цитокинов *IL6*, *CXCL8*, *CCL2*, *CXCL1* и *MIF*), синтез эндотелиальной NO-синтазы (ген *NOS3*), развитие эндотелиально-мезенхимального перехода (гены транскрипционных факторов эндотелиально-мезенхимального перехода *SNAI1*, *SNAI2*, *TWIST1* и *ZEB1*) и развитие нарушений эндотелиальной механотрансдукции (гены механочувствительных транскрипционных факторов *KLF2*, *KLF4* и *NFE2L2*). Уровни транскриптов пересчитывали относительно экспрессии референсных генов (*ACTB*, *GAPDH* и *B2M*) и относительно группы сравнения (контрольные клетки, к которым добавляли DPBS без кальция и магния) ($2^{-\Delta\Delta Ct}$). Данные представляли в виде среднего арифметического и стандартного отклонения от среднего. Статистическую значимость различий между группами оценивали при помощи однофакторного дисперсионного анализа с последующим попарным сравнением различий между экспериментальными группами и контрольной группой по критерию Даннета.

Результаты

Для расчета физиологически релевантной дозы добавляемого в культуральную среду кальция проведен эксперимент и построена кривая зависимости процента повышения молярной концентрации Ca^{2+} (относительно контрольной среды без добавления кальция) от концентрации кальция, добавляемого в среду в составе $CaCl_2$. Расчеты показали, что иско-

мое повышение молярной концентрации Ca^{2+} на 10% в бессывороточной культуральной среде для ЭК достигалось посредством добавления кальция в концентрации 10 мкг/мл (рис. 1). Аналогичный результат продемонстрирован и в результате оценки концентрации кальция, необходимой для достижения искомого повышения (на 10%) молярной концентрации Ca^{2+} в сыворотке крысы (10 мкг/мл, рис. 2). Таким образом, для проведения экспериментов по оценке интернализации КПМ и КПЧ ЭК, а также по анализу патогенных эффектов добавляемого в различных формах (Ca^{2+} , КПМ и КПЧ) кальция на ЭК была выбрана концентрация в 10 мкг/мл.

Далее проанализирована возможность интернализации КПМ ЭК в условиях потока. Для иден-

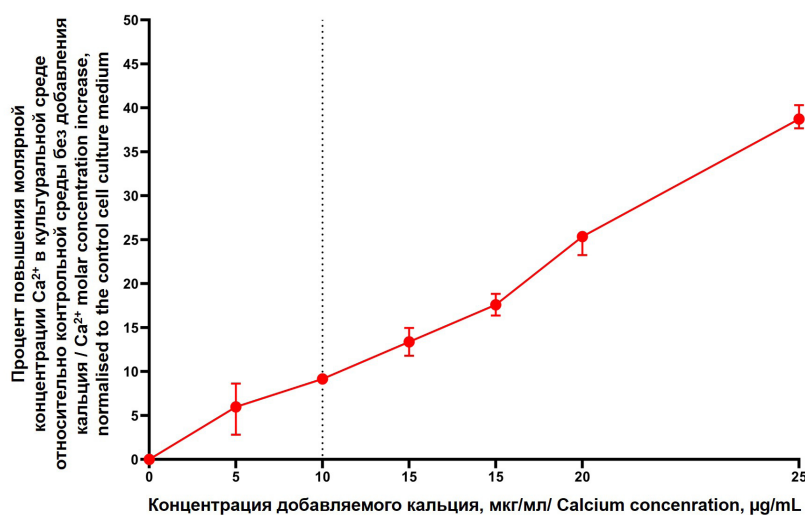


Рисунок 1. Подбор дозы кальция, добавляемого в культуральную среду для ЭК. Повышение молярной концентрации Ca^{2+} на 10% достигалось посредством добавления 10 мкг кальция на 1 мл культуральной среды

Figure 1. Measurement of ionized calcium (Ca^{2+}) increment in endothelial cell culture medium upon the calcium supersaturation provided by calcium chloride addition. 10% Ca^{2+} increment is achieved by the addition of 10 µg calcium per 1 mL cell culture medium

Таблица 1. Последовательности праймеров для ОТ-кПЦР

Table 1. Primer sequences for reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction

Ген / Gene	Форвард-праймер / Forward primer	Реверс-праймер / Reverse primer
<i>Провоспалительная активация эндотелия / Pro-inflammatory endothelial activation</i>		
<i>VCAM1</i>	5'-CGTCTTGGTCTAGCCCTTCCT-3'	5'-ACATTCATATACTCCCGCATCCTTC-3'
<i>ICAM1</i>	5'-TTGGGCATAGAGACCCCGTT-3'	5'-GCACATTGCTCAGTTCATACACC-3'
<i>SELE</i>	5'-GCACAGCCTTGTCCAACC-3'	5'-ACCTCACCAAACCCTTCG-3'
<i>SELP</i>	5'-ATGGGTGGGAACCAAAAAGG-3'	5'-GGCTGACGGACTCTTGATGTAT-3'
<i>IL6</i>	5'-GGCACTGGCAGAAAACAACC-3'	5'-GCAAGTCTCCTCATTGAATCC-3'
<i>CXCL8</i>	5'-CAGAGACAGCAGAGCACAC-3'	5'-AGTTCTTTAGCACTCCTTGGC-3'
<i>CCL2</i>	5'-TTCTGTGCCTGCTGCTCATAG-3'	5'-AGGTGACTGGGGCATTGATTG-3'
<i>CXCL1</i>	5'-GCTTGCCTCAATCCTGCATCC-3'	5'-ACAATCCAGGTGGCCTCTGC-3'
<i>MIF</i>	5'-GGTGTCCGAGAAGTCAGGCA-3'	5'-GGGGCACGTTGGTGTTTACG-3'
<i>Синтез монооксида азота (NO) / Nitric oxide biosynthesis</i>		
<i>NOS3</i>	5'-GTGATGGCGAAGCGAGTGAAG-3'	5'-CCGAGCCCGAACACACAGAAC-3'
<i>Развитие эндотелиально-мезенхимального перехода / Endothelial-to-mesenchymal transition</i>		
<i>SNAIL</i>	5'-CAGACCCACTCAGATGTCAAGAA-3'	5'-GGGCAGGTATGGAGAGGAAGA-3'
<i>SNAIL2</i>	5'-ACTCCGAAGCCAAATGACAA-3'	5'-CTCTCTCTGTGGGTGTGTGT-3'
<i>TWIST1</i>	5'-GTCCGCAGTCTTACGAGGAG-3'	5'-GCTTGAGGGTCTGAATCTTGCT-3'
<i>ZEB1</i>	5'-GATGATGAATGCGAGTCAGATGC-3'	5'-ACAGCAGTGTCTTGTGTTGT-3'
<i>Нарушения эндотелиальной механотрансдукции / Impaired endothelial mechanotransduction</i>		
<i>KLF2</i>	5'-CAGCACTGGTCTGGTTGCTTG-3'	5'-ACCCACTGCACACGATGCTT-3'
<i>KLF4</i>	5'-GAAAAGGACCGCCACCCACA-3'	5'-AGCGGGCGAATTTCCATCCA-3'
<i>NFE2L2</i>	5'-GCACATCCAGTCAGAAACAGT-3'	5'-ACTGAAACGTAGCCGAAGAAAC-3'
<i>Гены «домашнего хозяйства» / Housekeeping genes</i>		
<i>ACTB</i>	5'-CATCGAGCACGGCATCGTCA-3'	5'-TAGCACAGCCTGGACAGCAAC-3'
<i>GAPDH</i>	5'-AGCCACATCGCTCAGACAC-3'	5'-GCCCAATACGACCAAATCC-3'
<i>B2M</i>	5'-TCCATCCGACATTGAAGTTG-3'	5'-CGGCAGGCATACTCATCTT-3'

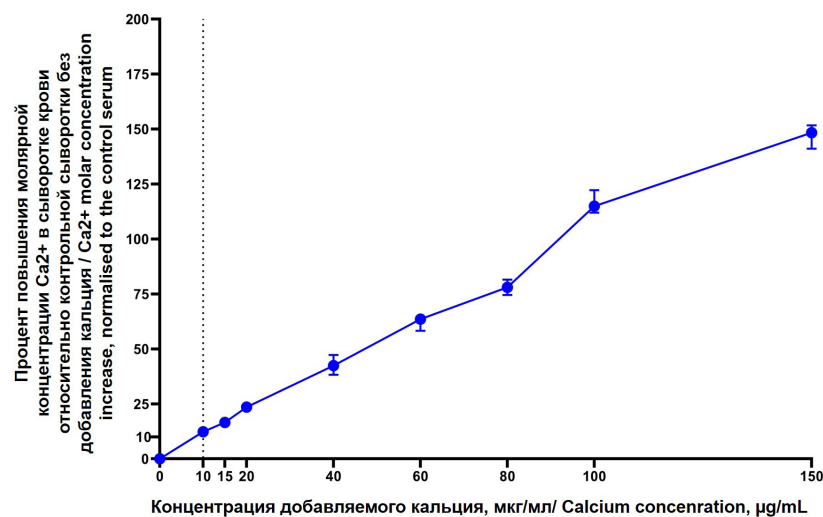


Рисунок 2. Подбор дозы кальция, добавляемого к сыворотке крысы. Повышение молярной концентрации Ca^{2+} в сыворотке крови относительно контрольной сыворотки без добавления кальция / Ca^{2+} molar concentration increase, normalised to the control serum

Figure 2. Measurement of ionized calcium (Ca^{2+}) increment in the rat serum upon the calcium supersaturation provided by calcium chloride addition. 10% Ca^{2+} increment is achieved by the addition of 10 µg calcium per 1 mL rat serum

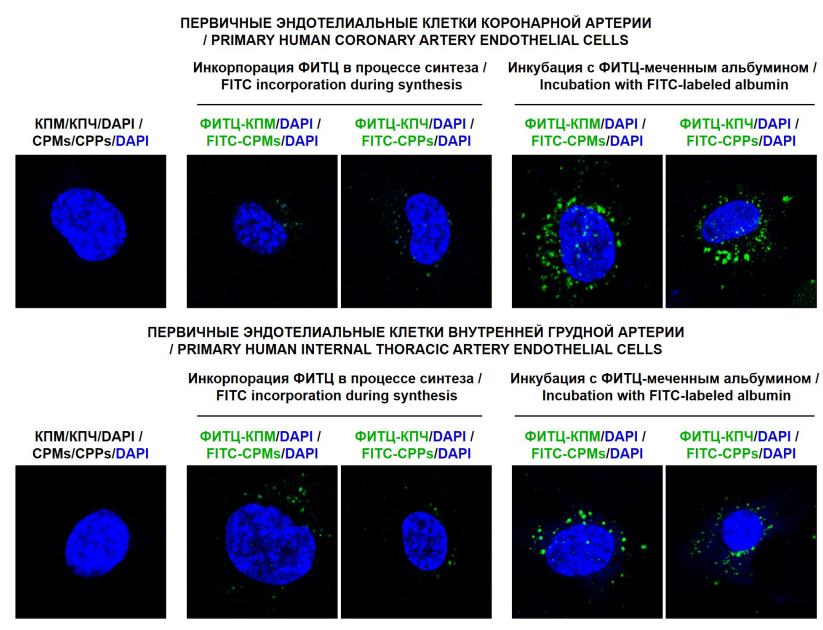


Рисунок 3. Визуализация интернализации меченных флуоресцеин-5-изотиоцианат (ФИТЦ)-меченным альбумином кальципротеиновых мономеров (ФИТЦ-КПМ) и кальципротеиновых частиц (ФИТЦ-КПЧ) первичными ЭК коронарной артерии (сверху) и внутренней грудной артерии (снизу). Слева: контрольные клетки с добавлением КПМ и КПЧ в отсутствие меченного ФИТЦ-меченным альбумином. В центре: интернализация ЭК ФИТЦ-КПМ и ФИТЦ-КПЧ, в которые ФИТЦ-меченный альбумин был инкорпорирован в процессе их синтеза. Справа: интернализация ЭК ФИТЦ-КПМ и ФИТЦ-КПЧ, инкубированных с ФИТЦ-меченным альбумином после их синтеза. Ядра контрастированы 4',6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI). Конфокальная микроскопия, увеличение $\times 400$

Figure 3. Internalization of fluorescein isothiocyanate (FITC)-albumin-labeled calcein monomers (FITC-CPMs) and calcein particles (FITC-CPPs) by primary human coronary artery endothelial cells (HCAEC, top) and primary human internal thoracic artery endothelial cells (HITAEC, bottom). Left: cells treated with unlabeled CPMs and CPPs; center: cells treated with CPMs and CPPs which incorporated FITC-labeled albumin during their synthesis; right: cells treated with CPMs and CPPs which were co-incubated with FITC-labeled albumin after their synthesis. Nuclei are counterstained with 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI). Confocal microscopy, $\times 400$ magnification

тификации этого феномена использован ФИТЦ-меченный альбумин, инкорпорированный в ФИТЦ-КПМ и ФИТЦ-КПЧ при их синтезе или адгезированный к ФИТЦ-КПМ и ФИТЦ-КПЧ после их синтеза. ФИТЦ-КПЧ использованы как группа положительного контроля, поскольку возможность интернализации КПЧ ЭК в условиях потока была показана ранее [5, 8]. В качестве отрицательного контроля использованы КПЧ и КПМ, не меченные ФИТЦ. Конфокально-микроскопический анализ, проведенный через час после совместной инкубации ЭК с ФИТЦ-мечеными КПМ и ФИТЦ-мечеными КПЧ в условиях потока, продемонстрировал флуоресцентное свечение внутри инкубированных с ФИТЦ-КПМ и ФИТЦ-КПЧ ЭК и отсутствие такового свечения в ЭК, инкубированных с КПМ и КПЧ без меченного ФИТЦ (рис. 3). При адгезии ФИТЦ-меченного альбумина к КПМ и КПЧ после их синтеза в цитозоле клеток наблюдалось значительно более яркое свечение в сравнении с инкорпорацией ФИТЦ-меченного альбумина в КПМ и КПЧ в процессе их синтеза. Интенсивность и объем свечения между КПМ и КПЧ не различались, что свидетельствовало о близкой аффинности и avidности ФИТЦ-меченного альбумина к КПМ и КПЧ (см. рис. 3).

При добавлении к первичным ЭК коронарной и внутренней грудной артерий равной концентрации кальция (10 мкг/мл) в форме Ca^{2+} , КПМ и КПЧ при помощи фазово-контрастной микроскопии выявлено патологическое изменение морфологии ЭК (рис. 4).

Соответствующие дисфункции эндотелия молекулярные изменения наблюдались исключительно в ЭК, к которым добавляли КПЧ (табл. 2). В частности, в первичных ЭК коронарной артерии человека наблюдалось

повышение экспрессии генов провоспалительных молекул, отвечающих за адгезию лейкоцитов (*VCAM1*, *ICAM1* и *SELE*) и генов провоспалительных цитокинов (*IL6*, *CXCL8* и *CXCL1*, см. табл. 2). Несмотря на то что в ЭК внутренней грудной артерии определена тенденция аналогичного повышения уровня генной экспрессии, статистической значимости они не достигли. Следует также отметить компенсаторное повышение гена атеропротективного транскрипционного фактора эндотелиальной механотрансдукции *KLF4* (см. табл. 2). Изменения в ЭК при воздействии Ca^{2+} и КПМ носили стохастический характер, не достигали статистической значимости и не указывали на развитие дисфункции эндотелия.

Обсуждение

В настоящее время активно исследуется двоякая роль КПЧ как «обоюдоострого меча»: с одной стороны, они являются неотъемлемой частью системы поддержания минерального гомеостаза и буфером избыточного ионизированного кальция, с другой – интернализуются артериальными ЭК [4–6, 8], ЭК синусоидных капилляров печени [20, 22], моноцитами [8], а также резидентными макрофагами печени [20–22] и селезенки [21], вызывая дисфункцию эндотелия [4–9], которая также может быть более выраженной при наличии у пациента коморбидных патологий. Тем не менее циркулирующие депо ионов кальция не ограничиваются КПЧ и также включают в себя КПМ и кислые белки-скевенджеры ионов кальция [19, 20]. При этом роль самих белков-скевенджеров, за исключением фетуина-А, в формировании КПМ остается не вполне ясной, однако формирование КПЧ с их участием позволяет предположить, что по меньшей мере некоторые из них (к примеру, альбумин) также способны формировать КПМ.

Общепринятым принципом расчета дозы КПЧ для *in vitro* или *in vivo* экспериментов является оценка содержащегося в них кальция, поскольку биохимической основой патогенных эффектов корпускулярных КПЧ является именно кальциевый стресс [4, 7, 20–22]. С этой точки зрения представляет интерес анализ вероятных патогенных эффектов находящихся в коллоидном состоянии КПМ и свободных ионов Ca^{2+} в сравнении с КПЧ при добавлении равной концентрации кальция. Следует отметить, что в данных экспериментальных условиях к раствору $CaCl_2$ (донору ионов Ca^{2+}) и суспензии КПЧ также должен добавляться белок, при помощи которого синтезированы КПМ (так как белок является неотъемлемой частью этих коллоидных кальций-белковых комплексов); в данном исследовании таким белком стал альбумин. Выбор альбумина как белка для модельного синтеза КПМ был сделан вследствие связи «низкой нормальной» концентрации этого белка в сыворотке крови с развитием острых сердечно-сосудистых событий [15, 17, 18], а также отрицательной корреляционной связи между концентрацией альбумина и интенсивностью преципитации КПЧ из сыворотки крови в условиях минерального стресса [15]. Кроме того, концентрация альбумина положительно коррелирует с исходной концентрацией КПЧ и молярной концентрацией общего кальция в сыворотке крови, что также подтверждает важность этого белка для формирования КПЧ и поддержания минерального гомеостаза [14].

Принципиальным аспектом проведения исследования по сравнительному анализу патогенных эффектов равной концентрации различных форм кальция (Ca^{2+} , КПМ и КПЧ) также является достижение именно «высокой нормальной», а не патологически повышенной молярной концентрации Ca^{2+} , поскольку данный параметр является одним

из наиболее жестко регулируемых в организме человека во избежание развития несовместимых с жизнью нарушений ритма, а также внескелетной кальцификации [9]. По ранее полученным нашей группой данным, различие между протективным нижним квартилем и рисковым верхним квартилем молярной концентрации Ca^{2+} составляет от 0,10 до 0,14 ммоль/л, или около 10% от его референсной концентрации в крови (1,16–1,32 ммоль/л). Поэтому именно повышение исходной концентрации Ca^{2+} в бессывороточной среде для культивирования эндотели-

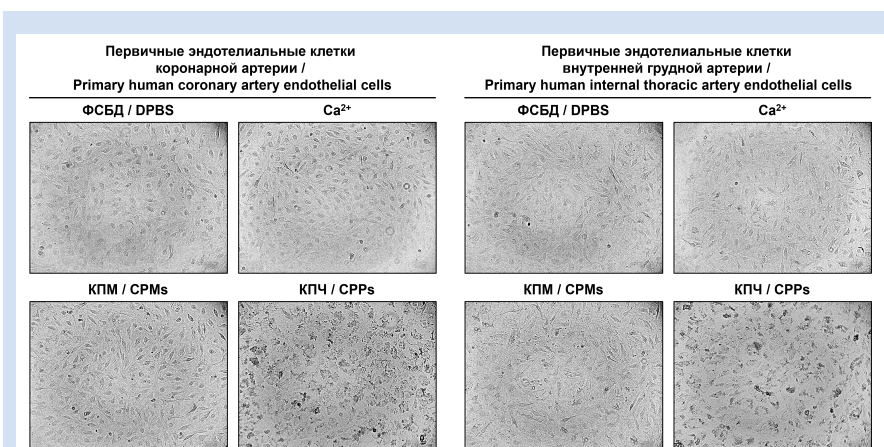


Рисунок 4. Фазово-контрастная микроскопия первичных ЭК коронарной артерии (слева) и внутренней грудной артерии (справа), инкубированных с контрольным фосфатно-солевым буфером, Ca^{2+} , КПМ или КПЧ

Figure 4. Phase contrast microscopy of primary human coronary artery endothelial cells (HCAEC, left) and primary human internal thoracic artery endothelial cells (HITAEC, right) which were incubated with control phosphate-buffered saline, ionized calcium (Ca^{2+}), calciprotein monomers (CPMs), or calciprotein particles (CPPs)

Таблица 2. Относительный уровень экспрессии генов (Δ Ct, верхняя строка ячейки каждого гена), кратности изменения экспрессии (средняя строка ячейки каждого гена) и статистическая значимость различий (значение p, нижняя строка ячейки каждого гена) генов, кодирующих провоспалительные молекулы клеточной адгезии (*VCAM1*, *ICAM1*, *SELE*, *SELP*), провоспалительные цитокины (*IL6*, *CXCL8*, *CCL2*, *CXCL1*, *MIF*), эндотелиальную синтазу монооксида азота (*NOS3*), транскрипционные факторы эндотелиально-мезенхимального перехода (*SNAI1*, *SNAI2*, *TWIST1*, *ZEB1*) и транскрипционные факторы эндотелиальной механотрансдукции (*KLF2*, *KLF4*, *NFE2L2*). Значимые кратности изменения выделены жирным шрифтом

Table 2. Relative level of gene expression (Δ Ct, top string within each line), fold change (middle string within each line), and p value (bottom string within each line) in genes encoding pro-inflammatory cell adhesion molecules (*VCAM1*, *ICAM1*, *SELE*, *SELP*), pro-inflammatory cytokines (*IL6*, *CXCL8*, *CCL2*, *CXCL1*, *MIF*), endothelial nitric oxide synthase (*NOS3*), endothelial-to-mesenchymal transition transcription factors (*SNAI1*, *SNAI2*, *TWIST1*, *ZEB1*), and endothelial mechanotransduction transcription factors (*KLF2*, *KLF4*, *NFE2L2*). Significant fold change values are marked bold

Ген / Gene	Первичные эндотелиальные клетки коронарной артерии человека / Primary human coronary artery endothelial cells				Первичные эндотелиальные клетки внутренней грудной артерии человека / Primary human internal thoracic artery endothelial cells			
	DPBS	Ca2+	КПМ / CPMs	КПЧ / CPPs	DPBS	Ca2+	КПМ / CPMs	КПЧ / CPPs
VCAM1	0,00034 ± 0,00069	0,00012 ± 0,00007	0,00018 ± 0,00007	0,0014 ± 0,0009	0,0003 ± 0,0002	0,0010 ± 0,0011	0,0006 ± 0,0004	0,0009 ± 0,0007
	1	0,353	0,529	4,118	1	3,333	2,000	3,000
	1,00	0,850	0,931	0,012	1,00	0,187	0,797	0,298
ICAM1	0,0152 ± 0,0078	0,0371 ± 0,0220	0,0113 ± 0,0035	0,1167 ± 0,0887	0,0333 ± 0,0220	0,0495 ± 0,0342	0,0401 ± 0,0251	0,0430 ± 0,0208
	1	2,441	0,743	7,678	1	1,486	1,204	1,291
	1,00	0,748	0,998	0,003	1,00	0,581	0,942	0,856
SELE	0,0048 ± 0,0012	0,0088 ± 0,0037	0,0018 ± 0,0005	0,0131 ± 0,0064	0,0591 ± 0,0367	0,1035 ± 0,1418	0,0909 ± 0,1282	0,0939 ± 0,0919
	1	1,833	0,375	2,729	1	1,751	1,538	1,589
	1,00	0,179	0,402	0,003	1,00	0,817	0,920	0,899
SELP	0,0070 ± 0,0057	0,0026 ± 0,0007	0,0013 ± 0,0005	0,0021 ± 0,0012	0,0008 ± 0,0005	0,0053 ± 0,0061	0,0055 ± 0,0054	0,0024 ± 0,0031
	1	0,371	0,186	0,300	1	6,625	6,875	3,000
	1,00	0,049	0,009	0,026	1,00	0,210	0,188	0,869
IL6	0,0165 ± 0,0123	0,0057 ± 0,0020	0,0067 ± 0,0044	0,1194 ± 0,0881	0,0084 ± 0,0044	0,0131 ± 0,0165	0,0191 ± 0,0210	0,0245 ± 0,0283
	1	0,345	0,406	7,236	1	1,560	2,274	2,917
	1,00	0,953	0,964	0,002	1,00	0,953	0,666	0,366
CXCL8	0,0352 ± 0,0242	0,0440 ± 0,0158	0,0240 ± 0,0107	2,0352 ± 1,6428	0,1388 ± 0,0560	0,1800 ± 0,2123	0,1826 ± 0,1994	0,3264 ± 0,3855
	1	1,250	0,682	57,818	1	1,297	1,316	2,352
	1,00	0,999	0,999	0,001	1,00	0,982	0,979	0,419
CCL2	0,6479 ± 0,4577	0,4320 ± 0,4485	0,6591 ± 0,6445	1,3611 ± 1,1318	0,8872 ± 0,4282	1,2822 ± 1,6046	1,4833 ± 1,7250	1,6066 ± 2,0785
	1	0,667	1,017	2,101	1	1,445	1,672	1,811
	1,00	0,918	0,999	0,240	1,00	0,949	0,853	0,773
CXCL1	0,1176 ± 0,0489	0,0435 ± 0,0433	0,0437 ± 0,0368	0,3480 ± 0,1635	0,0643 ± 0,0284	0,1520 ± 0,1957	0,0941 ± 0,0936	0,0981 ± 0,1116
	1	0,370	0,372	2,959	1	2,364	1,463	1,526
	1,00	0,367	0,368	0,001	1,00	0,478	0,952	0,933
MIF	0,3595 ± 0,1704	0,2292 ± 0,1011	0,2608 ± 0,0750	0,4163 ± 0,3009	0,3007 ± 0,1543	0,7886 ± 0,9699	0,5127 ± 0,4061	0,4603 ± 0,4413
	1	0,638	0,725	1,158	1	2,623	1,705	1,531
	1,00	0,485	0,680	0,910	1,00	0,346	0,859	0,932
NOS3	0,0087 ± 0,0062	0,0068 ± 0,0037	0,0065 ± 0,0027	0,0082 ± 0,0085	0,0030 ± 0,0015	0,0092 ± 0,0092	0,0118 ± 0,0132	0,0059 ± 0,0036
	1	0,782	0,747	0,943	1	3,067	3,933	1,967
	1,00	0,899	0,846	0,997	1,00	0,407	0,194	0,857
SNAI1	0,0153 ± 0,0075	0,0099 ± 0,0041	0,0117 ± 0,0060	0,0340 ± 0,0306	0,0048 ± 0,0020	0,0128 ± 0,0112	0,0139 ± 0,0130	0,0093 ± 0,0100
	1	0,647	0,765	2,222	1	2,667	2,896	1,938
	1,00	0,902	0,967	0,178	1,00	0,390	0,296	0,784
SNAI2	0,0121 ± 0,0099	0,0038 ± 0,0008	0,0061 ± 0,0038	0,0045 ± 0,0030	0,0008 ± 0,0004	0,0032 ± 0,0023	0,0096 ± 0,0169	0,0028 ± 0,0049
	1	0,314	0,504	0,372	1	4,000	12,000	3,500
	1,00	0,044	0,176	0,069	1,00	0,942	0,276	0,966
TWIST1	0,0013 ± 0,0010	0,0003 ± 0,0002	0,0002 ± 0,0001	0,0007 ± 0,0004	0,0004 ± 0,0003	0,0016 ± 0,0025	0,0028 ± 0,0046	0,0013 ± 0,0016
	1	0,231	0,154	0,538	1	4,000	7,000	3,250
	1,00	0,015	0,006	0,149	1,00	0,770	0,332	0,883
ZEB1	0,2133 ± 0,0853	0,0757 ± 0,0583	0,1547 ± 0,0612	0,3244 ± 0,2382	0,1422 ± 0,0695	0,3690 ± 0,4640	0,4539 ± 0,4903	0,3511 ± 0,4072
	1	0,355	0,725	1,521	1	2,595	3,192	2,469
	1,00	0,208	0,789	0,360	1,00	0,638	0,402	0,690
KLF2	0,0026 ± 0,0016	0,0013 ± 0,0008	0,0010 ± 0,0006	0,0031 ± 0,0029	0,0010 ± 0,0008	0,0017 ± 0,0012	0,0041 ± 0,0058	0,0043 ± 0,0068
	1	0,500	0,385	1,192	1	1,700	4,100	4,300
	1,00	0,484	0,295	0,917	1,00	0,988	0,496	0,462
KLF4	0,0047 ± 0,0026	0,0026 ± 0,0007	0,0023 ± 0,0013	0,0472 ± 0,0390	0,0117 ± 0,0061	0,0154 ± 0,0206	0,0134 ± 0,0113	0,0305 ± 0,0344
	1	0,553	0,489	10,043	1	1,316	1,145	2,607
	1,00	0,995	0,993	0,003	1,00	0,981	0,998	0,308
NFE2L2	0,2095 ± 0,1512	0,0889 ± 0,0260	0,1093 ± 0,0414	0,3476 ± 0,2403	0,1489 ± 0,0718	0,2252 ± 0,2664	0,4401 ± 0,4784	0,3014 ± 0,3919
	1	0,424	0,522	1,659	1	1,512	2,956	2,024
	1,00	0,356	0,498	0,257	1,00	0,961	0,335	0,777

Примечание: КПМ – кальципротеиновые мономеры; КПЧ – кальципротеиновые частицы.
Note: CPMs – calciprotein monomers; CPPs – calciprotein particles.

альных клеток на 10% было выбрано в качестве целевого. Проведенные в представленной работе эксперименты показали, что такое повышение достигается путем увеличения концентрации кальция на 10 мкг/мл.

Необходимой предпосылкой реализации патогенных эффектов КПЧ является их интернализация ЭК [4–6, 8], которая происходит даже в условиях потока [5, 8]. Возможность интернализации КПМ ЭК оставалась неясной, однако также была показана в условиях потока в данном исследовании. Несмотря на это, добавление Ca^{2+} и КПМ в выбранной для исследования концентрации (10 мкг/мл) не вызывало системных патогенных эффектов в первичных артериальных ЭК человека (хотя отдельные стохастические эффекты все же достигали статистической значимости). Напротив, добавление КПЧ к первичным ЭК коронарной артерии человека в концентрации 10 мкг/мл вызывало повышение экспрессии генов провоспалительных молекул клеточной адгезии, обеспечивающих связывание лейкоцитов с ЭК (*VCAM1*, *ICAM1* и *SELE*) и генов основных эндотелиальных провоспалительных цитокинов (*IL6*, *CXCL8* и *CXCL1*). Тем не менее ЭК внутренней грудной артерии были более устойчивыми к воздействию КПЧ в вышеуказанной концентрации и не характеризовались статистически значимыми изменениями генной экспрессии. Наблюдавшаяся в ЭК коронарной артерии их провоспалительная активация является типовой для дисфункциональных ЭК [23, 24], в особенности при воздействии кальциевого стресса [4]. Интересным наблюдением было компенсаторное повышение гена атеропротективного транскрипционного фактора эндотелиальной механотрансдукции *KLF4* в ЭК коронарной артерии, однако системный характер данного феномена находится под вопросом, учитывая отсутствие подобной реакции генов *KLF2* и *NFE2L2*.

Выявленные изменения генной экспрессии в ЭК коронарной артерии под воздействием КПЧ соответствуют картине хронического системного воспаления низкой интенсивности, которое само по себе является триггером дисфункции эндотелия [25] и наблюдается у пожилых пациентов (так называемый феномен инфламэйджинга). Это свидетельствует о физиологической релевантности проведенного исследования. Различие в патогенном действии Ca^{2+} , КПМ и КПЧ на ЭК (отсутствие такового у Ca^{2+} и КПМ и наличие такового у КПЧ) свидетельствует о том, что патологические эффекты кальция определяются также формой его доставки внутрь клетки и его присутствия вне клетки, а не только его концентрацией. Данные результаты могут указывать на необходимость переоценки подходов к дозировке

КПЧ в экспериментальных исследованиях; тем не менее следует отметить, что все остальные подходы (мечение флюоресцентно меченым бисфосфонатом, сканирующая электронная микроскопия и измерение оптической плотности в сочетании с оценкой распределения диаметра частиц в растворе при помощи динамического рассеяния света или без него) ограничены их применимостью исключительно для КПЧ. Кроме того, ни один из указанных альтернативных подходов не свободен от критики, поскольку проточно-цитометрический анализ отличается слишком высокой вариативностью, прямой подсчет количества частиц при помощи электронной микроскопии слишком длителен, а результаты измерения оптической плотности в значительной степени зависят от распределения размерности частиц в растворе.

Заключение

Повышение молярной концентрации ионизированного кальция в бессывороточной среде для культивирования ЭК и сыворотке крови крыс Wistar на 10% (в 1,1 раза) (то есть достижение «высокого нормального» уровня Ca^{2+}) обеспечивается путем добавления 10 мкг кальция на 1 мл среды или сыворотки. Добавление Ca^{2+} и КПМ в концентрации 10 мкг/мл не вызывает патологических эффектов в культурах первичных ЭК коронарной и внутренней грудной артерий (несмотря на факт интернализации КПМ). Добавление КПЧ к первичным ЭК коронарной артерии человека в концентрации 10 мкг/мл вызывает провоспалительную активацию эндотелия, которая проявляется повышением экспрессии генов молекул адгезии лейкоцитов *VCAM1*, *ICAM1* и *SELE* и генов провоспалительных цитокинов *IL6*, *CXCL8* и *CXCL1*, при этом первичные ЭК внутренней грудной артерии остаются относительно устойчивыми к развитию дисфункции эндотелия при воздействии такой дозы КПЧ. Поскольку дисфункцию эндотелия в физиологической концентрации вызывали исключительно КПЧ, а не КПМ или Ca^{2+} , можно сделать вывод о том, что патологические эффекты кальция в значительной степени определяются формой его добавления, а не только добавляемой концентрацией.

Конфликт интересов

Д.К. Шишкова заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.Е. Маркова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Ю.О. Маркова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.А. Великанова заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.В. Синицкая заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.Ю. Синицкий заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Е. Тюрина заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Д. Степанов заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Ю.А. Дылева заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.Г. Матвеева заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Г. Кутихин входит в редакционный совет журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний».

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-15-00107 «Патологические последствия и молекулярные механизмы воздействия кальций-фосфатных бионов (каль-

ципротеиновых частиц) на форменные элементы крови», <https://rscf.ru/project/22-15-00107/>.

Funding

This research and the article processing charge were funded by the Russian Science Foundation, grant number 22-15-00107 “Circulation of calciprotein particles in human blood: pathogenic consequences and molecular mechanisms” (Anton Kutikhin), <https://rscf.ru/en/project/22-15-00107/>.

Информация об авторах

Шишкова Дарья Кирилловна, кандидат биологических наук заведующая лабораторией молекулярной, трансляционной и цифровой медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-1518-3888

Маркова Виктория Евгеньевна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6652-5745

Маркова Юлия Олеговна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0009-0007-6734-3787

Великанова Елена Анатольевна, кандидат биологических наук 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** 0000-0002-1079-1956

Синицкая Анна Викторовна, кандидат биологических наук научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4467-8732

Синицкий Максим Юрьевич, кандидат биологических наук заведующий лабораторией геномной медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4824-2418

Тюрина Арина Евгеньевна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0009-0002-6293-6974

Author Information Form

Shishkova Daria K., PhD, Head of the Laboratory for Molecular, Translational, and Digital Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-1518-3888

Markova Victoria E., Junior Researcher, Laboratory for Molecular, Translational, and Digital Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6652-5745

Markova Yulia O., Junior Researcher, Laboratory for Molecular, Translational, and Digital Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0009-0007-6734-3787

Velikanova Elena A., PhD, Research Fellow, Laboratory for Cell and Tissue Engineering, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-1079-1956

Sinitskaya Anna V., PhD, Research Fellow, Laboratory for Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4467-8732

Sinitsky Maxim Yu., PhD, Head of the Laboratory for Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4824-2418

Tyurina Arina E., Junior Researcher, Laboratory for Molecular, Translational, and Digital Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0009-0002-6293-6974

Степанов Александр Денисович, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0009-0009-7947-5917

Дылева Юлия Александровна, кандидат медицинских наук старший научный сотрудник лаборатории исследований гомеостаза отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6890-3287

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

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

Stepanov Alexander D., Junior Researcher, Laboratory for Molecular, Translational, and Digital Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0009-0009-7947-5917

Dyleva Yulia A., MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory for Homeostasis Research, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6890-3287

Matveeva Vera G., MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory for Cell and Tissue Engineering, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4146-3373

Kutikhin Anton G., MD, PhD, Head of the 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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

МВГ – получение данных исследования, корректировка статьи, 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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kutikhin A.G., Feenstra L., Kostyunin A.E., Yuzhalin A.E., Hillebrands J.L., Krenning G. Calciprotein Particles: Balancing Mineral Homeostasis and Vascular Pathology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2021;41(5):1607-1624. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.315697.
2. Heiss A., Eckert T., Aretz A., Richtering W., van Dorp W., Schäfer C., Jahn-Dechent W. Hierarchical role of fetuin-A and acidic serum proteins in the formation and stabilization of calcium phosphate particles. *J Biol Chem.* 2008;283(21):14815-25. doi: 10.1074/jbc.M709938200.
3. Heiss A., DuChesne A., Denecke B., Grötzinger J., Yamamoto K., Renné T., Jahn-Dechent W. Structural basis of calcification inhibition by alpha 2-HS glycoprotein/fetuin-A. Formation of colloidal calciprotein particles. *J Biol Chem.* 2003;278(15):13333-41. doi: 10.1074/jbc.M210868200.
4. Shishkova D.K., Velikanova E.A., Bogdanov L.A., Sinitzky M.Y., Kostyunin A.E., Tsepokina A.V., Gruzdeva O.V., Mironov A.V., Mukhamadiyarov R.A., Glushkova T.V., Krivkina E.O., Matveeva V.G., Hryachkova O.N., Markova V.E., Dyleva Y.A., Belik E.V., Frolov A.V., Shabaev A.R., Efimova O.S., Popova A.N., Malysheva V.Y., Kolmykov R.P., Sevostyanov O.G., Russakov D.M., Dolganyuk V.F., Gutakovskiy A.K., Zhivodkov Y.A., Kozhukhov A.S., Brusina E.B., Ismagilov Z.R., Barbarash O.L., Yuzhalin A.E., Kutikhin A.G. Calciprotein Particles Link Disturbed Mineral Homeostasis with Cardiovascular Disease by Causing Endothelial Dysfunction and Vascular Inflammation. *Int J Mol Sci.* 2021;22(22):12458. doi: 10.3390/ijms222212458.
5. Shishkova D., Markova V., Sinitzky 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. doi: 10.3390/ijms21228802.
6. Kutikhin A.G., Velikanova E.A., Mukhamadiyarov R.A., Glushkova T.V., Borisov V.V., Matveeva V.G., Antonova L.V., Filip'ev D.E., Golovkin A.S., Shishkova D.K., Burago A.Y., Frolov A.V., Dolgov V.Y., Efimova O.S., Popova A.N., Malysheva V.Y., Vladimirov A.A., Sozinov S.A., Ismagilov Z.R., Russakov D.M., Lomzov A.A., Pyshnyi D.V., Gutakovskiy A.K., Zhivodkov Y.A., Demidov E.A., Peltek S.E., Dolganyuk V.F., Babich O.O., Grigoriev E.V., Brusina E.B., Barbarash O.L., Yuzhalin A.E. Apoptosis-mediated endothelial toxicity but not direct calcification or functional changes in anti-calcification proteins defines pathogenic effects of calcium phosphate bios. *Sci Rep.* 2016;6:27255. doi: 10.1038/srep27255.
7. Feenstra L., Kutikhin A.G., Shishkova D.K., Buikema H., Zeper L.W., Bourgonje A.R., Krenning G., Hillebrands J.L. Calciprotein Particles Induce Endothelial Dysfunction by Impairing Endothelial Nitric Oxide Metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2023;43(3):443-455. doi: 10.1161/ATVBAHA.122.318420.
8. Shishkova D., Lobov A., Zainullina B., Matveeva V., Markova V., Sinitzskaya A., Velikanova E., Sinitzky M., Kanonykina A., Dyleva Y., Kutikhin A. Calciprotein Particles Cause Physiologically Significant Pro-Inflammatory Response in Endothelial Cells and Systemic Circulation. *Int J Mol Sci.* 2022;23(23):14941. doi: 10.3390/ijms232314941.
9. Кутихин А.Г. Патофизиологическая и клиническая значимость нарушений минерального гомеостаза в контексте развития сердечно-сосудистых заболеваний. *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2021. Т. 6. № 2. С. 82-102. doi: 10.23946/2500-0764-2021-6-1-82-102.
10. Lutsey P.L., Alonso A., Michos E.D., Loehr L.R., Astor B.C., Coresh J., Folsom A.R. Serum magnesium, phosphorus, and calcium are associated with risk of incident heart failure: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Clin Nutr.* 2014;100(3):756-64. doi: 10.3945/ajcn.114.085167.
11. Rohrmann S., Garmo H., Malmstrom H., Hammar N., Jungner I., Walldius G., Van Hemelrijck M. Association between serum calcium concentration and risk of incident and fatal cardiovascular disease in the prospective AMORIS study. *Atherosclerosis.* 2016;251:85-93. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.06.004.
12. Reid I.R., Gamble G.D., Bolland M.J. Circulating calcium concentrations, vascular disease and mortality: a systematic review. *J Intern Med.* 2016;279(6):524-40. doi: 10.1111/joim.12464.
13. Kobylecki C.J., Nordestgaard B.G., Afzal S. Plasma Ionized Calcium and Risk of Cardiovascular Disease: 106 774 Individuals from the Copenhagen General Population Study. *Clin Chem.* 2021;67(1):265-275. doi: 10.1093/clinchem/hvaa245.
14. Шишкова Д.К., Матвеева В.Г., Маркова В.Е., Хрячкова О.Н., Индукаева Е.В., Шабаев А.Р., Фролов А.В., Кутихин А.Г. Количественная оценка исходной концентрации кальций-фосфатных бионов как скринингового маркера минерального гомеостаза крови у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и у пациентов с хронической болезнью почек. *Российский кардиологический журнал.* 2022. Т. 27. № 12. С. 20-31. doi: 10.15829/1560-4071-2022-5064.
15. Кутихин А.Г., Шишкова Д.К., Хрячкова О.Н., Фролов А.В., Шабаев А.Р., Загородников Н.И., Маркова В.Е., Богданов Л.А., Осяев Н.Ю., Индукаева Е.В., Груздева О.В. Закономерности формирования кальций-фосфатных бионов у пациентов с каротидным и коронарным атеросклерозом. *Российский кардиологический журнал.* 2020. Т. 25. № 12. С. 39-48. doi: 10.15829/1560-4071-2020-3881.
16. Xie W.M., Ran L.S., Jiang J., Chen Y.S., Ji H.Y., Quan X.Q. Association between fetuin-A and prognosis of CAD: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Invest.* 2019;49(5):e13091. doi: 10.1111/eci.13091.
17. Ronit A., Kirkegaard-Klitbo D.M., Dohmann T.L., Lundgren J., Sabin C.A., Phillips A.N., Nordestgaard B.G., Afzal S. Plasma Albumin and Incident Cardiovascular Disease: Results From the CGPS and an Updated Meta-Analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020;40(2):473-482. doi: 10.1161/ATVBAHA.119.313681.
18. Seidu S., Kunutsor S.K., Khunti K. Serum albumin, cardiometabolic and other adverse outcomes: systematic review and meta-analyses of 48 published observational cohort studies involving 1,492,237 participants. *Scand Cardiovasc J.* 2020;54(5):280-293. doi: 10.1080/14017431.2020.1762918.
19. Heiss A., Pipich V., Jahn-Dechent W., Schwahn D. Fetuin-A is a mineral carrier protein: small angle neutron scattering provides new insight on Fetuin-A controlled calcification inhibition. *Biophys J.* 2010;99(12):3986-95. doi: 10.1016/j.bpj.2010.10.030.
20. Koeppert S., Ghallab A., Peglow S., Winkler C.F., Graeber S., Büscher A., Hengstler J.G., Jahn-Dechent W. Live Imaging of Calciprotein Particle Clearance and Receptor Mediated Uptake: Role of Calciprotein Monomers. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:633925. doi: 10.3389/fcell.2021.633925.
21. Herrmann M., Schäfer C., Heiss A., Gräber S., Kinkeldey A., Büscher A., Schmitt M.M., Bornemann J., Nimmerjahn F., Herrmann M., Helming L., Gordon S., Jahn-Dechent W. Clearance of fetuin-A-containing calciprotein particles is mediated by scavenger receptor-A. *Circ Res.* 2012;111(5):575-84. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.261479.
22. Köppert S., Büscher A., Babler A., Ghallab A., Buhl E.M., Latz E., Hengstler J.G., Smith E.R., Jahn-Dechent W. Cellular Clearance and Biological Activity of Calciprotein Particles Depend on Their Maturation State and Crystallinity. *Front Immunol.* 2018;9:1991. doi: 10.3389/fimmu.2018.01991.
23. Kutikhin A.G., Shishkova D.K., Velikanova E.A., Sinitzky M.Y., Sinitzskaya A.V., Markova V.E. Endothelial Dysfunction in the Context of Blood-Brain Barrier Modeling. *J Evol Biochem Physiol.* 2022;58(3):781-806. doi: 10.1134/S0022093022030139.
24. Шишкова Д.К., Синицкая А.В., Синицкий М.Ю., Матвеева В.Г., Великанова Е.А., Маркова В.Е., Кутихин А.Г. Случай спонтанного эндотелиально-мезенхимального перехода в культуре первичных эндотелиальных клеток пупочной вены человека. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2022;11(3):97-114. <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2022-11-3-97-114>
25. Liberale L., Montecucco F., Tardif J.C., Libby P., Camici G.G. Inflamm-aging: the role of inflammation in age-dependent cardiovascular disease. *Eur Heart J.* 2020;41(31):2974-2982. doi: 10.1093/eurheartj/ehz961.

REFERENCES

1. Kutikhin A.G., Feenstra L., Kostyunin A.E., Yuzhalin A.E., Hillebrands J.L., Krenning G. Calciprotein Particles: Balancing Mineral Homeostasis and Vascular Pathology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2021;41(5):1607-1624. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.315697.
2. Heiss A., Eckert T., Aretz A., Richtering W., van Dorp W., Schäfer

- C., Jahn-Dechent W. Hierarchical role of fetuin-A and acidic serum proteins in the formation and stabilization of calcium phosphate particles. *J Biol Chem.* 2008;283(21):14815-25. doi: 10.1074/jbc.M709938200.
3. Heiss A., DuChesne A., Denecke B., Grötzinger J., Yamamoto K., Renné T., Jahn-Dechent W. Structural basis of calcification inhibition by alpha 2-HS glycoprotein/fetuin-A. Formation of colloidal calciprotein particles. *J Biol Chem.* 2003;278(15):13333-41. doi: 10.1074/jbc.M210868200.
4. Shishkova D.K., Velikanova E.A., Bogdanov L.A., Sinitsky M.Y., Kostyunin A.E., Tsepokina A.V., Gruzdeva O.V., Mironov A.V., Mukhamadiyarov R.A., Glushkova T.V., Krivkina E.O., Matveeva V.G., Hryachkova O.N., Markova V.E., Dyleva Y.A., Belik E.V., Frolov A.V., Shabaev A.R., Efimova O.S., Popova A.N., Malysheva V.Y., Kolmykov R.P., Sevostyanov O.G., Russakov D.M., Dolganyuk V.F., Gutakovskiy A.K., Zhivodkov Y.A., Kozhukhov A.S., Brusina E.B., Ismagilov Z.R., Barbarash O.L., Yuzhalin A.E., Kutikhin A.G. Calciprotein Particles Link Disturbed Mineral Homeostasis with Cardiovascular Disease by Causing Endothelial Dysfunction and Vascular Inflammation. *Int J Mol Sci.* 2021;22(22):12458. doi: 10.3390/ijms222212458.
5. 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. doi: 10.3390/ijms21228802.
6. Kutikhin A.G., Velikanova E.A., Mukhamadiyarov R.A., Glushkova T.V., Borisov V.V., Matveeva V.G., Antonova L.V., Filip'ev D.E., Golovkin A.S., Shishkova D.K., Burago A.Y., Frolov A.V., Dolgov V.Y., Efimova O.S., Popova A.N., Malysheva V.Y., Vladimirov A.A., Sozinov S.A., Ismagilov Z.R., Russakov D.M., Lomzov A.A., Pyshnyi D.V., Gutakovskiy A.K., Zhivodkov Y.A., Demidov E.A., Peltek S.E., Dolganyuk V.F., Babich O.O., Grigoriev E.V., Brusina E.B., Barbarash O.L., Yuzhalin A.E. Apoptosis-mediated endothelial toxicity but not direct calcification or functional changes in anti-calcification proteins defines pathogenic effects of calcium phosphate bions. *Sci Rep.* 2016;6:27255. doi: 10.1038/srep27255.
7. Feenstra L., Kutikhin A.G., Shishkova D.K., Buikema H., Zeper L.W., Bourgonje A.R., Krenning G., Hillebrands J.L. Calciprotein Particles Induce Endothelial Dysfunction by Impairing Endothelial Nitric Oxide Metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2023;43(3):443-455. doi: 10.1161/ATVBAHA.122.318420.
8. Shishkova D., Lobov A., Zainullina B., Matveeva V., Markova V., Sinitskaya A., Velikanova E., Sinitsky M., Kanonykina A., Dyleva Y., Kutikhin A. Calciprotein Particles Cause Physiologically Significant Pro-Inflammatory Response in Endothelial Cells and Systemic Circulation. *Int J Mol Sci.* 2022;23(23):14941. doi: 10.3390/ijms232314941.
9. Kutikhin A.G. Pathophysiological and clinical significance of mineral homeostasis disorders in the development of cardiovascular disease. *Fundamental and Clinical Medicine.* 2021;6(2):82-102. doi: 10.23946/2500-0764-2021-6-1-82-102. (In Russian)
10. Lutsey P.L., Alonso A., Michos E.D., Loehr L.R., Astor B.C., Coresh J., Folsom A.R. Serum magnesium, phosphorus, and calcium are associated with risk of incident heart failure: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Clin Nutr.* 2014;100(3):756-64. doi: 10.3945/ajcn.114.085167.
11. Rohrmann S., Garmo H., Malmstrom H., Hammar N., Jungner I., Walldius G., Van Hemelrijck M. Association between serum calcium concentration and risk of incident and fatal cardiovascular disease in the prospective AMORIS study. *Atherosclerosis.* 2016;251:85-93. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.06.004.
12. Reid I.R., Gamble G.D., Bolland M.J. Circulating calcium concentrations, vascular disease and mortality: a systematic review. *J Intern Med.* 2016;279(6):524-40. doi: 10.1111/joim.12464.
13. Kobylecki C.J., Nordestgaard B.G., Afzal S. Plasma Ionized Calcium and Risk of Cardiovascular Disease: 106 774 Individuals from the Copenhagen General Population Study. *Clin Chem.* 2021;67(1):265-275. doi: 10.1093/clinchem/hvaa245.
14. Shishkova D.K., Matveeva V.G., Markova V.E., Khyachkova O.N., Indukaeva E.V., Shabaev A.R., Frolov A.V., Kutikhin A.G. Quantification of the initial levels of calciprotein particles as a screening marker of mineral homeostasis in patients with cardiovascular disease and in patients with chronic kidney disease. *Russian Journal of Cardiology.* 2022;27(12):5064. doi: 10.15829/1560-4071-2022-5064. (In Russian)
15. Kutikhin A.G., Shishkova D.K., Khyachkova O.N., Frolov A.V., Osysaev N.Yu., Indukaeva E.V., Gruzdeva O.V., Shabaev A.R., Zagorodnikov N.I., Markova V.E., Bogdanov L.A. Formation of calcium phosphate bions in patients with carotid and coronary atherosclerosis. *Russian Journal of Cardiology.* 2020;25(12):3881. doi: 10.15829/1560-4071-2020-3881 (In Russian)
16. Xie W.M., Ran L.S., Jiang J., Chen Y.S., Ji H.Y., Quan X.Q. Association between fetuin-A and prognosis of CAD: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Invest.* 2019;49(5):e13091. doi: 10.1111/eci.13091.
17. Ronit A., Kirkegaard-Klitbo D.M., Dohmann T.L., Lundgren J., Sabin C.A., Phillips A.N., Nordestgaard B.G., Afzal S. Plasma Albumin and Incident Cardiovascular Disease: Results From the CGPS and an Updated Meta-Analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020;40(2):473-482. doi: 10.1161/ATVBAHA.119.313681.
18. Seidu S., Kunutsor S.K., Khunti K. Serum albumin, cardiometabolic and other adverse outcomes: systematic review and meta-analyses of 48 published observational cohort studies involving 1,492,237 participants. *Scand Cardiovasc J.* 2020;54(5):280-293. doi: 10.1080/14017431.2020.1762918.
19. Heiss A., Pipich V., Jahn-Dechent W., Schwahn D. Fetuin-A is a mineral carrier protein: small angle neutron scattering provides new insight on Fetuin-A controlled calcification inhibition. *Biophys J.* 2010;99(12):3986-95. doi: 10.1016/j.bpj.2010.10.030.
20. Koepfert S., Ghallab A., Peglow S., Winkler C.F., Graeber S., Büscher A., Hengstler J.G., Jahn-Dechent W. Live Imaging of Calciprotein Particle Clearance and Receptor Mediated Uptake: Role of Calciprotein Monomers. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:633925. doi: 10.3389/fcell.2021.633925.
21. Herrmann M., Schäfer C., Heiss A., Gräber S., Kinkeldey A., Büscher A., Schmitt M.M., Bornemann J., Nimmerjahn F., Herrmann M., Helming L., Gordon S., Jahn-Dechent W. Clearance of fetuin-A-containing calciprotein particles is mediated by scavenger receptor-A. *Circ Res.* 2012;111(5):575-84. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.261479.
22. Köppler S., Büscher A., Babler A., Ghallab A., Buhl E.M., Latz E., Hengstler J.G., Smith E.R., Jahn-Dechent W. Cellular Clearance and Biological Activity of Calciprotein Particles Depend on Their Maturation State and Crystallinity. *Front Immunol.* 2018;9:1991. doi: 10.3389/fimmu.2018.01991.
23. Kutikhin A.G., Shishkova D.K., Velikanova E.A., Sinitsky M.Y., Sinitskaya A.V., Markova V.E. Endothelial Dysfunction in the Context of Blood-Brain Barrier Modeling. *J Evol Biochem Physiol.* 2022;58(3):781-806. doi: 10.1134/S0022093022030139.
24. Shishkova D.K., Sinitskaya A.V., Sinitsky M.Yu., Matveeva V.G., Velikanova E.A., Markova V.E., Kutikhin A.G. Spontaneous endothelial-to-mesenchymal transition in human primary umbilical vein endothelial cells. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2022;11(3):97-114. doi:10.17802/2306-1278-2022-11-3-97-114 (In Russian)
25. Liberale L., Montecucco F., Tardif J.C., Libby P., Camici G.G. Inflamm-aging: the role of inflammation in age-dependent cardiovascular disease. *Eur Heart J.* 2020;41(31):2974-2982. doi: 10.1093/eurheartj/ehz961.

Для цитирования: Шижкова Д.К., Маркова В.Е., Маркова Ю.О., Великанова Е.А., Синицкая А.В., Синицкий М.Ю., Тюрин А.Е., Степанов А.Д., Дылева Ю.А., Матвеева В.Г., Кутихин А.Г. Исследование патологического воздействия ионизированного кальция, кальципротейиновых мономеров и кальципротейиновых частиц на первичные артериальные эндотелиальные клетки. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2024;13(3): 167-181. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-167-181

To cite: Shishkova D.K., Markova V.E., Markova Y.O., Velikanova E.A., Sinitskaya A.V., Sinitsky M.Yu., Tyurina A.E., Stepanov A.D., Dyleva Yu.A., Matveeva V.G., Kutikhin A.G. Pathological effects of ionized calcium, calciprotein monomers and calciprotein particles on arterial endothelial cells. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2024;13(3): 167-181. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-167-181

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ОБРАБОТКИ АЛЛО- И КСЕНОГЕННЫХ БИОМАТЕРИАЛОВ В СУБ- И СВЕРХКРИТИЧЕСКОМ ДИОКСИДЕ УГЛЕРОДА НА СПОСОБНОСТЬ К ПОДАВЛЕНИЮ КАЛЬЦИНОЗА

Е.И. Перепёлкин¹, А.В. Зубко², Д.В. Бритиков², И.С. Чашин^{1,2}, Н.П. Бакулева²,
К.М. Джиджихия²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН), ул. Вавилова, 28, Москва, Российская Федерация, 119991; ² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Рублевское ш., 135, Москва, Российская Федерация, 121552

Основные положения

- Гибридная децеллюляризация аллогraftов в сверхкритическом CO₂ с малой добавкой детергента Tween 80 эффективна в снижении кальциноза.
- Особое покрытие на основе наночастиц хитозана, полученных и нанесенных из растворов воды, насыщенной субкритическим CO₂, позволяет снизить кальциноз стандартного ГА-стабилизированного перикарда.

Цель

Сравнительный анализ антикальцификационных свойств имплантатов на основе алло- и ксеноткани после обработки в сверх- и субкритическом диоксиде углерода (CO₂).

Материалы и методы

Выполнена модификация сосудов крыс методом гибридной децеллюляризации в сверхкритическом CO₂ с детергентами и перикарда телят методом прямого нанесения покрытия из хитозановых наночастиц с серебром из растворов воды, насыщенной диоксидом углерода под давлением (угольная кислота). Проведено исследование кальциноза на крысах (n = 10 для каждого типа образца) *in vivo*. Для моделирования поведения биоматериала в организме человека применен подход имплантации крысам их аллогенных модифицированных аорт. Для определения кальция в извлекаемых образцах использован спектрофотометрический метод оценки концентрации кальция. Для оценки цитотоксичности образцов перикарда с нанопокрывтием – метод измерения импеданса клеток, заселенных на образцы биоматериалов.

Результаты

Установлено, что обработка крысиных сосудов в сверхкритическом CO₂ снижает отложения солей кальция на 30% по сравнению с исходным аллогraftом. Для перикарда с покрытием из наночастиц хитозана характерно еще большее снижение кальциноза – биоматрица с покрытием на основе наночастиц хитозана с серебром содержит 0,015 ± 0,005 мас.% солей кальция, что значительно ниже, чем у ГА-стабилизированного перикарда (0,070 ± 0,015 мас.%) после эксперимента. Установлено, что биокомпозиты с нанопокрывтием характеризуются приблизительно одинаковым клеточным индексом по сравнению с образцом ксеноткани без покрытия. Все образцы проявляли цитостатический эффект, в том числе с нанопокрывтием, что доказывает инкапсуляцию серебра в полимерную матрицу и обеспечивает отсутствие негативного влияния на организм при нормальном функционировании. Покрытие биоматрикса на основе «пустых» наночастиц хитозана способствует увеличению пролиферации клеток.

Заключение

Применение сверхкритической технологии для очистки биоматериалов, а также создания и нанесения полимерных протекторных покрытий с целью усиления способности к подавлению кальциноза представляется перспективным. Использование такого подхода модификации биопротезов является более выигрышной стратегией относительно стандартных общепринятых методов их химической модификации.

Для корреспонденции: Иван Сергеевич Чашин, chaschin@polly.phys.msu.ru; адрес: ул. Вавилова, 28, Москва, Российская Федерация, 119991

Corresponding author: Ivan S. Chaschin, chaschin@polly.phys.msu.ru; address: 28, Vavilova St., Moscow, Russian Federation, 119991

Ключевые слова Аллографты • Биологические протезы клапанов сердца • Кальциноз • Сверхкритические технологии • Цитотоксичность • Наночастицы • Хитозан • Угольная кислота • Сверхкритический диоксид углерода

Поступила в редакцию: 03.04.2024; поступила после доработки: 19.05.2024; принята к печати: 23.06.2024

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF PROCESSING ALLOGENEIC AND XENOGENIC BIOMATERIALS IN SUB- AND SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE ON THE ABILITY TO SUPPRESS CALCIFICATION

E.I. Perepelkin¹, A.V. Zubko², D.V. Britikov², I.S. Chashchin^{1,2}, N.P. Bakuleva², K.M. Dzhihiya²

¹ Federal State Budgetary Institution of Science "A.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds" of Russian Academy of Sciences, 28, Vavilova St., Moscow, Russian Federation, 119991; ² Federal State Budgetary Institution "A.N. Bakulev National Medical Research Center for Cardiovascular Surgery" of the Russian Ministry of Health, 135, Rublevskoe Sh., Moscow, Russian Federation, 121552

Highlights

- Hybrid decellularization of allografts in scCO₂ with a small addition of the detergent Tween 80 is very effective in terms of reducing calcification.
- A special coating based on chitosan nanoparticles obtained and applied from the water/subcritical CO₂ system makes it possible to significantly reduce calcification of the standard GA-stabilized pericardium.

Aim	To conduct a comparative analysis of anticalcification properties of implants based on allo- and xeno-tissue after treatment in super- (scCO ₂) and subcritical carbon dioxide.
Methods	We have performed a modification of the following structures: a) rat vessels by hybrid decellularization in scCO ₂ with detergents b) calf pericardium by direct coating of chitosan nanoparticles with silver from the water/carbon dioxide system under pressure (carbonic acid). Following that we have performed an in vivo calcification study on rats (n = 10 for each type of sample). To model the behavior of biomaterial in the human body, we have implanted allogeneic modified aorta into rats. To determine the calcium in the extracted samples, we have used spectrophotometric method to estimate the concentration of calcium. To assess the cytotoxicity of nanocoated pericardium samples, we have measured the impedance of cells populated on biomaterial samples was used.
Results	The treatment of rat vessels in supercritical CO ₂ reduces the deposition of calcium salts by 30% compared to baseline allografts. Pericardium coated with chitosan nanoparticles can be characterized by a significant decrease in calcification – the biomatrix coated with Cht_Ag/TPP contains only (0.015 ± 0.005) wt.% of calcium salts, which is significantly lower compared with GA-stabilized pericardium with (0.070 ± 0.015) wt.% after the experiment. Biocomposites with nanocoating are characterized by similar cellular index compared to a sample of uncoated xeno-tissue. All samples exhibit a cytostatic effect, including nanocoated samples (Cht_Ag/TPP), which proves the encapsulation of silver in the polymer matrix and ensures the absence of negative effects on the body during normal functioning. The coating of biomatrix based on hollow chitosan nanoparticles contributes to an increase in cell proliferation.
Conclusion	The use of supercritical technology for the purification of biomaterials, as well as the creation and application of polymer protective coatings in order to enhance the ability to suppress calcification looks very promising. At the same time, the use of such a "green" approach to the modification of bioprotheses is a more advantageous strategy relative to the standard generally accepted methods of their chemical modification.
Keywords	Allografts • Bioprosthetic heart valves • Calcification • Supercritical technologies • Cytotoxicity • Nanoparticles • Chitosan • Carbonic acid • Supercritical carbon dioxide

Received: 03.04.2024; received in revised form: 19.05.2024; accepted: 23.06.2024

Список сокращений

ГА – глутаровый альдегид SDS – додецилсульфат натрия

Введение

По мере расширения возможностей современной сердечно-сосудистой хирургии растет и потребность в скаффолдах синтетического или биологического происхождения для замены тканей реципиента, которые утратили свои морфологические и функциональные свойства [1]. Эта проблема актуальна и для биологических протезов сосудов. Для решения данной задачи исследователи ведут поиск оптимальных источников биоматериала и альтернативных подходов к повышению его биосовместимости, тромборезистентности и устойчивости к кальцинозу, а также снижению иммуногенности.

Одними из основных источников материалов для биопротезов (скаффолдов) являются ксеноперикард (перикард телят, коров, свиней) и аллогенная донорская ткань. Такие биоматериалы имеют отличные гемодинамические и механико-прочностные свойства. Однако демонстрируют и значимый недостаток, заключающийся в низком сроке службы относительно механических аналогов, что существенно ограничивает применение имплантатов с биоматериалами. Основными причинами отдаленной дисфункции имплантированных аллографтов и ксеногенных биопротезов клапанов сердца являются кальциноз и тканевая дегенерация [2, 3], которая представляет собой постепенно развивающийся процесс износа пересаженного клапана. Однако частота эндокардита для аллографтов достоверно ниже, чем после имплантации ксеногенных биопротезов. Тем не менее основная стратегия увеличения срока службы обоих типов протезов клапанов заключается в применении подходов, снижающих кальциноз биоматериалов. Так, используют очистку биоматериалов от клеток донора и фосфолипидов (децеллюляризация) [4, 5] с целью снижения иммунного ответа со стороны организма реципиента или/и нанесение протекторного антикальциевого покрытия [6, 7].

«Золотым стандартом» децеллюляризации биоткани является последовательная химическая обработка. Традиционно после отмывки детергентом на водной основе (например, додецилсульфатом натрия (SDS)) следует обработка в растворе поверхностно-активного вещества и щелочи. Этот подход эффективен, но подготовка матрикса таким образом может занимать до нескольких дней. Биоматериал приходится отмывать несколько раз, чтобы удалить агрессивные химические агенты из-за их токсических свойств, более того, показано, что эти химические вещества повреждают соединительнотканый каркас во время децеллюля-

ризации [8, 9]. В частности, SDS, являясь мощным агентом для лизиса клеток, разрушает конфигурацию белка и нативную ультраструктуру, вызывая уплотнение коллагена в децеллюляризованных клапанах сердца [10, 11].

В последнее время повышенный исследовательский интерес вызывает «зеленый» подход децеллюляризации биотканей с применением сверхкритического диоксида углерода (CO₂) в качестве растворяющей и очищающей среды. Особенность сверхкритического CO₂ заключается в том, что доступный и дешевый диоксид углерода можно сравнительно легко перевести в сверхкритическую фазу, которая обладает сочетанием свойств жидкого и газообразного состояния агрегатного вещества. Действительно, уже при давлениях выше $P_k = 7,28$ МПа и температурах выше $T_k = 31,2$ °С диоксид углерода переходит в сверхкритическое состояние, при котором обладает высокой плотностью, сравнимой с жидкими растворителями ($\rho = 0,4-1,0$ г/см³ в зависимости от P и T), и высокими значениями коэффициента диффузии, характерными для газов. Благодаря такому уникальному сочетанию свойств вкуче с отсутствием поверхностного натяжения сверхкритический CO₂ может проникать в плотные материалы и действовать как мощный растворитель [12]. Данный растворитель в силу относительно мягких условий существования может быть применен для экологически чистой и деликатной очистки биоматериалов.

Тем не менее для полной децеллюляризации биоматериалов различной природы обработки в чистом сверхкритическом CO₂ бывает недостаточно. Ранее нами показана эффективность гибридного подхода децеллюляризации ксеногенных яремных вен быка [13] и человеческих аллографтов [14]. Суть такого гибридного подхода состоит в экспресс-предобработке в химическом детергенте SDS (1 ч) с последовательной циклической обработкой в многокомпонентной системе, основу которой составляет сверхкритический CO₂ (~99 об.%) и малая добавка (1 об.%) неионогенного биосовместимого детергента (Tween 80), воды и этанола. Гибридный подход позволил, с одной стороны, удалить клетки из ткани, а с другой, значительно изменить структуру и улучшить механико-прочностные свойства биоматериалов с точки зрения моделирования свойств нативного клапана человека. Ожидается, что, поскольку удастся добиться эффективной децеллюляризации, модификация биоматериалов таким методом можно значительно снизить их кальциноз.

Другой основной стратегией снижения кальци-

ноза является создание протекторного антикальциевого покрытия, которое предотвращает непосредственный контакт с кровью коллагеновых фибрилл основы биопротеза. В литературе представлены исследования различных по составу и строению протекторных покрытий, которыми обрабатывали стабилизированный глутаровым альдегидом (ГА) ксеногенный перикард. Среди наиболее эффективных стоит выделить следующие полимерные покрытия: на основе альфа-аминоолеиновой кислоты – после 4 мес. имплантации обработанные данной кислотой створки кальцифицируются меньше, чем в контроле ($5,5 \pm 3,0$ против $91,2 \pm 19,5$ мг/г соответственно; $p = 0,0004$) [15], гепарина – обработка в 4–5 раз снижала кальциноз при подкожной имплантации крысам [16], сочетания с ПЭГ [17], гиалуроновой кислотой, хитозаном – снижение кальциноза с $10,5 \pm 1,3$ до $1,1 \pm 0,3$ мг/г. Также эффективными могут быть покрытия на основе низкомолекулярных веществ, например покрытых солями металлов (FeCl_3 , AlCl_3) [18, 19], или бисфосфонатами [20].

В целом подходы, основанные на модификации ГА-перикарда полимерами, более предпочтительны, поскольку можно ожидать, что такое покрытие более устойчиво в силу цепного строения молекул и гибкости цепи. Нами ранее разработан метод нанесения хитозановых покрытий на ГА-перикард из самонейтрализующейся и биологически безопасной среды – угольной кислоты под давлением [21]. Показано, что хитозановое покрытие почти на порядок относительно ГА-перикарда, децеллюляризованного с помощью SDS, снижает кальциноз, что обеспечивается как маскированием остаточных альдегидных групп, в том числе внутри микропористой матрицы, так и очисткой ткани в среде угольной кислоты. Перспективным выглядит способ нанесения особого покрытия на основе хитозановых наночастиц, дополненных антимикробными веществами. Так, покрытие на основе наносфер хитозана с внедренными наночастицами серебра способно увеличить механическую прочность матрицы, а также придать усиленный антимикробный эффект со свойством интеллектуального отклика [22].

Исходя из представленных в литературе методов модификации биоматериалов для снижения кальциноза, можно сделать вывод, что научно-исследовательский интерес представляют новые методы и подходы с использованием нетоксичных растворителей. **Целью настоящего исследования** является изучение влияния обработки биоматериалов растворителями на основе диоксида углерода под давлением (сверхкритический CO_2 , угольная кислота) на способность к подавлению кальциноза. При этом тестировали два подхода: гибридную децеллюляризацию (на модели крысиных аллографтов) и нанесение покрытия из хитозановых нано-

частиц из растворов воды, насыщенной диоксидом углерода под высоким давлением (угольной кислотой) (на модели ГА-перикарда).

Материалы и методы

Объектами исследования стали: крысиные аллографты – аорты крыс – и образцы перикарда телят, стабилизированного ГА (матрицы ГА-стабилизированного перикарда), квадратной формы площадью 1×1 см² и толщиной 0,4–0,5 мм. Образцы аорты крыс модифицировали как химическим, так и новым гибридным методом с использованием сверхкритического диоксида углерода. Для модификации использовали следующие материалы: детергенты – SDS, Tween 80 (Sigma-Aldrich, США), хитозан (#448869, Sigma-Aldrich, США), химические шиватели – ГА и триполифосфат натрия. Также применяли нитрат серебра – AgNO_3 (Sigma-Aldrich, США; номер по каталогу 10220) – в качестве прекурсора металла. На протяжении всего эксперимента использовали сверхчистые CO_2 , H_2 (> 99,997%; Linde Gas Rus, Россия) и свежеионизированную воду (Milli-Q Synthesis, США).

Крысиные аорты извлечены из животных под наркозом, затем отмыты в стерильном физрастворе. Классическую химическую модификацию крысиных аорт и перикарда телят производили согласно методике, одобренной для хирургической практики в ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России. Как правило, для ксеноперикарда этот метод включает первичную очистку биоматериала от остатков слизистой оболочки и крови, дальнейшую стабилизацию в 0,625% водном растворе ГА и промывку (децеллюляризацию) 1% раствором додецилсульфата натрия и буфером HEPES (Sigma-Aldrich, США). Децеллюляризацию крысиных аорт проводили в три этапа общей продолжительностью около 70 ч. Первым этапом выполняли экспозицию аорт в растворе детергента дигитонина (0,1 об./об. %) и ЭДТА (10 ммоль/л) при комнатной температуре и атмосферном давлении в течение 48 ч. Вторым этапом аорты промывали от остатков растворителя в физиологическом растворе в течение 15 мин. На третьем этапе стерилизовали в растворе антибиотика в течение 24 ч. Затем образцы многократно отмывали и хранили для последующего подкожного подсаживания крысам. Гибридный метод заключался в легкой кратковременной (1 ч) экспозиции образцов в растворе детергента SDS с последующей очисткой в растворе сверхкритического CO_2 с добавлением смеси малого количества (1 об.%) биосовместимых соразтворителей (вода, этанол) и неионогенного детергента Tween 80. Обработку в сверхкритическом CO_2 проводили в герметичном автоклаве объемом 300 мл двумя циклами по 45 мин с накачкой давления до $P_1 = 17$ МПа и сбросом до $P_0 = 9$ МПа с выдерживанием температуры в си-

стеме 39 °С. Более детально метод очистки описан в опубликованной ранее работе [14].

Исследовали структуру поверхности аорт до и после децеллюляризации методом сканирующей электронной микроскопии с использованием полевого эмиссионного микроскопа Hitachi SU 8000 (Hitachi, Япония). Образцы фиксировали в растворе 2% ГА в 0,1 М буфере HEPES-NaOH (pH 7.2), промывали тем же буфером и высушивали путем постепенной замены воды этанолом с последующим удалением этанола. Чтобы избежать поверхностных капиллярных эффектов, возникающих в результате обычного удаления этанола из образца ткани через границу раздела фаз жидкость/газ, этанол был удален потоком сверхкритического CO₂ при декомпрессии. Образец извлекали из реактора, устанавливали на 25-миллиметровую алюминиевую заглушку и фиксировали с помощью токопроводящей углеродной краски. Поверхность была покрыта тонкой пленкой (7 нм) из сплава платина/палладий (80/20) методом магнетронного распыления [23]. Изображения получены в режиме вторичных электронов при ускоряющем напряжении 2 кВ на рабочем расстоянии 8–10 мм. Поверхность образцов исследовали при увеличении от $\times 100$ до $\times 50\,000$.

Перикард телят стабилизировали и децеллюляризовали согласно классическому методу с использованием ГА и SDS. ГА-стабилизированные матрицы перикарда модифицировали путем нанесения полимерного покрытия, основу которого представляли хитозановые наносферы с внедренными наночастицами серебра. Наночастицы хитозана получали методом ионного гелирования в растворе угольной кислоты. Нанесение покрытия также происходило в растворе угольной кислоты под давлением. Раствор наночастиц в угольной кислоте получали поэтапно в герметичном реакторе, в котором воду насыщали CO₂ под давлением $p = 30$ МПа для получения 0,7 вес.% раствора хитозана. После растворения реактор вскрывали и добавляли прекурсор серебра (AgNO₃) из расчета 1 ион серебра на 10 звеньев хитозана (образец низкомолекулярного хитозана #448869 был использован для получения таких частиц). После раствор вновь насыщали CO₂ до давления 30 МПа и выдерживали систему при 25 °С и перемешивании в течение 1–2 дней. Затем в раствор добавляли ионногенный сшиватель триполифосфат натрия так, чтобы соотношение сшивателя к полимеру было 1:6, дополнительно сначала закачивая H₂ до давления 1 МПа для катализа процесса формирования металлических наночастиц, затем раствор насыщали CO₂. Такое соотношение сшивателя выбрано исходя из выявленных оптимальных условий получения наночастиц в угольной кислоте с точки зрения их стабильности, по этой же причине были выбраны хитозановый материал низкой молекулярной массы и давление

CO₂ в бифазной системе $p = 30$ МПа. Покрытие на ГА-перикарде получали путем прямого нанесения из полученного раствора составных наночастиц хитозана в растворе угольной кислоты при $p = 30$ МПа и температуре 25 °С, в результате чего были получены гибридные матрицы ГА-перикарда с новым покрытием. Детальное описание методики получения полимерных наночастиц и их нанесения на матрицы ГА-перикарда представлено ранее [22].

Из-за быстрого метаболизма крыс в качестве экспресс-тестирования *in vivo* с относительно короткими временными характеристиками кальцификации мы выбрали подкожные тесты. Образцы биоматериалов (1 \times 1 см² для перикарда и 1 см куски аорт) вместе с контрольными образцами были подкожно имплантированы крысам линии Wistar массой 180 \pm 10 г (рис. 1). Образцы перикарда попарно (образец с покрытием и без него), симметрично относительно позвоночника имплантированы в центральную область спины животного. Крысиные аорты имплантированы попарно (исследуемый образец – контрольный) для каждого типа образца симметрично относительно позвоночника, в центральную область спины, в область лопаток и таза животного. На каждый тип образца приходилось по десять крыс. Каждая крыса получала одновременно два образца перикарда – ГА-перикард и ГА-перикард с покрытием на основе наночастиц хитозана с серебром – и три образца аорт (нативная, классическая, гибридная очистка). Операции проведены под анестезией золетилом. После имплантации животных содержали в нормальных условиях, с кормлением *ad libitum*. В рацион входил регулятор кальция эргокальциферол (витамин D2). Через 4 мес. после имплантации образцы были изъяты, у следов воспалительной реакции не обнаружено.

Эксперименты с животными были выполнены

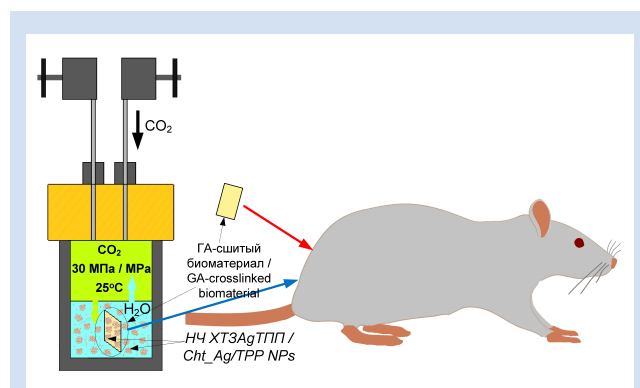


Рисунок 1. Схема эксперимента: модификация ГА-перикарда прямым нанесением покрытия на основе наночастиц хитозана с серебром из раствора в угольной кислоте с последующей подкожной имплантацией образцов крысам для проведения эксперимента *in vivo*

Figure 1. Design of the experiment: Modification of GA-pericardium by direct coating with ChtAgTPP nanoparticles in carbonic acid solution, followed by implantation into rats for *in vivo* testing

в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых в научных целях. Протокол исследования одобрен ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России в соответствии с внутренними рекомендациями по уходу и использованию лабораторных животных.

Для определения кальция в извлекаемых образцах использован спектрофотометрический метод оценки концентрации кальция. Образцы были полностью переведены в раствор путем кислотного гидролиза в 1 М HCl (соляная кислота). Образцы взвешивали и помещали в 300 мкл раствора 1 М HCl. Затем аликвоты гидролизата объемом 30 мкл помещали в отдельные микропробирки (1,5 мл) и высушивали в течение 24 ч при 50 °С для удаления избытка кислоты. К сухому остатку добавляли 100 мкл реагента «Арсенazo III» (набор «Кальций АС ДиаС», АО «ДИАКОН-ДС», Россия). Далее образцы помещали в шейкер-термостат и инкубировали 5 мин при 37 °С. Затем аликвоты перемещали в 96-луночный планшет и регистрировали оптическую плотность при 620 ± 25 нм на планшетном ридере Tecan Infinite F200 (Tecan, Швейцария). Расчет концентрации проводили по калибровочному графику, используя стандартный раствор хлорида кальция (2,5 ммоль/л).

Для оценки возможной цитотоксичности покрытия на основе наночастиц хитозана с серебром применен метод измерения импеданса клеток, заселенных на биоматрикс. Для мониторинга пролиферации клеток в режиме реального времени использован прибор xCELLigence RTCA-SP (Agilent Technologies, США). В лунку E-Plate со встроенными золотыми электродами вносили суспензию 320 мкл среды DMEM (с бычьей фетальной сывороткой и раствором антибиотика-антимикотика), содержащей 3×10^5 клеток костномозговых мононуклеаров. Затем определяли фоновый импеданс и помещали исследуемый образец коллагеновой ткани, модифицированной наночастицами. Определяли косвенное значение клеточного индекса, связанное с изменением значений импеданса при прохождении переменного тока через лунки с образцами, что прямо пропорционально истинному значению клеточного индекса, то есть отношению прироста или снижения количества клеток к исходному количеству клеток. Измерения проводили в течение 96 ч. В качестве контроля по изменению клеточного индекса использовали лунки без исследуемых образцов (только суспензия клеток в среде). Каждый образец изучали в 5 повторах.

Результаты

Мы применяли подход, моделирующий имплантацию исходного аллогraftа, а также аллогraftа,

прошедшего специальную очистку от клеток с использованием сверхкритического CO₂, на мелких лабораторных животных. Поскольку в настоящий момент в кардиохирургической практике широко используются два типа биопротезов – аллогraftы и химически стабилизированные ГА протезы из ксеногенного перикарда, исследовательский интерес вызывает изучение возможности снижения кальциноза за счет обработки биотканей в специальных растворителях на основе диоксида углерода под высоким давлением.

Получены статистически значимые различия в кальцинозе для модифицированных и немодифицированных биоматериалов (рис. 2). Для очищенных дигитонином и ЭДТА аллогенных аорт наблюдалось снижение кальциноза на 15% ($p = 0,03$) по сравнению с нативными образцами, а для очищенных гибридным методом – на 30% по сравнению с исходным аллогraftом ($p = 0,03$).

Косвенно можно оценить эффективность децеллюляризации такого гибридного подхода при сравнении изображений поверхностей аллогraftов до и после модификации, полученных методом сканирующей электронной микроскопии (рис. 3). Действительно, поверхность аорты после обработки более детализированная, с отчетливым изображением коллагеновых фибрилл. Таким образом, такой подход позволяет, с одной стороны, эффективно децеллюляризовать ткань, прямым следствием чего является значимое снижение кальциноза.

Для перикардиальных образцов с покрытием на основе наночастиц хитозана с серебром и без такового выявлено еще более значимое отличие в показателях кальциноза ($p = 0,005$). Количество нерастворимых солей кальция, отложившихся на разных типах образцов биоматериалов, статистически значимо различалось. Средние значения

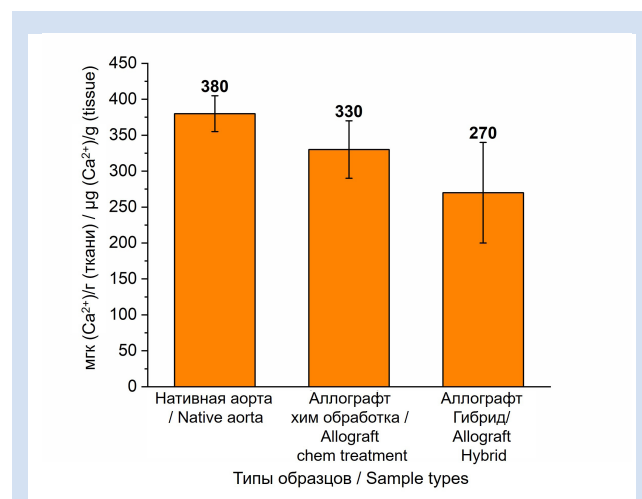


Рисунок 2. Относительное количество солей кальция, отложившихся в аллогraftах после модельного эксперимента на крысах

Figure 2. Relative amount of calcium salts deposited into allografts after model experiment on rats

количества солей кальция, адсорбированных на образцах перикарда с покрытием на основе наночастиц хитозана с серебром, и стандартного биоматериала, применяемого в качестве основы запирательного элемента биопротеза (ГА-перикард), представлены на рис. 3.

Обнаружено, ГА-перикард с покрытием на основе наночастиц хитозана с серебром содержит только $0,011 \pm 0,004$ мас.% солей кальция после проведения 4-месячного модельного эксперимента *in vivo* на крысах. Это примерно на два порядка ниже, чем для нативного коллагенового матрикса, и на порядок ниже, чем для применяемого в настоящий момент ГА-перикарда без покрытия ($0,070 \pm 0,010$ мас.%) солей кальция (рис. 4). Для каждой конкретной крысы кальцификация в образцах с покрытием всегда была значительно ниже, чем в контрольных образцах.

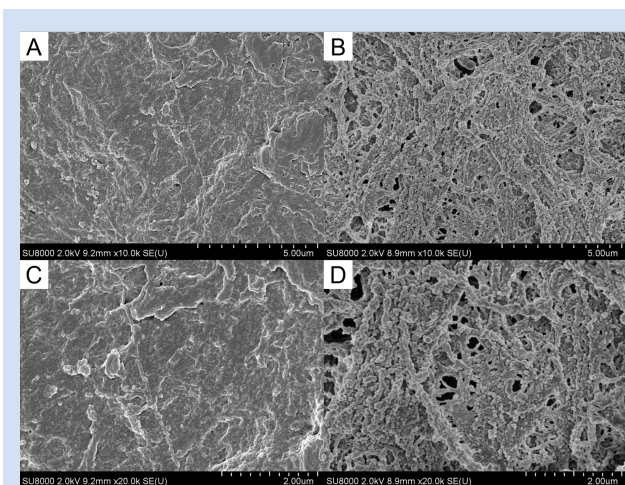


Рисунок 3. СЭМ-микрографии поверхностей нативного крысиного аллогraftа (A, C) до и после гибридной децеллюляризации (B, D). Верхний ряд изображений – увеличение $\times 10\,000$, нижний ряд – $\times 20\,000$.

Figure 3. SEM micrographs of native rat allograft surfaces (A, C) before and after hybrid decellularization (B, D). Upper row of images: magnification – $\times 10\,k$, lower row – $\times 20\,k$.

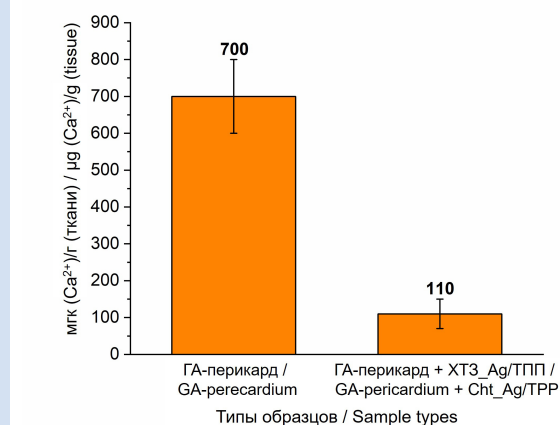


Рисунок 4. Относительное количество солей кальция, отложившихся в ГА-перикарде без покрытия и с покрытием на основе наночастиц хитозана с серебром после модельного эксперимента на крысах

Figure 4. The relative amount of calcium salts deposited into the GA-pericardium, with and without Cht_Ag/TPP coating after model experiments on rats

Поскольку показано, что ГА-перикард с покрытием из составных хитозановых наночастиц обладает выраженным антимикробным эффектом, в связи с токсичностью наночастиц Ag, инкапсулированных в полимерные частицы, важно было протестировать цитотоксичность образцов перикарда с данным покрытием.

Исследование цитотоксичности биоимплантов показало, что как образцы без покрытия, так и с покрытием на основе наночастиц биосовместимы, так как в среднем их клеточный индекс выше индекса контрольного образца. Биоконпозиты с нанопокрывтием характеризуются приблизительно одинаковым клеточным индексом по сравнению с образцом ксеноткани без покрытия. Все образцы проявляют цитостатический эффект, в том числе с покрытием на основе наночастиц хитозана с серебром, что доказывает инкапсуляцию серебра в полимерную матрицу и обеспечивает отсутствие негативных эффектов для организма при нормальном функционировании. Покрытие биоматрикса на основе «пустых» наночастиц хитозана способствует увеличению пролиферации клеток (рис. 5).

Обсуждение

Снижение количества солей кальция, отложившихся в образцы аллогraftов, децеллюляризованных гибридным подходом в среде сверхкритического CO₂, связано с эффективной очисткой биоткани от клеточных остатков и фосфолипидов, являющихся потенциальными центрами развития кальциноза. Во время экспозиции биоматериала в автоклаве высокого давления в растворе сверхкритического CO₂ образуется высокомолекулярная и колеблющаяся смесь мицелл из молекул детергента и воды по типу «вода в масле» – в этом случае с

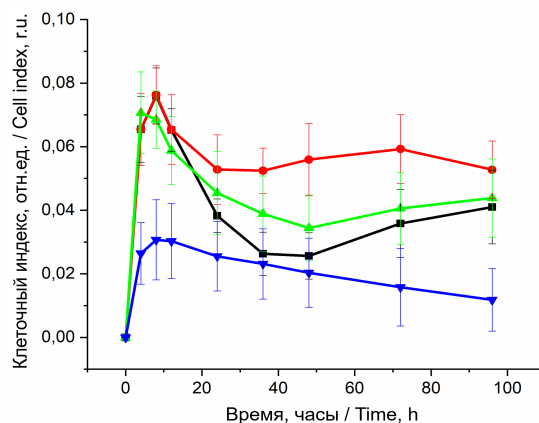


Рисунок 5. Зависимость клеточного индекса от времени. ▼ – контроль, без биоматрикса, ▲ – биоматрикс без покрытия, ● – биоматрикс с покрытием хитозан/триполифосфат натрия, ■ – биоматрикс с покрытием на основе наночастиц хитозана с серебром

Figure 5. Dependence of the cellular index on time. ▼ – Control sample, without biomatrix ▲ – biomatrix without coating, ● – biomatrix with Cht/TPP coating, ■ – biomatrix with ChtAgTPP coating

тканью могут взаимодействовать как полярные, так и неполярные участки молекул растворителя и детергента. Действительно, в сочетании со сверхкритическим CO_2 такая сложная система содержит наноразмерные капли воды, заключенные в мицеллы, которые благодаря высокому давлению обладают высокой проникающей способностью и эффективно промывают ткань по всей толщине образца [13]. Эта полярно-неполярная смесь, по-видимому, эффективна при экстракции полярных, неполярных и, в частности, амфифильных клеточных остатков, что также косвенно подтверждено сравнительным анализом СЭМ-микрографий поверхности образцов нативных аллогraftов и обработанных в растворе системы со сверхкритическим CO_2 (см. рис. 3).

Нанесение протекторного полимерного покрытия на основе наночастиц из раствора угольной кислоты под давлением способствует не только улучшению механико-прочностных свойств биоткани, дополнительному усилению антимикробных свойств [22], но и значительному (почти на порядок) снижению кальциноза. Важно отметить, что хитозан известен как биоразлагаемый материал. Тем не менее покрытие на основе наночастиц хитозана подавляет кальцификацию в течение всего периода 4-месячных подкожных тестов на крысах, что является относительно длительным периодом, принимая во внимание быстрый метаболизм крыс. Скорее всего, хитозановые наночастицы связаны с коллагеновой матрицей посредством связей основания Шиффа с остаточными группами ГА. Таким образом, ГА-перикард с покрытием на основе наночастиц хитозана представляет собой стабильный материал, устойчивый к возможному биологическому разложению [24].

Полученные нами данные о снижении кальцификации перикарда, обработанного хитозановыми наночастицами, сопоставимы со значениями, полученными нами ранее при нанесении обычного хитозанового покрытия [21], а также представленными ранее в работах, в которых использовали хитозан, растворимый при нейтральном рН, который вряд ли должен быть достаточно стабильным на биопротезах клапанов сердца в магистральном кровотоке во время длительного периода функционирования [25]. Наше покрытие на основе наночастиц адсорбируется из углекислоты при высоком давлении. Хитозан самопроизвольно теряет заряд после декомпрессии – макромолекулы депротонируются. Таким образом, без какой-либо нейтрализации щелочью он больше не растворим в нейтральных средах, таких как плазма крови, и должен быть достаточно стабильным. Поэтому мы считаем, что этот метод является более перспективным по сравнению с ранее запатентованным, при котором уменьшение кальцификации в 20–40 раз было достигнуто за счет нанесения электростатически стабилизированного бислоя производных хитозана из водных растворов при

нормальном давлении [26]. В настоящем способе влияние высокого давления, по-видимому, является значительным. Вероятно, высокое давление способствует проникновению хитозановых наночастиц в глубокие поры коллагеновой матрицы, обеспечивая тем самым особенно тщательную модификацию ткани. Кроме того, в среде угольной кислоты также идут процессы вымывания клеточных остатков и фосфолипидов, аналогично тем, которые протекают во время гибридной децеллюляризации в сверхкритическом CO_2 .

Заключение

Исходя из проведенных исследований на модели крысиных аллогraftов, можно заключить, что гибридная обработка аллогraftов с применением сверхкритического CO_2 наиболее предпочтительна с точки зрения снижения кальциноза, даже в сравнении с эффективными химическими методами децеллюляризации, поскольку позволяет очищать ткань, удаляя клетки, фосфолипиды и клеточные остатки, являющиеся потенциальными центрами кальциноза. При этом также эффективным остается подход прямого нанесения хитозановых наночастиц на биоткань под давлением из растворов в угольной кислоте на ГА-стабилизированную ткань перикарда. Такой способ позволяет значительно снизить кальциноз относительно стандартного ГА-стабилизированного перикарда.

Таким образом, можно заключить, что синтез двух подходов, эффективной децеллюляризации аллогraftов в сверхкритическом CO_2 с последующей сшивкой биоткани и нанесением протекторного антикальциевого покрытия из растворов воды, насыщенной субкритическим CO_2 , обладает значительными перспективами в решении важной научно-практической задачи повышения срока службы биопротезов, применяемых в кардиохирургии.

Благодарности

Эксперимент на животных *in vivo* и определение количества кальция в образцах проведены в ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России при поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации. Получение биокомпозитных образцов с хитозановым покрытием выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (контракт № 075-00277-24-00) с использованием оборудования ИНЭОС РАН. Исследование морфологии поверхности образцов методом электронной микроскопии выполнено в отделе структурных исследований ИОХ РАН.

Конфликт интересов

Е.И. Перепелкин заявляет об отсутствии конфликта интересов. Н.П. Бритиков заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.В. Зубко заявляет

об отсутствии конфликта интересов. И.С. Чашин заявляет об отсутствии конфликта интересов. Н.П. Бакулева заявляет об отсутствии конфликта интересов. К.М. Джиджихия заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Информация об авторах

Пережелкин Евгений Игоревич, аспирант федерального государственного бюджетного учреждения науки Института элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН), Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0009-0008-4964-468X

Зубко Александр Владимирович, кандидат медицинских наук заведующий группой клеточных технологий и молекулярно-генетических исследований отдела научных разработок и опытного производства медицинских изделий для сердечно-сосудистой хирургии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-8958-1400

Бритиков Дмитрий Вячеславович, доктор медицинских наук ведущий научный сотрудник отдела научных разработок и опытного производства медицинских изделий для сердечно-сосудистой хирургии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6942-6611

Чашин Иван Сергеевич, кандидат физико-математических наук старший научный сотрудник федерального государственного бюджетного учреждения науки Института элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН), Москва, Российская Федерация; ведущий технолог лаборатории аллогенных материалов для сердечно-сосудистой хирургии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-1372-7180

Бакулева Наталья Петровна, кандидат химических наук заведующая лабораторией биопротезов и полимерных материалов федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-1119-5435

Джиджихия Константине Малхазович, кандидат медицинских наук заведующий лабораторией аллогенных материалов для сердечно-сосудистой хирургии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-3040-6901

Вклад авторов в статью

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

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

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-23-00559, <https://rscf.ru/project/22-23-00559>.

Author Information Form

Perepelkin Evgeny I., Postgraduate Student, Federal State Budgetary Institution of Science “A.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds” of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0009-0008-4964-468X

Zubko Alexander V., PhD, Head of the Group for Cellular Technologies and Molecular Genetics Research, Department of Development and Pilot Production of Medical Devices for Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Institution “A.N. Bakulev National Medical Research Center for Cardiovascular Surgery” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-8958-1400

Britikov Dmitry V., PhD, Leading Researcher at the Department of Development and Pilot Production of Medical Devices for Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Institution “A.N. Bakulev National Medical Research Center for Cardiovascular Surgery” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6942-6611

Chashchin Ivan S., PhD, Senior Researcher at the Federal State Budgetary Institution of Science “A.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds” of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation; Leading Technologist at the Laboratory of Allogeneic Materials for Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Institution “A.N. Bakulev National Medical Research Center for Cardiovascular Surgery” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-1372-7180

Bakuleva Natalia P., PhD, Head of the Laboratory of Bioprostheses and Polymer Materials, Federal State Budgetary Institution “A.N. Bakulev National Medical Research Center for Cardiovascular Surgery” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-1119-5435

Dzhihiya Konstantin M., PhD, Head of the Laboratory of Allogeneic Materials for Cardiovascular Surgery, Federal State Budgetary Institution “A.N. Bakulev National Medical Research Center for Cardiovascular Surgery” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3040-6901

Author Contribution Statement

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Muzzio N., Moya S., Romero G. Multifunctional Scaffolds and Synergistic Strategies in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Pharmaceutics*. 2021;13(6):792. doi: 10.3390/pharmaceutics13060792.
- Barratt-Boyes B.G., Christie G.W. What is the best bioprosthetic operation for the small aortic root?: allograft, autograft, porcine, pericardial? Stented or unstented?. *J Card Surg*. 1994;9(2 Suppl):158-164. doi:10.1111/j.1540-8191.1994.tb00917.x.
- Haziza F., Papouin G., Barratt-Boyes B., Christie G., Whitlock R. Tears in bioprosthetic heart valve leaflets without calcific degeneration. *J Heart Valve Dis*. 1996;5(1):35-39.
- Aldridge A., Desai A., Owston H., Jennings L., Fisher J., Rooney P., Kearney J., Ingham E., Wilshaw S. Development and characterisation of a large diameter decellularised vascular allograft. *Cell Tissue Bank*. 2018;9(3):287-300. doi: 10.1007/s10561-017-9673-y.
- Sulaiman N., Bond A., Bruno V., Joseph J., Johnson J., Suleiman M., George S., Ascione R. Effective decellularisation of human saphenous veins for biocompatible arterial tissue engineering applications: Bench optimisation and feasibility in vivo testing. *J Tissue Eng*. 2021; 29;12:2041731420987529. doi: 10.1177/2041731420987529.
- Ohri R., Hahn S.K., Hoffman A.S., Stayton P.S., Giachelli C.M. Hyaluronic acid grafting mitigates calcification of glutaraldehyde-fixed bovine pericardium. *J Biomed. Mater. Res*. 2004;70A:328-334. doi: 10.1002/jbm.a.30088.
- Vasudev S.C., Moses L.R., Sharma C.P. Covalently bonded heparin to alter the pericardial calcification. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*. 2000;28(3):241-253. doi:10.3109/10731190009119355.
- Gilpin A., Yang Y. Decellularization strategies for regenerative medicine: from processing techniques to applications. *Biomed. Res. Int*. 2017;9831534. doi: 10.1155/2017/9831534.
- Gilbert T., Badylak S. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*. 2011;32:3233–3243. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.01.057.
- Zhou J., Fritze O., Schleicher M., Wendel H-P., Schenke-Layland K., Harasztosi C., Hu S., Stock U. Impact of heart valve decellularization on 3-D ultrastructure, immunogenicity and thrombogenicity. *Biomaterials*. 2010;31:2549–2554. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.11.088.
- Hwang J., San B., Turner N., White L., Faulk D., Badylak S., Li Y., Yu S. Molecular assessment of collagen denaturation in decellularized tissues using a collagen hybridizing peptide. *Acta Biomater*. 2017;53:268–278. doi: 10.1016/j.actbio.2017.01.079.
- Casali D., Handleton R., Shazly T., Matthews M. A novel supercritical CO₂-based decellularization method for maintaining scaffold hydration and mechanical properties. *J. Supercrit. Fluids*. 2018;131:72–81. doi: 10.1016/j.supflu.2017.07.021.
- Chaschin I., Khugaev G., Krashennnikov S., Petlenko A., Badun G., Chernysheva M., Dzhidzhikhiya K., Bakuleva N. Bovine jugular vein valved conduit: a new hybrid method of devitalization and protection by chitosan-based coatings using super- and subcritical CO₂. *Journal of Supercritical Fluids*. 2020;164: 104893. doi: 10.1016/j.supflu.2020.104893.
- Chaschin I., Britikov D., Khugaev G., Salokhedina R., Zubko A., Abramchuk S., Petlenko A., Muratov R., Bakuleva N. Decellularization of the human donor aortic conduit by a new hybrid treatment in a multicomponent system with supercritical CO₂ and Tween 80. *Journal of Supercritical Fluids*. 2022;180: 105452. doi: 10.1016/j.supflu.2021.105452.
- Gott J.P., Girardot M.N., Girardot J.M., Hall J.D., Whitlark J.D., Horsley W.S., Dorsey L.M., Levy R.J., Chen W., Schoen F.J., Guyton R.A. Refinement of the alpha aminooleic acid bioprosthetic valve anticalcification technique. *Ann Thorac Surg*. 1997;64(1):50-58. doi:10.1016/s0003-4975(97)00118-5.
- Barbarash L.S., Zhuravleva I.I., Medvedeva V.M., Shaposhnikov A.N. Ways to prevent the calcification of heart valve bioprostheses. *Biull Eksp Biol Med*. 1988;106(12):732-734.
- Vasudev S.C., Chandy T., Sharma C.P., Mohanty M., Umasankar P.R. Synergistic effect of released aspirin/heparin for preventing bovine pericardial calcification. *Artif Organs*. 2000;24(2):129-136. doi:10.1046/j.1525-1594.2000.06348.x.
- Webb C.L., Flowers W.E., Horton C., Schoen F.J., Levy R.J. Long-term efficacy of Al³⁺ for prevention of bioprosthetic heart valve calcification. *ASAIO Trans*. 1990;36(3):M408-M410.
- Hirsch D., Drader J., Pathak Y.V., Yee R., Schoen F.J., Levy R.J. Synergistic inhibition of the calcification of glutaraldehyde pretreated bovine pericardium in a rat subdermal model by FeCl₃ and ethanedihydroxydiphosphonate: preincubation and polymeric controlled release studies. *Biomaterials*. 1993;14(9):705-711. doi:10.1016/0142-9612(93)90069-e.
- Timchenko T.P. Bisphosphonates as potential inhibitors of calcification in bioprosthetic heart valves (Review). *Sovrem Tekhnologii Med*. 2022; 14(2):68-78. doi: 10.17691/stm2022.14.2.07.
- Chaschin I., Sinolits M., G.A. Badun G., Chernysheva M., Anuchina N., Krashennnikov S., Khugaev G., Petlenko A., Britikov D., Zubko A., Kurilov A., Dreger E., Bakuleva N. Chitosan/hyaluronic acid polyanion bilayer applied from carbon acid as an advanced coating with intelligent antimicrobial properties for improved biological prosthetic heart valves. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022; 222:2761–2774. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.10.056.
- Perepelkin E., Sinolits M., Badun G., Chernysheva M., Anuchina N., Abramchuk S., Levin E., Bakuleva N., Popov D., Chaschin I. Composite chitosan-based nanoparticles as a basis for innovative antimicrobial coating for bioprosthesis: Preparation and application using carbonic acid as a “green” self-neutralizing solvent. *European Polymer Journal*. 2023; 193:112104. doi:10.1016/j.eurpolymj.2023.112104.
- Kashin A.S., Ananikov V.P. A SEM study of nanosized metal films and metal nanoparticles obtained by magnetron sputtering. *Russ. Chem. Bull*. 2011; 60:2602–2607. doi:10.1007/s11172-011-0399-x.
- Gallyamov M. O., Chaschin I. S., Bulat M. V., Bakuleva N. P., Badun G. A., Chernysheva M. G., Kiselyova O. I., Khokhlov A.R. Chitosan coatings with enhanced biostability in vivo. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater*. 2018; 106:270-277. doi:10.1002/jbm.b.33852.
- Chanda J. Prevention of calcification of heart valve bioprostheses: an experimental study in rat. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1995;60:S339–S342. doi:10.1016/0003-4975(95)00256-K.
- Бокерия Л.А., Бакулева Н.П., Костава В.Т., Гамзадзе

А.И., Галлямов М.О., Хохлов А.Р.; Государственное учреждение Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева Российской академии медицинских наук. Способ хи-

мической обработки ксеноперикарда. Патент № 2008112997/15 РФ, МПК А 61 L 27/36, А 61 F 2/24; заявл. 07.04.2008; опубл. 20.03.2010, Бюл. № 8.

REFERENCES

- Muzzio N., Moya S., Romero G. Multifunctional Scaffolds and Synergistic Strategies in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Pharmaceutics*. 2021;13(6):792. doi: 10.3390/pharmaceutics13060792.
- Barratt-Boyes B.G., Christie G.W. What is the best bioprosthetic operation for the small aortic root?: allograft, autograft, porcine, pericardial? Stented or unstented?. *J Card Surg*. 1994;9(2 Suppl):158-164. doi:10.1111/j.1540-8191.1994.tb00917.x.
- Haziza F., Papouin G., Barratt-Boyes B., Christie G., Whitlock R. Tears in bioprosthetic heart valve leaflets without calcific degeneration. *J Heart Valve Dis*. 1996;5(1):35-39.
- Aldridge A., Desai A., Owston H., Jennings L., Fisher J., Rooney P., Kearney J., Ingham E., Wilshaw S. Development and characterisation of a large diameter decellularised vascular allograft. *Cell Tissue Bank*. 2018;9(3):287-300. doi: 10.1007/s10561-017-9673-y.
- Sulaiman N., Bond A., Bruno V., Joseph J., Johnson J., Suleiman M., George S., Ascione R. Effective decellularisation of human saphenous veins for biocompatible arterial tissue engineering applications: Bench optimisation and feasibility in vivo testing. *J Tissue Eng*. 2021; 29;12:2041731420987529. doi: 10.1177/2041731420987529.
- Ohri R., Hahn S.K., Hoffman A.S., Stayton P.S., Giachelli C.M. Hyaluronic acid grafting mitigates calcification of glutaraldehyde-fixed bovine pericardium. *J Biomed. Mater. Res*. 2004;70A:328-334. doi: 10.1002/jbm.a.30088.
- Vasudev S.C., Moses L.R., Sharma C.P. Covalently bonded heparin to alter the pericardial calcification. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*. 2000;28(3):241-253. doi:10.3109/10731190009119355.
- Gilpin A., Yang Y. Decellularization strategies for regenerative medicine: from processing techniques to applications. *Biomater. Res. Int*. 2017;9831534. doi: 10.1155/2017/9831534.
- Gilbert T., Badylak S. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*. 2011;32:3233–3243. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.01.057.
- Zhou J., Fritze O., Schleicher M., Wendel H-P., Schenke-Layland K., Harasztosi C., Hu S., Stock U. Impact of heart valve decellularization on 3-D ultrastructure, immunogenicity and thrombogenicity. *Biomaterials*. 2010;31:2549–2554. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.11.088.
- Hwang J., San B., Turner N., White L., Faulk D., Badylak S., Li Y., Yu S. Molecular assessment of collagen denaturation in decellularized tissues using a collagen hybridizing peptide. *Acta Biomater*. 2017;53:268–278. doi: 10.1016/j.actbio.2017.01.079.
- Casali D., Handleton R., Shazly T., Matthews M. A novel supercritical CO₂-based decellularization method for maintaining scaffold hydration and mechanical properties. *J. Supercrit. Fluids*. 2018;131:72–81. doi: 10.1016/j.supflu.2017.07.021.
- Chaschin I., Khugaev G., Krashennnikov S., Petlenko A., Badun G., Chernysheva M., Dzhihzhikhiya K., Bakuleva N. Bovine jugular vein valved conduit: a new hybrid method of devitalization and protection by chitosan-based coatings using super- and subcritical CO₂. *Journal of Supercritical Fluids*. 2020;164: 104893. doi: 10.1016/j.supflu.2020.104893.
- Chaschin I., Britikov D., Khugaev G., Salokhedina R., Zubko A., Abramchuk S., Petlenko A., Muratov R., Bakuleva N. Decellularization of the human donor aortic conduit by a new hybrid treatment in a multicomponent system with supercritical CO₂ and Tween 80. *Journal of Supercritical Fluids*. 2022;180: 105452. doi: 10.1016/j.supflu.2021.105452.
- Gott J.P., Girardot M.N., Girardot J.M., Hall J.D., Whitlark J.D., Horsley W.S., Dorsey L.M., Levy R.J., Chen W., Schoen F.J., Guyton R.A. Refinement of the alpha aminooleic acid bioprosthetic valve anticalcification technique. *Ann Thorac Surg*. 1997;64(1):50-58. doi:10.1016/s0003-4975(97)00118-5.
- Barbarash L.S., Zhuravleva I.Iu., Medvedeva V.M., Shaposhnikov A.N. Ways to prevent the calcification of heart valve bioprostheses. *Biull Eksp Biol Med*. 1988;106(12):732-734.
- Vasudev S.C., Chandy T., Sharma C.P., Mohanty M., Umasankar P.R. Synergistic effect of released aspirin/heparin for preventing bovine pericardial calcification. *Artif Organs*. 2000;24(2):129-136. doi:10.1046/j.1525-1594.2000.06348.x.
- Webb C.L., Flowers W.E., Horton C., Schoen F.J., Levy R.J. Long-term efficacy of Al³⁺ for prevention of bioprosthetic heart valve calcification. *ASAIO Trans*. 1990;36(3):M408-M410.
- Hirsch D., Drader J., Pathak Y.V., Yee R., Schoen F.J., Levy R.J. Synergistic inhibition of the calcification of glutaraldehyde pretreated bovine pericardium in a rat subdermal model by FeCl₃ and ethanehydroxydiphosphonate: preincubation and polymeric controlled release studies. *Biomaterials*. 1993;14(9):705-711. doi:10.1016/0142-9612(93)90069-e.
- Timchenko T.P. Bisphosphonates as potential inhibitors of calcification in bioprosthetic heart valves (Review). *Sovrem Tekhnologii Med*. 2022; 14(2):68-78. doi: 10.17691/stm2022.14.2.07.
- Chaschin I., Sinolits M., G.A. Badun G., Chernysheva M., Anuchina N., Krashennnikov S., Khugaev G., Petlenko A., Britikov D., Zubko A., Kurilov A., Dreger E., Bakuleva N. Chitosan/hyaluronic acid polyanion bilayer applied from carbon acid as an advanced coating with intelligent antimicrobial properties for improved biological prosthetic heart valves. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022; 222:2761–2774. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.10.056.
- Perepelkin E., Sinolits M., Badun G., Chernysheva M., Anuchina N., Abramchuk S., Levin E., Bakuleva N., Popov D., Chaschin I. Composite chitosan-based nanoparticles as a basis for innovative antimicrobial coating for bioprostheses: Preparation and application using carbonic acid as a “green” self-neutralizing solvent. *European Polymer Journal*. 2023; 193:112104. doi:10.1016/j.eurpolymj.2023.112104.
- Kashin A.S., Ananikov V.P. A SEM study of nanosized metal films and metal nanoparticles obtained by magnetron sputtering. *Russ. Chem. Bull*. 2011; 60:2602–2607. doi:10.1007/s11172-011-0399-x.
- Gallyamov M. O., Chaschin I. S., Bulat M. V., Bakuleva N. P., Badun G. A., Chernysheva M. G., Kiselyova O. I., Khokhlov A.R.. Chitosan coatings with enhanced biostability in vivo. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater*. 2018; 106:270-277. doi:10.1002/jbm.b.33852.
- Chanda J. Prevention of calcification of heart valve bioprostheses: an experimental study in rat. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1995;60:S339–S342. doi:10.1016/0003-4975(95)00256-K.
- Bokerija L.A., Bakuleva N.P., Kostava V.T., Gamzazade A.I., Gallyamov M.O., Khokhlov A.R., Bakulev Scientific Center for Cardiovascular Surgery, RAMS. Method for chemical treatment of xenopericardium, Patent 2384348 RU. 20.03.2010. (In Russian)

Для цитирования: Перепёлкин Е.И., Зубко А.В., Бритиков Д.В., Чащин И.С., Бакулева Н.П., Джиджихия К.М. Исследование влияния обработки алло- и ксеногенных биоматериалов в суб- и сверхкритическом диоксиде углерода на способность к подавлению кальциноза. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2024;13(3): 182-192. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-182-192

To cite: Perepelkin E.I., Zubko A.V., Britikov D.V., Chaschin I.S., Bakuleva N.P., Dzhihiya K.M. Investigation of the effect of processing allogeneic and xenogenic biomaterials in sub- and supercritical carbon dioxide on the ability to suppress calcification. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2024;13(3): 182-192. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-182-192

ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЙ ПРОТЕЗ КРОВЕНОСНОГО СОСУДА: ОЦЕНКА КАЧЕСТВА МАТЕРИАЛА И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ АТРОМБОГЕННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПОКРЫТИЯ

Е.А. Сенокосова, Е.О. Кривкина, Т.Н. Акентьева, Т.В. Глушкова, В.А. Кошелев,
М.Ю. Ханова, Л.В. Антонова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Основные положения

- Оригинальная методика формирования гидрогелевого атромбогенного лекарственного покрытия на внутренней поверхности сосудистого протеза малого диаметра не повлияла на изначальные структурные и физико-механические свойства изделия. Загрузка в покрытие илопроста и гепарина значительно улучшила гемосовместимость материала в отношении ингибирования агрегации тромбоцитов.

Цель

Оценка структурных и физико-механических характеристик тканеинженерного сосудистого протеза и функциональной активности его лекарственного покрытия.

Материалы и методы

Протезы сосудов на основе сочетания поликапролактона и полиуретана с ростовыми факторами изготавливали методом эмульсионного электроспиннинга. Лекарственное покрытие на внутренней поверхности протезов представлено гидрогелевым слоем, нагруженным илопростом и гепарином. Структуру поверхности исследовали методом сканирующей электронной микроскопии, физико-механические характеристики – на универсальной испытательной машине Zwick/Roell, свойства поверхности – методом установления контактного угла смачиваемости. Функциональная активность лекарственного покрытия оценена по показателям максимальной агрегации тромбоцитов при контакте с материалом.

Результаты

Установлено, что методика формирования лекарственного покрытия не привела к изменению архитектоники поверхности полимерного матрикса. Структура конечного изделия представлена хаотично направленными микро- и нановолокнами с разноразмерными порами без деформативных изменений материала; поверхность изделия сохранила гидрофильность ($\theta = 68,6 \pm 11,85$). Успешность поверхностного модифицирования сосудистых протезов атромбогенными лекарственными препаратами подтверждена крайне низкими значениями максимума агрегации тромбоцитов при контакте обогащенной тромбоцитами плазмы с поверхностью протезов (8,5 (7,2; 12,2) %). Доказаны пролонгированность высвобождения и сохранение активности лекарственных препаратов в зависимости от условий их инкубации в физиологическом растворе.

Заключение

Формирование атромбогенного лекарственного покрытия на поверхности сосудистого протеза PCL/PU/GFmix^{По/Геп} не привело к изменению структурных характеристик и ухудшению физико-механических свойств, но значительно улучшило гемосовместимость в отношении ингибирования агрегации тромбоцитов.

Ключевые слова

Протез сосуда малого диаметра • Поликапролактон • Полиуретан • Электроспиннинг • Гемосовместимость

Поступила в редакцию: 04.06.2024; поступила после доработки: 09.07.2024; принята к печати: 19.08.2024

Для корреспонденции: Евгения Андреевна Сенокосова, sergeewa.ew@yandex.ru; адрес: бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Corresponding author: Evgeniya A. Senokosova, sergeewa.ew@yandex.ru; address: 6, academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

TISSUE-ENGINEERED VASCULAR GRAFT: ASSESSMENT OF MATERIAL QUALITY AND ACTIVITY OF ANTI-TROMBOGENIC COATING

E.A. Senokosova, E.O. Krivkina, T.N. Akentyeva, T.V. Glushkova, V.A. Koshelev,
M.Yu. Khanova, L.V. Antonova

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

Highlights

- The original method of forming a hydrogel anti-trombogenic drug coating on the inner surface of a small diameter vascular graft did not affect the baseline structural, physical and mechanical properties of the product. Loading iloprost and heparin into the coating significantly improved the hemocompatibility of the material with respect to inhibition of platelet aggregation.

Aim	To evaluate structural, physical and mechanical characteristics of a drug-eluting tissue-engineered vascular graft and the functional activity of its coating.
Methods	Vascular grafts based on polycaprolactone and polyurethane with growth factors were manufactured by emulsion electrospinning. The modified coating on the inner surface of the graft consisted of a hydrogel layer loaded with iloprost and heparin. The surface structure was studied by scanning electron microscopy, physical and mechanical characteristics were studied using a universal Zwick/Roell testing machine, surface properties were studied by contact angle measurements and wettability. The functional activity of the modified coating was assessed with the help of indicators of maximum platelet aggregation upon contact with the material.
Results	The results showed that forming the coating did not change the architectonics of the polymer matrix surface. The structure of the graft was represented by randomly directed micro- and nanofibers with heterogeneous pores and without deformation of material; the surface of the graft retained hydrophilicity ($\theta = 68.6 \pm 11.85$). We confirmed the success of surface modification of vascular graft by observing extremely low values of the maximum platelet aggregation upon contact of platelet-rich plasma with the surface of the graft (8,5 (7,2; 12,2) %). Depending on the conditions of their incubation in saline solution, we have noted the prolongation of the drug-releasing activity.
Conclusion	The formation of anti-thrombogenic coating on the surface of the PCL/PU/GFmix/Ilo/Hep vascular graft did not negatively affect the structural characteristics or physical and mechanical properties, moreover, it significantly improved hemocompatibility in terms of inhibition of platelet aggregation.
Keywords	Small diameter vascular graft • Polycaprolactone • Polyurethane • Electrospinning • Hemocompatibility

Received: 04.06.2024; received in revised form: 09.07.2024; accepted: 19.08.2024

Список сокращений

ОТП – обогащенная тромбоцитами плазма PU – полиуретан
PCL – поликапролактон

Введение

Существует высокая потребность в протезах кровеносных сосудов малого диаметра ($D < 6$ мм) [1]. Используя методы тканевой инженерии, можно создавать различные полимерные сосудистые протезы с заданными характеристиками [2–5]. К тканеинженерному протезу предъявляются серьезные требования: он должен быть биосовместим, схож по механическим свойствам с аутологичными сосудами, способен функционировать при низкой скорости потока и более высоком сопротивлении,

характеризующих гемодинамическую среду сосудов малого диаметра [6]. Неполное выполнение данных условий формирует ряд рисков несостоятельности протезов данной категории: тромбообразование, несбалансированность ремоделирования стенки протеза, аневризмообразование, гиперплазия неоинтимы [7].

Оригинальная технология изготовления функционально активного тканеинженерного протеза сосуда малого диаметра включила в себя подходы, с помощью которых возможно преодолеть

вышеуказанные проблемы [8]. Сочетание биосовместимых полимеров поликапролактона (PCL) и полиуретана (PU) в трубчатом каркасе протеза может обеспечить поддержание требуемых механических характеристик и устойчивость к формированию аневризм [9–12]. При этом инкорпорируемые в состав протеза проангиогенные факторы призваны задать вектор гармоничного ремоделирования стенки протеза посредством привлечения сосудистых клеток из крови и окружающих тканей [13]. Высокопористые материалы при контакте с кровью способны провоцировать тромбообразование, поэтому при разработке изделий для нужд сердечно-сосудистой хирургии необходимо учитывать данные особенности. Поверхностное модифицирование протезов атромбогенными лекарственными препаратами может предупредить тромбоз просвета имплантированных сосудистых протезов как в раннем послеоперационном периоде, так и в процессе длительной биорезорбции основного каркаса протеза [14]. Атромбогенное лекарственное покрытие, формируемое по собственной оригинальной методике, представляет собой гидрогелиевый слой со стороны просвета, наполненный антикоагулянтом – нефракционированным гепарином – и антиагрегантом – илопростом [15, 16]. Данная форма поверхностного модифицирования подвержена постепенному растворению в условиях кровотока и пролонгированному высвобождению лекарств.

Необходимо учитывать, что модифицирование полимерных конструкций способно изменить его структурные и другие качественные характеристики, поэтому необходимо контролировать качество материала на каждом этапе изготовления. В данной статье приведены характеристики создаваемого сосудистого протеза малого диаметра относительно этапов изготовления с акцентом на оценке функциональной активности атромбогенного лекарственного покрытия.

Цель исследования – оценить структурные и физико-механические характеристики тканеинженерного сосудистого протеза и функциональную активность его лекарственного покрытия.

Материалы и методы

Изготовление протезов сосудов PCL/PU/GFmix^{/Ilo/Her} в три этапа

На I этапе протезы изготавливали методом эмульсионного электроспиннинга из полимерного раствора 8% PCL (Sigma-Aldrich, США) + 5% PU (Lubrizol Advanced Materials, США) + 1% Plu (Sigma-Aldrich, США) в хлороформе (АО «Вектон», Россия) с одномоментным введением комплекса ростовых факторов (GFmix: VEGF, bFGF и SDF-1 α). Параметры электроспиннинга: напряжение – 22 кВ, скорость вращения коллектора – 200

об./мин, скорость подачи раствора – 0,5 мл/ч, время очистки иглы – 30 сек., расстояние от иглы до наматочного коллектора – 15 см. Диаметр наматочного коллектора составил 8 мм. После высыхания получали PCL/PU/GFmix-протезы.

На II этапе формировали гидрогелевое покрытие на поверхности протезов PCL/PU/GFmix из 10% водного раствора поливинилпирролидона (PVP, PanReac AppliChem, Испания). Образцы выдерживали в приготовленном растворе в течение 30 мин с дальнейшим удалением излишнего PVP и высушиванием на воздухе при комнатной температуре. Далее протезы помещали в стеклянные пробирки, заполняли аргоном и подвергали ионизирующему излучению с общей дозой поглощения 15 кГр с использованием импульсного линейного ускорителя ИЛУ-10 с энергией пучка 5МэВ 50 кВТ (Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН, Россия). В итоге получали PCL/PU/GFmix^{/PVP}-протезы. Стоит отметить, что применение данного облучения параллельно позволило осуществить поверхностное модифицирование и стерилизацию образцов.

Заключительный III этап выполняли в стерильных условиях. К PVP-поверхности методом комплексообразования проводили присоединение антиагреганта илопроста (Ilo, VENTAVIS, BERLIMED S.A., Испания) и нефракционированного гепарина (Her, ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия). PCL/PU/GFmix/PVP-протезы выдерживали в течение 30 мин в глициновом растворе pH 2,3–2,6, содержащем вышеуказанные лекарственные препараты, с последующим высушиванием. После прохождения всех этапов изготовления получали PCL/PU/GFmix^{/Ilo/Her}-протезы.

Для ряда методов готовые сосудистые протезы разрезали вдоль с целью получения плоских матриксов.

Сканирующая электронная микроскопия

Оценку структуры внутренней поверхности протезов проводили на сканирующем электронном микроскопе S-3400N (Hitachi, Япония) в условиях высокого вакуума при ускоряющем напряжении 10 кВ. Перед исследованием образцы протезов размером 0,5 × 0,5 см подвергали золото-палладиевому напылению с получением покрытия толщиной 15 нм при использовании системы для напыления EM ACE200 (Leica Microsystems GmbH, Австрия).

Контактный угол смачиваемости

Для оценки гидрофильных/гидрофобных свойств определили краевой угол смачивания на полимерных материалах методом сидячей капли с использованием прибора Drop Shape Analyzer DSA25 (Kruss GmbH, Германия) при комнатной

температуре. Угол контакта был рассчитан из пяти изображений в программа ImageJ (NIH Image, США) для каждого типа полимерного материала.

Физико-механические испытания

Испытания по установлению физико-механических свойств материала в продольном и поперечном направлении проведены на универсальной испытательной машине серии Z (Zwick/Roell, Германия) с использованием датчика с номинальной силой 50 Н с пределом допустимой погрешности $\pm 1\%$, скорость, перемещения траверсы при испытании 50 мм/мин. Предел прочности материала оценивали как максимальное напряжение при растяжении (МПа) до начала разрушения. Поскольку исследуемые биологические образцы и протезы имели существенное различие по толщине и, как следствие, площади поперечного сечения, в качестве альтернативного критерия прочности использовали абсолютное значение максимальной силы, приложенной к образцу до начала разрушения (F_{max} , Н). Упруго-деформативные свойства материала оценивали по относительному удлинению до начала разрушения образца (%) и модулю Юнга (МПа), который определяли в диапазонах физиологического давления (80–120 мм рт. ст.). Оценку механических свойств протезов проводили в сравнении с внутренней грудной артерией человека (*a. mammaria*). Дистальные сегменты *a. mammaria* человека забирали при проведении аортокоронарного шунтирования пациентам, подписавшим форму информированного согласия на взятие материала. Образцы *a. mammaria* помещали в физиологический раствор и сразу проводили физико-механические испытания.

Оценка функциональной активности лекарственного покрытия

Функциональную активность лекарственного покрытия оценивали по показателям максимальной агрегации тромбоцитов при контакте с протезами (0,5 см²) после контакта донорской плазмой с в соответствии с ISO 10993.4. К свежей донорской крови добавляли 3,8% раствор цитрата натрия (в соотношении 9:1) и затем центрифугировали при 1000 об./мин в течение 10 мин. Полученную обогащенную тромбоцитами плазму (ОТП/PRP) использовали в качестве положительного контроля реакции агрегации тромбоцитов. Для калибровки прибора применяли бедную тромбоцитами плазму, которую получали в результате повторного центрифугирования ОТП при 4000 об./мин в течение 20 мин. Исследуемые образцы матриц помещали в кюветы с ОТП на 3 мин, затем добавляли индуктор агрегации тромбоцитов АДФ «АГРЕНАМ» (НПО «РЕНАМ», Россия) в концентрации 20 мкМ/л. Агрегацию тромбоцитов оценивали с помощью

полуавтоматического 4-канального анализатора АРАСТ 4004 (LABiТес, Германия). Спустя 5 мин регистрировали максимальный процент агрегации тромбоцитов (%).

Продолжительность и динамику функциональной активности лекарственного покрытия PCL/PU/GFmix/Ило/Нер-протезов оценивали по максимуму агрегации тромбоцитов после контакта с поверхностью матриц (0,25 × 0,25 см²) спустя 24 ч и 3, 5, 11 сут инкубации в 50 мл физиологического раствора при 37 °С в статичных условиях и при помешивании на скорости 300 об./мин в шейкер-инкубаторе Incubator 1000 (Heidolph, Германия).

Статистический анализ

Статистическую обработку результатов выполняли в программе GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США). Характер распределения данных в выборках оценивали по критериям Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка. Количественные данные представлены в виде медианы и квартильного размаха (Me (Q1; Q3)) или среднего и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Статистически значимые различия между двумя независимыми группами оценивали критерием Манна – Уитни, при множественном сравнении – ANOVA или критерием Краскала – Уоллиса с коррекцией результатов с учетом множественности сравнения методом FDR. Статистически значимыми принимали различия при $p < 0,05$ во всех тестах.

Результаты

Изготовленный методом эмульсионного электроспиннинга сосудистый протез на основе PCL/PU представлял собой упругую, гибкую, плотную трубку, стабильно поддерживавшую округлый просвет. После продольного разреза легко принимал вид расправленного гладкого листа, удерживавшего свою форму без слипания краевых зон (рис. 1). Средняя толщина данного изделия составила 600 мкм.

Посредством сканирующей электронной микро-

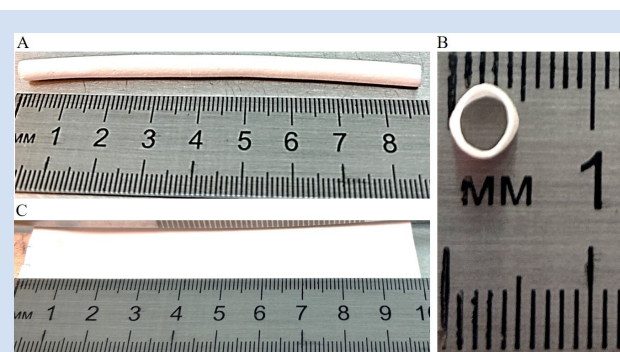


Рисунок 1. Макрофото полимерного протеза кровеносного сосуда: А – трубчатый вид; В – поперечный разрез; С – плоский лист

Figure 1. Macrophoto of a polymer vascular prosthesis: А – tubular prosthesis; В – transverse section; С – flat sheet

скопии установлено, что методика формирования PVP-покрытия с дальнейшим наполнением лекарственными препаратами не привела к изменению архитектоники поверхности полимерного матрикса. Внутренняя поверхность изделия полностью сопоставима на каждом этапе изготовления и представлена сетью хаотично направленных микро- и нановолокон со взаимопроникающими порами (рис. 2). В структуре конечного изделия PCL/PU/GFmix^{/Ilo/Hep} не выявлено потрескивания или расплавления волокон, запаянных пор и других деформативных изменений материала.

Краевой угол смачивания был статистически значимо выше на PVP-поверхностях в сравнении необработанным PCL/PU/GFmix-матриком ($p = 0,008$ для PCL/PU/GFmix^{PVP}; $p = 0,002$ для PCL/PU/GFmix^{/Ilo/Hep}). Стоит отметить, что методика связывания препаратов с PVP не повлияла на физические свойства полимерного матрикса: поверхность изделия сохранила гидрофильность (см. рис. 2).

Анализ механических свойств конечного варианта протеза сосуда PCL/PU/GFmix^{/Ilo/Hep} показал ожидаемую разницу по всем показателям в сравнении с нативной артерией (*a. mammaria*). Материал протеза был в несколько раз прочнее и эластичнее внутренней грудной артерии как в продольном, так и поперечном направлениях. Жесткость протезов достигла 6,04 (5,39; 7,94) МПа (таблица).

Успешность поверхностного модифицирования полимерных сосудистых протезов лекарственными

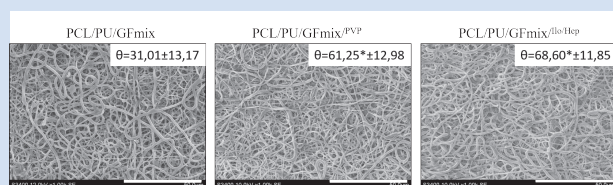


Рисунок 2. Сканирующая электронная микроскопия и краевой угол смачиваемости матриксов

Примечание: * $p < 0,05$ в сравнении с PCL/PU/GFmix-поверхностью; линейка = 50 мкм.

Figure 2. Scanning electron microscopy and contact angle measurements of the matrices

Note: * $p < 0.05$ in comparison with the PCL/PU/GFmix surface. Scale bar = 50 microns.

препаратами подтверждена крайне низкими значениями максимума агрегации тромбоцитов при контакте ОТП с поверхностью протезов PCL/PU/GFmix^{/Ilo/Hep} – 8,5 (7,2; 12,2) %, что в 10 раз ниже ($p = 0,002$), чем в группе безлекарственных PCL/PU/GFmix-матриков (рис. 3).

Сохранность функциональной активности илопроста и гепарина в составе гидрогелевого покрытия на поверхности сосудистого протеза оценена посредством установления максимального процента агрегации тромбоцитов после контакта ОТП с матриксами в зависимости от условий их инкубации в физиологическом растворе. В статичных условиях инкубации лекарственное покрытие подверглось низкому растворению, несмотря на временные точки эксперимента: максимум агрегации тромбоцитов не превысил 10,8 (9,5; 13,6) % спустя 11 сут эксперимента и был сопоставим с результатами контакта ОТП с матриксом без инкубации. Перемешивание на шейкере ускорило растворение PVP-слоя и высвобождение лекарств. Примечательно, что рост максимума агрегации тромбоцитов имел волнообразную динамику относительно времени инкубации. Предположи-

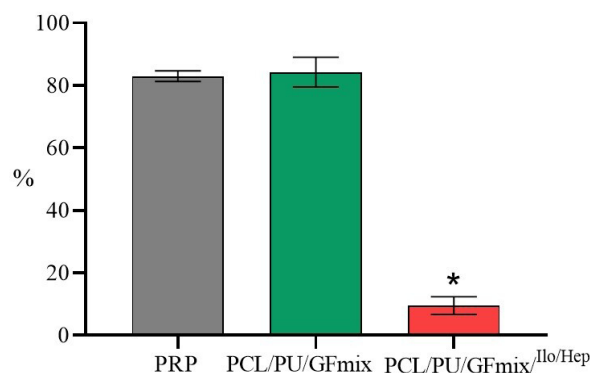


Рисунок 3. Максимум агрегации тромбоцитов при контакте ОТП с модифицированными и немодифицированными матриксами

Примечание: * $p < 0,05$ в сравнении с ОТП и PCL/PU/GFmix.

Figure 3. Maximum platelet aggregation upon contact of PRP and modified and unmodified

Note: * $p < 0.05$ in comparison with PRP and PCL/PU/GFmix.

Механические свойства протезов PCL/PU/GFmix^{/Ilo/Hep}
Mechanical properties of PCL/PU/GFmix^{/Ilo/Hep} prostheses

Образец / Sample	Относительное удлинение / Relative elongation, %	F max, N	Напряжение, МПа / Tensile Strength, MPa	Модуль Юнга, МПа / Young's modulus, MPa
Продольное направление / Longitudinal direction, Me (Q1; Q3)				
<i>a. mammaria</i>	18,34 (16,62; 51,90)	0,68 (0,39; 6,91)	0,30 (0,17; 3,07)	0,89 (0,81; 0,96)
PCL/PU/GFmix ^{/Ilo/Hep}	134,40* (130,40; 137,80)	41,88* (40,45; 43,60)	4,08* (3,76; 4,36)	6,04* (5,39; 7,94)
Поперечное направление / Transverse direction, Me (Q1; Q3)				
<i>a. mammaria</i>	84,26 (36,68; 128,00)	2,45 (0,26; 6,19)	1,19 (0,12; 3,54)	0,34 (0,26; 0,36)
PCL/PU/GFmix ^{/Ilo/Hep}	228,9* (222,6; 254,8)	12,69* (10,26; 14,68)	1,38 (1,13; 1,48)	1,11* (0,97; 1,17)

Примечание: * $p < 0,05$ в сравнении с *a. mammaria*.

Note: * $p < 0.05$ in comparison with Artery mammaria.

тельно, данный эффект можно объяснить проникновением PVP в глубь пористой стенки протеза и аккумуляцией препаратов не только на поверхности изделия, с которой он высвободился быстрее, но и в толще стенки протеза. Это способствовало сохранению и поддержанию достаточного количества связанных с PVP препаратов и снижению агрегации тромбоцитов при контакте ОТП с матриксами после 5 сут инкубации в физиологическом растворе (рис. 4).

Обсуждение

Сформирован устойчивый рост спроса на сосудистые протезы малого диаметра с улучшенными биосовместимыми свойствами и долгосрочной эффективностью. Одним из важных акцентов при создании данных изделий является достижение оптимальных показателей гемосовместимости, физико-механических свойств и гармоничного ремоделирования стенки протеза после имплантации в сосудистое русло. Интеграция такого протеза с сосудистым руслом не должна влиять на систему гемостаза, реактивную в отношении тромбообразования в условиях низкой скорости кровотока: агрегацию и активацию тромбоцитов, лизис эритроцитов и прочее [17, 18]. Поэтому активно появляются и тестируются экспериментальные прототипы протезов сосудов малого диаметра с атромбогенным лекарственным наполнением [19–21].

Нами был разработан тканеинженерный протез кровеносного сосуда на основе поликапролактона и полиуретана с комплексом проангиогенных факторов и лекарственным покрытием, содержащим в своем составе антиагрегант и антикоагулянт. Сосудистые протезы малого диаметра классифицируются как медицинские изделия с высокой степенью риска, относясь к третьему классу, так как предназначены для коррекции системы крово-

обращения и находятся в прямом контакте с частями этой системы и органами, ею кровоснабжаемыми. Поэтому к данному виду изделий предъявляются самые высокие требования – как в отношении биосовместимости, так и долгосрочной эффективности.

По итогам исследования структурных и физико-механических характеристик модифицированного PCL/PU/GFmix^{110/Her}-протеза установлено, что он обладал пористой поверхностью, высокими прочностными и упруго-деформативными характеристиками. Методика модифицирования с целью формирования лекарственного PVP-слоя, включившая ионизирующее облучение и инкубацию протезов в кислой среде, существенно не повлияла на характеристики конечного изделия.

Доказаны пролонгированность высвобождения и сохранение активности лекарственных препаратов, включенных в состав лекарственного покрытия протеза PCL/PU/GFmix^{110/Her}. Максимум агрегации тромбоцитов после контакта крови с поверхностью PCL/PU/GFmix^{110/Her} был в 10 раз ниже аналогичного показателя после контакта с протезами PCL/PU/GFmix, не имевшими лекарственного покрытия.

Заключение

Формирование атромбогенного лекарственного покрытия на поверхности сосудистого протеза PCL/PU/GFmix^{110/Her} не привело к изменению структурных характеристик и ухудшению физико-механических свойств, но значительно улучшило гемосовместимость в отношении ингибирования агрегации тромбоцитов.

Конфликт интересов

Е.А. Сенокосова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.О. Кривкина заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.Н. Ацентьева заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.В. Глушкова заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.А. Кошелев заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.Ю. Ханова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Л.В. Антонова заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках соглашения о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий в соответствии с пунктом 4 статьи 78.1 Бюджетного кодекса Российской Федерации № 075-15-2022-1202 от 30 сентября 2022 г., заключенного в целях реализации Распоряжения Правительства Российской Федерации от 11 мая 2022 г. № 1144-р.

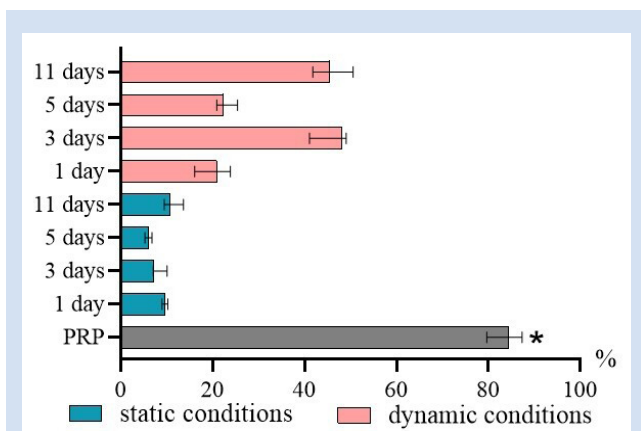


Рисунок 4. Динамика агрегации тромбоцитов после контакта с матриксами

Примечание: * $p < 0,05$ в сравнении с ОТП.

Figure 4. Dynamics of platelet aggregation after contact with matrices

Note: * $p < 0.05$ in comparison with PRP.

Информация об авторах

Сенокосова Евгения Андреевна, кандидат биологических наук 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** 0000-0002-9430-937X

Кривкина Евгения Олеговна, младший научный сотрудник 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

Акентьева Татьяна Николаевна, младший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0033-9376

Глушкова Татьяна Владимировна, кандидат биологических наук старший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-4890-0393

Косхелев Владислав Александрович, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-6840-1116

Ханова Марьям Юрисовна, 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** 0000-0002-8826-9244

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

Вклад авторов в статью

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

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

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

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

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

Author Information Form

Senokosova Evgenia A., PhD, 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** 0000-0002-9430-937X

Krivkina Evgenia 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

Akentieva Tatiana N., Junior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0033-9376

Glushkova Tatiana V., PhD., Senior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-4890-0393

Koshelev Vladislav A., Junior Researcher at the Laboratory of Molecular, Translational and Digital Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-6840-1116

Khanova Maryam Yu., 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** 0000-0002-8826-9244

Antonova Larisa V., PhD, 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

Author Contribution Statement

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

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

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

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

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

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Fahad M.A.A., Lee H.Y., Park S., Choi M., Shanto P.C., Park M., Bae S.H., Lee B.T. Small-diameter vascular graft composing of core-shell structured micro-nanofibers loaded with heparin and VEGF for endothelialization and prevention of neointimal hyperplasia. *Biomaterials*. 2024; 306:122507. doi: 10.1016/j.biomaterials.2024.122507.
- Elliott M.B., Ginn B., Fukunishi T., Bedja D., Suresh A., Chen T., Inoue T., Dietz H.C., Santhanam L., Mao H.Q., Hibino N., Gerecht S. Regenerative and durable small-diameter graft as an arterial conduit. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2019; 116(26):12710-12719. doi: 10.1073/pnas.1905966116.
- Fang Q., Gu T., Fan J., Zhang Y., Wang Y., Zhao Y., Zhao P. Evaluation of a hybrid small caliber vascular graft in a rabbit model. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2020; 159(2):461-473. doi: 10.1016/j.jtcvs.2019.02.083.
- Fusco D., Meissner F., Podesser B.K., Marsano A., Grapow M., Eckstein F., Winkler B. Small-diameter bacterial cellulose-based vascular grafts for coronary artery bypass grafting in a pig model. *Front Cardiovasc Med*. 2022; 9:881557. doi: 10.3389/fcvm.2022.881557.
- 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
- Obiweluzor F.O., Emechebe G.A., Kim D.W., Cho H.J., Park C.H., Kim C.S., Jeong I.S. Considerations in the Development of Small-Diameter Vascular Graft as an Alternative for Bypass and Reconstructive Surgeries: A Review. *Cardiovasc Eng Technol*. 2020; 11(5):495-521. doi: 10.1007/s13239-020-00482-y.
- Awad N.K., Niu H., Ali U., Morsi Y.S., Lin T. Electrospun Fibrous Scaffolds for Small-Diameter Blood Vessels: A Review. *Membranes (Basel)*. 2018; 8(1):15. doi: 10.3390/membranes8010015.
- Антонова Л.В., Севостьянова В.В., Резвова М.А., Кривкина Е.О., Кудрявцева Ю.А., Барбараш О.Л., Барбараш Л.С. Патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (НИИ КПССЗ) Технология изготовления функционально активных биodeградируемых сосудистых протезов малого диаметра с лекарственным покрытием. Патент № 2702239 РФ; МПК А61F 2/06 №2019119912 заявл. 25.06.2019; опубл. 07.10.2019, Бюл. № 28
- Siddiqui N., Asawa S., Birru B., Baadhe R., Rao S. PCL-Based Composite Scaffold Matrices for Tissue Engineering Applications. *Mol Biotechnol*. 2018; 60(7):506-532. doi: 10.1007/s12033-018-0084-5.
- Kucinska-Lipka J., Gubanska I., Janik H., Sienkiewicz M. Fabrication of polyurethane and polyurethane based composite fibres by the electrospinning technique for soft tissue engineering of cardiovascular system. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2015; 46:166-176. doi: 10.1016/j.msec.2014.10.027.
- Tatai L., Moore T.G., Adhikari R., Malherbe F., Jayasekara R., Griffiths I., Gunatillake P.A. Thermoplastic biodegradable polyurethanes: the effect of chain extender structure on properties and in vitro degradation. *Biomaterials*. 2007; 28(36):5407-5417. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.08.035.
- Hergenrother R.W., Wabers H.D., Cooper S.L. Effect of hard segment chemistry and strain on the stability of polyurethanes: in vivo biostability. *Biomaterials*. 1993; 14(6): 449-458. doi: 10.1016/0142-9612(93)90148-u.
- Antonova L. V., Sevostyanova V. V., Mironov A. V., Krivkina E. O., Velikanova E. A., Matveeva V. G., Glushkova T. V., Elgudin Ya. L., Barbarash L. S. In situ vascular tissue remodeling using biodegradable tubular scaffolds with incorporated growth factors and chemoattractant molecules. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2018; 7 (2):25-36. doi:10.17802/2306-1278-2018-7-2-25-36; (in Russian)
- Matsuzaki Y., Miyamoto Sh., Miyachi H., Iwaki R., Shoji T., Blum K., Chang Yu-Ch., Kelly J., Reinhardt J.W., Nakayama H., Breuer C.K., Shinoka T. Improvement of a Novel Small-diameter Tissue-engineered Arterial Graft With Heparin Conjugation. 2021; *Ann. Thorac. Surg*. 111(4): 1234-1241. doi: 10.1016/j.athoracsur.2020.06.112.
- Fang J., Li S. End-Point Immobilization of Heparin on Electrospun Polycarbonate-Urethane Vascular Graft. *Methods Mol Biol*. 2022; 2375:47-59. doi: 10.1007/978-1-0716-1708-3_5.
- Антонова Л.В., Кривкина Е.О., Резвова М.А., Севостьянова В.В., Ткаченко В.О., Глушкова Т.В., Акентьева Т.Н., Кудрявцева Ю.А., Барбараш Л.С. Разработка технологии формирования атромбогенного лекарственного покрытия для биodeградируемых сосудистых протезов малого диаметра. Современные технологии в медицине. 2021; 12(6):6-12. doi: 10.17691/stm2020.12.6.01
- Vascular Grafts Market Size, Share & Trends Analysis Report by Product, by Application (Cardiac Aneurysm, Kidney Failure, Coronary Artery Disease, by Raw Material (Polyester, Polyurethane), by Region, and Segment Forecasts, 2021-2028. Available at: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/vascular-graft-market> (accessed 12.05.2024).
- Radke D., Jia W., Sharma D., Fena K., Wang G., Goldman J., Zhao F. Tissue Engineering at the Blood-Contacting Surface: A Review of Challenges and Strategies in Vascular Graft Development. *Adv. Healthc. Mater*. 2018; 7: e170146. doi: 10.1002/adhm.201701461.
- Yu J., Wang A., Tang Z., Henry J., Li-Ping Lee B., Zhu Y., Yuan F., Huang F, Li S. The effect of stromal cell-derived factor-1 α /heparin coating of biodegradable vascular grafts on the recruitment of both endothelial and smooth muscle progenitor cells for accelerated regeneration. *Biomaterials*. 2012; 33(32):8062-74. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.07.042.
- Qiu X., Lee B.L., Ning X., Murthy N., Dong N., Li S. End-point immobilization of heparin on plasma-treated surface of electrospun polycarbonate-urethane vascular graft. *Acta Biomater*. 2017; 51:138-147. doi: 10.1016/j.actbio.2017.01.012.
- Lee K.S., Kayumov M., Emechebe G.A., Kim D.W., Cho H.J., Jeong Y.J., Lee D.W., Park J.K., Park C.H., Kim C.S., Obiweluzor F.O., Jeong I.S. A Comparative Study of an Anti-Thrombotic Small-Diameter Vascular Graft with Commercially Available e-PTFE Graft in a Porcine Carotid Model. *Tissue Eng Regen Med*. 2022; 19(3):537-551. doi: 10.1007/s13770-021-00422-4.

REFERENCES

1. Fahad M.A.A., Lee H.Y., Park S., Choi M., Shanto P.C., Park M., Bae S.H., Lee B.T. Small-diameter vascular graft composing of core-shell structured micro-nanofibers loaded with heparin and VEGF for endothelialization and prevention of neointimal hyperplasia. *Biomaterials*. 2024; 306:122507. doi: 10.1016/j.biomaterials.2024.122507.
2. Elliott M.B., Ginn B., Fukunishi T., Bedja D., Suresh A., Chen T., Inoue T., Dietz H.C., Santhanam L., Mao H.Q., Hibino N., Gerecht S. Regenerative and durable small-diameter graft as an arterial conduit. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2019; 116(26):12710-12719. doi: 10.1073/pnas.1905966116.
3. Fang Q., Gu T., Fan J., Zhang Y., Wang Y., Zhao Y., Zhao P. Evaluation of a hybrid small caliber vascular graft in a rabbit model. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2020; 159(2):461-473. doi: 10.1016/j.jtcvs.2019.02.083.
4. Fusco D., Meissner F., Podesser B.K., Marsano A., Grapow M., Eckstein F., Winkler B. Small-diameter bacterial cellulose-based vascular grafts for coronary artery bypass grafting in a pig model. *Front Cardiovasc Med*. 2022; 9:881557. doi: 10.3389/fcvm.2022.881557.
5. 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 (In Russian)
6. Obiweluzor F.O., Emechebe G.A., Kim D.W., Cho H.J., Park C.H., Kim C.S., Jeong I.S. Considerations in the Development of Small-Diameter Vascular Graft as an Alternative for Bypass and Reconstructive Surgeries: A Review. *Cardiovasc Eng Technol*. 2020; 11(5):495-521. doi: 10.1007/s13239-020-00482-y.
7. Awad N.K., Niu H., Ali U., Morsi Y.S., Lin T. Electrospun Fibrous Scaffolds for Small-Diameter Blood Vessels: A Review. *Membranes (Basel)*. 2018; 8(1):15. doi: 10.3390/membranes8010015.
8. Antonova L.V., Sevostyanova V.V., Rezvova M.A., Krivkina E.O., Kudryavtseva Yu.A., Barbarash O.L., Barbarash L.S.; Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases" (NII KPSSZ), assignee. Manufacturing technology of functionally active biodegradable vascular prostheses of small diameter with a drug coating. patent 2702239 (RU). 07.10.2019. (In Russian)
9. Siddiqui N., Asawa S., Birru B., Baadhe R., Rao S. PCL-Based Composite Scaffold Matrices for Tissue Engineering Applications. *Mol Biotechnol*. 2018; 60(7):506-532. doi: 10.1007/s12033-018-0084-5.
10. Kucinska-Lipka J., Gubanska I., Janik H., Sienkiewicz M. Fabrication of polyurethane and polyurethane based composite fibres by the electrospinning technique for soft tissue engineering of cardiovascular system. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2015; 46:166-176. doi: 10.1016/j.msec.2014.10.027.
11. Tatai L., Moore T.G., Adhikari R., Malherbe F., Jayasekara R., Griffiths I., Gunatillake P.A. Thermoplastic biodegradable polyurethanes: the effect of chain extender structure on properties and in vitro degradation. *Biomaterials*. 2007; 28(36):5407-5417. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.08.035.
12. Hergenrother R.W., Wabers H.D., Cooper S.L. Effect of hard segment chemistry and strain on the stability of polyurethanes: in vivo biostability. *Biomaterials*. 1993; 14(6): 449-458. doi: 10.1016/0142-9612(93)90148-u.
13. Antonova L. V., Sevostyanova V. V., Mironov A. V., Krivkina E. O., Velikanova E. A., Matveeva V. G., Glushkova T. V., Elgudin Ya. L., Barbarash L. S. In situ vascular tissue remodeling using biodegradable tubular scaffolds with incorporated growth factors and chemoattractant molecules. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2018; 7 (2):25-36. doi:10.17802/2306-1278-2018-7-2-25-36; (in Russian)
14. Matsuzaki Y., Miyamoto Sh., Miyachi H., Iwaki R., Shoji T., Blum K., Chang Yu-Ch., Kelly J., Reinhardt J.W., Nakayama H., Breuer C.K., Shinoka T. Improvement of a Novel Small-diameter Tissue-engineered Arterial Graft With Heparin Conjugation. 2021; *Ann. Thorac. Surg*. 111(4): 1234-1241. doi: 10.1016/j.athoracsur.2020.06.112.
15. Fang J., Li S. End-Point Immobilization of Heparin on Electrospun Polycarbonate-Urethane Vascular Graft. *Methods Mol Biol*. 2022; 2375:47-59. doi: 10.1007/978-1-0716-1708-3_5.
16. Antonova L.V., Krivkina E.O., Rezvova M.A., Sevostyanova V.V., Tkachenko V.O., Glushkova T.V., Akentyeva T.N., Kudryavtseva Y.A., Barbarash L.S. A Technology for Anti-Thrombogenic Drug Coating of Small-Diameter Biodegradable Vascular Prostheses. *Sovrem Tekhnologii Med*. 2021; 12(6):6-12. doi: 10.17691/stm2020.12.6.01. (In Russian)
17. Vascular Grafts Market Size, Share & Trends Analysis Report by Product, by Application (Cardiac Aneurysm, Kidney Failure, Coronary Artery Disease, by Raw Material (Polyester, Polyurethane), by Region, and Segment Forecasts, 2021-2028. Available at: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/vascular-graft-market> (accessed 12.05.2024).
18. Radke D., Jia W., Sharma D., Fena K., Wang G., Goldman J., Zhao F. Tissue Engineering at the Blood-Contacting Surface: A Review of Challenges and Strategies in Vascular Graft Development. *Adv. Healthc. Mater*. 2018; 7: e170146. doi: 10.1002/adhm.201701461.
19. Yu J., Wang A., Tang Z., Henry J., Li-Ping Lee B., Zhu Y., Yuan F., Huang F, Li S. The effect of stromal cell-derived factor-1 α /heparin coating of biodegradable vascular grafts on the recruitment of both endothelial and smooth muscle progenitor cells for accelerated regeneration. *Biomaterials*. 2012; 33(32):8062-74. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.07.042.
20. Qiu X., Lee B.L., Ning X., Murthy N., Dong N., Li S. End-point immobilization of heparin on plasma-treated surface of electrospun polycarbonate-urethane vascular graft. *Acta Biomater*. 2017; 51:138-147. doi: 10.1016/j.actbio.2017.01.012.
21. Lee K.S., Kayumov M., Emechebe G.A., Kim D.W., Cho H.J., Jeong Y.J., Lee D.W., Park J.K., Park C.H., Kim C.S., Obiweluzor F.O., Jeong I.S. A Comparative Study of an Anti-Thrombotic Small-Diameter Vascular Graft with Commercially Available e-PTFE Graft in a Porcine Carotid Model. *Tissue Eng Regen Med*. 2022; 19(3):537-551. doi: 10.1007/s13770-021-00422-4.

Для цитирования: Сенюкова Е.А., Кривкина Е.О., Акентьева Т.Н., Глушкова Т.В., Кошелев В.А., Ханова М.Ю., Антонова Л.В. Тканеинженерный протез кровеносного сосуда: оценка качества материала и функциональной активности тромбогенного лекарственного покрытия. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2024;13(3): 193-201. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-193-201

To cite: Senokosova E.A., Krivkina E.O., Akentyeva T.N., Glushkova T.V., Koshelev V.A., Khanova M.Yu., Antonova L.V. Tissue-engineered vascular graft: assessment of material quality and activity of anti-trombogenic coating. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2024;13(3): 193-201. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-193-201



ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

И.В. Кудрявцев^{1,2}, А.С. Головкин¹, А.А. Тотолян³

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 научное учреждение «Институт Экспериментальной Медицины», ул. Академика Павлова, 12, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197022; ³ Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, ул. Мира, 14, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197101

Основные положения

• В обзоре рассмотрены вопросы, связанные с диагностической ценностью определения уровня внеклеточных везикул, а также переносимого ими груза нуклеиновых кислот и белков, у пациентов с различными заболеваниями и патологическими состояниями. Оценены представленные в литературе данные о диагностической значимости отдельных видов микроРНК при злокачественных новообразованиях.

Резюме

Накопление большого массива информации о биологической природе внеклеточных везикул, а также их участии во многих биологических и патологических процессах в организме предопределяет необходимость трансляции полученных знаний в практическую медицину. Очевидно, что на данном этапе наиболее перспективной представляется разработка диагностических и прогностических алгоритмов, основанных на исследовании уровня целевых внеклеточных везикул у пациентов при различных патологических состояниях. В данном обзоре предпринята попытка систематизации имеющихся данных об опыте и/или перспективах использования отдельных классов внеклеточных везикул в диагностике ряда наиболее распространенных заболеваний и патологических состояний (ишемические и реперфузионные повреждения тканей и органов, инфекционные и неинфекционные воспалительные заболевания, злокачественные опухоли). Отдельно рассмотрены потенциально применимые с диагностической целью внеклеточные везикулы – их белковый состав, а также репертуар переносимых нуклеиновых кислот (в первую очередь микроРНК).

Ключевые слова Внеклеточные везикулы • МикроРНК • Диагностика

Поступила в редакцию: 03.04.2024; поступила после доработки: 23.05.2024; принята к печати: 14.06.2024

DIAGNOSTIC POTENTIAL OF DETERMINING INDIVIDUAL EXTRACELLULAR VESICLES SUBSETS IN CLINICAL PRACTICE

I.V. Kudryavtsev^{1,2}, A.S. Golovkin¹, A.A. Totolyan³

¹ Federal State Budgetary Institution “V. A. Almazov National Medical Research Center” of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2, Akkuratova St., St. Petersburg, Russian Federation, 197341; ² Federal State Budgetary Institution “Institute of Experimental Medicine”, 12, Akademika Pavlova St., St. Petersburg, Russian Federation, 197022; ³ Saint-Petersburg Pasteur Institute, 14, Mira St., St. Petersburg, Russian Federation, 197101

Highlights

• The review is dedicated to analysis of available data on diagnostic significance of extracellular vesicles and their nucleic acids and proteins cargo. The analysis is focused on clinical application of testing systems in various pathological conditions and illnesses. In particular, diagnostic value of miRNA levels in different types of cancer are also presented.

Для корреспонденции: Игорь Владимирович Кудрявцев, igorek1981@yandex.ru; ул. Аккуратова, 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341

Corresponding author: Igor V. Kudryavtsev, igorek1981@yandex.ru; address: 2, Akkuratova St., St. Petersburg, Russian Federation, 197341;

Abstract

The increased number of performed studies investigating biological nature of extracellular vesicles, as well as their participation in many biological and pathological processes, determines the need to translate the acquired knowledge into practical medicine. The development of diagnostic and prognostic algorithms based on the study of the level of target extracellular vesicles in patients with various pathological conditions is the most promising way of translation of this knowledge. This review attempts to systematize the available data on the experience and/or prospects for the use of certain classes of extracellular vesicles in the diagnosis of the most common diseases and pathological conditions (ischemic and reperfusion injuries of tissues and organs, infectious and non-infectious inflammatory diseases, malignant tumors, etc.). Potentially applicable extracellular vesicles for diagnostic purposes are considered separately in terms of their protein composition, as well as in terms of the repertoire of transferred nucleic acids (primarily miRNAs).

Keywords

Extracellular vesicles • miRNA • Diagnostics

Received: 03.04.2024; received in revised form: 23.05.2024; accepted: 14.06.2024

Список сокращений

ВВ – внеклеточные везикулы

Введение

В настоящее время накоплен достаточно большой массив данных об участии внеклеточных везикул (ВВ) в регуляции физиологических и патологических процессов в организме [1, 2]. Дальнейшим этапом должна стать трансляция этих знаний в клиническую медицину. Все больше и больше публикуется результатов исследований по возможному терапевтическому применению ВВ [3], но вместе с тем становится очевидным, что количественная оценка продуцируемых клетками объектов нанометровых размеров может иметь диагностическую и прогностическую значимость при целом ряде заболеваний и патологических состояний [4, 5].

Говоря о внеклеточных везикулах, традиционно выделяют апоптотические тельца, микровезикулы (или эктосомы) и экзосомы [6]. При этом апоптотические тельца являются наиболее крупными, их диаметр может варьировать от 200 нм до 5 мкм, а образуются они от плазматических мембран клеток, находящихся в процессе программируемой клеточной гибели. Микровезикулы образуются путем отпочкования от мембран живых клеток и имеют размеры от 100 до 800 нм в диаметре. Экзосомы образуются внутриклеточно внутри мультивезикулярных тел путем инвагинации их мембраны и имеют диаметр от 30 до 150 нм [7]. Данная классификация является традиционной, но тем не менее открыта для модифицирования, поскольку появляются новые категории ВВ различного клеточного или даже неизвестного происхождения с новыми функциями. Например, экзоферы [8], ВВ, образовавшиеся в результате аутофагии [9], митохондриальные везикулы (митовезикулы) [10], миграсомы [11]. Вместе

с тем очевидно, что по мере расширения знаний о природе, функциональной активности и биогенезе внеклеточных везикул, будут внесены изменения в имеющиеся классификации.

Гетерогенность ВВ в настоящее время уже не вызывает сомнений [12]. Пул продуцируемых объектов зависит от продуцирующих их клеток, их метаболической активности, функционального состояния и т. д. При этом диагностически значимым может быть не общее количество циркулирующих везикул, а определенной популяции, например несущих определенный груз нуклеиновых кислот или экспрессирующих определенный маркер. Важную патогенетическую и диагностическую роль при этом будут играть клеточное происхождение ВВ (опухолевые клетки, клетки микроокружения, иммунокомпетентные, эндотелиальные и т. д.), их состав (уровень конкретных белков, липопротеинов, ферментов), репертуар нуклеиновых кислот (микроРНК, длинные некодирующие РНК и т. д.) [1].

Методы получения, исследования и анализа состава ВВ в научных исследованиях подробно описаны в рекомендациях международного общества исследования внеклеточных везикул [13]. Важно отметить, что на ряду с достаточно сложными, трудоемкими и не стандартизированными методами выделения внеклеточных везикул в настоящее время представлено много утилитарных методик, позволяющих осуществлять выделение объектов в клинической лаборатории, а значит, транслировать исследования в практическую медицину [14–16].

В настоящем обзоре рассматриваются результаты исследований, включающих описание диагностической значимости определения уровня субпо-

пуляций внеклеточных везикул различного состава при ряде патологических состояний и заболеваний.

Заболевания, демонстрирующие диагностический потенциал определения ВВ

Концепция жидкостной биопсии с определением уровня циркулирующих специфических маркеров демонстрирует хорошие перспективы применения в диагностике опухолей, сердечно-сосудистых заболеваний, патологии беременности, реакций отторжения трансплантата [17, 18]. Так, в диагностике рака и его прогрессирования рассматривают исследование уровня циркулирующих опухолевых клеток, свободно циркулирующей ДНК, а также внеклеточных везикул. Последние могут отражать текущее состояние, связанное с основным заболеванием, поскольку ВВ могут переносить груз из таргетных клеток, в частности белки, микроРНК, мРНК, длинные не кодирующие РНК, липиды. Таким образом, оценка содержимого внеклеточных везикул позволяет составить представление о молекулярном статусе заболевания, а точнее опухолевых клеток. Среди компонентов ВВ наибольшую значимость в качестве опухолевых маркеров в диагностике и мониторинге прогрессирования могут иметь белки, ассоциированные с ВВ и РНК [19].

Несмотря на большое количество хорошо зарекомендовавших себя маркеров сердечно-сосудистых заболеваний (холестерин, липопротеиды низкой плотности, С-реактивный протеин, тропонин и т. д.), сохраняется потребность в идентификации новых факторов, обладающих предсказательной силой в отношении того, где и когда начнется патологический процесс и как он будет развиваться [17]. Предполагается, что определение уровня циркулирующих ВВ может оказаться маркером риска развития сосудистых событий, а также их диагностическим критерием [20].

При оценке диагностического потенциала ВВ при патологии беременности принимают во внимание факт изменения биогенеза и секреции микрочастиц клетками плаценты, регулируемый такими факторами микроокружения, как уровень глюкозы и напряжение кислорода [21]. Таким образом, исследование уровня экзосом может оказаться эффективным при пренатальном скрининге, а также диагностике таких патологических состояний при беременности, как артериальная гипертензия и гипергликемия, преэклампсия. Интересно, что в качестве биологического материала могут выступать материнская периферическая кровь, а также моча и амниотическая жидкость [17].

В патогенезе реакций отторжения трансплантата внеклеточные везикулы могут выступать в качестве переносчиков молекул МНС (main histocompatibility complex) от клеток донорского органа к антигенпрезентирующим клеткам реципиента, что приводит к запуску иммунных реакций

[22, 23]. Аналогичным образом может проходить активация Т-клеток [24, 25]. Вместе с тем ВВ могут быть и фактором развития толерантности к имплантированному органу [26, 27]. Таким образом, предполагается, что количественная оценка уровня донор-специфических экзосом может оказаться маркером острой или хронической реакции отторжения трансплантированных солидных органов [17, 28].

Белки, ассоциированные с внеклеточными везикулами

В настоящее время определение мембранных белков в структуре ВВ является утилитарным методом исследования, позволяющим изучить уровень белков без предварительного направленного выделения ВВ. Безусловно, такой подход заметно упрощает его применение в практическом здравоохранении. Одним из примеров может являться использование наборов EchoTEST для количественной и качественной оценки экзосом методом иммуноферментного анализа. Для детекции ВВ использовали общие неспецифические белки (CD63 или Rab-5b) и опухоль-ассоциированный caveolin-1. Показано, что уровень экзосом, экспрессирующих CD63 или caveolin-1, был достоверно более высоким у пациентов с меланомой по сравнению с таковым у здоровых доноров. При этом уровень caveolin-1-положительных везикул у пациентов был достоверно выше, чем CD63⁺-объектов. В целом, это указывает на перспективность данного метода в диагностике и мониторинге опухолевых заболеваний, даже несмотря на то что его применение может потребовать фракционирования ВВ посредством ультрацентрифугирования [29].

Методом с повышенной чувствительностью и, как следствие, не нуждающимся во фракционировании везикул, можно считать EV Array. Антитела к целевым молекулам, например к тетраспанинам – обязательным атрибутам мембранных частиц (CD63, CD81, CD9), фиксируют на стекле микрочипа, что позволяет в дальнейшем захватывать целевые частицы, несущие в своей структуре соответствующие белки, и детектировать их количественно [30].

Плацентарная щелочная фосфатаза является отличительным маркером плацентарных ВВ [31], и их уровень может являться диагностически значимым в диагностике преэклампсии [32].

Многие белки, входящие в состав ВВ, могут оказаться информативными в диагностике заболеваний. Например, в одном из исследований было идентифицировано 910 белков в составе микровезикул, выделенных из слюны здоровых доноров и пациентов с раком легкого. При этом 625 белков были выявлены только в материале от пациентов с раком. Из этого количества 243 были расценены как кандидатные, а 284 – как уникальные, специфические в отношении рака легкого [33].

Обследование пациентов с глиобластомой показало

повышенное количество внеклеточных везикул плазмы крови, несущих глиобластома-специфичные белки – рецептор эпидермального ростового фактора (EGFR) и EGFR тип III, по сравнению с таковым у здоровых доноров. Причем в этом же исследовании авторы высказывают предположение, что уровень ВВ при глиобластоме указывает на амплификацию или мутацию генов и может выступать в качестве предиктора ответа на проводимую противоопухолевую терапию [34].

Исследование в асцитической жидкости уровня ВВ, несущих CD24 и EpCAM, позволило дифференцировать пациентов с раком яичников с точностью 97% [35]. Повышенное количество сывороточных CD9⁺CD147⁺ дубль-позитивных везикул позволило отличить пациентов с колоректальным раком от здоровых доноров [36].

В качестве маркера опухолевой прогрессии, в частности при меланоме, и эффективности новых методов терапии рака рассматривается использование результатов исследования уровня внеклеточных везикул, позитивных по PDL1 (programmed death ligand 1) [37, 38]. Внеклеточные везикулы, несущие PDL1, связываются с рецептором PD-1 на поверхности эффекторных Т-клеток, приводя тем самым к угнетению противоопухолевой активности CD8⁺ цитотоксических Т-клеток и истощению Т-клеток, что способствует прогрессированию меланомы [38]. Аналогично повышенные уровни ВВ, экспрессирующих PDL1, выявлены у пациентов с плоскоклеточным раком кожи, что также коррелировало с прогрессированием заболевания [39]. Оценка изменения уровня PDL1⁺ ВВ у пациентов на фоне проводимой терапии анти-PD-1 может служить как для объективного разделения пациентов на отвечающих и не отвечающих на лечение, так и быть индикатором участия и активности адаптивного иммунитета [38].

Говоря о звеньях иммунитета, вовлеченных в противоопухолевую активность и регулируемых внеклеточными везикулами, продуцируемыми клетками опухоли и опухолевого микроокружения, следует не забывать о врожденном иммунитете. Плазматические ВВ у пациентов с раком поджелудочной железы ингибируют комплемент-зависимый лизис [40], а у пациентов с В-клеточной лимфомой связывают комплемент, в результате чего опухолевые клетки избегают комплемент-зависимого цитолиза *in vitro* [41].

При некоторых видах опухолей продуцируемые ими внеклеточные везикулы могут иметь специфичную «белковую подпись». В частности, при меланоме отмечено повышенное количество ВВ, богатых меланома-специфическим белком, связанным с тирозиназой 2 (melanoma-specific protein tyrosinase-related protein 2, TYRP2), CD29 (very late antigen 4, VLA4), белком теплового шока 70 (heat shock protein 70, HSP70) и онкопротеином MET [42].

Клетки рака поджелудочной железы продуцируют ВВ, содержащие фактор, ингибирующий миграцию макрофагов (macrophage migration inhibitory factor, MIF), что может ассоциироваться с формированием метастазов [43]. В качестве маркера диагностики и прогноза рака поджелудочной железы также может быть использовано исследование уровня циркулирующих ВВ, несущих глипикан 1 (glypican 1, GPC1) [44].

Предполагается, что BPIFA1, Mucin 5B и IQGAP1 (Ras-GTPase-активирующий белок) в составе внеклеточных везикул могут оказаться полезными в качестве неинвазивных маркеров рака легкого [4, 33]. Кроме того, SPARC-like protein 1 (SPARCL1), IQGAP1, BPIFA1 и корнулин также рассматриваются в качестве кандидатных белков в диагностике многих видов рака, особенно рака легкого [4, 45] (табл. 1).

Таблица 1. Белки, входящие в состав внеклеточных везикул, имеющих диагностическую значимость при злокачественных новообразованиях

Table 1. Proteins included in extracellular vesicles that have diagnostic potential in malignant neoplasms

Белок, транспортируемый ВВ / Proteins included in EV	Источник ВВ / EV localization	Вид опухоли / Cancer type	Литературный источник / References
CD63, caveolin-1	Сыворотка / Serum	Меланома / Melanoma	[29]
EGFR, EGFR III	Плазма / Plasma	Глиобластома / Glioblastoma	[34]
CD24, EpCAM	Асцитическая жидкость / Ascitic fluid	Рак яичников / Ovarian cancer	[35]
CD9+CD147+	Сыворотка / Serum	Колоректальный рак / Colorectal cancer	[36]
PDL1	Сыворотка / Serum	Меланома / Melanoma	[37], [38]
TYRP2, VLA4, HSP70, MET	Сыворотка / Serum	Меланома / Melanoma	[42]
MIF	Сыворотка / Serum	Рак поджелудочной железы / Pancreas cancer	[43]
Glypican1 (GPC1)	Сыворотка / Serum	Рак поджелудочной железы / Pancreas cancer	[44]
Glypican1 (GPC1)	Сыворотка / Serum	Колоректальный рак / Colorectal cancer	[46]
BPIFA1, Mucin 5B, IQGAP1	Сыворотка / Serum	Рак легкого / Lung cancer	[33]

Примечание: ВВ – внеклеточные везикулы.
Note: EV – extracellular vesicles.

Диагностическая значимость внеклеточных везикул при COVID-19

Безусловно, в условиях пандемии новой коронавирусной инфекции большое внимание уделяется изучению не только участия ВВ в патогенезе заболевания, но также в диагностике и прогнозировании течения и исходов. Так, отмечено, что у пациентов с тяжелой формой COVID-19 в сыворотке содержалось повышенное количество CD13⁺ ВВ и CD82⁺ ВВ. В то же время в сыворотке лиц с более легким течением было больше HLA-ABC⁺ ВВ, чем у здоровых доноров, и больше CD24⁺ ВВ, чем у пациентов с тяжелым течением COVID-19 [47].

При использовании быстрого метода высокочувствительной проточной цитометрии установлено, что у пациентов с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2, в сыворотке был повышенный уровень везикул тромбоцитарного происхождения по сравнению со здоровыми донорами и с ПЦР-негативными больными [48]. В исследовании нашей группы такой закономерности относительно везикул тромбоцитарного происхождения не отмечено. Однако уровень CD235a⁺ и CD14⁺ ВВ был достоверно повышен у пациентов с инфекцией средней тяжести, а уровень CD8⁺ и CD19⁺ ВВ снижен по сравнению со здоровыми донорами. Пациенты с тяжелой формой инфекции имели пониженные уровни CD4⁺, CD19⁺ и CD146⁺ ВВ по сравнению с донорами. Кроме того, показано, что в процессе лечения снижался уровень CD63⁺ ВВ и CD147⁺ ВВ, что может быть использовано в качестве одного из критериев эффективности проводимой терапии [49].

В другом исследовании продемонстрировано, что острый респираторный дистресс-синдром при COVID-19 запускает высвобождение ВВ, несущих тканевой фактор – основной активатор коагуляционного каскада. Уровень активности тканевого фактора в везикулах у пациентов был достоверно выше, чем у здоровых доноров. Кроме того, активность везикул ассоциировалась с тяжестью заболевания и летальностью [50].

На высокую диагностическую и прогностическую значимость уровня тромбоцитарных везикул указывали многие исследователи [49, 51, 52]. Вместе с тем метод детекции, а также алгоритмы применения и интерпретации полученных результатов еще требуют уточнения.

МикроРНК внеклеточных везикул, ассоциированные со злокачественными новообразованиями

МикроРНК являются малыми некодирующими РНК, состоящими из 20–25 нуклеотидов, контролирующими на посттранскрипционном этапе экспрессию белок-кодирующих генов. Спектр транспортируемых везикулами микроРНК в значительной степени зависит от вида клеток-продуцентов и их активности [12]. Есть достаточное количество

указаний на то, что целый ряд микроРНК, ассоциированных с ВВ, может выступать в качестве биомаркеров при опухолевой патологии [19].

В частности, уровень *let-7a*, *miR-1229*, *miR-1246*, *miR-150*, *miR-21*, *miR-223* и *miR-23a* был достоверно повышен у пациентов с колоректальным раком и снижался после хирургического удаления опухоли, что подчеркивает именно опухолевое происхождение указанных микроРНК [53]. В другом исследовании показано, что уровень экспрессии экзосомной *miR-19a* в сыворотке пациентов с колоректальным раком достоверно повышен по сравнению с таковым у здоровых доноров. При этом более высокий уровень ассоциировался с худшим прогнозом, чем низкий ($p < 0,001$). Кроме того, уровень экзосомной *miR-17-92a* в сыворотке коррелировал с рецидивом рака [54] (табл. 2).

Повышенный сывороточный уровень экзосомных *miR-1290* и *miR-375* был ассоциирован с худшей выживаемостью пациентов с резистентным раком простаты [55].

Плазма пациентов с раком молочной железы содержит ВВ, богатые *miR-21* и *miR-1246*, что может быть использовано для диагностики и мониторинга эффективности лечения [56]. Вместе с тем при мониторинге нейрогенных опухолей отмечено, что уровень *miR-21* в экзосомах сыворотки крови здоровых доноров был ниже, чем у пациентов с глиобластомой [57].

Уровни *let-7f*, *miR-20b* и *miR-30e-3p* были ниже в плазматических везикулах у пациентов с немелкоклеточной карциномой легкого в сравнении с контролями [58].

Повышенный уровень восьми микроРНК из сывороточных внеклеточных везикул продемонстрировал свою диагностическую значимость при раке яичников по сравнению с доброкачественными опухолями (*miR-21*, *miR-141*, *miR-200a*, *miR-200b*, *miR-200c*, *miR-203*, *miR-205*, *miR-214*) [59]. Кроме того, в этой же работе отмечено другое интересное наблюдение: микроРНК-профиль везикул, выделенных из клеток опухолей, не отличался от такового из экзосом, выделенных из периферической крови. Приведенные результаты указывают на то, что клетки-продуценты обладают механизмом сортировки, который направляет специфические внутриклеточные микроРНК для проникновения в экзосомы, а также на то, что по крайней мере при злокачественном опухолевом процессе внеклеточные везикулы периферической крови и переносимый ими репертуар микроРНК являются репрезентативными по отношению к опухоли и их исследование может играть важную диагностическую роль.

Вместе с тем обращает на себя внимание определенная неспецифичность детектируемых микроРНК в отношении различных по происхождению и морфологии опухолей. Так, в разных ис-

следованиях указывается диагностическая значимость miR-21 при раке молочной железы [56], раке яичников [59], глиобластоме [57], колоректальном раке [53]. Уровень микроРНК *let-7f* демонстрирует диагностическую значимость при колоректальном раке [60] и немелкоклеточном раке легкого [58]. При том, что *miR-21* [67] и *let-7f* [68, 69] является одной из самых часто встречаемых микроРНК в сыворотке и в плазме у здоровых доноров. МикроРНК *miR-223* наиболее часто встречается в тромбоцитах и везикулах тромбоцитарного происхождения [70]. Вместе с тем экспрессия *miR-223* может быть аномальной при раке молочной железы [61], раке желудка [62], раке легкого [63], раке яичников [64].

Другим интересным моментом может оказаться вид используемого биологического материала. Диагностически значимыми могут быть и иные, кроме плазмы и сыворотки, биологические жидкости [5]. В частности, при исследовании осадка (везикулы) и надосадка (экзосомы) ультрацентрифугированной мочи пациентов с раком простаты установлено, что уровень *miR-21* и *miR-375* был повышен в обеих фракциях, в то время как *miR-141* – только в осадке. И наоборот, концентрации *let-7c* у пациентов и здоровых доноров отличались только во фракции экзосом (надосадок), но не во фракции везикул (осадок) [65].

Внеклеточные везикулы мочи, содержащие *miR-*

451a и *miR-486-5p*, могут быть потенциальными биомаркерами безрецидивной выживаемости пациентов с раком мочевого пузыря, стадия T1. Вывод был основан на том, что указанные микроРНК были достоверно повышены у пациентов до операции по удалению опухоли по сравнению с послеоперационным уровнем [66].

МикроРНК внеклеточных везикул при ишемических и реперфузионных повреждениях миокарда

Закономерными являются поиски ранних высокоспецифичных маркеров повреждения миокарда при ишемии и реперфузии. Так, показано, что уровни ряда микроРНК (*miR-1*, *miR-133a*, *miR-133b*, *miR-208a*, *miR-208b*, *miR-499*) повышаются в крови сразу после острого инфаркта миокарда. В ряде случаев высокая скорость их роста и специфичность указывали на больший диагностический потенциал, чем уровень тропонинов [71–73]. Перспективным в отношении диагностики ишемии миокарда может стать определение уровня *miR-210*, экспрессируемой в клетках сердца и повышающейся в условиях гипоксии [74].

Полученные результаты об увеличении общего количества экзосом и уровня кардиоспецифичных микроРНК (*miR-1*, *miR-133a*, *miR-133b*) в процессе аортокоронарного шунтирования, а также положительная корреляция уровня этих микроРНК с уровнем тропонина I указывают на их потенциальную

Таблица 2. Диагностически значимые микроРНК в составе внеклеточных везикул при злокачественных новообразованиях
Table 2. MicroRNA included in extracellular vesicles that have diagnostic potential in malignant neoplasms

МикроРНК ВВ / MicroRNA from EV	Источник ВВ / EV localization	Вид опухоли / Cancer type	Литературный источник / References
<i>let-7a</i> , <i>miR-1229</i> , <i>miR-1246</i> , <i>miR-150</i> , <i>miR-21</i> , <i>miR-223</i> , <i>miR-23a</i>	Сыворотка / Serum	Колоректальный рак / Colorectal cancer	[53]
<i>miR-19a-3p</i> , <i>miR-17-92a</i>	Сыворотка / Serum	Колоректальный рак / Colorectal cancer	[54]
<i>miR-1290</i> , <i>miR-375</i>	Сыворотка / Serum	Рак простаты / Prostate cancer	[55]
<i>miR-21</i> , <i>miR-1246</i>	Плазма / Plasma	Рак молочной железы / Breast cancer	[56]
<i>miR-21</i>	Сыворотка/ Serum	Глиобластома / Glioblastoma	[57]
<i>let-7f</i> , <i>miR-20b</i> , <i>miR-30e-3p</i>	Плазма / Plasma	Немелкоклеточная карцинома легкого / Nonsmall cell lung cancer	[58]
<i>miR-21</i> , <i>miR-141</i> , <i>miR-200a</i> , <i>miR-200b</i> , <i>miR-200c</i> , <i>miR-203</i> , <i>miR-205</i> , <i>miR-214</i>	Сыворотка / Serum	Рак яичников / Ovarian cancer	[59]
<i>miR-19a-3p</i> , <i>miR-203-3p</i> , <i>miR-221-3p</i> , <i>let-7f-5p</i>	Сыворотка/ Serum	Колоректальный рак / Colorectal cancer	[60]
<i>miR-223</i>	Плазма / Plasma	Рак молочной железы / Breast cancer	[61]
<i>miR-223</i>	Плазма / Plasma	Рак желудка / Gastric cancer	[62]
<i>miR-223</i>	Плазма / Plasma	Рак легкого / Lung cancer	[63]
<i>miR-223</i>	Плазма / Plasma	Рак яичников / Ovarian cancer	[64]
<i>miR-21</i> , <i>miR-375</i>	Моча / Urine	Рак простаты / Prostate cancer	[65]
<i>miR-451a</i> , <i>miR-486-5p</i>	Моча / Urine	Рак мочевого пузыря T1 / Bladder cancer T1	[66]

Примечание: ВВ – внеклеточные везикулы.
Note: EV – extracellular vesicles.

значимую роль в качестве биомаркера миокардиального повреждения [71].

Не обнаруживаемая у здоровых доноров *hsa-miRNA-208a* у пациентов с острым инфарктом миокарда отчетливо детектируется в плазме крови через 4 ч после дебюта болей за грудиной. Такой показатель оказывается заметно более ранним, чем классические маркеры повреждения, такие как тропонин и креатинкиназа МВ [75].

Интересно, что оценка уровня микроРНК может быть использована не только в диагностике острых событий, но и с прогностической целью. Повышенный уровень циркулирующей *miR-133a* у пациентов с семейной гиперхолестеринемией оказался предиктором развития острого коронарного события в ближайшие 2 года. Установлено, что микроРНК оказывает влияние на липидный и воспалительный сигналинг в ключевых клетках (макрофаги, эндотелиальные клетки), связанных с атеросклеротической прогрессией [76].

МикроРНК внеклеточных везикул, ассоциированные с ишемическим инсультом

У пациентов с острым ишемическим инсультом сывороточный уровень *hsa-miR-124-3p* был снижен по сравнению с таковым у лиц без инсульта. Кроме того, уровень этой микроРНК в везикулах отрицательно коррелировал с уровнем провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-1 β , TNF α , CXCL2). Из полученных результатов авторы сделали вывод о том, что сывороточная *hsa-miR-124-3p* служит в качестве диагностического и прогностического маркера ранних стадий острого ишемического инсульта [77].

У пациентов с ишемическим инсультом более высокий уровень сывороточной *miR-19a-3p* ассоциировался с тяжестью основного заболевания. Кроме того, показано, что совместная оценка с уровнями тромбоцитарных и лейкоцитарных внеклеточных везикул существенно повышает площадь под ROC-кривой [78].

Внеклеточные везикулы, ассоциированные с повреждением легких и острым респираторным дистресс-синдромом

Растет количество исследований, посвященных изучению потенциальной диагностической роли микроРНК, которые могут содержаться во ВВ и участвовать в патогенезе повреждения и воспаления легких. Сообщалось, что экспрессия *let-7c* и *miR-125b* в сыворотке пациентов была значительно снижена и обратно коррелировала с тяжестью течения острого респираторного дистресс-синдрома [79]. Высокий уровень циркулирующей *miR-320* был важным биомаркером, указывающим на плохую дыхательную функцию при остром повреждении легких [80].

Кроме того, в литературе появлялись данные о том, что *let-7a*, *miR-328*, *miR-21*, определяемые в конденсате выдыхаемого воздуха у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких, обладают потенциальной способностью выступать в качестве функциональных маркеров [81].

Уровень лейкоцитарных внеклеточных везикул в бронхоальвеолярной лаважной жидкости и в крови был идентифицирован как достоверный прогностический маркер начала острого респираторного дистресс-синдрома [82, 83]. В проспективном когортном исследовании повышенные уровни циркулирующих ВВ были независимо связаны со сниженным риском острого респираторного дистресс-синдрома у пациентов в критическом состоянии [84]. Показано, что у пациентов с прекапиллярной легочной гипертензией уровень циркулирующих эндотелиальных ВВ повышен [85], что может указывать на предсказательную силу уровня везикул в отношении гемодинамической тяжести. Уровень эндотелиальных ВВ, экспрессирующих CD31, был повышен у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких средней степени тяжести, а экспрессирующих CD62E – у пациентов с тяжелой хронической обструктивной болезнью легких [86].

МикроРНК внеклеточных везикул, ассоциированные с воспалительными заболеваниями

Ранняя диагностика, а также мониторинг заболеваний, ассоциированных с воспалением, в том числе системного характера, также востребованы в рутинной клинической практике (табл. 3).

В экспериментальных исследованиях по моделированию сепсиса на мышах были подтверждены клинические наблюдения о диагностической значимости повышенного уровня *miR-483-3p* и *let-7d-3p* во внеклеточных везикулах пациентов. Кроме того, уровень этих микроРНК положительно коррелировал с тяжестью заболевания [87].

Выделенные из жидкости после перитонеального диализа *miR-223* и *miR-31* могут быть расценены как предикторы бактериальной инфекции при перитоните. При этом диагностически значимыми являются повышение первой и снижение второй из указанных микроРНК [88].

При секвенировании свободно циркулирующих в плазме микроРНК, большая часть из которых была связана с внеклеточными везикулами, у пациентов с внебольничной пневмонией, а также пневмонией, осложненной сепсисом, выявлено значимое изменение уровней *miR-1246*, *miR-193a-5p* и *miR-542-3p*. Важно отметить, что уровни экспрессии *miR-1246* демонстрировали значительные изменения по мере повышения тяжести заболевания по направлению от здоровых добровольцев до пациентов с внебольничной пневмонией и пациен-

тов с пневмонией, осложненной сепсисом. Кроме того, детекция уровней *miR-193a-5p* и *miR-542-3p* позволяла различать пациентов с инфекционным заболеванием (пневмония или сепсис) от здоровых доноров [89].

При обследовании пациентов с хроническим периодонтитом в плазме выявлено 33 микроРНК с достоверно пониженным уровнем экспрессии по сравнению со здоровыми донорами. В то же время в образцах слюны определено уже 1 995 дифференциально экспрессирующихся микроРНК (1 985 – апрегуляция и 10 – даунрегуляция) [90]. При этом наиболее перспективными для дальнейшего исследования с целью создания диагностической панели были признаны следующие плазматические микроРНК: *hsa-miR-let-7d*, *hsa-miR-126-3p*, *hsa-miR-199a-3p* и одна – слюнная (*hsa-miR-125a-3p*).

При обследовании пациенток с преэклампсией установлено, что концентрации *miR-486-1-5p*

и *miR-486-2-5p* в плацентарных экзосомах были значительно выше у пациенток с патологией, чем у здоровых беременных, что также может указывать на диагностический потенциал этих маркеров [91].

Заключение

К настоящему моменту накопилось достаточно большое количество результатов клинических исследований, демонстрирующих, что внеклеточные везикулы, а также различные компоненты, входящие в их состав (белки, нуклеиновые кислоты и т. д.), могут выступать в качестве очень специфичных и чувствительных маркеров целого ряда патологических состояний и заболеваний. Далее все более актуальным становится вопрос разработки диагностических панелей и алгоритмов применения диагностических тест-систем, позволяющих внедрить методы исследований внеклеточных везикул в клиническую практику.

Таблица 3. Значимые микроРНК внеклеточных везикул в диагностике заболеваний и патологических состояний
Table 3. MicroRNA included in extracellular vesicles that have diagnostic potential in diseases and pathological conditions

МикроРНК ВВ / MicroRNA from EV	Источник ВВ / EV localization	Нозология / Nosology	Литературный источник / References
<i>hsa-miRNA-208a</i>	Плазма / Plasma	Ранний маркер острого инфаркта миокарда / Early marker of acute myocardial infarction	[75]
<i>let-7c</i> , <i>miR-125b</i>	Сыворотка / Serum	Обратная корреляция с тяжестью ОРДС / Inverse correlation with ARDS severity	[79]
<i>miR-320</i>		Функция дыхания при остром повреждении легких / Respiratory function in acute lung injury	[80]
<i>let-7a</i> , <i>miR-328</i> , <i>miR-21</i>	Конденсат выдыхаемого воздуха / Exhaled breath condensate	Функциональные маркеры дыхания при ХОБЛ / Functional marker chronic obstructive pulmonary disease	[81]
<i>miR-1</i> , <i>miR-133a</i> , <i>miR-133b</i>	Плазма / Plasma	Повреждение миокарда / Myocardial damage	[71]
<i>miR-1</i> , <i>miR-133a</i> , <i>miR-133b</i> , <i>miR-208a</i> , <i>miR-208b</i> , <i>miR-499</i>	Плазма / Plasma	Острый инфаркт миокарда / Acute myocardial infarction	[71], [72], [73]
<i>hsa-miR-124-3p</i>	Сыворотка / Serum	Острый ишемический инсульт / Acute ischemic stroke	[77]
<i>miR-223</i> , <i>miR-31</i>	Перитонеальная жидкость / Peritoneal fluid	Бактериальный перитонит / Bacterial peritonitis	[88]
<i>miR-19a-3p</i>	Плазма / Plasma	Ишемический инсульт / Ischemic stroke	[78]
<i>miR-483-3p</i> , <i>let-7d-3p</i>	Экзосомы, выделенные из плазмы / Plasma purified exosomes	Сепсис / Sepsis	[87]
<i>miR-1246</i> , <i>miR-193a-5p</i> , <i>miR-542-3p</i>	Неочищенные ВВ плазмы / Serum circulating cell-free EV	Внебольничная пневмония, пневмония, осложненная сепсисом / Community-acquired pneumonia and pneumonia-related sepsis	[89]
<i>hsa-miR-let-7d</i> , <i>hsa-miR-126-3p</i> , <i>hsa-miR-199a-3p</i>	Плазма / Plasma	Хронический периодонтит / Chronic periodontitis	[90]
<i>hsa-miR-125a-3p</i>	Слюна / Saliva	Хронический периодонтит / Chronic periodontitis	[90]
<i>miR-486-1-5p</i> , <i>miR-486-2-5p</i>	Плазма / Plasma	Преэклампсия / Preeclampsia	[91]

Примечание: ВВ – внеклеточные везикулы; ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром; ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких.

Note: EV – extracellular vesicles; ARDS – acute respiratory distress syndrome.

Конфликт интересов

И.В. Кудрявцев заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.С. Головкин заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.А. Тоголян заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 19-75-20076).

Информация об авторах

Кудрявцев Игорь Владимирович, кандидат биологических наук заведующий лабораторией аутоиммунных и аутовоспалительных заболеваний научного центра мирового уровня «Центр персонализированной медицины» федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; заведующий лабораторией клеточной иммунологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт Экспериментальной Медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-7204-7850

Головкин Алексей Сергеевич, доктор медицинских наук руководитель группы генно-клеточной инженерии 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; **ORCID** 0000-0002-7577-628X

Тоголян Арег Артемович, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор директор федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-4571-8799

Вклад авторов в статью

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

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

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

Author Information Form

Kudryavtsev Igor V., PhD, Head of the Laboratory of Autoimmune and Autoinflammatory Diseases, World-Class Science Center “Center for Personalized Medicine”, Federal State Budgetary Institution “V. A. Almazov National Medical Research Center” of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation; Head of the Laboratory of Cellular Immunology, Federal State Budgetary Institution “Institute of Experimental Medicine”, St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-7204-7850

Golovkin Alexey S., PhD, Head of the Group of Genetic and Cellular Engineering at the 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, St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-7577-628X

Totolyan Areg A., Member of the Russian Academy of Sciences, PhD, Professor, Director of the Federal Budgetary Institution “Saint-Petersburg Pasteur Institute” of the Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare, St. Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-4571-8799

Author Contribution Statement

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kalra H., Drummen G.P.C., Mathivanan S. Focus on extracellular vesicles: Introducing the next small big thing. *Int J Mol Sci.* 2016;17(2): 170. doi: 10.3390/ijms17020170
2. Shah R., Patel T., Freedman J.E. Circulating extracellular vesicles in human disease. *N Engl J Med.* 2018;379(10):958–66. doi: 10.1056/NEJMra1704286.
3. Великоницев Ф.С., Головкин А.С. Терапия внеклеточными везикулами: возможности, механизмы и перспективы применения. *Российский кардиологический журнал.* 2020;25(10): 221–31. doi: 10.15829/1560-4071-2020-4081
4. Liu Y., Wang S., Xia H., Tan X., Song S., Zhang S., Meng D., Chen Q., Jin Y. The potential applications of microparticles in the diagnosis, treatment, and prognosis of lung cancer. *J Transl Med.* 2022;20(1):404. doi: 10.1186/s12967-022-03599-x
5. Wang Y., Zhang M. Urinary Exosomes: A Promising Biomarker for Disease Diagnosis. *Lab Med.* 2023. 7;54(2):115–125. doi: 10.1093/labmed/lmac087
6. Witwer K.W., Théry C. Extracellular vesicles or exosomes? On primacy, precision, and popularity influencing a choice of nomenclature. *J Extracell vesicles.* 2019;8(1):1648167. doi: 10.1080/20013078.2019.1648167.
7. Verdi V., Bécot A., van Niel G., Verweij F.J. In vivo imaging of EVs in zebrafish: New perspectives from “the waterside.” *FASEB BioAdvances.* 2021;3(11):918–29. doi: 10.1096/fba.2021-00081.
8. Melentijevic I., Toth M.L., Arnold M.L., Guasp R.J., Harinath G., Nguyen K.C., Taub D., Parker J.A., Neri C., Gabel

- C.V., Hall D.H., Driscoll M. C. elegans neurons jettison protein aggregates and mitochondria under neurotoxic stress. *Nature*. 2017;542(7641):367–71. doi: 10.1038/nature21362.
9. Pedrioli G., Paganetti P. Hijacking Endocytosis and Autophagy in Extracellular Vesicle Communication: Where the Inside Meets the Outside. *Front Cell Dev Biol*. 2021;8(8):595515. doi: 10.3389/fcell.2020.595515.
10. Sugiura A., McLelland G., Fon E.A., McBride H.M. A new pathway for mitochondrial quality control: mitochondrial-derived vesicles. *EMBO J*. 2014;33(19):2142–56.
11. Ma L., Li Y., Peng J., Wu D., Zhao X., Cui Y., Chen L., Yan X., Du Y., Yu L. Discovery of the migrasome, an organelle mediating release of cytoplasmic contents during cell migration. *Cell Res*. 2015;25(1):24–38. doi: 10.1038/cr.2014.135.
12. Kondratov K., Nikitin Y., Fedorov A., Kostareva A., Mikhailovskii V., Isakov D., Ivanov A., Golovkin A. Heterogeneity of the nucleic acid repertoire of plasma extracellular vesicles demonstrated using high-sensitivity fluorescence-activated sorting. *J Extracell Vesicles*. 2020;9(1):1743139. doi: 10.1080/20013078.2020.1743139.
13. Théry C., Witwer K.W., Aikawa E., Alcaraz M.J., Anderson J.D., Andriantsitohaina R., Antoniou A., Arab T., et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*. 2018;7(1):1535750. doi: 10.1080/20013078.2018.1535750.
14. Johnsen K.B., Gudbergsson J.M., Andresen T.L., Simonsen J.B. What is the blood concentration of extracellular vesicles? Implications for the use of extracellular vesicles as blood-borne biomarkers of cancer. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2019;1871(1):109–116. doi: 10.1016/j.bbcan.2018.11.006
15. Coumans F.A.W., Brisson A.R., Buzas E.L., Dignat-George F., Drees E.E.E., El-Andaloussi S., Emanuelli C., Gasecka A., et al. Methodological guidelines to study extracellular vesicles. *Circ Res*. 2017;120(10):1632–48. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.309417.
16. Gardiner C., Di Vizio D., Sahoo S., Théry C., Witwer K.W., Wauben M., Hill A.F. Techniques used for the isolation and characterization of extracellular vesicles: Results of a worldwide survey. *J Extracell Vesicles*. 2016;5(1):32945. doi: 10.3402/jev.v5.32945.
17. Zhou B., Xu K., Zheng X., Chen T., Wang J., Song Y., Shao Y., Zheng S. Application of exosomes as liquid biopsy in clinical diagnosis. *Signal Transduct Target Ther*. 2020;5(1):144. doi: 10.1038/s41392-020-00258-9
18. Головкин А.С., Кудрявцев И.В., Федотов П.А., Калинина О.В. Новые аспекты влияния факторов иммунитета и микробиома на реакции отторжения трансплантированного сердца. *Российский кардиологический журнал*. 2022;27(8):4806. doi: 10.15829/1560-4071-2022-4806
19. Urabe F, Kosaka N, Ito K, Kimura T, Egawa S, Ochiya T. Extracellular vesicles as biomarkers and therapeutic targets for cancer. *Am J Physiol - Cell Physiol*. 2020;318(1):C29–39.
20. Ghafarian F., Pashirzad M., Khazaei M., Rezayi M., Hassanian S.M., Ferns G.A., Avan A. The clinical impact of exosomes in cardiovascular disorders: From basic science to clinical application. *J Cell Physiol*. 2019;234(8):12226–36. doi: 10.1002/jcp.27964
21. Salomon C., Scholz K., Kobayashi M., Duncombe G., Perez-Sepulveda A., Illanes S.E., Longo S., Fortunato S., Mitchell M., Rice G.E. Hypoxia Regulates the Response of Trophoblast-Derived Exosomes To Hyperglycemia and Displays a Difference Placental Exosome Profile in Plasma From Patients With Gestational Diabetes Mellitus. *Reprod Sci*. 2015;22 (Suppl 1): A 257- A 258.
22. Liu Q., Rojas-Canales D.M., Divito S.J., Shufesky W.J., Stolz D.B., Erdos G., Sullivan M.L., Gibson G.A., Watkins S.C., Larregina A.T., Morelli A.E. Donor dendritic cell-derived exosomes promote allograft-targeting immune response. *J Clin Invest*. 2016;126(8):2805–20. doi: 10.1172/JCI84577.
23. Burlingham W.J. “Cross-Dressing” Becomes Fashionable Among Transplant Recipients. *Am J Transplant*. 2017;17(1):5–6. doi: 10.1111/ajt.14032.
24. Morelli A.E., Bracamonte-Baran W., Burlingham W.J. Donor-derived exosomes: The trick behind the semidirect pathway of allorecognition. *Curr Opin Organ Transplant*. 2017;22(1):46–54. doi: 10.1097/MOT.0000000000000372.
25. Gonzalez-Nolasco B., Wang M., Prunevicielle A., Benichou G. Emerging role of exosomes in allorecognition and allograft rejection. *Curr Opin Organ Transplant*. 2018;23(1):22–7. doi: 10.1097/MOT.0000000000000489.
26. Benichou G., Wang M., Ahrens K., Madsen J.C. Extracellular vesicles in allograft rejection and tolerance. *Cell Immunol*. 2020;349(5):104063. doi: 10.1016/j.cellimm.2020.104063.
27. Marino J., Babiker-Mohamed M.H., Crosby-Bertorini P., Paster J.T., LeGuern C., Germana S., Abdi R., Uehara M., Kim J.I., Markmann J.F., Tocco G., Benichou G. Donor exosomes rather than passenger leukocytes initiate alloreactive T cell responses after transplantation. *Sci Immunol*. 2016;1(1):aaf8759. doi: 10.1126/sciimmunol.aaf8759.
28. Vallabhajosyula P., Korutla L., Habrtheuer A., Yu M., Rostami S., Yuan C.X., Reddy S., Liu C., Korutla V., Koeberlein B., Trofe-Clark J., Rickels M.R., Naji A. Tissue-specific exosome biomarkers for noninvasively monitoring immunologic rejection of transplanted tissue. *J Clin Invest*. 2017;127(4):1375–91. doi: 10.1172/JCI87993.
29. Logozzi M., De Milito A., Lugini L., Borghi M., Calabrò L., Spada M., Perdicchio M., Marino M.L., Federici C., Iessi E., Brambilla D., Venturi G., Lozupone F., Santinami M., Huber V., Maio M., Rivoltini L., Fais S. High levels of exosomes expressing CD63 and caveolin-1 in plasma of melanoma patients. *PLoS One*. 2009;4(4):e5219. doi: 10.1371/journal.pone.0005219.
30. Jørgensen M.M., Bæk R., Varming K. Potentials and capabilities of the extracellular vesicle (EV) array. *J Extracell Vesicles*. 2015;4:26048. doi: 10.3402/jev.v4.26048.
31. Dragovic R.A., Collett G.P., Hole P., Ferguson D.J.P., Redman C.W., Sargent I.L., Tannetta D.S. Isolation of syncytiotrophoblast microvesicles and exosomes and their characterisation by multicolour flow cytometry and fluorescence Nanoparticle Tracking Analysis. *Methods*. 2015;87:64–74. doi: 10.1016/j.jymeth.2015.03.028.
32. Pillay P, Maharaj N, Moodley J, Mackraj I. Placental exosomes and pre-eclampsia: Maternal circulating levels in normal pregnancies and, early and late onset pre-eclamptic pregnancies. *Placenta*. 2016;46:18–25. doi: 10.1016/j.placenta.2016.08.078.
33. Sun Y., Huo C., Qiao Z., Shang Z., Uzzaman A., Liu S., Liu S., Jiang X., Fan L.Y., Ji L., Guan X., Cao C.X., Xiao H. Comparative Proteomic Analysis of Exosomes and Microvesicles in Human Saliva for Lung Cancer. *J Proteome Res*. 2018;17(3):1101–7. doi: 10.1021/acs.jproteome.7b00770.
34. Shao H., Chung J., Balaj L, Charest A., Bigner D.D., Carter B.S., Hochberg F.H., Breakefield X.O., Weissleder R., Lee H. Protein typing of circulating microvesicles allows real-time monitoring of glioblastoma therapy. *Nat Med*. 2012;18(12):1835–40. doi: 10.1038/nm.2994.
35. Im H., Shao H., Park Y. II., Peterson V.M., Castro C.M., Weissleder R., Lee H. Label-free detection and molecular profiling of exosomes with a nano-plasmonic sensor. *Nat Biotechnol*. 2014;32(5):490–5. doi: 10.1038/nbt.2886.
36. Yoshioka Y., Kosaka N., Konishi Y., Ohta H., Okamoto H., Sonoda H., Kosaka N., Konishi Y., et al. Ultra-sensitive liquid biopsy of circulating extracellular vesicles using ExoScreen. *Nat Commun*. 2014;5(1):3591. doi: 10.1038/ncomms4591
37. Möller A., Lobb R.J. The evolving translational potential of small extracellular vesicles in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2020;20(12):697–709. doi: 10.1038/s41568-020-00299-w.
38. Chen G., Huang A.C., Zhang W., Zhang G., Wu M., Xu W., Yu Z., Yang J., et al. Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response. *Nature*. 2018;560(7718):382–6. doi: 10.1038/s41586-018-0392-8
39. Theodoraki M.N., Yerneni S.S., Hoffmann T.K., Gooding W.E., Whiteside T.L. Clinical significance of PD-L1+ exosomes in plasma of head and neck cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2018;24(4):896–905. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-2664.
40. Capello M., Vykoukal J.V., Katayama H., Bantis L.E., Wang H., Kundnani D.L., Aguilar-Bonavides C., Aguilar M., et al. Exosomes harbor B cell targets in pancreatic adenocarcinoma and exert decoy function against complement-mediated cytotoxicity. *Nat Commun*. 2019;10(1):254. doi: 10.1038/s41467-018-08109-6.
41. Aung T., Chapuy B., Vogel D., Wenzel D., Oppermann M.,

- Lahmann M., Weinlage T., Menck K., Hupfeld T., Koch R., Trümper L., Wulf G.G. Exosomal evasion of humoral immunotherapy in aggressive B-cell lymphoma modulated by ATP-binding cassette transporter A3. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(37):15336–41. doi: 10.1073/pnas.1102855108.
42. Peinado H., Alečković M., Lavotshkin S., Matei I., Costa-Silva B., Moreno-Bueno G., Hergueta-Redondo M., et al. Melanoma exosomes educate bone marrow progenitor cells toward a pro-metastatic phenotype through MET. *Nat Med*. 2012;18(6):883–891. doi: 10.1038/nm.2753.
43. Costa-Silva B., Aiello N.M., Ocean A.J., Singh S., Zhang H., Thakur B.K., Becker A., Hoshino A., et al. Pancreatic cancer exosomes initiate pre-metastatic niche formation in the liver. *Nat Cell Biol*. 2015;17(6):816–26. doi: 10.1038/ncb3169.
44. Melo S.A., Luecke L.B., Kahlert C., Fernandez A.F., Gammon S.T., Kaye J., LeBleu V.S., Mittendorf E.A., Weitz J., Rahbari N., Reissfelder C., Pilarsky C., Fraga M.F., Piwnicka-Worms D., Kalluri R. Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer. *Nature*. 2015;523(7559):177–82. doi: 10.1038/nature14581.
45. Bradshaw A.D. Diverse biological functions of the SPARC family of proteins. *Int J Biochem Cell Biol*. 2012;44(3):480–8. doi: 10.1016/j.biocel.2011.12.021.
46. Li J., Chen Y., Guo X., Zhou L., Jia Z., Peng Z., Tang Y., Liu W., Zhu B., Wang L., Ren C. GPC1 exosome and its regulatory miRNAs are specific markers for the detection and target therapy of colorectal cancer. *J Cell Mol Med*. 2017;21(5):838–47. doi: 10.1111/jcmm.12941.
47. Tertel T., Tomić S., Đokić J., Radojević D., Stevanović D., Ilić N., Giebel B., Kosanović M. Serum-derived extracellular vesicles: Novel biomarkers reflecting the disease severity of COVID-19 patients. *J Extracell Vesicles*. 2022;11(8):e12257. doi: 10.1002/jev2.12257.
48. Cappellano G., Raineri D., Rolla R., Giordano M., Puricelli C., Vilardo B., Manfredi M., Cantaluppi V., Sainaghi P.P., Castello L., De Vita N., Scotti L., Vaschetto R., Dianzani U., Chiocchetti A. Circulating Platelet-Derived Extracellular Vesicles Are a Hallmark of Sars-Cov-2 Infection. *Cells*. 2021;10(1): 85. doi: 10.3390/cells10010085.
49. Kudryavtsev I., Kalinina O., Bezrukikh V., Melnik O., Golovkin A. The significance of phenotyping and quantification of plasma extracellular vesicles levels using high-sensitivity flow cytometry during covid-19 treatment. *Viruses*. 2021;13(5):767. doi: 10.3390/v13050767.
50. Rosell A., Havervall S., Von Meijenföld F., Hisada Y., Aguilera K., Grover S.P., Lisman T., Mackman N., Thålin C. Patients with COVID-19 Have Elevated Levels of Circulating Extracellular Vesicle Tissue Factor Activity That Is Associated with Severity and Mortality - Brief Report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2021; 41(2):878–882. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.315547.
51. Raineri D., Venegoni C., Calella M.G., Vaschetto R., Scotti L., Canciani E., Manfredi M., Gavelli F., Castello L., Chiocchetti A., Cappellano G. Worse Disease Prognosis Is Associated to an Increase of Platelet-Derived Extracellular Vesicles in Hospitalized SARS-CoV-2 Patients. *Dis Markers*. 2022;2022:8074655. doi: 10.1155/2022/8074655.
52. Puhm F., Flamand L., Boilard E. Platelet extracellular vesicles in COVID-19: Potential markers and makers. *J Leukoc Biol*. 2022;111(1):63–74. doi: 10.1002/JLB.3MIR0221-100R.
53. Ogata-Kawata H., Izumiya M., Kurioka D., Honma Y., Yamada Y., Furuta K., Gunji T., Ohta H., Okamoto H., Sonoda H., Watanabe M., Nakagama H., Yokota J., Kohno T., Tsuchiya N. Circulating exosomal microRNAs as biomarkers of colon cancer. *PLoS One*. 2014;9(4):e92921. doi: 10.1371/journal.pone.0092921.
54. Matsumura T., Sugimachi K., Inuma H., Takahashi Y., Kurashige J., Sawada G., Ueda M., Uchi R., Ueo H., Takano Y., Shinden Y., Eguchi H., Yamamoto H., Doki Y., Mori M., Ochiya T., Mimori K. Exosomal microRNA in serum is a novel biomarker of recurrence in human colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2015 Jul 9;113(2):275–81. doi: 10.1038/bjc.2015.201.
55. Huang X., Yuan T., Liang M., Du M., Xia S., Dittmar R., Wang D., See W., Costello B.A., Quevedo F., Tan W., Nandy D., Bevan G.H., Longenbach S., Sun Z., Lu Y., Wang T., Thibodeau S.N., Boardman L., Kohli M., Wang L. Exosomal miR-1290 and miR-375 as prognostic markers in castration-resistant prostate cancer. *Eur Urol*. 2015;67(1):33–41. A doi: 10.1016/j.eururo.2014.07.035.
56. Hannafon B.N., Trigo Y.D., Calloway C.L., Zhao Y.D., Lum D.H., Welm A.L., Zhao Z.J., Blick K.E., Dooley W.C., Ding W.Q. Plasma exosome microRNAs are indicative of breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2016;18(1):90. doi: 10.1186/s13058-016-0753-x.
57. Skog J., Würdinger T., van Rijn S., Meijer D.H., Gainche L., Curry W.T.Jr., Carter B.S., Krichevsky A.M., Breakefield X.O. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol*. 2008;10(12):1470–6. doi: 10.1038/ncb1800.
58. Silva J., García V., Zaballos Á., Provencio M., Lombardía L., Almonacid L., García J.M., Domínguez G., Peña C., Diaz R., Herrera M., Varela A., Bonilla F. Vesicle-related microRNAs in plasma of nonsmall cell lung cancer patients and correlation with survival. *Eur Respir J*. 2011;37(3):617–23. doi: 10.1183/09031936.00029610.
59. Taylor D.D., Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2008;110(1):13–21. doi: 10.1016/j.ygyno.2008.04.033.
60. Dokhanchi M., Pakravan K., Zareian S., Hussien B.M., Farid M., Razmara E., Mossahebi-Mohammadi M., Cho W.C., Babashah S. Colorectal cancer cell-derived extracellular vesicles transfer miR-221-3p to promote endothelial cell angiogenesis via targeting suppressor of cytokine signaling 3. *Life Sci*. 2021;285:119937. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119937.
61. Yang M., Chen J., Su F., Yu B., Su F., Lin L., Liu Y., Huang J.D., Song E. Microvesicles secreted by macrophages shuttle invasion-potentiating microRNAs into breast cancer cells. *Mol Cancer*. 2011;10:117. doi: 10.1186/1476-4598-10-117.
62. Li X., Zhang Y., Zhang H., Liu X., Gong T., Li M., Sun L., Ji G., Shi Y., Han Z., Han S., Nie Y., Chen X., Zhao Q., Ding J., Wu K., Daiming F. miRNA-223 promotes gastric cancer invasion and metastasis by targeting tumor suppressor EPB41L3. *Mol Cancer Res*. 2011;9(7):824–33. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-10-0529.
63. Tran Y.K., Bögl O., Gorse K.M., Wieland I., Green M.R., Newsham I.F. A novel member of the NF2/ERM/4.1 superfamily with growth suppressing properties in lung cancer. *Cancer Res*. 1999;59(1):35–43.
64. Laios A., O'Toole S., Flavin R., Martin C., Kelly L., Ring M., Finn S.P., Barrett C., Loda M., Gleeson N., D'Arcy T., McGuinness E., Sheils O., Sheppard B., O'Leary J. Potential role of miR-9 and miR-223 in recurrent ovarian cancer. *Mol Cancer*. 2008;7(7):35. doi: 10.1186/1476-4598-7-35.
65. Foj L., Ferrer F., Serra M., Arévalo A., Gavagnach M., Giménez N., Filella X. Exosomal and Non-Exosomal Urinary miRNAs in Prostate Cancer Detection and Prognosis. *Prostate*. 2017;77(6):573–83. doi: 10.1002/pros.23295.
66. Strømme O., Heck K.A., Brede G., Lindholm H.T., Otterlei M., Arum C.J. Differentially expressed extracellular vesicle-contained micromRNAs before and after transurethral resection of bladder tumors. *Curr Issues Mol Biol*. 2021 Jun 4;43(1):286–300. doi: 10.3390/cimb43010024.
67. Li M., Zerlinger E., Barta T., Schageman J., Cheng A., Vlassov A.V. Analysis of the RNA content of the exosomes derived from blood serum and urine and its potential as biomarkers. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2014;369(1652):20130502. doi: 10.1098/rstb.2013.0502.
68. El-Mogy M., Lam B., Haj-Ahmad T.A., McGowan S., Yu D., Nosal L., Rghei N., Roberts P., Haj-Ahmad Y. Diversity and signature of small RNA in different bodily fluids using next generation sequencing. *BMC Genomics*. 2018;19(1):408. doi: 10.1186/s12864-018-4785-8.
69. Leidinger P., Backes C., Meder B., Meese E., Keller A. The human miRNA repertoire of different blood compounds. *BMC Genomics*. 2014;15(1): 474. doi: 10.1186/1471-2164-15-474.
70. Pan Y.Y., Liang H., Liu H., Li D., Chen X.X., Li L., Zhang C.Y., Zen K. Platelet-Secreted MicroRNA-223 Promotes Endothelial Cell Apoptosis Induced by Advanced Glycation End Products via Targeting the Insulin-like Growth Factor 1 Receptor. *J Immunol*. 2014;192(1):437–46. doi: 10.4049/jimmunol.1301790.

71. Emanuelli C., Shearn A.I.U., Laftah A., Fiorentino F., Reeves B.C., Beltrami C., Mumford A., Clayton A., Gurney M., Shantikumar S., Angelini G.D. Coronary artery-bypass-graft surgery increases the plasma concentration of exosomes carrying a cargo of cardiac microRNAs: An example of exosome trafficking out of the human heart with potential for cardiac biomarker discovery. *PLoS One*. 2016;11(4):e0154274. doi: 10.1371/journal.pone.0154274.
72. Eitel I., Adams V., Dieterich P., Fuernau G., De Waha S., Desch S., Schuler G., Thiele H. Relation of circulating MicroRNA-133a concentrations with myocardial damage and prognostic impact of six circulating microRNAs in acute coronary syndrome. *J Mol Cell Cardiol.* 2011 Nov;51(5):872–5. doi: 10.1016/j.yjmcc.2011.07.011.
73. Widera C., Gupta S.K., Lorenzen J.M., Bang C., Bauersachs J., Bethmann K., Kempf T., Wollert K.C., Thum T. Diagnostic and prognostic impact of six circulating microRNAs in acute coronary syndrome. *J Mol Cell Cardiol.* 2011 Nov;51(5):872–5. doi: 10.1016/j.yjmcc.2011.07.011.
74. Chan Y.C., Banerjee J., Choi S.Y., Sen C.K. miR-210: The Master Hypoxamir. *Microcirculation*. 2012 Apr;19(3):215–23. doi: 10.1111/j.1549-8719.2011.00154.x.
75. Femminò S., Penna C., Margarita S., Comità S., Brizzi M.F., Pagliaro P. Extracellular vesicles and cardiovascular system: Biomarkers and Cardioprotective Effectors. *Vascul Pharmacol*. 2020;135:106790. doi: 10.1016/j.vph.2020.106790.
76. Escate R., Padró T., Suades R., Camino S., Muñoz O., Diaz-Diaz J.L., Sionis A., Mata P., Badimon L. High miR-133a levels in the circulation anticipates presentation of clinical events in familial hypercholesterolaemia patients. *Cardiovasc Res*. 2021 Jan 1;117(1):109–22. doi: 10.1093/cvr/cvaa039
77. Qi Z., Zhao Y., Su Y., Cao B., Yang J.J., Xing Q. Serum Extracellular Vesicle-Derived miR-124-3p as a Diagnostic and Predictive Marker for Early-Stage Acute Ischemic Stroke. *Front Mol Biosci*. 2021;8:685088. doi: 10.3389/fmolb.2021.685088.
78. Eyleten C., Jakubik D., Shahzadi A., Gasecka A., van der Pol E., De Rosa S., Siwik D., Gajewska M., Mirowska-Guzel D., Kurkowska-Jastrzebska I., Czlonkowska A., Postula M. Diagnostic Performance of Circulating miRNAs and Extracellular Vesicles in Acute Ischemic Stroke. *Int J Mol Sci*. 2022;23(9):4530. doi: 10.3390/ijms23094530.
79. Yuan Z., Bedi B., Sadikot R.T. Bronchoalveolar lavage exosomes in lipopolysaccharide-induced septic lung injury. *J Vis Exp*. 2018;2018(135):57737. doi: 10.3791/57737.
80. Yang K., Gao B., Wei W., Li Z., Pan L., Zhang J., Zhao Q., Chen W., Xu Z. Changed profile of microRNAs in acute lung injury induced by cardio-pulmonary bypass and its mechanism involved with SIRT1. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(2):1104–15.
81. Pinkerton M., Chinchilli V., Banta E., Craig T., August A., Bascom R., Cantorna M., Harvill E., Ishmael F.T. Differential expression of microRNAs in exhaled breath condensates of patients with asthma, patients with chronic obstructive pulmonary disease, and healthy adults. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132(1):217–219. doi: 10.1016/j.jaci.2013.03.006.
82. Bastarache J.A., Fremont R.D., Kropski J.A., Bossert F.R., Ware L.B. Procoagulant alveolar microparticles in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol*. 2009;297(6):L1035–1041. doi: 10.1152/ajplung.00214.2009.
83. Guervilly C., Lacroix R., Forel J.M., Roch A., Camoin-Jau L., Papazian L., Dignat-George F. High levels of circulating leukocyte microparticles are associated with better outcome in acute respiratory distress syndrome. *Crit Care*. 2011;15(1):R31. doi: 10.1186/cc9978.
84. Shaver C.M., Woods J., Clune J.K., Grove B.S., Wickersham N.E., McNeil J.B., Shemancik G., Ware L.B., Bastarache J.A. Circulating microparticle levels are reduced in patients with ARDS. *Crit Care*. 2017;21(1):120. doi: 10.1186/s13054-017-1700-7.
85. Amabile N., Heiss C., Real W.M., Minasi P., McGlothlin D., Rame E.J., Grossman W., De Marco T., Yeghiazarians Y. Circulating endothelial microparticle levels predict hemodynamic severity of pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;177(11):1268–75. doi: 10.1164/rccm.200710-1458OC.
86. Thomashow M.A., Shimbo D., Parikh M.A., Hoffman E.A., Vogel-Claussen J., Hueper K., Fu J., Liu C.Y., Blumenke D.A., Ventetuolo CE, Doyle MF, Barr RG. Endothelial microparticles in mild chronic obstructive pulmonary disease and emphysema: The multi-ethnic study of atherosclerosis chronic obstructive pulmonary disease study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;188(1):60–8. doi: 10.1164/rccm.201209-1697OC.
87. Qiu G., Fan J., Zheng G., He J., Lin F., Ge M., Huang L., Wang J., Xia J., Huang R., Shu Q., Xu J. Diagnostic Potential of Plasma Extracellular Vesicle miR-483-3p and Let-7d-3p for Sepsis. *Front Mol Biosci*. 2022;9:814240. doi: 10.3389/fmolb.2022.814240.
88. Brook A.C., Jenkins R.H., Clayton A., Kift-Morgan A., Raby A.C., Shephard A.P., Mariotti B., Cuff S.M., Bazzoni F., Bowen T., Fraser D.J., Eberl M. Neutrophil-derived miR-223 as local biomarker of bacterial peritonitis. *Sci Rep*. 2019;9(1):10136. doi: 10.1038/s41598-019-46585-y.
89. Hermann S., Brandes F., Kirchner B., Buschmann D., Borrmann M., Klein M., Kotschote S., Bonin M., Reithmair M., Kaufmann I., Schelling G., Pfaffl M.W. Diagnostic potential of circulating cell-free microRNAs for community-acquired pneumonia and pneumonia-related sepsis. *J Cell Mol Med*. 2020;24(20):12054–64. doi: 10.1111/jcmm.15837.
90. Nik Mohamed Kamal N.N.S., Awang R.A.R., Mohamad S., Shahidan W.N.S. Plasma- and Saliva Exosome Profile Reveals a Distinct MicroRNA Signature in Chronic Periodontitis. *Front Physiol*. 2020;11:587381. doi: 10.3389/fphys.2020.587381.
91. Salomon C., Guanzon D., Scholz-Romero K., Longo S., Correa P., Illanes S.E., Rice G.E. Placental exosomes as early biomarker of preeclampsia: Potential role of exosomal microRNAs across gestation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017;102(9):3182–94. doi: 10.1210/je.2017-00672.

REFERENCES

1. Kalra H., Drummen G.P.C., Mathivanan S. Focus on extracellular vesicles: Introducing the next small big thing. *Int J Mol Sci*. 2016;17(2): 170. doi: 10.3390/ijms17020170
2. Shah R., Patel T., Freedman J.E. Circulating extracellular vesicles in human disease. *N Engl J Med*. 2018;379(10):958–66. doi: 10.1056/NEJMra1704286.
3. Velikonitvsev F.S., Golovkin A.S. Extracellular vesicle therapy: Effectiveness, mechanisms and application potentials. *Russ J Cardiol*. 2020;25(10):221–31. doi: 10.15829/1560-4071-2020-4081 (In Russian)
4. Liu Y., Wang S., Xia H., Tan X., Song S., Zhang S., Meng D., Chen Q., Jin Y. The potential applications of microparticles in the diagnosis, treatment, and prognosis of lung cancer. *J Transl Med*. 2022;20(1):404. doi: 10.1186/s12967-022-03599-x
5. Wang Y., Zhang M. Urinary Exosomes: A Promising Biomarker for Disease Diagnosis. *Lab Med*. 2023. 7;54(2):115–125. doi: 10.1093/labmed/lmac087
6. Witwer K.W., Théry C. Extracellular vesicles or exosomes? On primacy, precision, and popularity influencing a choice of nomenclature. *J Extracell vesicles*. 2019;8(1):1648167. doi: 10.1080/20013078.2019.1648167.
7. Verdi V., Bécot A., van Niel G., Verweij F.J. In vivo imaging of EVs in zebrafish: New perspectives from “the waterside.” *FASEB BioAdvances*. 2021;3(11):918–29. doi: 10.1096/fba.2021-00081.
8. Melentijevic I., Toth M.L., Arnold M.L., Guasp R.J., Harinath G., Nguyen K.C., Taub D., Parker J.A., Neri C., Gabel C.V., Hall D.H., Driscoll M. *C. elegans* neurons jettison protein aggregates and mitochondria under neurotoxic stress. *Nature*. 2017;542(7641):367–71. doi: 10.1038/nature21362.
9. Pedrioli G., Paganetti P. Hijacking Endocytosis and Autophagy in Extracellular Vesicle Communication: Where the Inside Meets the Outside. *Front Cell Dev Biol*. 2021;8(8):595515. doi: 10.3389/fcell.2020.595515.
10. Sugiura A., McLelland G., Fon E.A., McBride H.M. A new pathway for mitochondrial quality control: mitochondrial-derived vesicles. *EMBO J*. 2014;33(19):2142–56.
11. Ma L., Li Y., Peng J., Wu D., Zhao X., Cui Y., Chen L.,

- Yan X., Du Y., Yu L. Discovery of the migrasome, an organelle mediating release of cytoplasmic contents during cell migration. *Cell Res.* 2015;25(1):24–38. doi: 10.1038/cr.2014.135.
12. Kondratov K., Nikitin Y., Fedorov A., Kostareva A., Mikhailovskii V., Isakov D., Ivanov A., Golovkin A. Heterogeneity of the nucleic acid repertoire of plasma extracellular vesicles demonstrated using high-sensitivity fluorescence-activated sorting. *J Extracell Vesicles.* 2020;9(1):1743139. doi: 10.1080/20013078.2020.1743139.
13. Théry C., Witwer K.W., Aikawa E., Alcaraz M.J., Anderson J.D., Andriantsitohaina R., Antoniou A., Arab T., et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles.* 2018;7(1):1535750. doi: 10.1080/20013078.2018.1535750.
14. Johnsen K.B., Gudbergsson J.M., Andresen T.L., Simonsen J.B. What is the blood concentration of extracellular vesicles? Implications for the use of extracellular vesicles as blood-borne biomarkers of cancer. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2019;1871(1):109–116. doi: 10.1016/j.bbcan.2018.11.006
15. Coumans F.A.W., Brisson A.R., Buzas E.I., Dignat-George F., Drees E.E.E., El-Andaloussi S., Emanuelli C., Gasecka A., et al. Methodological guidelines to study extracellular vesicles. *Circ Res.* 2017;120(10):1632–48. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.309417.
16. Gardiner C., Di Vizio D., Sahoo S., Théry C., Witwer K.W., Wauben M., Hill A.F. Techniques used for the isolation and characterization of extracellular vesicles: Results of a worldwide survey. *J Extracell Vesicles.* 2016;5(1):32945. doi: 10.3402/jev.v5.32945.
17. Zhou B., Xu K., Zheng X., Chen T., Wang J., Song Y., Shao Y., Zheng S. Application of exosomes as liquid biopsy in clinical diagnosis. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5(1):144. doi:10.1038/s41392-020-00258-9
18. Golovkin A.S., Kudryavtsev I.V., Fedotov P.A., Kalinina O.V. New aspects of the influence of immunity and microbiome on heart transplant rejection. *Russian Journal of Cardiology.* 2022;27(8):4806. doi:10.15829/1560-4071-2022-4806 (In Russian)
19. Urabe F, Kosaka N, Ito K, Kimura T, Egawa S, Ochiya T. Extracellular vesicles as biomarkers and therapeutic targets for cancer. *Am J Physiol - Cell Physiol.* 2020;318(1):C29–39.
20. Ghafarian F., Pashirzad M., Khazaei M., Rezayi M., Hassanian S.M., Ferns G.A., Avan A. The clinical impact of exosomes in cardiovascular disorders: From basic science to clinical application. *J Cell Physiol.* 2019;234(8):12226–36. doi: 10.1002/jcp.27964
21. Salomon C., Scholz K., Kobayashi M., Duncombe G., Perez-Sepulveda A., Illanes S.E., Longo S., Fortunato S., Mitchell M., Rice G.E. Hypoxia Regulates the Response of Trophoblast-Derived Exosomes To Hyperglycemia and Displays a Difference Placental Exosome Profile in Plasma From Patients With Gestational Diabetes Mellitus. *Reprod Sci.* 2015;22 (Suppl 1): A 257- A 258.
22. Liu Q., Rojas-Canales D.M., Divito S.J., Shufesky W.J., Stolz D.B., Erdos G., Sullivan M.L., Gibson G.A., Watkins S.C., Larregina A.T., Morelli A.E. Donor dendritic cell-derived exosomes promote allograft-targeting immune response. *J Clin Invest.* 2016;126(8):2805–20. doi: 10.1172/JCI84577.
23. Burlingham W.J. “Cross-Dressing” Becomes Fashionable Among Transplant Recipients. *Am J Transplant.* 2017;17(1):5–6. doi: 10.1111/ajt.14032.
24. Morelli A.E., Bracamonte-Baran W., Burlingham W.J. Donor-derived exosomes: The trick behind the semidirect pathway of allorecognition. *Curr Opin Organ Transplant.* 2017;22(1):46–54. doi: 10.1097/MOT.0000000000000372.
25. Gonzalez-Nolasco B., Wang M., Prunevicielle A., Benichou G. Emerging role of exosomes in allorecognition and allograft rejection. *Curr Opin Organ Transplant.* 2018;23(1):22–7. doi: 10.1097/MOT.0000000000000489.
26. Benichou G., Wang M., Ahrens K., Madsen J.C. Extracellular vesicles in allograft rejection and tolerance. *Cell Immunol.* 2020;349(5):104063. doi: 10.1016/j.cellimm.2020.104063.
27. Marino J., Babiker-Mohamed M.H., Crosby-Bertorini P., Paster J.T., LeGuern C., Germana S., Abdi R., Uehara M., Kim J.I., Markmann J.F., Tocco G., Benichou G. Donor exosomes rather than passenger leukocytes initiate alloreactive T cell responses after transplantation. *Sci Immunol.* 2016;1(1):aaf8759. doi: 10.1126/sciimmunol.aaf8759.
28. Vallabhajosyula P., Korutla L., Habberthuer A., Yu M., Rostami S., Yuan C.X., Reddy S., Liu C., Korutla V., Koeberlein B., Trofe-Clark J., Rickels M.R., Naji A. Tissue-specific exosome biomarkers for noninvasively monitoring immunologic rejection of transplanted tissue. *J Clin Invest.* 2017;127(4):1375–91. doi: 10.1172/JCI87993.
29. Logozzi M., De Milito A., Lugini L., Borghi M., Calabrò L., Spada M., Perdicchio M., Marino M.L., Federici C., Iessi E., Brambilla D., Venturi G., Lozupone F., Santinami M., Huber V., Maio M., Rivoltini L., Fais S. High levels of exosomes expressing CD63 and caveolin-1 in plasma of melanoma patients. *PLoS One.* 2009;4(4):e5219. doi: 10.1371/journal.pone.0005219.
30. Jørgensen M.M., Bæk R., Varming K. Potentials and capabilities of the extracellular vesicle (EV) array. *J Extracell Vesicles.* 2015;4:26048. doi: 10.3402/jev.v4.26048.
31. Dragovic R.A., Collett G.P., Hole P., Ferguson D.J.P., Redman C.W., Sargent I.L., Tannetta D.S. Isolation of syncytiotrophoblast microvesicles and exosomes and their characterisation by multicolour flow cytometry and fluorescence Nanoparticle Tracking Analysis. *Methods.* 2015;87:64–74. doi: 10.1016/j.ymeth.2015.03.028.
32. Pillay P, Maharaj N, Moodley J, Mackraj I. Placental exosomes and pre-eclampsia: Maternal circulating levels in normal pregnancies and, early and late onset pre-eclamptic pregnancies. *Placenta.* 2016;46:18–25. doi: 10.1016/j.placenta.2016.08.078.
33. Sun Y., Huo C., Qiao Z., Shang Z., Uzzaman A., Liu S., Liu S., Jiang X., Fan L.Y., Ji L., Guan X., Cao C.X., Xiao H. Comparative Proteomic Analysis of Exosomes and Microvesicles in Human Saliva for Lung Cancer. *J Proteome Res.* 2018;17(3):1101–7. doi: 10.1021/acs.jproteome.7b00770.
34. Shao H., Chung J., Balaj L., Charest A., Bigner D.D., Carter B.S., Hochberg F.H., Breakefield X.O., Weissleder R., Lee H. Protein typing of circulating microvesicles allows real-time monitoring of glioblastoma therapy. *Nat Med.* 2012;18(12):1835–40. doi: 10.1038/nm.2994.
35. Im H., Shao H., Park Y. II., Peterson V.M., Castro C.M., Weissleder R., Lee H. Label-free detection and molecular profiling of exosomes with a nano-plasmonic sensor. *Nat Biotechnol.* 2014;32(5):490–5. doi: 10.1038/nbt.2886.
36. Yoshioka Y., Kosaka N., Konishi Y., Ohta H., Okamoto H., Sonoda H., Kosaka N., Konishi Y., et al. Ultra-sensitive liquid biopsy of circulating extracellular vesicles using ExoScreen. *Nat Commun.* 2014;5(1):3591. doi:10.1038/ncomms4591
37. Möller A., Lobb R.J. The evolving translational potential of small extracellular vesicles in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2020;20(12):697–709. doi: 10.1038/s41568-020-00299-w.
38. Chen G., Huang A.C., Zhang W., Zhang G., Wu M., Xu W., Yu Z., Yang J., et al. Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response. *Nature.* 2018;560(7718):382–6. doi: 10.1038/s41586-018-0392-8
39. Theodoraki M.N., Yerneni S.S., Hoffmann T.K., Gooding W.E., Whiteside T.L. Clinical significance of PD-L1+ exosomes in plasma of head and neck cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2018;24(4):896–905. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-2664.
40. Capello M., Vykoukal J.V., Katayama H., Bantis L.E., Wang H., Kundnani D.L., Aguilar-Bonavides C., Aguilar M., et al. Exosomes harbor B cell targets in pancreatic adenocarcinoma and exert decoy function against complement-mediated cytotoxicity. *Nat Commun.* 2019;10(1):254. doi: 10.1038/s41467-018-08109-6.
41. Aung T., Chapuy B., Vogel D., Wenzel D., Oppermann M., Lahmann M., Weinhage T., Menck K., Hupfeld T., Koch R., Trümper L., Wulf G.G. Exosomal evasion of humoral immunotherapy in aggressive B-cell lymphoma modulated by ATP-binding cassette transporter A3. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(37):15336–41. doi: 10.1073/pnas.1102855108.
42. Peinado H., Alečković M., Lavotshkin S., Matei I., Costa-Silva B., Moreno-Bueno G., Hergueta-Redondo M., et al. Melanoma exosomes educate bone marrow progenitor cells toward a pro-metastatic phenotype through MET. *Nat Med.* 2012;18(6):883–891. doi: 10.1038/nm.2753.
43. Costa-Silva B., Aiello N.M., Ocean A.J., Singh S., Zhang H., Thakur B.K., Becker A., Hoshino A., et al. Pancreatic cancer

exosomes initiate pre-metastatic niche formation in the liver. *Nat Cell Biol.* 2015;17(6):816–26. doi: 10.1038/ncb3169.

44. Melo S.A., Luecke L.B., Kahlert C., Fernandez A.F., Gammon S.T., Kaye J., LeBleu V.S., Mittendorf E.A., Weitz J., Rahbari N., Reissfelder C., Pilarsky C., Fraga M.F., Piwnicka-Worms D., Kalluri R. Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer. *Nature.* 2015;523(7559):177–82. doi: 10.1038/nature14581.

45. Bradshaw A.D. Diverse biological functions of the SPARC family of proteins. *Int J Biochem Cell Biol.* 2012;44(3):480–8. doi: 10.1016/j.biocel.2011.12.021.

46. Li J., Chen Y., Guo X., Zhou L., Jia Z., Peng Z., Tang Y., Liu W., Zhu B., Wang L., Ren C. GPC1 exosome and its regulatory miRNAs are specific markers for the detection and target therapy of colorectal cancer. *J Cell Mol Med.* 2017;21(5):838–47. doi: 10.1111/jcmm.12941.

47. Tertel T., Tomić S., Đokić J., Radojević D., Stevanović D., Ilić N., Giebel B., Kosanović M. Serum-derived extracellular vesicles: Novel biomarkers reflecting the disease severity of COVID-19 patients. *J Extracell Vesicles.* 2022;11(8):e12257. doi: 10.1002/jev2.12257.

48. Cappellano G., Raineri D., Rolla R., Giordano M., Puricelli C., Vilardo B., Manfredi M., Cantaluppi V., Sainaghi P.P., Castello L., De Vita N., Scotti L., Vaschetto R., Dianzani U., Chiocchetti A. Circulating Platelet-Derived Extracellular Vesicles Are a Hallmark of Sars-Cov-2 Infection. *Cells.* 2021;10(1): 85. doi: 10.3390/cells10010085.

49. Kudryavtsev I., Kalinina O., Bezrukikh V., Melnik O., Golovkin A. The significance of phenotyping and quantification of plasma extracellular vesicles levels using high-sensitivity flow cytometry during covid-19 treatment. *Viruses.* 2021;13(5):767. doi: 10.3390/v13050767.

50. Rosell A., Havervall S., Von Meijenfheldt F., Hisada Y., Aguilera K., Grover S.P., Lisman T., Mackman N., Thålin C. Patients with COVID-19 Have Elevated Levels of Circulating Extracellular Vesicle Tissue Factor Activity That Is Associated with Severity and Mortality - Brief Report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2021; 41(2):878–882. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.315547.

51. Raineri D., Venegoni C., Calella M.G., Vaschetto R., Scotti L., Canciani E., Manfredi M., Gavelli F., Castello L., Chiocchetti A., Cappellano G. Worse Disease Prognosis Is Associated to an Increase of Platelet-Derived Extracellular Vesicles in Hospitalized SARS-CoV-2 Patients. *Dis Markers.* 2022;2022:8074655. doi: 10.1155/2022/8074655.

52. Puhm F., Flamand L., Boilard E. Platelet extracellular vesicles in COVID-19: Potential markers and makers. *J Leukoc Biol.* 2022;111(1):63–74. doi: 10.1002/JLB.3MIR0221-100R.

53. Ogata-Kawata H., Izumiya M., Kurioka D., Honma Y., Yamada Y., Furuta K., Gunji T., Ohta H., Okamoto H., Sonoda H., Watanabe M., Nakagama H., Yokota J., Kohno T., Tsuchiya N. Circulating exosomal microRNAs as biomarkers of colon cancer. *PLoS One.* 2014;9(4):e92921. doi: 10.1371/journal.pone.0092921.

54. Matsumura T., Sugimachi K., Inuma H., Takahashi Y., Kurashige J., Sawada G., Ueda M., Uchi R., Ueo H., Takano Y., Shinden Y., Eguchi H., Yamamoto H., Doki Y., Mori M., Ochiya T., Mimori K. Exosomal microRNA in serum is a novel biomarker of recurrence in human colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2015 Jul 9;113(2):275–81. doi: 10.1038/bjc.2015.201.

55. Huang X., Yuan T., Liang M., Du M., Xia S., Dittmar R., Wang D., See W., Costello B.A., Quevedo F., Tan W., Nandy D., Bevan G.H., Longenbach S., Sun Z., Lu Y., Wang T., Thibodeau S.N., Boardman L., Kohli M., Wang L. Exosomal miR-1290 and miR-375 as prognostic markers in castration-resistant prostate cancer. *Eur Urol.* 2015;67(1):33–41. A doi: 10.1016/j.eururo.2014.07.035.

56. Hannafon B.N., Trigos Y.D., Calloway C.L., Zhao Y.D., Lum D.H., Welm A.L., Zhao Z.J., Blick K.E., Dooley W.C., Ding W.Q. Plasma exosome microRNAs are indicative of breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2016;18(1):90. doi: 10.1186/s13058-016-0753-x.

57. Skog J., Würdinger T., van Rijn S., Meijer D.H., Gainche L., Curry W.T.Jr., Carter B.S., Krichevsky A.M., Breakefield X.O. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol.* 2008;10(12):1470–6. doi: 10.1038/ncb1800.

58. Silva J., García V., Zaballos Á., Provencio M., Lombardía L., Almonacid L., García J.M., Domínguez G., Peña C., Diaz R., Herrera M., Varela A., Bonilla F. Vesicle-related microRNAs in plasma of nonsmall cell lung cancer patients and correlation with survival. *Eur Respir J.* 2011;37(3):617–23. doi: 10.1183/09031936.00029610.

59. Taylor D.D., Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2008;110(1):13–21. doi: 10.1016/j.ygyno.2008.04.033.

60. Dokhanchi M., Pakravan K., Zareian S., Hussen B.M., Farid M., Razmara E., Mossahebi-Mohammadi M., Cho W.C., Babashah S. Colorectal cancer cell-derived extracellular vesicles transfer miR-221-3p to promote endothelial cell angiogenesis via targeting suppressor of cytokine signaling 3. *Life Sci.* 2021;285:119937. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119937.

61. Yang M., Chen J., Su F., Yu B., Su F., Lin L., Liu Y., Huang J.D., Song E. Microvesicles secreted by macrophages shuttle invasion-potentiating microRNAs into breast cancer cells. *Mol Cancer.* 2011;10:117. doi: 10.1186/1476-4598-10-117.

62. Li X., Zhang Y., Zhang H., Liu X., Gong T., Li M., Sun L., Ji G., Shi Y., Han Z., Han S., Nie Y., Chen X., Zhao Q., Ding J., Wu K., Daiming F. miRNA-223 promotes gastric cancer invasion and metastasis by targeting tumor suppressor EPB41L3. *Mol Cancer Res.* 2011;9(7):824–33. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-10-0529.

63. Tran Y.K., Böglér O., Gorse K.M., Wieland I., Green M.R., Newsham I.F. A novel member of the NF2/ERM/4.1 superfamily with growth suppressing properties in lung cancer. *Cancer Res.* 1999;59(1):35–43.

64. Laios A., O'Toole S., Flavin R., Martin C., Kelly L., Ring M., Finn S.P., Barrett C., Loda M., Gleeson N., D'Arcy T., McGuinness E., Sheils O., Sheppard B., O'Leary J. Potential role of miR-9 and miR-223 in recurrent ovarian cancer. *Mol Cancer.* 2008;7(7):35. doi: 10.1186/1476-4598-7-35.

65. Foj L., Ferrer F., Serra M., Arévalo A., Gavagnach M., Giménez N., Filella X. Exosomal and Non-Exosomal Urinary miRNAs in Prostate Cancer Detection and Prognosis. *Prostate.* 2017;77(6):573–83. doi: 10.1002/pros.23295.

66. Strømme O., Heck K.A., Brede G., Lindholm H.T., Otterlei M., Arum C.J. Differentially expressed extracellular vesicle-contained microRNAs before and after transurethral resection of bladder tumors. *Curr Issues Mol Biol.* 2021 Jun 4;43(1):286–300. doi: 10.3390/cimb43010024.

67. Li M., Zeringer E., Barta T., Schageman J., Cheng A., Vlassov A.V. Analysis of the RNA content of the exosomes derived from blood serum and urine and its potential as biomarkers. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 2014;369(1652):20130502. doi: 10.1098/rstb.2013.0502.

68. El-Mogy M., Lam B., Haj-Ahmad T.A., McGowan S., Yu D., Nosal L., Rghei N., Roberts P., Haj-Ahmad Y. Diversity and signature of small RNA in different bodily fluids using next generation sequencing. *BMC Genomics.* 2018;19(1):408. doi: 10.1186/s12864-018-4785-8.

69. Leidinger P., Backes C., Meder B., Meese E., Keller A. The human miRNA repertoire of different blood compounds. *BMC Genomics.* 2014;15(1): 474. doi: 10.1186/1471-2164-15-474.

70. Pan Y.Y., Liang H., Liu H., Li D., Chen X.X., Li L., Zhang C.Y., Zen K. Platelet-Secreted MicroRNA-223 Promotes Endothelial Cell Apoptosis Induced by Advanced Glycation End Products via Targeting the Insulin-like Growth Factor 1 Receptor. *J Immunol.* 2014;192(1):437–46. doi: 10.4049/jimmunol.1301790.

71. Emanuelli C., Shearn A.I.U., Laftah A., Fiorentino F., Reeves B.C., Beltrami C., Mumford A., Clayton A., Gurney M., Shantikumar S., Angelini G.D. Coronary artery-bypass-graft surgery increases the plasma concentration of exosomes carrying a cargo of cardiac microRNAs: An example of exosome trafficking out of the human heart with potential for cardiac biomarker discovery. *PLoS One.* 2016;11(4):e0154274. doi: 10.1371/journal.pone.0154274.

72. Eitel I., Adams V., Dieterich P., Fuernau G., De Waha S., Desch S., Schuler G., Thiele H. Relation of circulating MicroRNA-133a concentrations with myocardial damage and clinical prognosis in ST-elevation myocardial infarction. *Am Heart J.* 2012;164(5):706–14. doi: 10.1016/j.ahj.2012.08.004.

73. Widera C., Gupta S.K., Lorenzen J.M., Bang C., Bauersachs J., Bethmann K., Kempf T., Wollert K.C., Thum T. Diagnostic and prognostic impact of six circulating microRNAs in acute coronary syndrome. *J Mol Cell Cardiol.* 2011 Nov;51(5):872–5. doi: 10.1016/j.yjmcc.2011.07.011.
74. Chan Y.C., Banerjee J., Choi S.Y., Sen C.K. miR-210: The Master Hypoxamir. *Microcirculation.* 2012 Apr;19(3):215–23. doi: 10.1111/j.1549-8719.2011.00154.x.
75. Femminò S., Penna C., Margarita S., Comità S., Brizzi M.F., Pagliaro P. Extracellular vesicles and cardiovascular system: Biomarkers and Cardioprotective Effectors. *Vascul Pharmacol.* 2020;135:106790. doi: 10.1016/j.vph.2020.106790.
76. Escate R., Padró T., Suades R., Camino S., Muñiz O., Diaz-Diaz J.L., Sionis A., Mata P., Badimon L. High miR-133a levels in the circulation anticipates presentation of clinical events in familial hypercholesterolaemia patients. *Cardiovasc Res.* 2021 Jan 1;117(1):109–22. doi: 10.1093/cvr/cvaa039
77. Qi Z., Zhao Y., Su Y., Cao B., Yang J.J., Xing Q. Serum Extracellular Vesicle-Derived miR-124-3p as a Diagnostic and Predictive Marker for Early-Stage Acute Ischemic Stroke. *Front Mol Biosci.* 2021;8:685088. doi: 10.3389/fmolb.2021.685088.
78. Eyleten C., Jakubik D., Shahzadi A., Gasecka A., van der Pol E., De Rosa S., Siwik D., Gajewska M., Mirowska-Guzel D., Kurkowska-Jastrzebska I., Czlonkowska A., Postula M. Diagnostic Performance of Circulating miRNAs and Extracellular Vesicles in Acute Ischemic Stroke. *Int J Mol Sci.* 2022;23(9):4530. doi: 10.3390/ijms23094530.
79. Yuan Z., Bedi B., Sadikot R.T. Bronchoalveolar lavage exosomes in lipopolysaccharide-induced septic lung injury. *J Vis Exp.* 2018;2018(135):57737. doi: 10.3791/57737.
80. Yang K., Gao B., Wei W., Li Z., Pan L., Zhang J., Zhao Q., Chen W., Xu Z. Changed profile of microRNAs in acute lung injury induced by cardio-pulmonary bypass and its mechanism involved with SIRT1. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(2):1104–15.
81. Pinkerton M., Chinchilli V., Banta E., Craig T., August A., Bascom R., Cantorna M., Harvill E., Ishmael F.T. Differential expression of microRNAs in exhaled breath condensates of patients with asthma, patients with chronic obstructive pulmonary disease, and healthy adults. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132(1):217–219. doi: 10.1016/j.jaci.2013.03.006.
82. Bastarache J.A., Fremont R.D., Kropski J.A., Bossert F.R., Ware L.B. Procoagulant alveolar microparticles in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol.* 2009;297(6):L1035–1041. doi: 10.1152/ajplung.00214.2009.
83. Guervilly C., Lacroix R., Forel J.M., Roch A., Camoin-Jau L., Papazian L., Dignat-George F. High levels of circulating leukocyte microparticles are associated with better outcome in acute respiratory distress syndrome. *Crit Care.* 2011;15(1):R31. doi: 10.1186/cc9978.
84. Shaver C.M., Woods J., Clune J.K., Grove B.S., Wickersham N.E., McNeil J.B., Shemancik G., Ware L.B., Bastarache J.A. Circulating microparticle levels are reduced in patients with ARDS. *Crit Care.* 2017;21(1):120. doi: 10.1186/s13054-017-1700-7.
85. Amabile N., Heiss C., Real W.M., Minasi P., McGlothlin D., Rame E.J., Grossman W., De Marco T., Yeghiazarians Y. Circulating endothelial microparticle levels predict hemodynamic severity of pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;177(11):1268–75. doi: 10.1164/rccm.200710-1458OC.
86. Thomashow M.A., Shimbo D., Parikh M.A., Hoffman E.A., Vogel-Claussen J., Hueper K., Fu J., Liu C.Y., Blumke D.A., Ventetuolo CE, Doyle MF, Barr RG. Endothelial microparticles in mild chronic obstructive pulmonary disease and emphysema: The multi-ethnic study of atherosclerosis chronic obstructive pulmonary disease study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;188(1):60–8. doi: 10.1164/rccm.201209-1697OC.
87. Qiu G., Fan J., Zheng G., He J., Lin F., Ge M., Huang L., Wang J., Xia J., Huang R., Shu Q., Xu J. Diagnostic Potential of Plasma Extracellular Vesicle miR-483-3p and Let-7d-3p for Sepsis. *Front Mol Biosci.* 2022;9:814240. doi: 10.3389/fmolb.2022.814240.
88. Brook A.C., Jenkins R.H., Clayton A., Kift-Morgan A., Raby A.C., Shephard A.P., Mariotti B., Cuff S.M., Bazzoni F., Bowen T., Fraser D.J., Eberl M. Neutrophil-derived miR-223 as local biomarker of bacterial peritonitis. *Sci Rep.* 2019;9(1):10136. doi: 10.1038/s41598-019-46585-y.
89. Hermann S., Brandes F., Kirchner B., Buschmann D., Borrmann M., Klein M., Kotschote S., Bonin M., Reithmair M., Kaufmann I., Schelling G., Pfaffl M.W. Diagnostic potential of circulating cell-free microRNAs for community-acquired pneumonia and pneumonia-related sepsis. *J Cell Mol Med.* 2020;24(20):12054–64. doi: 10.1111/jcmm.15837.
90. Nik Mohamed Kamal N.N.S., Awang R.A.R., Mohamad S., Shahidan W.N.S. Plasma- and Saliva Exosome Profile Reveals a Distinct MicroRNA Signature in Chronic Periodontitis. *Front Physiol.* 2020;11:587381. doi: 10.3389/fphys.2020.587381.
91. Salomon C., Guanzon D., Scholz-Romero K., Longo S., Correa P., Illanes S.E., Rice G.E. Placental exosomes as early biomarker of preeclampsia: Potential role of exosomal microRNAs across gestation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(9):3182–94. doi: 10.1210/je.2017-00672.

Для цитирования: Кудрявцев И.В., Головкин А.С., Тотолян А.А. Диагностическая значимость определения отдельных субпопуляций внеклеточных везикул в клинической практике. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2024;13(3): 202-216. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-202-216

To cite: Kudryavtsev I.V., Golovkin A.S., Totolyan A.A. Diagnostic potential of determining individual extracellular vesicles subsets in clinical practice. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2024;13(3): 202-216. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-202-216



journal_kpsz



nii-kpsz.com

Подписано в печать 24.09.2024. Дата выхода в свет: 30.09.2024. Формат 62 x 94/8.
Бумага мелованная матовая. Усл. печ. л. 19.5. Тираж 150 экз. Заказ № 245. Цена свободная.

Адрес редакции и издателя: 650002, Кемеровская обл., г. Кемерово, бульвар академика
Л.С. Барбараша, стр. 6,
тел. (3842) 34-53-89, email: avtor@kemcardio.ru (главный редактор О.Л. Барбараш)

Адрес типографии (ИП Завгородний Евгений Анатольевич):
634057, Томская обл., г. Томск, ул. 79 Гвардейской Дивизии, д. 20, кв. 52

