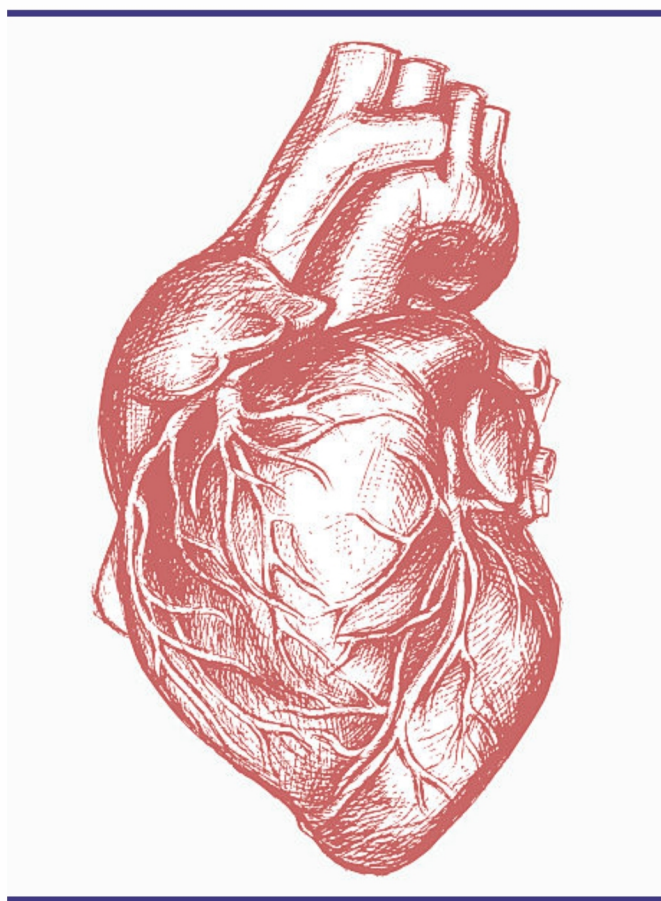




ФОНД
ПРЕЗИДЕНТСКИХ
ГРАНТОВ

Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний



Complex Issues of Cardiovascular Diseases

ПРИЛОЖЕНИЕ

16+

**I ВСЕРОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ
«ФИЗИОЛОГИЯ И ТКАНЕВАЯ ИНЖЕНЕРИЯ СЕРДЦА И СОСУДОВ:
ОТ КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ ДО ПРОТЕЗИРОВАНИЯ»
(Г. КЕМЕРОВО, РОССИЯ, 4-7 НОЯБРЯ 2019 Г.)**

-
- 5 Роль модифицированного шовного материала в профилактике артериальных тромбозов
Акентьева Т.Н., Лузгарев С.В., Шабаев А.Р., Глушкова Т.В., Богданов Л.А., Кудрявцева Ю.А.
-
- 7 Оценка состояния сосудов у студентов зкму имени марата оспанова
Аманжолкызы А., Астраханов А.Р., Изтелеуов А.А.
-
- 8 МикроРНК, ассоциированные с инфарктом миокарда, и анализ регулируемых ими генных сетей
*Баулина Н.М., Осмак Г.Ж., Киселев И.С., Матвеева Н.А., Кукава Н.Г., Шахнович Р.М.,
Кулакова О.Г., Фаворова О.О.*
-
- 9 Результаты ксеноперикардимальной реконструкции сонной артерии у пациентов с
прецеребральным атеросклерозом
Баяндин М.С., Лидер Р.Ю., Казанцев А.Н., Шабаев А.Р., Бурков Н.Н.
-
- 10 Моделирование воздействия ультразвукового хирургического инструмента на
атеросклеротическую бляшку
Беликов Н.В., Саврасов Г.В.
-
- 11 Роль матриксных металлопротеиназ-2 и -9 и фенотипа сосудистых гладкомышечных клеток в
формировании неоинтимы при каротидном атеросклерозе
Богданов Л.А., Южалин А.Е., Кутихин А.Г.
-
- 12 Современные аспекты молекулярно-генетической диагностики дислипидемий
Валиахметов Н.Р., Зайцева А.В., Эрдынеева Д.Б., Слепцов А.А., Назаренко М.С.
-
- 13 Депрессия, как независимый фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний и полиморфизм
генов дофаминергической системы (DRD4, DAT) в открытой популяции у мужчин 25-64 лет в
России/Сибири (эпидемиологическое исследование по программе ВОЗ «MONICA-psychosocial»)
Гафаров В.В., Громова Е.А., Максимов В.Н., Панов Д.О., Гагулин И.В., Гафарова А.В.
-
- 15 Реактивность кожной микроциркуляции крови в оценке состояния сердечно-сосудистой системы
Глазкова П.А., Терпигоров С.А., Куликов Д.А., Щехян Г.Г., Глазков А.А., Куликов А.В., Чараева Т.Г.
-
- 16 Роль ST2 в оценке ремоделирования левого желудочка у пациентов с сердечной
недостаточностью с сохраненной фракцией выброса: эффективность терапии
 β -адреноблокаторами
*Гракова Е.В., Копьева К.В., Тепляков А.Т., Огуркова О.Н., Солдатенко М.В., Астафурова О.Э.,
Гарганеева А.А.*
-
- 17 Характеристика рестеноза и прогрессирование атеросклероза после каротидной
эндартерэктомии в отдаленном периоде наблюдения
Гусельникова Ю.И., Лидер Р.Ю., Казанцев А.Н., Шабаев А.Р., Бурков Н.Н.
-
- 18 Анализ межгенных взаимодействий полиморфных локусов генов врожденного иммунного
ответа у детей с врожденным пороком сердца без хромосомных заболеваний
Деева Н.С., Цепочкина А.В., Шабалдин А.В.
-
- 20 NOTCH-зависимые механизмы активации регенеративного потенциала мезенхимных клеток
сердца
Докшин П.М., Карнов А.А., Малашичева А.Б.
-
- 21 Морфологические изменения ткани тимуса у новорожденных с врожденными пороками сердца
Зубко А.В., Лукич М.В., Лязин Д.В., Хугаев Г.А., Тевосов Д.Р., Серов Р.А., Бокерия О.Л.
-

-
- 22 Оценка биосовместимости биodeградируемых пластин и плёнок для профилактики кардиотомного синдрома с использованием культуры мезенхимных стволовых клеток
Зубко А.В., Лукич М.В., Новикова С.П., Салохединова Р.Р., Низова Н.Н., Орлова А.А., Бокерия О.Л., Бокерия Л.А.
-
- 23 Исследование ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов rs12904699, rs7172856 с внезапной сердечной смертью
Иванова А.А., Максимов В.Н., Малютина С.К., Новоселов В.П., Воевода М.И.
-
- 24 Формирование диастолической дисфункции при доксорубициновой кардиомиопатии
Капелько В.И., Лакомкин В.Л., Абрамов А.А., Грамович В.В., Выборов О.Н., Просвирнин А.В., Лукошкова Е.В., Ермишкин В.В.
-
- 25 Возраст-зависимый подход к исследованию возраст-зависимых полигенных заболеваний: поиск генетических вариантов, связанных с ранним развитием инфаркта миокарда
Киселев И.С., Осмак Г.Ж., Баулина Н.М., Козин М.С., Сидько А.Р., Фаворова О.О.
-
- 26 Численные методы анализа стентов и стентоподобных конструкций
Клышников К.Ю., Онищенко П.С., Резова М.А., Овчаренко Е.А.
-
- 27 Филамин с в патологиях сердца и скелетной мускулатуры: клеточные и молекулярные механизмы
Князева А.А., Худяков А.А., Костарева А.А.
-
- 28 Динамическое мр-томографическое исследование и кинетическая оценка проницаемости гемато-миокардиального барьера для парамагнитных контрастов при ишемическом и воспалительном повреждении миокарда
Коваленко А.Ю., Мочула О.В., Алексеева Я.В., Усов В.Ю.
-
- 30 Взаимосвязь изменений реактивности кожной микроциркуляции и выраженности диабетической полинейропатии
Козлова К.А., Ковалева Ю.А., Глазкова П.А., Куликов Д.А., Глазков А.А.
-
- 31 NOTCH-зависимая регуляция остеогенной дифференцировки аортального клапана человека
Костина А.С., Семенова Д.С., Киселев А.М., Иртюга О.Б., Костарева А.А., Малашичева А.Б.
-
- 32 Феномены трансдифференцировки в нативных и протезных клапанах сердца
Костюнин А.Е., Глушкова Т.В., Великанова Е.А.
-
- 33 Кальций-фосфатные бионы способны вызывать развитие гипертрофии интимы в интактных аортах у нормолипидемических крыс
Кутихин А.Г., Шишкова Д.К., Богданов Л.А., Цепкина А.В., Южалин А.Е.
-
- 35 Новые подходы к терапии хронической сердечной недостаточности: применение митохондриального антиоксиданта пластомитина
Лакомкин В.Л., Абрамов А.А., Просвирнин А.В., Лукошкова Е.В., Капелько В.И.
-
- 36 Ассоциации артериального давления и артериальной гипертензии с генетическими маркерами, отобранными по данным полногеномных исследований
Малютина С.К., Максимов В.Н., Орлов П.С., Маздорова Е.В., Рябиков А.Н., Воевода М.И., Никитин Ю.П.
-
- 37 Проблема клеточной гетерогенности при анализе метилирования ДНК в образцах пораженных атеросклерозом артерий: биоинформатический подход
Марков А.В., Зарубин А.А., Шарыш Д.В., Казанцев А.Н., Бурков Н.Н., Барбараиш О.Л., Пузырев В.П., Назаренко М.С.
-
- 38 Сканирующая электронная микроскопия в обратно-рассеянных электронах: новый способ исследования тонкой структуры атеросклеротических бляшек человека
Мухамадияров Р.А., Богданов Л.А., Кутихин А.Г.
-

-
- 40 Обеспечение эффективности и биологической безопасности имплантируемых медицинских изделий для сердечно-сосудистой хирургии
Новикова С.П., Аракелян В.С., Абдулгасанов Р.А., Алишбая М.М., Салохединова Р.Р., Бокерия Л.А.
-
- 41 Пациент-специфическое моделирование имплантации транскатетерного протеза клапана аорты как инструмент прогнозирования осложнения
Овчаренко Е.А., Клышников К.Ю., Шилов А.А., Ганюков В.И.
-
- 42 Гемодинамика в крупных кровеносных сосудах при различных параметрах тока крови
Онищенко П.С., Захаров Ю.Н., Борисов В.Г., Клышников К.Ю., Овчаренко Е.А.
-
- 44 Протезы кровеносных сосудов и кардиохирургические заплаты «басэкс» - тромборезистентные, антимикробные, с нулевой хирургической пористостью. Клиническое внедрение и перспективы
Орлова А.А., Новикова С.П., Салохединова Р.Р., Абдулгасанов Р.А., Аракелян В.С., Алишбая М.Д., Анисимов А.Н., Бокерия Л.А.
-
- 45 Поиск биомаркеров острого инфаркта миокарда по данным транскрипционного профилирования с использованием алгоритмов машинного обучения
Осьмак Г.Ж., Баулина Н.М., Фаворова О.О.
-
- 46 LMNA мутации оказывают тканеспецифическое влияние на функционирование сигнального пути Notch и остеогенную дифференцировку первичных мезенхимных клеток человека
Перепелина К.И., Клаузен П.Е., Костарева А.А., Малашичева А.Б.
-
- 47 Тканеинженерный сосудистый имплантат в длительном хроническом эксперименте
Попов Г.И., Вавилов В.Н., Юкина Г.Ю., Попрядухин П.В., Юдин В.Е., Добровольская И.П., Ивановка Е.М.
-
- 48 Нарушение баланса натрия как предиктор развития делирия у пациентов после кардиохирургических операций
Распитин Д.А.
-
- 49 Эндотелий-зависимая вазодилатация и атеросклеротические изменения артериальной стенки: особенности связей в пожилом возрасте
Рябиков А.Н., Трошина М.С., Рябиков М.Н., Палехина Ю.Ю., Малютин С.К.
-
- 51 Диагностика гипертрофической кардиомиопатии методом высокопроизводительного секвенирования
Салахов Р.Р., Зарубин А.А., Павлюкова Е.Н., Канев А.Ф., Глотов О.С., Алавердян Д.А., Цай В.В., Назаренко М.С., Голубенко М.В., Пузырев В.П.
-
- 52 Изучение кинетики аутофлуоресценции миокарда на модели изолированного сердца по лангендорфу при ишемии с кардиоплегией
Салмин В.В., Фролова О.В.
-
- 53 Биодegradуемые материалы и изделия на основе природных полимеров для профилактики послеоперационных спаечных осложнений
Салохединова Р.Р., Низова Н.В., Новикова С.П., Бокерия Л.А.
-
- 54 Молекулярные и клеточные технологии для стимуляции внутреннего регенеративного потенциала поврежденных тканей и органов
Севастьянов В.И., Немец Е.А.
-
- 56 Изменения профиля генной экспрессии первичных артериальных эндотелиальных клеток под воздействием кальций-фосфатных бионов
Синицкий М.Ю., Цепочкина А.В., Шишкова Д.К., Кутихин А.Г.
-
- 58 Мутаген-опосредованное изменение секреции и генной экспрессии проатеросклеротических цитокинов в эндотелиоцитах: исследование in vitro
Синицкий М.Ю., Цепочкина А.В., Асанов М.А., Шишкова Д.К., Кутихин А.Г., Понасенко А.В.
-

-
- Структурная вариабельность генома при сердечно-сосудистой патологии
- 60 *Слепцов А.А., Назаренко М.С., Скрябин Н.А., Казанцев А.Н., Бурков Н.Н., Зайцева А.В., Таширева Л.А., Денисов Е.В., Валиахметов Н.Р., Лебедев И.Н., Барбараиш О.Л., Пузырев В.П.*
-
- Связь циркулирующих матриксных металлопротеаз с эхокардиографическими и томографическими параметрами у пациентов с пороками митрального клапана сердца
- 62 *Теплова Ю.Е., Кузьмина О.К., Барбараиш О.Л.*
-
- Разработка методики количественной полуавтоматическая оценка повреждения миокарда по данным МР-томографии с парамагнитным контрастным усилением, на средне- и высокопольных МР-томографах
- 63 *Усов В.Ю., Коваленко А.Ю., Беличенко О.И., Ярошевский С.П., Мочула О.В., Алексеева Я.В., Архангельский В.А.*
-
- Полиморфизм g308a гена tnф как фактор риска развития артериальной гипертензии у лиц с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью
- 65 *Хлынова О.В., Шишкина Е.А., Сахена В., Кривцов А.В., Спасенков Г.Н., Абгарян Н.И.*
-
- Андрогенный статус как составляющая коморбидности у мужчин с ишемической болезнью сердца
- 66 *Хрячкова О.Н., Зыков М.В., Каиталан В.В., Барбараиш О.Л.*
-
- Сравнительная оценка экспрессии генов провоспалительных цитокинов в эндотелиальных и гладкомышечных клетках, экспонированных минерально-органическими наночастицами
- 67 *Цепочкина А.В., Синецкий М.Ю., Шишкова Д.К., Кутихин А.Г., Понасенко А.В.*
-
- Методы дезагрегации артерий, пораженных атеросклерозом
- 69 *Шарыш Д.В., Марков А.В., Кебекбаева А.Е., Дампилова Т.Д., Назаренко М.С.*
-
- Анализ корреляции данных полногеномного секвенирования рнк с протеомными маркерами в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках коронарных артерий
- 70 *Шахтинейдер Е.В., Рагино Ю.И., Иванощук Д.Е., Каитанова Е.В., Фишман В.С., Полонская Я.В., Чернявский А.М., Мурашов И.С., Воевода М.И.*
-
- Таргетное секвенирование генов LDLR, APOB, PCSK9, LDLRAP1 и кластера генов APOA5-A4-C3-A1 у пациентов с семейной гиперхолестеринемией
- 71 *Шахтинейдер Е.В., Иванощук Д.Е., Фишман В.С., Белокопытова П.С., Орлов П.С., Тимощенко О.В.1,2, Воевода М.И.1,2*
-
- Использование эхокардиографии при транскатетерной замене аортального клапана сердца
- 72 *Щеглов Б.О., Щеглова С.Н.*
-
- Применение заплатки из ксеноперикарда в коррекции рестенозов сонных артерий после каротидной эндартерэктомии
- 73 *Яхнис Е.Я., Лидер Р.Ю., Казанцев А.Н., Шабаев А.Р., Бурков Н.Н.*
-
- Перспективы применения витальных эквивалентов створчатого аппарата сердца, изготовленных с помощью scaffold-free технологии для создания биопротезов сердечных клапанов
- 74 *Ponomarev I., Antonova L., Kudryavtseva Y., Matveeva V., Krivkina E., Wölfer K., Ponomarev A., Barnewitz D.*

РОЛЬ МОДИФИЦИРОВАННОГО ШОВНОГО МАТЕРИАЛА В ПРОФИЛАКТИКЕ АРТЕРИАЛЬНЫХ ТРОМБОЗОВ

Акентьева Т.Н.¹, Лузгарев С.В.², Шабаев А.Р.^{1,3}, Глушкова Т.В.¹, Богданов Л.А.¹, Кудрявцева Ю.А.¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»; ²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный университет»; ³Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Кемеровской области «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер им. академика Л.С. Барбараша», г. Кемерово, Россия

Введение. Тромбоз артерий является серьезной проблемой, способной привести к инвалидизации пациента и летальному исходу. На сегодняшний день используемые новые технологии при реконструктивных операциях на сосудах позволяют спасти жизни людей, при этом количество повторных тромбозов после перенесенных операций неукоснительно растет. Одной из причин развития повторных тромбозов может служить используемый шовный материал, который как инородное тело, находящееся в кровотоке длительное время, способен вызывать целый ряд патофизиологических реакций. Уже через несколько минут после наложения анастомоза сорбируется большое количество белков крови с разной последовательностью, таких как альбумины, γ -глобулины, фибриноген. Затем следует активация коагуляционной системы и системы комплемента, что в дальнейшем может привести к тромбообразованию и асептическому воспалению. Ответная реакция тромбоцитов на повреждение сосудистой стенки и шовный материал опасна тем, что именно она служит пусковым механизмом процесса тромбообразования.

Цель. Оценить *in vivo* возможность профилактики тромбообразования в зоне сосудистого анастомоза путем модификации шовного материала гепарином.

Материалы и методы. В настоящей работе использовали нить на основе полипропилена Prolene 8,0 (Ethicon, США). Модифицированный шовный материал был покрыт слоем 3-полигидроксибутират/валерата, синтезированного в ИБФМ РАН (г. Пущино, Московская область) и слоем нефракционированного гепарина («Белмедпрепараты», Беларусь).

Исследования *in vivo* проводили на крысах-самцах субпопуляции «Wistar», массой 400–450 г. Для этого брюшной отдел аорты крысы рассекали и на этом месте накладывали анастомоз модифицированным и немодифицированным шовным материалом. Далее всем животным послойно ушивали брюшную стенку нерассасывающимся полиэфирным шовным материалом (Линтекс, Россия). Срок имплантации шовного материала составил 7 суток. Через неделю животные были подвергнуты эктаназии парами углекислого газа, после чего была проведена повторная лапаротомия с хирургическим иссечением зоны анастомоза с прилегающими тканями для дальнейшего макро- и микроскопиче-

ского исследования. Удаленные комплексы были изучены при помощи сканирующей электронной микроскопии – S3400N (Hitachi, Япония) и методом световой микроскопии с использованием микроскопа Axio Imager.A1, (Zeiss, Германия).

Результаты. В результате проведенного исследования было выявлено, что через семь суток после наложения сосудистого анастомоза немодифицированный шовный материал покрывался толстым и неравномерным слоем белка. Зона анастомоза имела места сужения просвета за счет массивной адгезии фракций белка и форменных элементов крови. При макроскопическом анализе брюшной полости было обнаружено формирование спаек в зоне анастомоза с припаиванием к шовному материалу и окружающим органам. Гистологическое исследование также показало признаки выраженного воспаления и массивной лимфоцитарной инфильтрации с существенной фрагментацией коллагеновых волокон, вплоть до их разрушения. На гистологических препаратах хорошо визуализировались крупные скопления ядер клеток воспаления, а также скопления эритроцитов. Вокруг немодифицированного шовного материала образовалось большое количество грануляционной ткани. При гистологическом изучении спайки, удаленной с зоны анастомоза, выполненной немодифицированным шовным материалом, было обнаружено большое количество воспалительных клеток и капилляров.

Изучение зоны анастомоза, выполненного модифицированным шовным материалом, показало меньшую воспалительную реакцию на нить. При сканирующей электронной микроскопии было выявлено более равномерное расположение белкового слоя, без признаков утолщения. Макроскопический осмотр брюшной полости и зоны анастомоза показал отсутствие спаечного процесса во всей исследуемой группе. В анастомозах, выполненных модифицированным шовным материалом, были выявлены признаки незначительного гранулематозного воспаления. Коллагеновые волокна в области, прилегающей к нити, располагались компактно без признаков фрагментации.

Выводы. Результаты проведенного исследования показали, что хирургический шовный материал способен провоцировать массивную адгезию белка и форменных элементов крови в зоне сосудистого анастомоза, кроме того, вызывать выраженную

воспалительную реакцию и спаечный процесс. Использование модифицированного шовного материала позволяет уменьшить негативную реакцию организма на нить. Модифицированная гепарином нить вызывает меньшую адгезию белка и форменных элементов крови, а также способствует снижению воспалительной реакции в перилигатурной зоне и профилактике спаечного процесса.

Источник финансирования. Работа выполне-

на при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2015-0011 «Патогенетическое обоснование разработки имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов, с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ СОСУДОВ У СТУДЕНТОВ ЗКМУ ИМЕНИ МАРАТА ОСПАНОВА

Аманжолкызы А., Астраханов А.Р., Изтелеуов А.А.

Некоммерческое акционерное общество «Западно-Казахстанский медицинский университет имени Марата Оспанова», г. Актобе, Республика Казахстан

Введение. За последние годы значительно выросла заболеваемость и смертность лиц молодого возраста от болезней сердечно-сосудистой системы. Предполагается, что большинство факторов риска влияют на развитие сердечно-сосудистых осложнений, воздействуя на сосудистую стенку. Среди всех сосудистых регионов организма брахицефальная область занимает особое место, в первую очередь потому, что она непосредственно связана и в определенной мере ответственна за важный орган-мишень – головной мозг. В связи с этим, в настоящее время актуальным является осуществление диагностики поражений сердечно-сосудистой системы на стадии функциональных нарушений.

Цель. Оценка состояния экстракраниальных сосудов у студентов Западно-Казахстанского медицинского университета имени Марата Оспанова.

Материалы и методы. Проведено комплексное клинично-инструментальное обследование 102 студентов 1–5 курсов Западно-Казахстанского медицинского университета имени Марата Оспанова. Показатели состояния экстракраниальных артерий определялись на дуплексном ультразвуковом сканере ESAOTE. Обработка результатов осуществлялась с использованием пакета статистических программ STATISTICA 10. Рассчитывались средняя статистическая, стандартное отклонение, удельный вес отдельных параметров.

Результаты. Средний возраст обучающихся составил $20,6 \pm 2,0$. При оценке артериального давления средняя статистическая систолического артериального давления составила $116,3 \pm 8,4$, а диастолическая $76,4 \pm 6,6$. Следует отметить, что у большинства исследуемых наблюдалась асимметрия кровотока. Причиной возникновения различий в скоростях кровотока по гомологичным артериям может быть разница в величине просвета сосуда. Площадь просвета сосуда не является величиной постоянной, она регулируется за счет напряжения мышц сосудистой стенки, которое определяется как тонус сосуда. Такое устойчивое повышение и снижение тонуса сосудов, как генерализованное, так и ограниченное определенным сосудистым бассейном, может характеризоваться как церебральная ангиодистония. В исследовании у 26% обучающихся диагностировалось данное

изменение. Менее частой причиной асимметрии помимо различия диаметров сосудов может быть также атипичное формирование сосудов. В исследовании у 12% обучающихся была обнаружена гипоплазия позвоночной артерии, а у 10% малый диаметр позвоночной артерии с локальными гемодинамическими изменениями.

К числу важных факторов, вызывающих нарушения тонуса магистральных артерий шеи, могут быть отнесены вертеброгенные влияния т.е. экстравазальная компрессия сосудов, которые обусловлены морфофункциональными нарушениями в шейном отделе позвоночника. У 33% студентов 1–5 курсов была обнаружена экстравазальная компрессия сонных артерий. Как было отмечено ранее, площадь просвета сосудов не является постоянной величиной и напрямую связана с тонусом данных сосудов. Нормальный тонус кровеносных сосудов обеспечивает постоянное движение крови за счет того, что стенки артерий и вен регулярно сокращаются и расслабляются. Постоянное повышение тонуса сосудов головного мозга ведет к сужению просвета сосуда и нарушению трофики головного мозга. Особенно актуально изучение данного состояния ввиду его широкого распространения у студентов (83%).

Выводы. Было выявлено, что большинство изменений сосудов питающих головной мозг имеют функциональный характер. Также, отмечается влияние нарушений других систем организма на состояние сосудистой стенки. Выявленные нарушения могут способствовать развитию сердечно-сосудистых заболеваний и говорят о необходимости и целесообразности проведения научных исследований, ориентированных на популяцию молодого возраста. Работа по исследованию состояния артериальной сосудистой системы у молодых лиц продолжается.

Источник финансирования. Работа была профинансирована в рамках внутривузовского студенческого научного проекта НАО «ЗКМУ им. М. Оспанова» «Оценка состояния артериальной сосудистой системы у студентов ЗКМУ имени Марата Оспанова». Номер государственной регистрации: 0119РКИ0236.

МИКРОРНК, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ИНФАРКТОМ МИОКАРДА, И АНАЛИЗ РЕГУЛИРУЕМЫХ ИМИ ГЕННЫХ СЕТЕЙ

Баулина Н.М., Осьмак Г.Ж., Киселев И.С., Матвеева Н.А., Кукава Н.Г., Шахнович Р.М., Кулакова О.Г., Фаворова О.О.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Введение. Инфаркт миокарда (ИМ) – одна из наиболее тяжелых форм ишемической болезни сердца и главная причина смертности от неинфекционных заболеваний в мире. Многолетние исследования генетической предрасположенности к ИМ не смогли объяснить значительную долю наблюдаемой наследуемости. Согласно современным представлениям, это может быть связано с малыми эффектами генов, непосредственно не вовлеченных в патогенез заболевания. Такие гены могут быть интегрированы в сети, регулируемые микроРНК – малыми некодирующими РНК, подавляющими на посттранскрипционном уровне экспрессию генов-мишеней. Формируя координированную регуляторную сеть, которая контролирует множество фундаментальных биологических процессов, микроРНК являются важным звеном при реализации наследственной информации, записанной в геноме.

Цель. Провести полнотранскриптомное профилирование микроРНК при ИМ методом секвенирования нового поколения (NGS), валидировать данные об измененных уровнях выявленных микроРНК и исследовать их функциональную роль.

Материалы и методы. Анализ уровней микроРНК в плазме периферической крови проводили для 16 больных ИМ (49.5±8.0 лет) спустя сутки после начала заболевания и для 16 индивидов без сердечно-сосудистых заболеваний (39.4±9.1 лет), все мужчины. Выявленные при NGS различия в уровнях ряда микроРНК валидировали с помощью RT-qPCR. Для построения ROC-кривых использовали пакет pROC, для анализа различий в уровнях экспрессии микроРНК – пакет «edgeR» среды программирования R. Сеть ген-генных взаимодействий построена и проанализирована с использованием NetworkX version 2.1.

Результаты. Среди 20 микроРНК, уровень которых в плазме более чем в два раза отличался у больных по сравнению с контролями (Fold change, FC $-2 \leq FC \leq 2$) при $p < 0.05$, различия для miR-208b

и miR-375 выдерживали поправку FDR, причем уровень miR-208b повышался (FC = 49.2, padj = 0.0078), а miR-375 понижался (FC = -6.4, padj = 0.00076). На репрезентативной независимой выборке методом RT-qPCR подтверждено повышение уровня miR-208b (FC = 5.3, p = 0.028) и понижение уровня miR-375 (FC = -2.1, p = 0.0039) в плазме больных ИМ. ROC-анализ показал сопоставимую прогностическую эффективность miR208b (AUC = 0.80) и miR-375 (AUC = 0.87).

Анализ сетей ген-генных взаимодействий мишенью miR-208b и miR-375 показал, что регулируемая miR-208b сеть несвязная и не содержит мишени, ассоциированные с ССЗ, в то время как в составе сети, регулируемой miR-375, перепредставлены мишени, ассоциированные с ССЗ, которые представляют собой узлы высокой центральности и формируют патологический модуль. Анализ представленности генов-мишеней miR-375 и сети их взаимодействий выявил ключевых участников этой сети – гены PIK3CA и TP53. Таким образом, хотя обе микроРНК являются маркерами ИМ, в патогенезе ИМ прослеживается только роль miR-375, тогда как уровень miR-208b отражает повреждение миокарда.

Выводы. Профилирование микроРНК в плазме больных ИМ в сравнении с контролями с последующей валидацией результатов выявило значимые изменения уровней miR-208b и miR-375 при ИМ; эти микроРНК могут служить диагностическими и/или прогностическими биомаркерами ИМ. Применение метода предсказания *in silico* функциональной роли miR-375 исходя из топологических характеристик сети взаимодействий ее генов-мишеней позволило идентифицировать гены PIK3CA и TP53 как ключевые элементы сети, на которую направлены регуляторные эффекты miR-375 при ИМ. На основании этих данных сформулирована гипотеза о вовлечении этой микроРНК в патогенез ИМ через регуляцию апоптоза и PI3K/Akt сигнального пути.

РЕЗУЛЬТАТЫ КСЕНОПЕРИКАРДИАЛЬНОЙ РЕКОНСТРУКЦИИ СОННОЙ АРТЕРИИ У ПАЦИЕНТОВ С ПРЕЦЕРЕБРАЛЬНЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

Баяндин М.С.¹, Лидер Р.Ю.¹, Казанцев А.Н.², Шабаев А.Р.^{2,3}, Бурков Н.Н.³

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России; ²Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Кемеровской области «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер им. академика Л.С. Барбараша»; ³Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

Введение. Атеросклеротическое поражение сонных артерий является серьезным заболеванием, влекущим за собой неблагоприятные события цереброваскулярного характера с неврологическим дефицитом. Классическая каротидная эндартерэктомия (КЭЭ) – золотой стандарт коррекции стенозов во внутренних сонных артериях (КЭЭ). В связи с этим, выбор материала для пластики ВСА во время данного вмешательства является крайне важным подходом в профилактике рестеноза и тромбоза просвета артерии.

Цель. Оценить госпитальные результаты классической КЭЭ с пластикой зоны реконструкции заплатой из ксеноперикарда.

Материалы и методы. За период с 2011–2019 г. было выполнено 1634 классических КЭЭ. Показания для реваскуляризации включали в себя степень стеноза от 60% и выше (по NASCET), признаки нестабильности в зоне поражения, пиковую систолическую скорость кровотока (более 200 см/сек) по данным цветного дуплексного сканирования (ЦДС). КЭЭ выполнялась по классической методике с моделированием зоны реконструкции заплатой из ксеноперикарда («КемПериплас», ЗАО «НеоКор», г. Кемерово). Конечные точки исследования включали в себя: смерть, инфаркт миокарда (ИМ), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), транзиторная ишемическая атака (ТИА), геморрагические осложнения по шкале BARC ≥ 3 степени, тромбоз артерии, ранний рестеноз артерии, комбинированная конечная точка (смерть+ИМ+ОНМК/ТИА). Проходимость зоны реконструкции оценивалась по результатам ЦДС.

Результаты. В проведенном исследовании частота развития летального исхода составила 0,38%

(n = 4), а комбинированная конечная точка, под которой понималось совокупное количество таких неблагоприятных кардиоваскулярных событий как смерть, ИМ и ОНМК/ТИА – 2,22% (n = 23), что не превышает существующих нормативных показателей. В одном случае причиной смерти стало развитие ИМ, в трех других – ОНМК геморрагического типа. Наиболее частым неблагоприятным событием в послеоперационном периоде явилось кровотечение по шкале BARC ≥ 3 степени (n = 31; 2,99%), в группе пациентов, подвергшихся гибридной реваскуляризации (чрескожное коронарное вмешательство+КЭЭ) это осложнение наблюдалось в 17 случаях (1,64%) Девяти пациентам из этой группы (0,86%) была проведена ревизия зоны оперативного вмешательства и удаление гематомы. У 15 пациентов (1,44%) отмечалось ОНМК/ТИА, у 9 (0,86%) – ИМ.

Выводы. Ксеноперикардальная пластика зоны реконструкции во время классической КЭЭ показала свою безопасность и эффективность, что проявлялось отсутствием формирования ранних рестенозов/тромбозов артерии. Совокупность кардиоваскулярных событий в периоперационном периоде соответствует нормативным постулатам действующих рекомендаций Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов. Наиболее частым осложнением стало развитие кровотечения, что связано с агрессивной двойной антиагрегантной терапией в сочетании с болюсным введением гепарина во время гибридных вмешательств. Таким образом заплата из ксеноперикарда может быть материалом выбора для пациентов, направляющихся на классическую КЭЭ.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ХИРУРГИЧЕСКОГО ИНСТРУМЕНТА НА АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКУЮ БЛЯШКУ

Беликов Н.В., Саврасов Г.В.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)», г. Москва, Россия

Введение. Применение ультразвуковых технологий может усовершенствовать существующие минимально-инвазивные методы лечения фиброатероматозных атеросклеротических бляшек. Одним из перспективных ультразвуковых методов воздействия является комбинированный метод, осуществляемый путем совмещения ультразвукового и термического воздействия. Преимуществом ультразвуковых колебаний является селективность воздействия, вследствие чего данный метод позволяет удалять фрагменты эластичных тканей, сложно разрушаемых хирургическим ультразвуком. Для определения необходимых параметров комбинированного воздействия требуется проведение математического моделирования, которое эффективно применяется для разработки новых минимально-инвазивных технологий.

Цель. Определить необходимую толщину слоёв фиброатероматозной атеросклеротической бляшки после термического воздействия и амплитуду ультразвуковых колебаний для удаления охрупченной ткани в рамках комбинированного воздействия.

Материалы и методы. Проведённый гистологический анализ фиброатероматозной бляшки после термического воздействия показал, что её структура может быть представлена трёхслойной моделью. Первый, наиболее близкий к просвету сосуда, участок представляет собой полностью охрупченную карбонизированную биоткань, второй – коагулированную ткань, третий – нативную бляшку. Моделирование ультразвукового воздействия на нативную и предварительно охрупченную термическим способом бляшки на первом этапе проводилось аналитически в среде Matlab при амплитуде колебаний 30 мкм и частоте 25 кГц. После этого проводилось конечно – элементное моделирование в среде Ansys. Модель включала цилиндрическое рабочее окончание ультразвукового инструмента со скруглённой гранью, воздействующего на нативную или трёхслойную модель бляшки, толщина слоёв которой варьировалась. С целью ускорения расчёта в силу осесимметричности задачи моде-

лировалась её четверть с условиями симметрии по краям. В качестве критерия разрушения было выбран критерий максимального напряжения по Мизесу. Допущения модели включали малость деформаций, линейную упругость биоткани и отсутствие трения между биотканью и инструментом.

Результаты. При воздействии на нативную фиброатероматозную бляшку напряжения в ней распределялись по всему объёму ткани. В связи с этим при приложении амплитуды воздействия до 30 мкм разрушения в её структуре не наступало. В случае предварительно термически обработанной бляшки при толщине карбонизированного слоя 0,1 мм и варьировании толщины коагулированного слоя в диапазоне от 0,2 до 1,2 мм амплитуда воздействия, необходимая для разрушения карбонизированного слоя, находилась в диапазоне 6–12 мкм. При толщине в 0,15 мм данный диапазон увеличился до 13–29 мкм. Поддержание амплитуды колебаний рабочего окончания гибкой системы диспергирования на таком уровне не всегда возможно в процессе проведения операции. В связи с этим необходимая толщина карбонизированного слоя для эффективного удаления атеросклеротической бляшки составляет 100 мкм.

Выводы. Разрушающее ультразвуковое воздействие на нативную фиброатероматозную бляшку требует амплитуд колебаний, значительно превышающих возможные для минимально инвазивных систем. При воздействии на предварительно термически обработанную бляшку возникающие напряжения превышают пороговые значения в верхнем карбонизированном слое, в связи с чем происходит его разрушение. Для возможности удаления коагулированного и карбонизированного слоёв фиброатероматозной бляшки после термического воздействия с помощью ультразвуковых колебаний амплитудой не менее 12 мкм толщина данных слоёв должна составлять 0,2–1,2 мм и 100 мкм соответственно. Дальнейшее исследование механизма разрушения бляшек будет проведено с использованием модуля Ansys Explicit.

РОЛЬ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ-2 И -9 И ФЕНОТИПА СОСУДИСТЫХ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК В ФОРМИРОВАНИИ НЕОИНТИМЫ ПРИ КАРОТИДНОМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

Богданов Л.А., Южалин А.Е., Кутихин А.Г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

Введение. Ремоделирование экстрацеллюлярно-матрикса (ЭЦМ) в ответ на механические и биологические воздействия способствует поддержанию клеточного гомеостаза в различных органах и тканях посредством адаптации внеклеточного микроокружения. Этот процесс осуществляется путем депонирования и деградации компонентов ЭЦМ, которые воздействуют на клеточное микроокружение, регулируя как механически опосредованную передачу сигнала (механотрансдукцию), так и запуская или ингибируя различные внутриклеточные сигнальные пути специфическими лигандами. Депонирование ЭЦМ является результатом синтеза клетками коллагенов, гликопротеинов, протеогликанов, регуляторов, секретируемых факторов и непосредственно связанных с ЭЦМ молекул, в то время как деградация ЭЦМ осуществляется главным образом матриксными металлопротеиназами (ММП), дезинтегринами-мателлопротеазами (ADAMs и ADAMTS), катепсинами и другими протеолитическими ферментами. Так, ММП, которые секретируются различными типами клеток в ответ на физиологические изменения ЭЦМ, могут присутствовать в незначительном количестве в здоровых тканях, а при развитии воспалительной реакции уровень их экспрессии значительно увеличивается, вызывая ремоделирование ЭЦМ. Из всех ММП в изучении атеросклероза наибольший интерес представляют ММП-2 и ММП-9 (желатиназы А и В), секретируемые сосудистыми гладкомышечными клетками (СГМК) и макрофагами, а их специфическими субстратами являются компоненты базальной мембраны сосудов (коллаген IV типа и ламинин) и основной белок эластических волокон средней оболочки сосудов (медии) эластин. Однако в процессе формирования атеросклеротической бляшки происходит процесс трансдифференцировки СГМК с сократительного на синтетический, макрофагальный или остеогенный фенотип, что существенно затрудняет идентификацию клеточных популяций, ответственных за синтез ММП-2 и ММП-9.

Цель. Изучить локализацию различных фенотипов СГМК в составе атеросклеротических бляшек каротидной артерии, а также связь различных клеточных популяций неоинтимы с экспрессией ММП-2 и ММП-9 в клинически нестабильных (вызвавших острое нарушение мозгового кровообращения, ОНМК) и стабильных бляшках.

Материалы и методы. Проведено иммуногистохимическое исследование 16 атеросклеротических

бляшек (8 клинически нестабильных и 8 стабильных), полученных при каротидной эндартерэктомии по поводу гемодинамически значимого стеноза. Оценка сократительной способности СГМК проводилась при помощи окрашивания на альфа-актин гладких мышц (α -SMA), синтетического, макрофагального и остеогенного фенотипа СГМК – посредством окрашивания на виментин, CD68 и RUNX2 соответственно. Активность ремоделирования определялась посредством окрашивания на ММП-2 и ММП-9.

Результаты. Около трети каротидных бляшек характеризовались высокой экспрессией ММП-9 CD68-положительными клетками, что не коррелировало с их нестабильностью. Локализация, содержание и соотношение СГМК различного фенотипа и макрофагов значительно варьировали в зависимости от бляшки. Общей закономерностью было преимущественное послойное окрашивание на α -SMA в зоне интактных эластических волокон медии и, реже, в фиброзной покрышке или в прилегающих участках. CD68-положительные клетки визуализировались в толще неоинтимы; некоторая их доля была колокализирована с α -SMA, отражая СГМК макрофагального фенотипа. Положительное окрашивание на виментин наблюдалась на границе с эластическими волокнами медии либо с основной клеточной массой неоинтимы и характеризовалось прилегающим бесклеточным экстрацеллюлярным матриксом, свидетельствуя об его активном синтезе соответствующими клетками. Также в неоинтима отмечались как клетки, положительные на RUNX2 и α -SMA, так и исключительно RUNX2-положительные клетки.

Выводы. Каротидные атеросклеротические бляшки характеризуются различной локализацией, содержанием и соотношением СГМК сократительного, синтетического, макрофагального и остеогенного фенотипов, при этом экспрессия ММП-2 и ММП-9 была ограничена CD68-положительными макрофагами и СГМК макрофагального фенотипа.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2015-0011 «Патогенетическое обоснование разработки имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов, с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ДИСЛИПИДЕМИЙ

Валиахметов Н.Р.¹, Зайцева А.В.², Эрдынеева Д.Б.², Слепцов А.А.¹, Назаренко М.С.^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; ²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия

Внедрение в практику новых технологий мультиплексного генотипирования, в том числе высокопроизводительного секвенирования, с определением состава панелей генетических маркеров, оптимальных для российских популяций, является актуальной научно-практической задачей. Российские рекомендации по диагностике и лечению семейной гиперхолестеринемии подчеркивают важность проведения молекулярно-генетической диагностики для постановки диагноза и, следовательно, повышения эффективности лечения, а также для планирования семьи. Однако среди пациентов с установленным клиническим диагнозом семейной гиперхолестеринемии удается выявить мутации в ключевых для этого заболевания генах (LDLR, APOB, PCSK9) лишь в 50% случаев. Кроме того, семейная гиперхолестеринемия является одной из множества форм моногенных дислипидемий.

Активное развитие молекулярно-генетических технологий привело к идентификации большого количества генов, белковые продукты которых могут участвовать в обмене липидов и обуславливать первичные (моногенные) и вторичные (многофакторные) дислипидемии. Молекулярные причины большинства моногенных дислипидемий известны. Порядка 27 заболеваний, характеризующихся существенными отклонениями показателей липидов или липопротеидов от нормы, которые обусловлены редкими мутациями 25 генов.

Особенность дислипидемией заключается в том, что среди них наблюдается высокая генетическая гетерогенность и клинический полиморфизм. Так, мутации в генах LDLR, APOB, PCSK9 и STAP1, обуславливают увеличение уровня холестерина ЛПНП в сыворотке индивидов с семейной гиперхолестеринемией. Мутации в генах LPL, APOC2, APOA5, LMF1 и GPIIIBP1, являются причиной высокого уровня триглицеридов. С другой стороны, ряд мутаций в генах APOB и PCSK9 проводят к увеличению уровня холестерина ЛПНП в сыворотке индивидов, иные в тех же генах – к уменьшению. Одни мутации в генах LDLR и APOB связаны с аутосомно-доминантной, другие с аутосомно-рецессивной формой дислипидемией. Нередко пациенты обладают мутантными аллелями одновременно в нескольких причинных генах. Пациенты с клиническим диагнозом семейной гиперхолестеринемии нередко могут иметь и мутации в генах ABCG5, APOE и LIPA, связанными с классической ситосте-

ролемией, дисбеталипопротеинемией, дефицитом лизосомной кислой липазы, соответственно.

Для многих моногенных заболеваний, связанных с мутациями в «нелипидных» генах, главным образом, семейных форм сахарного диабета, дислипидемия является вторичной. Большая часть дислипидемий имеет многофакторную природу и обусловлена как полигенным взаимодействием, так и факторами среды. К настоящему времени идентифицировано более 175 локусов, связанных с уровнем липидов в крови.

В лаборатории популяционной генетики в рамках поисковых научных исследований выполняется тема «Молекулярно-генетическая диагностика дислипидемий с использованием метода высокопроизводительного секвенирования». Для разработки медицинской технологии проведен анализ опубликованных научных работ и баз данных, а также существующих на рынке генетических панелей дислипидемий. В результате составлен список из 291 гена, связанных с развитием моногенных и вторичных дислипидемий. Разработан протокол исследования и анкета «Диагностическая шкала дислипидемий» для скрининга пациентов с дислипидемией. На следующих этапах для установления спектра мутаций в генах липидного обмена планируется провести анализ клинического экзоза индивидов с выраженной дислипидемией с помощью высокопроизводительного секвенирования. Молекулярно-генетическое обследование коснется как пациентов, так и членов семьи и ближайших родственников. Предлагаемый подход имеет комплексный характер и позволит провести раннюю и точную молекулярно-генетическую диагностику дислипидемий.

В основе планируемой молекулярно-генетической диагностики дислипидемий лежит поиск патогенных вариантов в генах и их регуляторных участках, ассоциированных с уровнями липидов. Несмотря на это, вопрос о целесообразности применения панелей с определенным «узким» набором генов остается открытым. Склонение же в пользу экзозного или полногеномного секвенирования приведет к увеличению стоимости диагностики, но, вместе с тем, могут быть получены новые данные относительно иных генов, потенциально ассоциированных с уровнем липидов в генах, которые в перспективе могут быть использованы для возможного уточнения диагноза и корректировки тактики лечения.

ДЕПРЕССИЯ, КАК НЕЗАВИСИМЫЙ ФАКТОР РИСКА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ (DRD4, DAT) В ОТКРЫТОЙ ПОПУЛЯЦИИ У МУЖЧИН 25-64 ЛЕТ В РОССИИ/СИБИРИ (ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПО ПРОГРАММЕ ВОЗ «MONICA-PSYCHOSOCIAL»)

Гафаров В.В.^{1,2}, Громова Е.А.^{1,2}, Максимов В.Н.¹, Панов Д.О.^{1,2}, Гагулин И.В.^{1,2}, Гафарова А.В.^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия; ²Межведомственная лаборатория эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний, г. Новосибирск, Россия

Цель. Изучить ассоциацию между генами дофаминергической системы DRD4, DAT и развитием депрессии в открытой популяции мужчин 25–64 лет мегаполиса Западной Сибири.

Материалы и методы. Изучение ассоциации полиморфизмов генов- кандидатов с психосоциальными факторами проводилось на материале крупномасштабного эпидемиологического исследования, выполненного в рамках III скрининга программы ВОЗ «MONICA» (Multinational Monitoring of Trends and Determinants of Cardiovascular Disease) в 1994 г. Были обследованы мужчины в возрасте 25–64 лет, жители одного из районов г. Новосибирска. Репрезентативная выборка была сформирована согласно требованиям протокола программы «MONICA» на основе избирательных списков с использованием таблицы случайных чисел. Обследованы 657 мужчин (средний возраст 44,3±0,4 года). Отклик составил 82,1%. Использовался тест MONICA – MOPSY для оценки уровня депрессии. Вопросники заполнялись испытуемыми самостоятельно. Методики были строго стандартизированы и соответствовали требованиям протокола проекта «МОНИКА». Обработка материала произведена в Хельсинки (Финляндия). Контроль качества проводился в центрах контроля качества MONICA: Данди (Шотландия), Прага (Чехия), Будапешт (Венгрия). Представленные результаты признаны удовлетворительными. Генотипирование изучаемых полиморфизмов генов DRD4, DAT проводилось в лаборатории молекулярно-генетических исследований НИИ терапии СО РАМН (г. Новосибирск). Экстракция ДНК из крови проводилась методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование VNTR полиморфизма гена DRD4 проводили по модифицированной методике Нанко с соавторами. Генотипирование VNTR полиморфизма гена DAT использовали модифицированную методику Митчела с соавторами. Статистический анализ проводился с помощью пакета программ «SPSS-11,5». Достоверность независимости факторов оценивалась по критерию X²

Результаты. Уровень депрессии в мужской популяции 25–64 лет составил 29 % (умеренная

– 25,9%, большая – 3,1%). Частота гомозиготного генотипа 4/4 гена дофаминового рецептора 4-подтипа (DRD4) составила 57,9%, с меньшей частотой встречались генотип 2/2 – 6,1%, генотип 2/4 – 12,5% и генотип 3/4 – 5,6%; еще реже встречались: генотип 4/6 – 4,2%, генотип 2/6, генотипы 4/7 и 6/6 присутствовали в равных пропорциях по 2,1%. Частотное распределение аллелей показало, что преобладает аллель 4 у – 70,7%, аллель 2 встречалась у – 14%, аллель 6 – у 6%. Остальные аллели составляют 0,8 % – 5,4%. У носителей генотипа 4/4 чаще всего отсутствовала депрессия – 60,5%, чем наблюдалась – 51,9%. У мужчин с генотипом 2/4 также чаще депрессия не наблюдалась – 14,5%, чем встречалась – 7,8%. Напротив, у носителей генотипа 4/6 чаще наблюдалась депрессия – у 9,3%, чем отсутствовала – у 2%. Схожая ситуация по группам с депрессией и без, в носительстве длинных и коротких аллелей гена DRD4. У носителей аллеля 2 и 4 чаще отсутствует депрессия – 15% и 72,8%, в то время как встречается у 11,6% и 65,9%, соответственно. У носителей длинных аллелей 6 и 7 депрессия встречается в 11,2% и 3,1%, а отсутствует у 3,7% и 1,7%, соответственно. Среди мужчин, носителей генотипа 4/6, в сравнении с носителями всех других генотипов встречаемость депрессии была в 4,9 раза выше 95% ДИ (1,818–13,519), чем отсутствие (X² = 11,72 5 df = 1 p = 0,001). В группе мужчин, носителей генотипа 4/6, чаще встречалась депрессия, чем у носителей генотипа 2/2 (X² = 6,84 8 df = 1 p = 0,009), генотипа 2/4 (X² = 14,35 6 df = 1 p = 0,0001), генотипа 3/4 (X² = 4,582 df = 1 p = 0,032) и генотипа 4/4 (X² = 12,43 6 df = 1 p = 0,00001). У гомозиготных носителей генотипа 6/6 также чаще наблюдалась депрессия, чем у мужчин, носителей генотипа 2/4 (X² = 5,64 5 df = 1 p = 0,017). У носителей аллеля 6, депрессия встречалась в 3,2 раза чаще – 95 % ДИ (1,846–5,831), чем у носителей всех других аллелей (x² = 18,036 df = 1 p = 0,0001), носителей аллеля 2 (x² = 15,784 df = 1 p = 0,0001), носителей аллеля 3 (x² = 6,845 df = 1 p = 0,009) и аллеля 4 (x² = 18,103 df = 1 p = 0,0001). При частотном распределении генотипов полиморфизма РЧТП

гена DAT в популяции мужчин 25–64 лет обнаружено, что чаще встречается гомозиготный генотип 10/10 – 54,8%, реже гетерозиготный генотип 9/10 – 36,6%. Генотип 9/9 наблюдался у 3,7%. Встречаемость остальных генотипов была от 1,7% и ниже. Схожая ситуация в популяции и в носительстве аллелей 9 – 22% и 10 – 74,2%, которые встречались чаще, чем носители всех других аллелей. Среди мужчин, носителей генотипов 10/10 и 9/10, наблюдалось примерно одинаковое количество лиц с депрессией – 57,7%, 37,9%, и без – 56 %, 36,1%, соответственно. У мужчин, носителей генотипа 9/9, наблюдалась тенденция преобладания лиц с депрессией – 7,8%, чем без 2,1% ($X^2 = 13,549$ $df = 8$ $p = 0,094$). Остальные генотипы у мужчин с депрессией и без встречаются гораздо реже. Соотношение частоты аллелей 9 и 10 у мужчин с депрессией и без аналогично распределению данных генотипов. Соответственно у носителей аллеля 9 депрессия встречалась у 26,7%, отсутствовала у 20,1% а у носителей аллеля 10 депрессия встречалась у 70,7%, отсутствовала у 75,6%. Среди носителей гомозиготного генотипа 9/9 депрессия встречается в 3,9 раза чаще – 95% ДИ (1,389–11,493), чем отсутствует, в сравнении с представителями всех других генотипов ($x^2 = 7,583$ $df = 1$ $p = 0,0006$) и в 4,075

раз чаще – 95% ДИ (1,391–11,934) в сравнении с носителями генотипа 10/10 ($x^2 = 7,477$ $df = 1$, $p = 0,006$). Были выявлены значимые ассоциации как отдельных аллелей с депрессией, так и носительство аллеля 9 повышало частоту развития депрессии в 1,4 раза 95% ДИ (1,024–2,079) ($x^2 = 4,390$ $df = 1$, $p = 0,036$) по сравнению со всеми носителями других аллелей.

Выводы. Мужчины в открытой популяции г. Новосибирска характеризуются высоким уровнем депрессии (29%). В открытой популяции среди мужчин наиболее часто встречаются полиморфизм гена DRD4: генотип 4/4 (57,9%), на втором месте носители генотипа, содержащего короткий аллель 2 (14%), носители длинных аллелей от 6 и выше (6%). В изучаемой популяции преобладал гомозиготный генотип 10/10 гена DAT (54,8%), генотип 9/10 (36,6%), генотип 9/9 (3,7%). В открытой популяции среди мужчин 25–64 лет с депрессией достоверно определена связь: с генотипом 4/6 гена дофаминового рецептора 4-го подтипа (DRD4) и, соответственно, «длинным» аллелем 6 гена дофаминового рецептора 4-го подтипа (DRD4); с генотипом 9/9 РЧТП гена дофамин-транспортного белка DAT и аллелем 9 гена дофамин-транспортного белка DAT.

РЕАКТИВНОСТЬ КОЖНОЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КРОВИ В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

Глазкова П.А.¹, Терпигорев С.А.¹, Куликов Д.А.¹, Щехян Г.Г.¹, Глазков А.А.¹, Куликов А.В.², Чараева Т.Г.¹

*Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, г. Москва, 129110, Россия
Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, г. Пущино, Московская область, Россия*

Введение. Ряд исследовательских работ демонстрирует, что артериальная гипертензия, сахарный диабет, стенокардия напряжения ассоциированы с нарушениями микроциркуляции, в том числе кожной, более того, нарушения микроциркуляции часто рассматриваются, как патогенетический фактор развития этих заболеваний. Также известно, что артериальная гипертензия, стенокардия напряжения и сахарный диабет значительно повышают риск развития таких сердечно-сосудистых событий, как инфаркт миокарда, инсульт и коронарная реваскуляризация. Однако неизвестно, имеется ли ещё большее снижение реактивности кожной микроциркуляции у пациентов с сердечно-сосудистыми событиями в анамнезе (инфаркт миокарда, инсульт, коронарная реваскуляризация) по сравнению с реактивностью кожной микроциркуляции у пациентов с артериальной гипертензией, стенокардией напряжения, сахарным диабетом?

Цель. Сравнить реактивность кожной микроциркуляции крови у пациентов с сердечно-сосудистыми событиями в анамнезе и у пациентов с заболеваниями, повышающими риск развития сердечно-сосудистых событий.

Материалы и методы. Работа была проведена на трех группах обследуемых. В первую группу были включены здоровые добровольцы без сердечно-сосудистых заболеваний ($n = 11$), во вторую группу – пациенты с заболеваниями, повышающими риск развития сердечно-сосудистых событий (артериальная гипертензия и/или стенокардия напряжения и/или сахарный диабет) ($n = 44$), в третью группу – пациенты с сердечно-сосудистыми событиями в анамнезе (инфаркт миокарда/инсульт/коронарная реваскуляризация) ($n = 21$). Всем участникам исследования проводили неинвазивную регистрацию кожной микроциркуляции крови на предплечье методом лазерной доплеровской флоуметрии при помощи прибора ЛАКК-02. Измерение микроциркуляции проводили в ходе тепловой пробы: первые 2 минуты регистрируется базовая микроциркуляция при температуре датчика $32,2 \pm 0,2$ С⁰, после чего датчик нагревается до $42 \pm 0,2$ С⁰ (скорость нагрева 2 С⁰ в секунду), период

нагрева составляет 5 минут, общая продолжительность пробы – 7 минут. Для оценки реактивности кожной микроциркуляции на нагрев анализировали следующие параметры: площадь под кривой микроциркуляции за первые 2 минуты нагрева (AUC₁₂₀), максимальная перфузия за 5 минут нагрева, разница максимальной и базовой перфузии. Расчетные параметры микроциркуляции сравнивали в 3 группах при помощи критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферрони.

Результаты. Параметр AUC₁₂₀ значительно отличается во всех трех группах ($p < 0,05$). Наибольшая AUC₁₂₀ регистрировалась в группе 1: 1845 [1227; 2330] ПЕ*с, наименьшая – в группе 3: 777 [659; 1117] ПЕ*с, в группе 2 AUC₁₂₀ составила 1102 [820; 1299] ПЕ*с (группа 1 vs группа 2, $p = 0,012$; группа 1 vs группа 3, $p = 0,003$; группа 2 vs группа 3, $p = 0,046$). Параметры «Максимальная перфузия» и «Разница максимальной и базовой перфузии» также значительно различались в группе здоровых добровольцев по сравнению с пациентами с заболеваниями сердечно-сосудистой системы (группа 1 vs группа 2, группа 1 vs группа 3, $p < 0,05$), однако, эти параметры значительно не различались между пациентами с сердечно-сосудистыми событиями и пациентами с заболеваниями, повышающими риск сердечно-сосудистых событий (группа 2 vs группа 3).

Выводы. У пациентов с такими заболеваниями, как артериальная гипертензия, стенокардия напряжения, сахарный диабет наблюдается снижение реактивности кожной микроциркуляции в ответ на нагрев по сравнению с контрольной группой, при этом реактивность кожной микроциркуляции у таких пациентов лучше, чем у пациентов с уже имеющимися сердечно-сосудистыми событиями в анамнезе. Полученные результаты демонстрируют взаимосвязь «тяжести» сердечно-сосудистой патологии и показателей кожной микроциркуляции, для оценки реактивности кожной микроциркуляции как фактора риска развития сердечно-сосудистых событий требуется проведение дальнейших исследований.

РОЛЬ ST2 В ОЦЕНКЕ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА У ПАЦИЕНТОВ С СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ С СОХРАНЕННОЙ ФРАКЦИЕЙ ВЫБРОСА: ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ В-АДРЕНОБЛОКАТОРАМИ

Гракова Е.В.¹, Копьева К.В.¹, Тепляков А.Т.¹, Огуркова О.Н.¹, Солдатенко М.В.¹, Астафурова О.Э.², Гарганеева А.А.¹

¹Научно-исследовательский институт кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; ²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия

Введение. На сегодняшний день доказано, что эффективная патогенетическая терапия хронической сердечной недостаточности (ХСН) с использованием β-адреноблокаторов, ингибиторов АПФ, адреноблокаторов рецепторов к ангиотензину II и адреноблокаторов минералокортикоидных рецепторов обеспечивают регресс ремоделирования левого желудочка, и, тем самым, улучшает отдаленный прогноз. Вместе с тем, на сегодняшний день существует мало данных, касающихся потенциальной взаимосвязи между эффективностью терапии ХСН, регрессом ремоделирования миокарда, антиаритмической эффективностью и уровнем экспрессии sST2 у пациентов с сохраненной фракцией выброса ЛЖ. Примечательно, что из многочисленных публикаций по терапии ХСН всего в двух работах представлены данные по вариабельности доз β-адреноблокаторов с установленной прямой корреляционной взаимосвязью с уровнем sST2 и с изменением показателей ремоделирования ЛЖ.

Цель. Изучить прогностическую значимость растворимого ST2 (sST2) в оценке ремоделирования миокарда у пациентов с сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса (СНсФВ) на фоне терапии β-адреноблокаторами в течение 12 месяцев проспективного наблюдения.

Материалы и методы. Обследовано 87 пациентов (59 мужчин) ИБС с ХСН I–III ФК (по NYHA) с ФВ 63 [54; 65] %, в среднем возрасте 62 [56; 69] года. Всем пациентам была выполнена реваскуляризация миокарда. Содержание sST2 в плазме крови определяли иммуноферментным методом до проведения коронарной реваскуляризации. Выполнялась эхокардиографическая оценка показателей миокардиального стресса и ремоделирования миокарда.

Результаты. Особенности клинического течения ХСН рассматривалось с учетом базового состояния экспрессии sST2: 1-я группа (n = 35, ST2 >35 нг/мл) и 2-я группа (n = 37, ST2 ≤35 нг/мл) и с учетом достигнутой дозы β-адреноблокатора метопролола сукцината (подгруппа А ≤50 мг/сутки или

В >50 мг/сутки). Также была выделена группа больных, которым не требовалась терапия β-блокаторами (n = 15). Концентрация sST2 в сыворотке крови в 1-й группе составила 46,78 [38,77; 62,52] нг/мл, а во 2-й – 25,60 [22,65; 29,1] нг/мл (p < 0,000001). Чаше всего неблагоприятные ССС в течение года регистрировались в 1А подгруппе – 15 (78,9%) пациентов, при этом в 2В подгруппе не развивались неблагоприятные ССС, в 2А подгруппе неблагоприятное течение ХСН регистрировалось в 2 (10,0%) случаях, а в 1В подгруппе – у 10 (62,5%) больных. Через 12 месяцев проспективного наблюдения в подгруппе 1В уровень sST2 статистически значимо снижался (p = 0,003) на 36,5% (p = 0,003) с 44,05 [38,68; 52,26] нг/мл до 27,96 [20,29; 30,17] нг/мл. В остальных подгруппах пациентов, получавших β-блокаторы, выявлена тенденция к снижению sST2 по сравнению с исходными значениями. Абсолютное преимущество высоких доз β-блокаторов отмечалось у пациентов с ST2 >35 нг/мл не только в снижении уровня экспрессии маркера, но и увеличении ФВ ЛЖ на 15,6% (p = 0,783) с 48,5 [42,0; 63,0] % до 57,5 [50,0; 64,0] % соответственно, уменьшении КДО на 7,1% и КСР на 4,7%. В группе больных, которым не требовалась терапия β-блокаторы, имелась тенденция к увеличению исходных уровней sST2 на 3,9% (p = 0,241) в сравнении с уровнем экспрессии sST2 через 12 месяцев, составив 34,95 [25,84; 61,48] и 38,85 [22,13; 54,05] нг/мл соответственно, при этом неблагоприятные ССС в данной группе зарегистрированы в 8 (53,3%) случаях. В отношении ФВ ЛЖ в данной подгруппе выявлена тенденция (p = 0,678) к ее снижению на 1,6%.

Выводы. Таким образом, препроцедуральный уровень sST2 можно рассматриваться в качестве неинвазивного маркера для оценки ремоделирования миокарда ЛЖ уровень sST2 и прогнозирования неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у больных с сохранённой ФВ ЛЖ на фоне терапии β-адреноблокаторами.

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕСТЕНОЗА И ПРОГРЕССИРОВАНИЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА ПОСЛЕ КАРОТИДНОЙ ЭНДАРТЕРЭКТОМИИ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Гусельникова Ю.И.¹, Лидер Р.Ю.¹, Казанцев А.Н.², Шабаев А.Р.³, Бурков Н.Н.³

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России;

²Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Кемеровской области «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер им. академика Л.С. Барбараша»; ³Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

Введение. Одним из осложнений каротидной эндартерэктомии (КЭЭ) является ранняя или поздняя потеря просвета сосуда в послеоперационном периоде наблюдения. Гемодинамически значимым рестенозом считается сужение внутренней сонной артерии (ВСА) более 50%. В период до 12 месяцев после КЭЭ причиной развития данной патологии является неоинтимальная гиперплазия, через 2 года – прогрессирование атеросклероза. В промежутки между 12 и 24 месяцами этиологию рестеноза можно установить только интраоперационно.

Цель. Оценить частоту развития рестеноза, обусловленного гиперплазией неоинтимы и прогрессированием прецеребрального атеросклероза у пациентов после КЭЭ.

Материалы и методы. За период с 2011–2016 год было выполнено 1035 КЭЭ. Отдаленные периоды наблюдения составили $42,4 \pm 18,6$ месяца $\approx 3,5$ года. Большинству пациентов ($n = 758$; 73,23%) была выполнена КЭЭ с использованием заплаты из ксеноперикарда, 20% ($n = 207$) перенесли эверсионную КЭЭ, у 6,76% ($n = 70$) применялся временный шунт. Послеоперационная оценка проходимости зоны реконструкции после КЭЭ осуществлялась путем проведения цветного дуплексного сканирования (ЦДС) раз в полгода.

Результаты. По результатам контрольных ЦДС рестеноз (со средней степенью стеноза $59,3 \pm 14,8\%$) был выявлен в 3,28 % ($n = 34$) случаев: у 14 (41,2%) пациентов в период до 12 месяцев (обусловлен гиперплазией неоинтимы), у 16 (47%) – в период с

13 по 24 месяцев (причину установить невозможно), у 4 (11,7%) – в период после 24 месяцев (обусловлен прогрессированием атеросклероза). Также была отмечена статистически значимая динамика нарастания степени стеноза ВСА с контралатеральной неоперированной стороны: на момент выписки $35,7 \pm 12,1\% \rightarrow$ на момент контрольной точки $49,4 \pm 15,2\%$ ($p = 0001$). Частота гемодинамически значимого симптомного рестеноза (более 60%) в представленной выборке составила 1,25% ($n = 13$ от количества пациентов с данным осложнением), выявление которого наблюдалось спустя, в среднем, $14 \pm 3,1$ месяца после оперативного вмешательства. В 7 (20,6%) случаях была выполнена повторная КЭЭ с удовлетворительным результатом, в 6 (17,6%) случаях – стентирование ВСА.

Выводы. Выявленная частота и характер рестенозов по данным ЦДС в отдаленном периоде наблюдения коррелирует с данными литературы и показателями отечественных рекомендаций. По результатам нашей работы определено, что наиболее частой причиной рестеноза является неоинтимальная гиперплазия, однако в ряде случаев этиологический фактор выявить не удалось в виду пребывания больного в период между 12 и 24 месяцами после КЭЭ. Данный факт в совокупности с прогрессированием атеросклероза с контралатеральной стороны может вносить вклад в развитие неблагоприятных ишемических кардиоваскулярных событий в отдаленном периоде наблюдения.

АНАЛИЗ МЕЖГЕННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМ ПОРОКОМ СЕРДЦА БЕЗ ХРОМОСОМНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Деева Н.С., Цепочкина А.В., Шабалдин А.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

Введение. Врожденные пороки сердца – аномалии развития сердца и крупных сосудов, являющиеся наиболее распространенными пороками развития из всех аномалий развития плода. Несмотря на значительные достижения в области диагностики врожденных пороков сердца, этиология данной патологии до сих пор остается загадкой. Современные методы исследования патогенетических механизмов развития врожденных пороков сердца сосредоточены на поиске потенциальных биомаркеров. Триггерный рецептор (TREM-1), экспрессируемый на миелоидных клетках, является ключевым рецептором врожденного иммунного ответа, индуцирующим воспаление и участвующим в патогенезе острых и хронических заболеваний. Недавние исследования демонстрируют роль гена *TREM-1* в патогенезе и лечении сердечно-сосудистых заболеваний, в частности атеросклероза, инфекционного эндокардита и некоторых других. В ряде работ были установлены ассоциативные связи полиморфных вариантов гена *TREM-1* с предрасположенностью к развитию неонатальной смертности, болезни Альцгеймера, а также часть исследований направлена на изучение септических заболеваний.

Исходя из этого, была сформулирована **цель** работы, заключающаяся в изучении роли гена *TREM-1* у детей с врожденными пороками сердца.

Материалы и методы. Исследование выполнено на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» и ГБУЗ Кемеровской области «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер имени академика Л.С. Барбараша». Набор группы исследования проводился в период с 2013 по 2018 г. включительно. Включение в группу исследования проводилось после подтверждения диагноза с использованием ЭКГ и ЭхоКГ, на основании данных медицинской документации. В исследование включен 131 ребенок (70 девочек и 61 мальчик) с подтвержденным диагнозом «врожденный порок сердца» от 5 до 8 лет (медиана возраста составила 6 лет). Фенотипы пороков в данной группе распределились следующим образом: дефект межпредсердной перегородки – у 42 детей (27,3%); дефект межжелудочковой перегородки – у 20 детей (13%); открытое овальное окно – у 20 детей (13%); Тетрада Фалло – у 7 детей (4,5%); другие виды ВПС (единичный желудочек

сердца, транспозиция магистральных сосудов и так далее) – у 42 (42,2%) детей. В группу сравнения включено 103 условно здоровых ребенка возрастом от 4 до 8 лет (медиана возраста составила 5 лет). У всех участников исследования на дооперационном этапе проводился забор крови из локтевой вены в пробирку, содержащую этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА, Becton Dickinson Vacutainer, США). Далее кровь аликвотировали по 700 мкл в пробирки 1,5 мл типа «Эпшендорф» (Axygen, США). Все образцы биологического материала маркировали соответствующим образом и хранили при -80°C до даты проведения исследования. Выделение геномной ДНК производили методом фенол-хлороформной экстракции. Всего отобрано восемь полиморфных вариантов, характеристика которых представлена в таблице №1. Генотипирование осуществляли с помощью метода RT-ПЦР с использованием TaqMan зондов (Thermo Fisher Scientific, США) по восьми выбранным локусам (rs1817537, rs3804277, rs6910730, rs7768162, rs2234246, rs4711668, rs9471535, rs2234237) гена *TREM1* на детектирующем амплификаторе ViiA 7 RealTime PCR System (Life Technologies, США). Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи следующих программ: для оценки количественных показателей использовали GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software, США). Межгенные взаимосвязи рассчитывали при помощи программы MDR v.3.0.2. Данная программа обладает возможностью построения таблиц сопряженности, позволяющие оценивать генотипы высокого риска (темно-серые ячейки) и протективные генотипы (светло-серые ячейки) и их комбинации на основе оценки вклада каждого конкретного генотипа (или их комбинации). Кроме этого, метод MDR позволяет оценивать такие параметры моделей, как точность классификации (Acc. – отношение верно определенных групп «случай» и «контроль» к общему числу наблюдений), чувствительность модели (Se. – доля истинно положительных случаев), специфичность модели (Sp. – доля истинно отрицательных случаев), сбалансированная точность (Bal. Acc. = $[\text{Sp} + \text{Se}]/2$), и точность модели (число верно классифицированных положительных и отрицательных случаев). Достоверность полученных данных оценивалась посредством повторного генотипирования 10% образцов из общей выборки. Воспроизводимость результатов составила 100%.

Проведенное исследование одобрено Локальным этическим комитетом НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (№ 16 от 29.09.2016 года). Все родители, чьи дети принимали участие в эксперименте, подписывали информированное согласие на участие в исследовании.

Результаты. В результате проведенного анализа выявлены две модели, обладающие высокой воспроизводимостью, чувствительностью и специфичностью. Первая модель – двухлокусная, *TREM-1 rs3804277 – TREM-1 rs1817537* и трехлокусная модель *TREM-1 rs2234246 – TREM-1 rs1817537 – TREM-1 rs7768162*. Проведенный сравнительный анализ позволил выявить ряд рискованных и протективных сочетаний генотипов, статистически значимо ассоциированных с предрасположенностью к развитию врожденных пороков сердца. Значимыми рискованными генотипами были преимущественно гомозиготные мутантные генотипы *TREM-1 rs1817537* и *TREM-1 rs3804277*. В частности, для сочетания *TREM-1 rs1817537*G/G* и *TREM-1 rs3804277*T/T* получено отношение шансов (ОШ),

равное 2,47. Это указывает на нарушение регуляции воспаления у эмбриона, детерминированное мутантными гомозиготными генотипами сигнальных паттерн-распознающих рецепторов эмбриона. С этих позиций считаем, что врожденные пороки сердца без хромосомных заболеваний являются результатом декомпенсации воспаления в системе мать-эмбрион в том числе детерминированное генами *TREM-1* эмбриона. Эти данные необходимо учитывать при хирургическом лечении врожденного порока сердца в раннем постнатальном периоде.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2015-0011 «Патогенетическое обоснование разработки имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов, с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».

NOTCH-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ АКТИВАЦИИ РЕГЕНЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА МЕЗЕНХИМНЫХ КЛЕТОК СЕРДЦА

Докшин П.М.¹, Карпов А.А.¹, Малашичева А.Б.^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; ²Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия

Введение. Восстановление сократительной функции сердца после инфаркта миокарда является актуальной проблемой современной регенеративной медицины. Открытие и экспериментальное использование мезенхимных клеток сердца (МКС) стало новой вехой в развитии клеточной терапии «нового поколения». Однако молекулярные механизмы, лежащие в основе репаративных процессов, остаются малоизученными. Было показано, что при остром гипоксическом поражении миокарда в периинфарктной области повышается экспрессия гена *notch1* и усиливается пролиферация клеток. Известно, что передача сигналов Notch имеет важное значение в кардиогенезе, клеточной дифференцировке и в поддержании популяции стволовых клеток в постнатальном периоде. Участвует ли Notch-сигналинг в процессах, определяющих степень ремоделирования сердца после инфаркта миокарда, остаётся неясным.

Цель. Целью нашего исследования было проведение анализа роли сигнального пути Notch и связанных с ним генов раннего ремоделирования в активации регенеративного потенциала МКС.

Материалы и методы. Развитие инфаркта миокарда у крыс индуцировали посредством лигирования левой коронарной артерии. МКС были получены из ишемизированной области путём

ферментативной диссоциации ткани; в качестве контроля были использованы МКС из здорового миокарда ложнопериорированных крыс. Гипоксию *in vitro* индуцировали за счёт инкубирования здоровых МКС в условиях низкого содержания кислорода (1%) в воздушной камере на протяжении 48 часов. Искусственную активацию Notch в МКС проводили путём внесения NICD на лентивирусном носителе. Экспрессию таргетных генов оценивали с помощью qPCR.

Результаты. Ишемическое воздействие вызвало активацию генов сигнального пути Notch и *runx2/bmp2* в ткани сердечной мышцы, а также в МКС, полученных из периинфарктной области. Последние имели больший потенциал к миграции, пролиферации и дифференцировке. Индуцированная гипоксия *in vitro* в контрольных МКС также вызвала активацию генов сигнального пути Notch и *runx2/bmp2*. Введение NICD дозозависимо активировало *runx2*.

Выводы. Таким образом, гипоксический стресс индуцирует кратковременную активацию регенеративного потенциала МКС, и в этих процессах задействованы компоненты сигнального пути Notch и гены раннего ремоделирования *bmp2* и *runx2*. Запланированы дальнейшие исследования этого феномена.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНИ ТИМУСА У НОВОРОЖДЕННЫХ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА

Зубко А.В., Луквич М.В., Лязин Д.В., Хугаев Г.А., Тевосов Д.Р., Серов Р.А., Бокерия О.Л.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Введение. Ткани и органы пациентов первого года жизни с врожденными пороками сердца (ВПС) и магистральных сосудов (МС) испытывают различную степень гипоксии в зависимости от тяжести порока и степени выраженности гемодинамических нарушений. Новорожденные подвержены различным заболеваниям в связи с имеющимся у них иммунным дисбалансом, спровоцированным гипоксией иммунокомпетентных органов, в частности – тимуса. В такой ситуации происходит нарушение всех звеньев иммунитета, что может приводить не только к острым, рецидивирующим формам инфекций, но и являться пусковым фактором в развитии тяжелых послеоперационных осложнений.

Цель. Изучить и сравнить гистологическое состояние тимуса у пациентов первого года жизни с ВПС и МС различной степени тяжести.

Материалы и методы. В исследовании использован операционный материал ткани тимуса, полученный в результате кардиохирургического оперативного пособия при выполнении хирургического доступа для проведения хирургического

вмешательства в условиях искусственного кровообращения. Проанализировано 435 биоптатов ткани тимуса пациентов с 22-мя видами ВПС, различной степени тяжести. Образцы ткани фиксировали в 10%-ом нейтральном формалине на фосфатном буфере (рН 7,2), изготавливали парафиновые блоки. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Морфологическая оценка гистологических препаратов проводилась морфометрическим методом при помощи световой микроскопии.

Результаты. По данным морфологической оценки образцов ткани тимуса у детей с различными ВПС и МС выявлены разные стадии акцидентальной инволюции тимуса, степень выраженности которой зависит от сложности и тяжести сердечного порока, а также глубине гипоксии, как стрессорного фактора. Выявленные механические повреждения ткани тимуса в виде очаговых кровоизлияний связаны с хирургическими манипуляциями.

Выводы. Установлена прямая взаимосвязь тяжести гемодинамических нарушений при врожденных пороках сердца и магистральных сосудов с выраженностью инволюционных изменений тимуса.

ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ ПЛАСТИН И ПЛЁНОК ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ КАРДИОТОМНОГО СИНДРОМА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КУЛЬТУРЫ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Зубко А.В., Лукич М.В., Новикова С.П., Салохедина Р.Р., Низова Н.Н., Орлова А.А., Бокерия О.Л., Бокерия Л.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Введение. Последствием открытых кардиохирургических операций, в ряде случаев, является постперикардотомный синдром (ПКТС), развивающийся в рамках неспецифической системной воспалительной реакции организма после кардиохирургического вмешательства, результатом которого является образование спаек. Особую хирургическую проблему этот синдром представляет у пациентов со сложными врожденными пороками сердца, которым предполагается последовательное выполнение двух-трех операций с разницей во времени от шести месяцев и более. Образование спаек значительно осложняет проведение повторных хирургических вмешательств, а также ухудшает течение послеоперационного периода.

Многие научные исследования в мире направлены на поиск средств профилактики ПКТС. Механизм спайкообразования – мультифакторный процесс, зависящий от многих параметров, что по сегодняшний день не позволяет однозначно решить проблему выбора эффективного средства для его профилактики. Применяются различные средства: хирургические, медикаментозные, физиотерапевтические, «барьерные» материалы. На наш взгляд наиболее эффективными в борьбе со спайками, особенно в хирургии ВПС, предпочтительны «барьерные» средства, в качестве которых предложены пленки (резорбируемые и нерезорбируемые), мембраны, сетки, растворы, аэрозоли, гели.

Сотрудниками ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России для профилактики спаечных осложнений создаются биодеградируемые пленочные композиционные материалы в виде пленок и пористых пластин на основе желатина и желатина с биологически активными веществами. Возможная область применения – кардиохирургия, абдоминальная хирургия, хирургия органов малого таза. Исследователями были получены пленки, пластины с регулирующими физико-химическими (толщина, плотность, сроки деградации, размер), физико-механическими (прочность, эластичность, адгезия) характеристиками.

Цель. Оценка влияния биосовместимых полимерных противоспаечных композиционных материалов на культуру мезенхимных стволовых клеток *in vitro*.

Материалы и методы. Полимерные композиции получены на основе водного раствора желатина (гранулированный, марка К-13). Сшивающий агент – глутаровый альдегид (ГА). Пластификатор – глицерин. В качестве биологически активных веществ (БАВ) использовали препараты растительного происхождения

– флавоноиды и алкалоиды с противовоспалительными, бактерицидными, противотромботическими, регенераторными свойствами. Для оценки взаимодействия полимерных материалов с клеточной культурой использовали костномозговые мононуклеары, выделенные стандартным методом на градиенте Фиколла из костного мозга пациента. 1) Клетки культивировали на поверхности материалов в среде RPMI 1640 с добавлением аутологичной сыворотки. Планшеты содержали в условиях CO₂ – инкубатора с 5% содержанием CO₂, период наблюдения составил 24 дня. Жизнеспособность клеток оценивалась с использованием автоматического счетчика клеток, после окраски трипановым синим. 2) Клетки культивировали в 96-луночной планшете с электродами, подключенным к рабочей станции прибора xCELLigence в условиях CO₂ – инкубатора с 5% содержанием CO₂ для оценки изменения клеточного индекса во времени, в течение 7 дней. Статистическая обработка результатов исследований включала в себя расчет средней арифметической величины (M) с определением ее ошибки ($\pm m$), среднеквадратического отклонения (σ). Для сравнения средних значений рассчитывался критерий Стьюдента (t) при заданной достоверности.

Результаты. При оценке взаимодействия с клетками *in vitro* (костномозговые мононуклеары) подтверждена биосовместимость биодеградируемых полимерных материалов – наблюдалась высокая жизнеспособность клеток как на пленках, так и на пластинах после длительной культивации в шестилуночной планшете (24 дня), а также в планшете с электродами (7 дней), более высокий показатель жизнеспособности выявлен в группе с пленками и пластинами в состав которых входят биологически активные вещества (биофлавоноиды и алкалоиды) – 17% для пленок без БАВ и 32% с добавлением БАВ, 12% и 43% для пластин соответственно при культивации в шестилуночной планшете, и 21% для пленок без БАВ и 43% с добавлением БАВ, 15% и 51% для пластин соответственно при наблюдении в планшете с электродами в приборе xCELLigence.

Выводы. Пленки и пластины на основе желатина и желатина с биологически активными веществами не обладают выраженной цитотоксичностью – при оценке взаимодействия с клетками (*in vitro*) наблюдалась высокая жизнеспособность клеток на пленках и пластинах. Более высокий уровень жизнеспособности клеток наблюдался с материалами с добавлением биологически активных веществ (биофлавоноиды и алкалоиды).

ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИИ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ RS12904699, RS7172856 С ВНЕЗАПНОЙ СЕРДЕЧНОЙ СМЕРТЬЮ

Иванова А.А.¹, Максимов В.Н.¹, Малютин С.К.¹, Новоселов В.П.², Воевода М.И.¹

¹Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук; ²Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Новосибирской области «Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы», г. Новосибирск, Россия

Введение. По результатам полногеномного анализа пулированных выборок ДНК когорт человека (полногеномного аллелотипирования) был получен список однонуклеотидных полиморфизмов, которые с большой долей вероятности могут быть новыми молекулярно-генетическими маркерами внезапной сердечной смерти (ВСС) (Бабенко В.Н., 2014). Для подтверждения ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов с ВСС необходимым является проведение верифицирующего исследования дизайна «случай-контроль» с использованием рутинных методов молекулярно-генетического исследования.

Цель. Проверить ассоциацию с ВСС однонуклеотидных полиморфизмов rs12904699, rs7172856 из списка новых возможных молекулярно-генетических маркеров ВСС, полученного в результате собственного полногеномного аллелотипирования.

Материалы и методы. Дизайн исследования – «случай-контроль». Группа ВСС (n = 437, средний возраст – 53,1±9,0 лет, доля мужчины – 73,5%, женщин – 26,5%) сформирована из архивного анонимного банка ДНК (1999–2014 гг.) внезапно умерших жителей Октябрьского района г. Новосибирска с использованием критериев ВСС Европейского Общества Кардиологов. Основные патологоанатомические диагнозы лиц, включенных в группу ВСС – острая коронарная недостаточность и острая недостаточность кровообращения. Из группы исключены лица с патологоанатомическими диагнозами – инфаркт миокарда, дилатационная/гипертрофическая кардиомиопатия, лица, находящиеся в состоянии алкогольного/наркотического опьянения. Контрольная группа (n = 407, средний возраст 53,3±9,0 года, мужчины – 72,2 %, женщины – 27,8%) подобрана по полу и возрасту к группе ВСС из банков ДНК живых на момент проведения исследований жителей того же района города, участников международных исследований MONICA (Multinational MONItoring of trends and determinants in CARdiovascular disease) и HAPIEE (Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe). ДНК, хранящаяся в банках, выделена методом фенол-хлороформной экстракции из ткани миокарда в банке ДНК лиц умерших внезапной смертью и из венозной крови в банке ДНК участников проектов MONICA и HAPIEE. Генотипирование групп по однонуклеотидным полиморфизмам rs12904699, rs7172856 выполнено методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов в полиакриламидном геле по авторским протоколам. С использованием критерия хи-квадрат оценено

соответствие частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга в контрольной группе. Сравнение групп по частотам генотипов и аллелей выполнено с помощью таблиц сопряженности с использованием критерия хи-квадрат по Пирсону. В случае четырёхпольных таблиц применен точный двусторонний критерий Фишера с поправкой Йетса на непрерывность. Относительный риск ВСС по конкретному аллелю или генотипу вычислен как отношение шансов с использованием точного двухстороннего критерия Фишера и критерия хи-квадрат по Пирсону. В качестве уровня значимости использован $p < 0,05$. Исследование одобрено Локальным Этическим Комитетом НИИТПМ-филиала ИЦиГ СО РАН.

Результаты. Наблюдаемые частоты генотипов однонуклеотидных полиморфизмов rs12904699, rs7172856 в контрольной группе соответствуют ожидаемым согласно равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 3,5; 1,4$, соответственно). Не обнаружено статистически значимых различий по частотам генотипов и аллелей rs7172856 между группой ВСС и контрольной группой ($p > 0,05$), в том числе при разделении групп по полу и возрасту. Доля носителей генотипа AA однонуклеотидного полиморфизма rs12904699 в группе ВСС значимо меньше (8,5%) по сравнению с контрольной группой (13,8%) (ОШ = 0,57, 95%ДИ 0,36–0,89, $p = 0,014$). При разделении групп по полу и возрасту выявленная значимость сохраняется в группе женщин, группе старше 50 лет, группе мужчин старше 50 лет ($p < 0,05$). Д женщин доля носительниц генотипа GG полиморфизма rs12904699 в группе ВСС статистически значимо больше (61,1%) по сравнению с контрольной группой (46,8%) (ОШ = 1,78, 95%ДИ 1,04–3,05, $p = 0,04$).

Выводы. Генотип AA однонуклеотидного полиморфизма rs12904699 ассоциирован с протективным эффектом в отношении ВСС, в группе женщин генотип GG полиморфизма ассоциирован с повышенным риском ВСС. По результатам верифицирующего исследования не подтверждена ассоциация однонуклеотидного полиморфизма rs7172856 с ВСС.

Источник финансирования и благодарности. Авторы выражают глубокую признательность академику РАН Юрию Петровичу Никитину за предоставленную возможность сформировать контрольную группу на материале когорт HAPIEE и MONICA. Исследования выполнены при поддержке стипендии Президента Российской Федерации для молодых ученых и аспирантов, осуществляющих перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики.

ФОРМИРОВАНИЕ ДИАСТОЛИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ ДОКСОРУБИЦИНОВОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

Капелько В.И., Лакомкин В.Л., Абрамов А.А., Грамович В.В., Выборов О.Н., Просвирнин А.В., Лукошкова Е.В., Ермишкин В.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Введение. Проблема диастолической дисфункции (ДД) стала одной из наиболее актуальных тем современной кардиологии в связи с тем, что данная форма хронической сердечной недостаточности (ХСН) составляет уже более половины всех случаев ХСН. Она наблюдается при старении, гипертонии, диабете, ожирении, действии токсических веществ на миокард. Одним из примеров последней группы является антрациклиновая кардиомиопатия, возникающая у части больных при терапии онкологических заболеваний эффективным антибиотиком доксорубицином. Она характеризуется наличием систолической дисфункции (СД) левого желудочка (ЛЖ) и ХСН. При систематическом изучении доксорубициновой кардиомиопатии в нашей лаборатории было обнаружено, что у некоторых крыс формируется также ДД.

Цель. Изучение насосной функции сердца при ДД и СД.

Материалы и методы. Опыты выполняли на наркотизированных золегилом (5 мг/кг) самцах крыс Вистар массой 300–350 г. Доксорубицин (TEVA) вводили п/к еженедельно по 2 мг/кг в течение 4 или 8 недель. Трансторакальная ЭхоКГ была выполнена на аппарате фирмы VUJIFILM Visual Sonic модель Vevo 1100. Использовали линейный датчик 24–13 МГц, с максимальной глубиной лоцирования 30 мм. Инвазивное исследование сократительной функции сердца выполняли при помощи стандартного PV-катетера FTH-1912B-8018, усилителя ADV500 (Transonic, Канада), а также АЦП PowerLab 4/35 с программой LabChart 8.1 (ADInstruments, Австралия). Результаты представлены как M±SEM. Статистическую обработку данных проводили по методу Стьюдента.

Результаты. При ЭхоКГ исследовании выяснилось, что через 4 недели 73% крыс имели нормальную фракцию выброса, а через 8 недель их число уменьшилось почти вдвое, а число животных с СД возросло вдвое. Эти данные соответствуют известному представлению о кумулятивном действии доксорубицина. Инвазивное исследование показало (табл. 1), что группа крыс с ДД имела характерные для ДД признаки – повышенное давление в ЛЖ как в начале (НДД), так и в конце диастолы, сниженную константу расслабления (КР), но близкий к нормальному индекс сократимости (ИС) миокарда. Группа крыс с СД характеризовалась ещё более изменёнными диастолическими показателями, а также сниженным на 25% индексом сократимости. Это свидетельствует о постепенном переходе ДД в СД.

В этих условиях включаются механизмы компенсации, позволяющие удерживать минутный объём сердца на приемлемом уровне. Так система кровообращения подстраивается под сниженные сократительные возможности ЛЖ.

Выводы. 1) Разработана удобная модель ДД, представляющая начальный этап развития ХСН. 2) Компенсация сниженной сократимости миокарда достигается посредством замедления расслабления, вследствие чего атриовентрикулярный клапан открывается при более высоком уровне давления в ЛЖ и следовательно – в лёгочных венах. Это способствует лучшему наполнению ЛЖ, несмотря на повышенное сопротивление.

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 18-015-00271.

Таблица 1. Сократительная функция сердца при ДД и СД

	ЧСС/мин	ФВ (%)	ИС (с-1)	dP/dt аорты (мм рт.ст./с)	НДД (мм рт.ст.)	КР (с-1)
контроль	424±6	85±1	190±6	1630±61	-0,3±0,6	97±3
ДД	444±8	82±1	161±11	1310±45*	2,1±0,6*	83±5*
СД	355±5*	67±3	143±10*	1225±90*	4,6±1,4*	74±6*

*Примечание: * p < 0,05 по сравнению с контролем*

ВОЗРАСТ-ЗАВИСИМЫЙ ПОДХОД К ИССЛЕДОВАНИЮ ВОЗРАСТ-ЗАВИСИМЫХ ПОЛИГЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: ПОИСК ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ, СВЯЗАННЫХ С РАННИМ РАЗВИТИЕМ ИНФАРКТА МИОКАРДА

Киселев И.С., Осьмак Г.Ж., Баулина Н.М., Козин М.С., Сидько А.Р., Фаворова О.О.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Введение. Биологический возраст человека часто не совпадает с календарным, что говорит о разной скорости накопления возрастных изменений, приводящих к истощению адаптационных возможностей организма, или старению. Одной из причин такого несовпадения может быть варибельность генома человека, определяющая объем компенсаторных возможностей организма. Их истощение приводит к развитию возраст-зависимых заболеваний, из которых инфаркт миокарда (ИМ) находится на первом месте среди причин смертности от неинфекционных заболеваний. Исследование зависимости возраста первого ИМ от генетического контекста позволит внести в существующие шкалы прогноза неблагоприятных сердечно-сосудистых событий количественную поправку на отягощенную наследственность.

Цель. Провести исследование зависимости возраста дебюта ИМ от носительства различных полиморфных вариантов генов-кандидатов.

Материалы и методы. В работе использовали экспериментальные данные по геномному типированию полиморфных участков, полученные ранее для 289 больных ИМ с известным возрастом первого ИМ, русских по этнической принадлежности. Диагноз «острый ИМ» был поставлен в соответствии с 3-им универсальным определением инфаркта миокарда. Зависимость возраста первого ИМ от генетического контекста индивида оценивали методами машинного обучения с использованием моделей пропорциональных рисков Кокса и линейной гребневой регрессии с регуляризацией по L2-норме.

Результаты. Исследована ассоциация с воз-

растом дебюта ИМ семнадцати полиморфных вариантов для пятнадцати генов-кандидатов, принадлежащих к системам воспаления и гемостаза, продукты которых вовлечены в патогенез ИМ по данным литературы, а также полиморфных участков в области 9p21, для которых ассоциация с ИМ показана более чем в двух GWAS (genome-wide association studies, полногеномный поиск ассоциаций). Из 19 исследованных вариантов, шесть значимо смещают функцию выживаемости и характеризуются повышенным риском возникновения ИМ в молодом возрасте, который сохраняется и в дальнейшем. Последующий анализ показал, что носительство любого из этих генетических вариантов *TGFBI* rs1800471*CC, *IFNG* rs2430561*A, *IL10* rs1800896*GG, *AGTR1* rs5186*C, *PAI* rs1799889*5, *MIR196A2* rs11614913*TT в среднем на 5-10 лет снижает возраст первого ИМ.

Выводы. Обнаружены генетические варианты, влияющие на возраст дебюта ИМ. Риск возникновения ИМ в молодом возрасте увеличивается при носительстве любого из вариантов *TGFBI* rs1800471*CC, *IFNG* rs2430561*A, *IL10* rs1800896*GG, *AGTR1* rs5186*C, *PAI* rs1799889*5, *MIR196A2* rs11614913*TT в среднем в 1.5 раза и остается повышенным на протяжении жизни. Такая величина риска достаточна, чтобы на 5-10 лет раньше переклассифицировать индивидов из группы умеренного риска в группу высокого риска по шкале SCORE, применяемой в РФ.

Источник финансирования. Работа поддержана грантом РФФИ №19-315-80019.

ЧИСЛЕННЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА СТЕНТОВ И СТЕНТОПОДОБНЫХ КОНСТРУКЦИЙ

Клышников К.Ю.¹, Онищенко П.С.², Резова М.А.¹, Овчаренко Е.А.¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия; ²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт вычислительных технологий Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

Введение. Компьютерное моделирование физико-механического поведения медицинских изделий и их компонентов зарекомендовало себя как ценный инструмент разработки на ранних этапах жизненного цикла – прежде всего, для отработки базовых концептов до прототипирования. Современные численные методы твердотельного моделирования и моделирования гемодинамики представляют широкий спектр параметров для анализа: прочностных характеристик, усталостных, оценки функционала. Настоящая работа включает применение численных методов моделирования на примере разработки стентоподобного опорного каркаса протеза клапана сердца, предназначенного для повторного вмешательства.

Цель. Провести численное моделирование прочностных, усталостных и механических характеристик опорного каркаса протеза клапана сердца для задач выявления критических узлов и оптимизации конструкции.

Материалы и методы. Объектом исследования стал опорный каркас протеза клапана сердца, выполненный по типу стента, предназначенный для баллонной бесшовной имплантации по типу «протез-в-протез». Компьютерную твердотельную модель подвергали тестам оценки усталостной прочности (диаграммы Гудмана), прочностной оценке при однократном нагружении и моделировании полного цикла функционирования протеза (предимплантационная упаковка, имплантация, функционирование). Анализ осуществляли методом конечных элементов, с воспроизведением физико-механического отклика материала нержавеющей стали. Показателями состоятельности конструкции стали – критерий прочности Мизеса, критерий Гудмана и качественное распределение эпюр напряжений и деформаций в материале исследуемого объекта.

Результаты. Показано, что при однократном механическом нагружении и воспроизведении основных этапов функционирования протеза происходит накопление пластических изменений для ряда узлов, по своим значениям приближающихся к критическим – до 420 МПа против предела прочности 670 МПа. При этом полученные эпюры демонстрируют высокую концентрацию подобных

узлов в приточной зоне каркаса, с относительно равномерным распределением в выводной. Превышение предела упругости для большинства участков конструкции (значения 330 МПа) подтверждает исходную концепцию фиксации протеза – за счет необратимого изменения диаметра стентоподобного каркаса, происходит его имплантация по типу «протез-в-протез». Анализ усталостной прочности при нагружении до 10⁹ циклов, также выявил ряд критических узлов конструкции, требующих оптимизации. С одной стороны, среднее (425,0 МПа) и переменное (17,2 МПа) напряжения по циклу не превышали пороговых: 670 МПа и 278 МПа, соответственно. С другой стороны, их распределение было значительно неравномерно и, в целом, было концентрировано в узлах приточной зоны по аналогии с однократным нагружением. Подобный анализ демонстрирует условную состоятельность исследованного дизайна: показатели не превышали пороговых, но были близки к ним с явной концентрацией в определенных участках каркаса. Последующая оптимизация и повторное проведение численного анализа позволят повысить «запас прочности» данного элемента с перспективой прототипирования более надежной конструкции.

Выводы. Использованное в работе сочетание численных методов комплексной оценки напряженно-деформированного состояния основного компонента протеза – его опорного каркаса, демонстрирует эффективность подхода компьютерного моделирования на ранних этапах. Качественно-количественная оценка распределения показателей определяет основные направления оптимизации для повышения надежности и безопасности прототипов.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2015-0011 «Патогенетическое обоснование разработки имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов, с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».

ФИЛАМИН С В ПАТОЛОГИЯХ СЕРДЦА И СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЫ: КЛЕТОЧНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ

Князева А.А., Худяков А.А., Костарева А.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Россия

Введение. Ген FLNC кодирует актин-связывающий белок FLNC, который в скелетных и сердечных мышцах выполняет роль одного из основных участников организации цитоскелета, связывая саркомер и сарколемму. Известно, что наличие мутаций в кодирующих областях гена FLNC у пациентов приводит к развитию кардиомиопатий и миопатий скелетного типа. Однако детальные молекулярные механизмы развития этих заболеваний остаются неописанными, а изученными являются только морфологические и механические свойства клеток, несущих патогенные мутации.

Цель. Изучение влияния подавления экспрессии FLNC в мышечных клетках на свойства цитоскелета (пролиферации и миграции), а также миогенной дифференцировки.

Материалы и методы. С использованием метода CRISPR/Cas9 и внесением делеций/инсерций (инделов) в кодирующую область гена была получена линия миобластов мышцы (C2C12) с подавленной экспрессией гена Flnc, а также контрольная линия «scramble», не несущая инделов. Динамику пролиферации клеток измеряли при помощи прибора xCELLigence RTCA (ACEA Biosciences). Миграционную активность клеток оценивали путем зарастания вертикальной царапины (scratch-assay), а также при движении клеток к хемоаттрактанту на приборе xCELLigence. Миогенную дифференцировку проводили путем перевода клеток на среду с низким содержанием сыворотки. Экспрессию генов-маркеров миодифференцировки измеряли ме-

тодом ПЦР в режиме реального времени.

Результаты. Было получено, что нокаутные по гену Flnc миобласты имеют более высокую динамику пролиферации в течение 72 часов по сравнению с контрольной линией. Миграция клеток как при движении к хемоаттрактанту, так и при зарастании «царапины», измеренная в течение 12 часов, снижена по сравнению с контролем. При запуске миогенной дифференцировки, нокаутные клетки не образуют многоядерные миотрубки, на поздней стадии дифференцировки не экспрессируя маркер мышечных клеток MyHC. При оценке динамики экспрессии мРНК в течении миодифференцировки (два дня – ранняя, пять дней – поздняя стадии созревания миотрубок) было получено, что маркеры поздних стадий (Myh1, Myh4) в нокаутных клетках экспрессируются на значимо более низком уровне, чем в контроле. Маркер слияния миобластов (Myomaker) в норме экспрессирующийся уже на второй день, имеет повышенный уровень экспрессии в нокаутных клетках только на пятый день.

Выводы. В миобластах, нокаутных по гену Flnc, наблюдается перестройка организации цитоскелета, выраженная в изменении динамики процессов миграции и пролиферации. Более того, в нокаутных клетках обнаружено нарушение процесса миогенной дифференцировки, что проявляется как в морфологических особенностях клеток, так и на уровне экспрессии генов, участвующих в созревании зрелого мышечного волокна.

ДИНАМИЧЕСКОЕ МР-ТОМОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И КИНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРОНИЦАЕМОСТИ ГЕМАТО-МИОКАРДИАЛЬНОГО БАРЬЕРА ДЛЯ ПАРАМАГНИТНЫХ КОНТРАСТОВ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ И ВОСПАЛИТЕЛЬНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ МИОКАРДА

Коваленко А.Ю., Мочула О.В., Алексеева Я.В., Усов В.Ю.

Научно-исследовательский институт кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Россия

Введение. Сегодня в диагностической кардиологии стало общим справедливое убеждение в высокой эффективности использования парамагнитных контрастных препаратов при исследованиях миокарда, в частности – в выявлении острого инфаркта миокарда, поражений сердца воспалительного генеза. Однако, до сих пор различия между заболеваниями миокарда осуществляется по их визуальной семиотике, без учета биофизических характеристик накопления контраста-парамагнетика.

Цель. Разработать и апробировать в клинике методику количественного расчета сосудистой проницаемости гистогематического барьера миокарда для контраста-парамагнетика, на основе математической модели Гьедде-Рутланда-Патлака (ГРП), с оценкой роста содержания контраста в миокарде, и его клиренса из крови по данным динамической МРТ в эхо-планарном режиме.

Материалы и методы. Принцип метода. В основе модели накопления парамагнетика в поврежденном миокарде – принцип Гьедде-Рутланд-Патлака (1977). Изменение концентрации парамагнетика в миокарде со временем описывается в таком случае линейным уравнением вида

$$\frac{dC_{\text{миокард}}}{dt} = k_{\text{кровь-миокард}} C_{\text{кровь}}(t) - k_{\text{миокард-кровь}} C_{\text{миокард}}(t) \quad (1)$$

где $C_{\text{миокард}}$ – концентрация препарата в зоне инфаркта, а $C_{\text{кровь}}$ – в крови, $k_{\text{кровь-миокард}}$ и $k_{\text{миокард-кровь}}$ – константы диффузии из крови в область миокарда и из миокарда – в кровь, соответственно. Считая транспорт парамагнетика односторонним в течение первых минут после инъекции, то откладывая $\left\{ \int C_{\text{кровь}}(t) dt / C_{\text{кровь}} \right\}$ – по оси X, а $\left\{ C_{\text{миокард}} / C_{\text{кровь}} \right\}$ – по оси Y, $k_{\text{кровь-миокард}}$ получается тогда как линейный наклон такого графика. Тогда решение уравнения (1) может быть сведено к следующему весьма простому и удобно для графического представления виду:

$$\frac{C_{\text{миокард}}(T)}{C_{\text{кровь}}(T)} = k_{\text{кровь-миокард}} \left\{ \int_0^T \frac{C_{\text{кровь}}(t) dt}{C_{\text{кровь}}(T)} \right\} + V_0 \quad (2)$$

Очевидно, что представив решение (1) в такой форме, и откладывая по оси абсцисс величины

$$\left\{ \int_0^T \frac{C_{\text{кровь}}(t) dt}{C_{\text{кровь}}(T)} \right\}, \text{ а по оси ординат } - \frac{C_{\text{миокард}}(T)}{C_{\text{кровь}}(T)}, \text{ кон-}$$

станту скорости диффузии контраста из крови в ткань миокарда $k_{\text{кровь-миокард}}$ получаем тогда просто как наклон такого линейного графика. Если интенсивности соответствующих изображения МРТ при исследовании с парамагнитным контрастным усилением оказываются одинаково пропорциональны концентрациям контраста в ткани и крови, то без ущерба для расчета показателей $k_{\text{кровь-миокард}}$ и V_0 , в представленном выше методе расчета значения концентраций $C_{\text{миокард}}$ и $C_{\text{кровь}}$ могут быть заменены на интенсивности МР-томографического изображения в этих регионах – миокарде и крови. Это так поскольку при расчете $k_{\text{кровь-миокард}}$ и V_0 используются отношения концентраций (формула 2), а не их абсолютные величины. Поэтому вместо концентраций контраста в соответствующих частях модели допустимо использовать величины интенсивности МРТ-изображения

МРТ с парамагнитным контрастным усилением проводилось в динамическом эхо-планарном режиме. Всем пациентам исследования выполнялись в эхо-планарном протоколе в течение 5–7 мин после болюсной инъекции парамагнетика (в дозировке 0,1 ммоль парамагнитного контраста на 1 кг веса тела). Были обследованы пациенты с острым инфарктом миокарда с успешным тромболлизом (n = 21) и впервые выявленной воспалительной патологией (n = 9). Динамика поглощения парамагнетика миокардом в ишемических регионах фиксировалась с помощью эхо-планарного протокола T1- взв. протокола с подавлением сигнала от жира и затем обрабатывалась с помощью программы RadiAnt (Medixant, Познань, Польша), а также оригинальной программы динамического анализа на MATLAB и SCILAB, с построением зависимостей содержания контраста в крови и миокарде от времени, графика ГРП, и расчетом показателя $k_{\text{кровь-миокард}}$.

Результаты. Физиологический смысл $k_{\text{кровь-миокард}}$ в том, что эта величина представляет собой клиренс крови по Gd-ДТПА в миокард, т.е. количество крови, очищаемое от парамагнетика за минуту единицей объема ткани миокарда.

Показатель $k_{\text{кровь-миокард}}$, составил, в зависимости от характера патологии: у пациентов с острым инфарктом миокарда с успешным тромболлизом и ЧКВ (n = 21) $3,09 \pm 1,32$ (2,36–11,9) мл/мин/100 г ткани – (n = 9);

В норме *к*ровь -миокард, слабо отличался от нулевых величин и составлял $0,09 \pm 0,06$ ($< 0,2$) (мл/мин/100 г ткани) Использование динамического протокола позволило высокодостоверно дифференцировать ишемическое и воспалительное поражение.

Выводы. Динамическое МРТ-исследование сердца с парамагнитным контрастным усилением в эхо-планарном режиме может быть успешно выполнено с помощью как высокопольного, так и среднепольного МР-томографа. Получаемые при математическом моделировании показатели диф-

фузии парамагнетика в ткань ишемического повреждения и воспалительного некоронарогенного очага значительно различаются в зависимости от характера процесса – и позволяют получить дополнительную объективную характеристику сосудистой проницаемости пораженного гематомиокардиального барьера.

Источник финансирования и благодарности. Исследование выполнено в рамках темы государственного задания НИИ кардиологии Томского НИМЦ РАН.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ИЗМЕНЕНИЙ РЕАКТИВНОСТИ КОЖНОЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ И ВЫРАЖЕННОСТИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ПОЛИНЕЙРОПАТИИ

Козлова К.А.^{1,2}, Ковалева Ю.А.¹, Глазкова П.А.¹, Куликов Д.А.¹, Глазков А.А.¹

¹Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского; ²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», г. Москва, Россия

Введение. Согласно статистике ВОЗ, в 2014 г. сахарный диабет (СД) был диагностирован более чем у 422 млн человек во всем мире, а к 2045 г. это число достигнет 630 млн. Диабетическая полинейропатия является наиболее распространенным и болезненным его проявлением, которое с высокой частотой приводит к инвалидизации и ухудшению качества жизни. Однако не установлен «золотой стандарт» точной и объективной оценки выраженности нейропатии и раннего ее выявления.

Регуляция кожной микроциркуляции в ответ на стимулы осуществляется за счет ряда факторов, в том числе эндотелиальных и нейрогенных. Известно, что СД приводит как к поражению сосудов, так и к нарушению нервной регуляции. Согласно данным литературы на величину начального пика тепловой гиперемии значимо влияют аксон-рефлекс и эндотелий. Таким образом, вклад нервной регуляции в реакцию кожной микроциркуляции на нагрев даёт основания предполагать, что величина начального пика тепловой гиперемии может быть косвенно использована для оценки выраженности нейропатии у пациентов с СД.

Цель. Изучить взаимосвязь между выраженностью нейропатии и снижением реактивности микроциркуляции в коже у пациентов с сахарным диабетом.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 26 пациентов отделения эндокринологии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского: 16 – с СД 1 типа и 11 – с СД 2 типа, 8 мужчин и 19 женщин. Оценка выраженности нейропатии проводилась по Мичиганскому инструменту скрининга нейропатии (МИСН) и по Норфолкскому опроснику качества жизни при диабетической нейропатии (The Norfolk QOL-DN). Кожная микроциркуляция

измерялась на тыльной поверхности левого предплечья на расстоянии 10 см от лучезапястного сустава и тыльной поверхности левой стопы в первом межпальцевом промежутке путем лазерной доплеровской флоуметрии с помощью прибора ЛАКК-02. Регистрацию микроциркуляции на коже предплечья проводили в ходе тепловой пробы. Начальная температура в первые 2 мин составляла 32°C, далее ее увеличивали до 42°C со скоростью 0,6°C/с и поддерживали в течение 5 мин. Анализ взаимосвязи между количественными переменными проводили с помощью коэффициента корреляции Спирмена. При проверке статистических гипотез нулевые гипотезы отвергали при вероятности ошибки первого рода (статистической значимости) менее 0,05 ($p < 0,05$).

Результаты. Выявлены значимые умеренные отрицательные корреляции между относительным приростом гиперемии во время тепловой пробы на нижней конечности и результатом по МИСН ($RS = -0,430$, $p < 0,05$), The Norfolk QOL-DN ($RS = -0,396$, $p < 0,05$). Таким образом, ухудшение кожной микроциркуляции на ноге может быть связано с усилением нейропатии. На руке аналогичной связи не выявлено, вероятно, потому, что нарушения микрососудистого кровотока при СД часто начинаются и более выражены на нижних конечностях.

Вывод. Была выявлена корреляция между реактивностью кожной микроциркуляции на нижней конечности и шкалами оценки выраженности нейропатии: «Мичиганский инструмент скрининга нейропатии» и «Норфолкский опросник качества жизни при диабетической нейропатии». Применение тепловой пробы с быстрым нагревом на ноге в перспективе может использоваться для выявления и оценки выраженности нейропатии.

NOTCH-ЗАВИСИМАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОСТЕОГЕННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ АОРТАЛЬНОГО КЛАПАНА ЧЕЛОВЕКА

Костина А.С.^{1,2}, Семенова Д.С.^{1,2}, Киселев А.М.², Иртюга О.Б.², Костарева А.А.², Малашичева А.Б.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии Российской академии наук; ²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Россия

Введение. Сигнальный путь Notch являются одним из ключевых молекулярных каскадов, обеспечивающих межклеточные взаимодействия в период эмбриогенеза. Под контролем Notch находится процесс эндотелиально-мезенхимного перехода, в ходе которого закладываются и формируются клапаны сердца. Нарушение функционирования сигнального пути Notch приводит к патологиям развития аортального клапана, в частности, формированию двустворчатого клапана вместо нормального трехстворчатого, что впоследствии может привести к возникновению кальцификации аортального клапана. В основе процесса кальцификации створок аортального клапана лежит патологическая остеогенная дифференцировка интерстициальных клеток. Сигнальный путь Notch является одним из ключевых регуляторов остеогенных процессов, однако, конкретные клеточные и молекулярные механизмы его работы в ходе этих процессов остаются не до конца понятными.

Цель. Целью данного исследования является расшифровка Notch-зависимых регуляторных процессов остеогенной дифференцировки интерстициальных клеток аортального клапана человека.

Материалы и методы. Первичные эндотелиальные и интерстициальные клетки аортального клапана были получены путем ферментативной диссоциации створок клапана здоровых доноров. Остеогенная дифференцировка была индуцирована добавлением остеогенной среды, содержащей дексаметазон, β-глицерофосфат и аскорбиновую кис-

лоту. Экспрессия проosteогенных маркеров оценивалась методом количественной ПЦР. Сигнальный путь Notch был активирован путем лентивирусной трансдукции клеток вектором, несущим NICD – внутриклеточный домен рецептора Notch1. Были сконструированы репортерные люциферазные конструкции для *RBPJ*, *RUNX2* и *SPPI* и мРНК-специфичные шпильки на *RBPJ* и *SNAIL2*.

Результаты. Активация сигнального пути Notch в интерстициальных клетках в условиях остеогенной дифференцировки приводила к дозозависимому усилению активности промоторов *RUNX2*, *SPPI* и *RBPJ*. Снижение активности *RBPJ* и *SNAIL2* в интерстициальных клетках клапана в условиях остеогенной дифференцировки приводило к ингибированию экспрессии проosteогенных маркеров, что выражалось в низкой эффективности остеогенной дифференцировки. Сокультивирование интерстициальных клеток и эндотелиальных с пониженной активностью *RBPJ* и *SNAIL2* также приводило к ингибированию остеогенной дифференцировки.

Выводы. Транскрипционная активность ключевых проosteогенных маркеров *RUNX2* и *SPPI* находится под контролем сигнального пути Notch. Эффективность остеогенной дифференцировки интерстициальных клеток аортального клапана человека дозозависимо регулируется активностью сигнального пути Notch.

Источник финансирования. Исследование поддержано грантом РФФИ 18-14-00152.

ФЕНОМЕНЫ ТРАНСДИФФЕРЕНЦИРОВКИ В НАТИВНЫХ И ПРОТЕЗНЫХ КЛАПАНАХ СЕРДЦА

Костюнин А.Е., Глушкова Т.В., Великанова Е.А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

Введение. В последние годы широкое распространение получила гипотеза о том, что клетки реципиента принимают активное участие в разрушении химически стабилизированных биотканей протезов клапанов сердца, причём отчасти эти процессы напоминают таковые, задействованные при болезнях естественных клапанов дегенеративного генеза. Разные группы исследователей сообщают о присутствии клеточных инфильтратов в тканях биопротезов, однако в современной литературе не представлено исчерпывающих данных о фенотипических характеристиках клеток, образующих эти скопления.

Цель. Целью настоящего исследования было определение фенотипа клеток, присутствующих в дегенеративных тканях кальцинированных клапанов аорты и эпокиобработанных биологических протезов, эксплантационных по причине их дисфункции.

Материалы и методы. В качестве материала для исследования выступали кальцинированные нативные клапаны ($n = 2$) и эпокиобработанные биопротезы ($n = 3$), полученные соответственно при операциях первичного протезирования аортального клапана и репротезирования биопротезов в митральной позиции в 2018–2019 гг. Из полученных образцов были изготовлены криосрезы толщиной 6–8 мкм, включающие центральную часть створок (от основания до свободного края) и участки с дегенеративными изменениями. Срезы окрашивали антителами против CD31, CD68, CD163, α -SMA, VEGFR2 и vimentin для иммунофлуоресцентного анализа в следующих сочетаниях: CD31 + VEGFR2, α -SMA + vimentin, CD68 + CD163, CD31 + α -SMA, CD31 + CD68, CD68 + α -SMA. Изучение срезов производили с помощью лазерного сканирующего конфокального микроскопа LSM-700 (Zeiss, Германия).

Результаты. По результатам окрашивания ткани биопротезов выявлена инфильтрация створок клетками реципиента. Последние были локализованы преимущественно на поверхности створок и в поверхностных слоях разрыхлённой биологической ткани. В основании протезных створок и участках с перфорациями обнаружены плотные клеточные инфильтраты в толще тканей. На поверхности створок отмечены небольшие участки эндотелизации, образованные редкими зрелыми эндотелиальными клетками (CD31⁺/VEGFR2⁺), также в большом количестве присутствовали CD31⁺/VEGFR2⁻ клетки, имеющие не характерный для эндотелия паттерн распределения в толще матрикса. Окрашивание на классические маркёры клеток мезенхимального ряда выявило немногочисленные α -SMA⁺/vimentin⁺ клетки, локализованные в поверхностных слоях и толще биоткани, однако преобладающими при таком окрашивании оказа-

лись α -SMA⁺/vimentin⁻ клетки. Также на поверхности и внутри створок встречались единичные CD68⁺/CD163⁺ и более многочисленные CD68⁺/CD163⁻ моноциты/макрофаги. Дальнейшее изучение фенотипических характеристик клеток в протезных створках посредством окрашивания антителами в сочетаниях CD31 + α -SMA, CD31 + CD68, CD68 + α -SMA позволило выявить многочисленные CD31⁺/ α -SMA⁺ и CD68⁺/ α -SMA⁺ клетки, тогда как немногие клетки окрашивались только по одному из маркёров (CD31, α -SMA или CD68). Также в протезных створках присутствовали единичные CD31⁺/CD68⁺ клетки. В отличие от протезных, ткани кальцинированных нативных клапанов аорты изобиловали клетками с типичным для мезенхимальных клеток фенотипом (α -SMA⁺/vimentin⁺), тогда как снаружи створки были покрыты сильно фрагментированным монослоем из эндотелиальных клеток (CD31⁺/VEGFR2⁺); клетки, положительно окрашенные только по одному маркёру были немногочисленны. Также выявлены CD31⁺/ α -SMA⁺, CD31⁺/CD68⁺ и CD68⁺/ α -SMA⁺ клетки, представленные единично или небольшими скоплениями, располагающимися преимущественно на поверхности створок.

Выводы. Присутствие в дегенерирующих нативных и протезных тканях клапанов сердца клеток с двойной позитивной окраской на CD31/ α -SMA, CD31/CD68 и CD68/ α -SMA указывает на сложные пути дифференцировки клеток в патологических условиях (воспаление, кальцификация, контакт с инородным телом). Вероятно, CD31⁺/ α -SMA⁺ клетки возникают в результате эндотелиально-мезенхимального перехода. Данное явление описано для нативных аортальных клапанов, но не отмечено в биопротезах. CD31⁺/CD68⁺ и CD68⁺/ α -SMA⁺ клетки, вероятно, являются инфильтрирующими поражённые клапаны макрофагами, экспрессирующие нехарактерные для этой линии клеток эндотелиальные и мезенхимальные маркёры, что может указывать на их дифференцировку в эндотелио- и миофибробластоподобные клетки. Для лучшего понимания процессов, лежащих в основе данного явления и выяснения их клинического значения необходимы дополнительные исследования.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН по фундаментальной теме НИИ КПССЗ № 0546-2015-0011 «Патогенетическое обоснование разработки имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов, с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».

КАЛЬЦИЙ-ФОСФАТНЫЕ БИОНЫ СПОСОБНЫ ВЫЗЫВАТЬ РАЗВИТИЕ ГИПЕРТРОФИИ ИНТИМЫ В ИНТАКТНЫХ АОРТАХ У НОРМОЛИПИДЕМИЧЕСКИХ КРЫС

Кутихин А.Г., Шишкова Д.К., Богданов Л.А., Цепочкина А.В., Южалин А.Е.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

Введение. Кальций-фосфатные бионы (КФБ) формируются при перенасыщении крови ионами кальция и фосфора и представляют собой один из механизмов поддержания минерального гомеостаза, препятствуя кальцификации средней оболочки артерий (медии). Вместе с тем, поскольку как повышенный уровень кальция и фосфора, так и сниженный уровень ингибиторов внескелетной кальцификации в сыворотке крови являются признанными факторами риска развития атеросклероза, было предположено, что КФБ являются одним из триггеров этого патологического процесса, вызывая повреждение эндотелия. Последующие эксперименты показали, что состоящие из гидроксиапатита КФБ поглощаются артериальными эндотелиальными клетками, при растворении в лизосомах инициируют их гибель вследствие массивного выделения в цитоплазму опосредованно активирующих каспазы ионов кальция, стимулируют выделение ими провоспалительных цитокинов интерлейкина-6 и интерлейкина-8 и способствуют формированию неинтимы после баллонной ангиопластики брюшных аорт нормолипидемических крыс. Синтезированные при тяжелом перенасыщении среды ионами кальция и фосфора игольчатые КФБ имели значительно более высокую эндотелиотоксичность, чем синтезированные при умеренном перенасыщении сферические КФБ, в то время как состоящие из магний фосфат гидрата магний-фосфатные бионы (МФБ) не обладали токсичностью для эндотелия. Однако, даже учитывая все эти данные, остается неясным, способны ли КФБ провоцировать развитие гипертрофии интимы *per se*, особенно в нормолипидемическом сценарии. Также неясно, влияют ли на эндотелиотоксичность КФБ возможные вызываемые ими эффекты в других органах, в частности, в печени и селезенке, а также потенциально индуцируемое ими состояние системного воспалительного ответа.

Цель. Выявить, способны ли КФБ индуцировать формирование неинтимы у крыс без дополнительных повреждающих факторов.

Материалы и методы. Бионы с ранее показанными физико-химическими свойствами были синтезированы согласно ранее разработанному протоколу. Эксперименты проводили на самцах нормолипидемических крыс линии Wistar ($n = 35$) весом 200–300 г, уход за животными осуществлялся согласно руководству Guide for the Care and Use

of Laboratory Animals. Крысы были разделены на 7 групп ($n = 5$ в каждой группе), которым в течение 5 недель в хвостовую вену вводился контрольный 0,9% раствор хлорида натрия, МФБ, СКФБ или ИКФБ (1 или 3 раза в неделю).

Через 5 недель все животные были выведены из эксперимента с последующей эксплантацией дуги и бифуркации аорты (сосудистые сегменты с турбулентным кровотоком) и нисходящей аорты (сосудистый сегмент с ламинарным кровотоком). Дугу аорты и нисходящую аорту разрезали на два равных сегмента – один фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине в течение 24 ч при 4°C с последующей промывкой, обезвоживанием и заливкой в парафин, а второй замораживали в криосреде с использованием жидкого азота и хранили при -140°C. Для изучения эксплантированных аорт делали циркулярные срезы толщиной 7 мкм (12 серийных срезов, равномерно распределенных по всей длине соответствующего сегмента аорты, на стекло). Парафиновые срезы анализировали при помощи окрашивания гематоксилин-эозином (общая оценка сосудистой ткани), ализариновым красным (оценка кальцификации) и по Расселлу-Мовату (дифференциальное окрашивание всех компонентов сосудистой ткани) с последующей световой микроскопией (AxioImager.A1, Carl Zeiss). Криосрезы исследовали посредством сочетанного иммуофлюоресцентного окрашивания на: 1) маркер зрелых эндотелиальных клеток CD31 и маркер эндотелиальных прогениторных клеток CD34; 2) CD31 и маркер сосудистых гладкомышечных клеток α -гладкомышечный актин (α -ГМА); 3) на маркер фибробластов виментин и α -ГМА; 4) на маркер экстрацеллюлярного матрикса коллаген IV типа и α -ГМА, после всех окрашиваний срезы контрастировали ядерным красителем 4',6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI) с последующей конфокальной лазерной сканирующей микроскопией (LSM 700, Carl Zeiss). Визуально оценивали наличие или отсутствие гипертрофии интимы, а также сосудистые клеточные популяции. Для оценки потенциальной гепатотоксичности и спленотоксичности КФБ также эксплантировали печень и селезенку с последующей серийной резкой (6–8 срезов толщиной 7 мкм, равномерно распределенных по всей толщине соответствующего органа, на стекло) и окрашиванием гематоксилин-эозином (общая оценка состояния тканей), по ван Гизону (анализ фиброза) и

ализариновым красным (детекция возможных эктопических кальцификатов). Кроме того, у всех животных забирали кровь с последующим выделением сыворотки путем центрифугирования при 2000 x g для определения концентрации провоспалительных молекул моноцитарного хемоаттрактантного белка (MCP-1/CCL2) и церулоплазмينا посредством иммуноферментного анализа, а также для измерения аспартат- и аланинаминотрансферазы (дополнительный анализ возможной гепатотоксичности КФБ) на биохимическом анализаторе Konelab (Thermo Scientific).

Статистическую обработку полученных данных выполняли при помощи программы GraphPad Prism 8 (GraphPad Software). Межгрупповое сравнение проводили посредством критерия Краскела-Уоллиса, в случае выявления статистически значимых различий между группами осуществляли последующее попарное сравнение групп с использованием средней доли ложных отклонений гипотез (false discovery rate, FDR). Различия между группами признавали статистически значимыми при вероятности отвергнуть верную нулевую гипотезу $p \leq 0,05$.

Результаты. Гистологический анализ показал, что регулярное внутривенное введение СКФБ или ИКФБ вызывало начальные стадии развития неоинтимы у 3 из 10 (СКФБ) и 4 из 10 (ИКФБ) крыс вне зависимости от кратности введения или типа кровотока в сосудистом сегменте. При этом стоит отметить, что неоинтима в данной экспериментальной модели содержала всего лишь 2–3 слоя полиморфных и хаотично ориентированных клеток мезенхимального ряда и не характеризовалась видимой инфильтрацией иммунокомпетентными клетками (по морфологии ядер), хотя данный вопрос требует дальнейшего изучения. Как и в случае

с неоинтимой, развивающейся после баллонной ангиопластики и внутривенного введения КФБ, неоинтима в интактных аортах крыс при системном введении КФБ содержала в основном продуцирующие внеклеточный матрикс сосудистые гладкомышечные клетки. У крыс, которым вводили МФБ или физиологический раствор, признаков гипертрофии интимы обнаружено не было. Кроме того, у животных не было выявлено морфологических признаков повреждения печени и селезенки или очагов внескелетной минерализации. При анализе уровня сывороточных провоспалительных молекул и трансаминаз также не было выявлено значимых различий между группами.

Выводы. Регулярное системное внутривенное введение КФБ, в отличие от МФБ, способно вызывать развитие гипертрофии интимы у нормолипидемических крыс независимо от формы бионов или реологических характеристик потока крови, при этом формирование неоинтимы протекает по сценарию, схожему с таковым при предварительном механическом повреждении интимы. Отсутствие признаков системного воспаления, гепатотоксичности и спленотоксичности при регулярном системном введении КФБ указывает на то, что причиной формирования гипертрофии интимы является именно их прямое эндотелиотоксическое действие, а не иные эффекты в других органах и тканях.

Источник финансирования. Исследование выполнено в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» за счет гранта Российского научного фонда (проект № 19-15-00032 «Молекулярные механизмы токсичности кальций-фосфатных бионов для эндотелия»).

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ: ПРИМЕНЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АНТИОКСИДАНТА ПЛАСТОМИТИНА

Лакомкин В.Л., Абрамов А.А., Просвирнин А.В., Лукошкова Е.В., Капелько В.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Введение. Окислительный стресс в миокарде представляет обязательный компонент заболеваний сердца – инфаркта миокарда, миокардита, различных кардиомиопатий. Устойчивое преобладание активных форм кислорода над антиоксидантами приводит к повреждению кардиомиоцитов. Перспективным направлением борьбы с окислительным стрессом является применение митохондриально-ориентированного антиоксиданта SkQ1 (пластомитина), разработанного под руководством В.П. Скулачёва. В его молекуле действующим веществом является сильнейший антиоксидант пластомитин, а проводником – ионы трифенилфосфония, свободно проникающие в митохондрии. Препарат SkQ1 значительно уменьшал аритмии, вызванные пероксидом водорода или адреналином, а также уменьшал размеры инфаркта миокарда при ишемии и реперфузии и улучшал восстановление функции сердца после ишемии-реперфузии. Но его действие при хронической сердечной недостаточности (ХСН) ещё не было предметом исследования.

Цель. Изучение действия пластомитина на сердце в ходе развития ХСН.

Материалы и методы. В работе использованы крысы-самцы линии Wistar весом 320–380 г. Животные были разделены на две группы, 10 крыс получали антрациклиновый антибиотик доксорубин (ДОКС) п/к 2 мг/кг еженедельно 4 недели, а 10 – наряду с ДОКС также п/к ежедневно получали пластомитин (0,5 мг/кг), любезно предоставленный нам НИИ митоинженерии МГУ. Трансторакальная ЭхоКГ была выполнена на аппарате фирмы VULFILM Visual Sonic модель Vevo 1100. Использовали линейный датчик 24–13 МГц, с максимальной глубиной лоцирования 30 мм. Инвазивное исследование левого желудочка (ЛЖ) выполняли при помощи стандартного PV-катетера FTH-1912B-8018, усилителя ADV500 (Transonic, Канада), а также АЦП PowerLab 4/35 с программой LabChart 8.1 (ADInstruments, Австралия). Исследования выполняли через 8 недель. Результаты представлены как M+SEM. Статистическую обработку данных проводили по методу Стьюдента.

Результаты. При ЭхоКГ исследовании выясни-

лось, что в группе, получавшей ДОКС, развилась ХСН со снижением фракции выброса на 23%, в то время как в у крыс, получавших пластомитин вместе с ДОКС, фракция выброса сохранялась нормальной. Инвазивное исследование ЛЖ показало, что сердца крыс с ДОКС отличались сниженными величинами максимальной скорости развития давления и величиной развиваемого давления на 42%, индекса сократимости на 34% и ударной работы на 40%. Начальное диастолическое давление было повышено почти втрое, а константа времени расслабления – почти вдвое. Тем не менее, минутный объём сердца поддерживался на приемлемом уровне за счёт компенсаторных механизмов – 1) облегчения выброса из-за снижения артериального сопротивления на 33%, 2) облегчения наполнения ЛЖ за счёт удлинения диастолической паузы при снижении частоты сокращений на 23% и снижении показателя диастолической упругости ЛЖ почти вдвое. Так система кровообращения подстраивается под сниженные сократительные возможности ЛЖ.

Применение пластомитина сопровождалось нормализацией всех показателей сократимости миокарда, сохранением частоты сокращений и артериального сопротивления. Также и константа времени расслабления, и диастолическая упругость ЛЖ были на уровне контрольных величин. Снижена была лишь ударная работа, но это перекрывалось повышением частоты сокращений, так что минутный объём сохранялся на нормальном уровне.

Выводы. Применение пластомитина вместе с ДОКС позволило предотвратить развитие систолической дисфункции и поддержать нормальную насосную функцию сердца. Это выразилось в сохранении нормальных величин частоты сокращений, артериального сопротивления, расслабимости и сократимости миокарда. Вероятной причиной профилактического действия пластомитина является подавление окислительного стресса при каждом введении ДОКС.

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-015-00271.

АССОЦИИИ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ И АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ С ГЕНЕТИЧЕСКИМИ МАРКЕРАМИ, ОТОБРАННЫМИ ПО ДАННЫМ ПОЛНОГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Малютина С.К., Максимов В.Н., Орлов П.С., Маздорова Е.В., Рябиков А.Н.,
Воевода М.И., Никитин Ю.П.

Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия

Введение. Высокая распространенность и серьезное прогностическое значение определяют глобальность проблемы артериальной гипертензии (АГ). По данным ВОЗ, 2013 около 1 миллиарда людей в мире страдают АГ, что приводит ежегодно к 9,5 млн. смертей от ее осложнений. Развитие АГ как мультифакториального заболевания определяется взаимодействием генетически детерминированной предрасположенности и средовых факторов. В недавних полногеномных исследованиях (GWAS) идентифицировано более 50 локусов, значимо ассоциированных с систолическим и диастолическим артериальным давлением (САД, ДАД) и АГ. В последние 5 лет полногеномными проектами в мультистадийном дизайне на выборках порядка 100–200 тысяч индивидуумов выявлены новые маркеры АГ.

Цель. Изучение в российской популяции ассоциаций артериального давления и артериальной гипертензии с полиморфизмом генетических маркеров, идентифицированных в полно-геномных исследованиях (GWAS).

Материалы и методы. Исследование проводилось по дизайну «случай-контроль». Объект исследования: 514 человек 45–69 лет. В группу «случай» вошли мужчины и женщины с диагнозом АГ по критериям АД >140/90 мм.рт.ст и/или принимающие гипотензивную терапию, установленным в возрасте до 50 лет ($n = 346$). Контрольная группа (1:2) включала парных по полу и возрасту лиц с «нормальным» АД по той же классификации, подтвержденным не менее, чем в 2-х обследованиях с интервалом не менее 6 месяцев ($n = 168$). По материалам GWAS селектированы 24 маркера гипертензии, в настоящий анализ вошли 8 маркеров (rs13082711, rs1173771, rs13107325, rs3918226, rs1799945, rs805303, rs1458038, rs932764). Исследование одобрено Этическим Комитетом НИИТПМ. Участники подписали информированное согласие. Использовались стандартизованные эпидемиологические методы исследования (факторы риска АГ, социально-демографические параметры, медицинская документация), клинические (измерение АД,

антропометрия) и лабораторные (биохимические, ПЦР-диагностика).

Результаты. Для полиморфизма rs3918226 промотора гена эндотелиальной NO синтазы (*eNOS*) в нестандартизованном анализе подтверждена ассоциация с артериальной гипертензией ($p = 0.047$) и уровнем САД ($p = 0.033$) у мужчин. В отношении количественного фенотипа в исследованной выборке реплицирована ассоциация полиморфизма rs3918226 промотора гена *eNOS* с уровнем систолического артериального давления (мужчины, носители T-аллеля, имели показатель на 8 mm Hg выше против генотипа CC, $p = 0.049$ независимо от возраста). Выявлена новая ассоциация полиморфизма rs932764 PLCE1 с гипертензией (протективный характер генотипа AG у мужчин, $p = 0.017$ независимо от возраста и массы тела). Подтверждена ассоциация полиморфизма rs13107325 SLC39A8 с систолическим артериальным давлением (у мужчин, носителей C-аллеля, показатели САД были достоверно выше против генотипа TT, $p = 0.044$ в мультивариантном анализе).

Выводы. В результате анализа ассоциаций качественного и количественного фенотипов АГ и АД с 8 генетическими маркерами в выборке из сибирской популяции нами были реплицированы положительные результаты полногеномных исследований для полиморфизмов rs3918226 гена *eNOS* и rs13107325 гена *SLC39A8*. Также были получены новые данные по связи rs932764 гена *PLCE1* с частотой АГ (протективный характер гетерозиготного генотипа), ранее убедительно не показанной, и по контекст-зависимости связей АГ с изученными молекулярными маркерами (модулирующий эффект пола и массы тела). Репликация ряда ассоциаций генетических маркеров (по данным GWAS) с АГ/АД в выборке из сибирской популяции, отличной от ранее исследованных по многим параметрам, предполагает единые механизмы вовлеченности идентифицированных локусов в патогенез АГ.

Источник финансирования. Работа выполнена по бюджетной теме НИИТПМ (0324-2018-0001), частично поддержана РФФИ (13-04-01955).

ПРОБЛЕМА КЛЕТОЧНОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ ПРИ АНАЛИЗЕ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК В ОБРАЗЦАХ ПОРАЖЕННЫХ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ АРТЕРИЙ: БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ ПОДХОД

Марков А.В.¹, Зарубин А.А.¹, Шарыш Д.В.³, Казанцев А.Н.², Бурков Н.Н.², Барбараш О.Л.²,
Пузырев В.П.^{1,3}, Назаренко М.С.^{1,2,3}

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Россия; ²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия; ³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия

Введение. Метилирование ДНК – эпигенетическая модификация, регулирующая активность генов и определяющая клеточную специфичность. Пораженные атеросклерозом артерии отличаются по профилю метилирования ДНК от здоровых артерий, что было продемонстрировано в ряде работ. Однако результаты разных исследований метилирования ДНК в атеросклеротических бляшках *in vivo* слабо пересекаются. Одной из причин является клеточная гетерогенность образцов, которая не учитывалась в ранних работах, но может быть определена на основании тех же данных о метилировании ДНК.

Цель. Оптимизация алгоритма оценки и учета клеточной гетерогенности при анализе метилирования ДНК в образцах атеросклеротической бляшки.

Материалы и методы. Образцы атеросклеротических бляшек сонных артерий (САБ) были получены в результате каротидной эндартерэктомии ($n = 16$, средний возраст пациентов 65 ± 6 лет). Образцы разделены на несколько макроскопически идентичных частей. Одна часть использована для гистологического исследования с окраской гематоксилин-эозином, на основании которого оценивалась стадия (тип) бляшки. Вторая часть – для иммуногистохимического (ИГХ) анализа на маркеры: α SMA – гладкомышечных клеток (ГМК, $n = 4$) и CD68 – макрофагов ($n = 4$). Из третьей части была выделена ДНК для анализа метилирования на микрочипах Infinium MethylationEPIC BeadChip (Illumina). Оценка клеточного состава образцов по профилям метилирования ДНК проводилась с помощью алгоритма NEpiDISH. Для определения CpG-сайтов, дискриминирующих разные типы клеток артериальной стенки, были привлечены данные из базы Gene Expression Omnibus (далее по тексту – идентификаторы GSE) и проекта ENCODE.

Результаты. Анализ метилирования 775836 CpG-сайтов микрочипа выявил кластеризацию образцов САБ на 2 группы, не ассоциированную с особенностями клинической картины заболевания и микроморфологией атеросклеротической

бляшки. С помощью алгоритма NEpiDISH было выявлено, что такая кластеризация объясняется расчётной фракцией иммунных клеток в САБ. Для уточнения количества других типов клеток, составляющих стенку артерии, мы создали собственный референсный набор CpG-сайтов, индекс метилирования которых специфично разделяет разные типы клеток: эндотелиальные клетки (GSE84395), фибробласты (GSE40699), ГМК (GSE40699) и иммунные клетки лейкоцитарного ряда (GSE35069). В результате было показано, что соотношение фракций резидентных (в особенности, ГМК) и иммунных клеток артерий согласуется с кластеризацией образцов САБ. Пропорция CD68+ макрофагов по данным ИГХ приблизительно соотносилась с «моноцитарной» фракцией, рассчитанной с помощью NEpiDISH (разница оценок двух методов составила от 3% до 31% для разных образцов), тогда как для α SMA+ ГМК было характерно занижение их относительного количества со стороны биоинформатического алгоритма относительно данных ИГХ на 25–47%.

Выводы. Паттерн метилирования ДНК в атеросклеротических бляшках сонных артерий ассоциирован с количеством и составом клеток, составляющих бляшку. Приблизительный клеточный состав образца артерии человека может быть получен на основе данных о метилировании ДНК в нём. Валидация метода биоинформатической оценки клеточного состава САБ с помощью иммуногистохимического анализа затруднена, прежде всего из-за ограничений последнего метода (неспецифическое окрашивание, анализ малой части клеток образца). Молекулярная классификация атеросклеротических бляшек представляет интерес, а развитие подходов биоинформатического «разложения» образцов позволяет учитывать их клеточную гетерогенность и, в перспективе, находить изменения на уровне отдельных типов клеток, не прибегая к дорогостоящим экспериментальным методам анализа единичных клеток.

СКАНИРУЮЩАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ В ОБРАТНО-РАССЕЯННЫХ ЭЛЕКТРОНАХ: НОВЫЙ СПОСОБ ИССЛЕДОВАНИЯ ТОНКОЙ СТРУКТУРЫ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК ЧЕЛОВЕКА

Мухамадияров Р.А., Богданов Л.А., Кутихин А.Г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

Введение. С гистологических позиций атеросклеротическая бляшка представляет собой сложный для исследования объект. В ней одновременно присутствует большой набор гистологических структур, образующих сложную конструкцию бляшки. Как правило, в ее структуре находятся липидные включения, скопления пенистых клеток, не содержащие липидов макрофаги, иные иммунокомпетентные клетки, клетки мезенхимального ряда, клеточный детрит, новообразованные кровеносные сосуды (*vasa plaquorum*), очаги минерализации и другие элементы. Кроме того, в случае предыдущего стентирования в исследуемом материале возможно наличие ранее металлического материала стента. Такой состав характеризуется чрезвычайно гетерогенной плотностью, что затрудняет применение микротомной и криотомной резки. В то же время просвечивающая электронная микроскопия имеет целый ряд недостатков, включая трудоемкость пробоподготовки и существенную редукцию материала для анализа.

В связи с тем, что оценка структуры бляшек имеет важное научное значение с точки зрения оценки развития патологического процесса, а также практическое значение с позиции анализа эффективности использовавшейся экспериментальной и клинической терапии, необходимо совершенствование методов их гистологического анализа. Ранее нами был предложен метод морфологического исследования гистологических образцов, содержащих в своем составе минеральные и металлические включения. Особенностью этого метода является замена резки образца шлифовкой его поверхности с последующей полировкой. После окрашивания поверхности гистологическими красителями или контрастирования тяжелыми металлами возможно исследование образцов методами световой или сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах (СЭМ-ОРЭ), соответственно. Так как применение процедуры шлифовки и полировки образцов применимо только для образцов, обладающих высокой твердостью, необходима их предварительная пропитка эпоксидными смолами с последующей полимеризацией. Ранее выполненные исследования показали высокую информативность СЭМ-ОРЭ для анализа сосудов, поэтому в данной работе изучение атеросклеротических бляшек выполняли с применением именно этого метода.

Цель. Оценить эффективность применения СЭМ-

ОРЭ для морфологических исследований структуры атеросклеротических бляшек, содержащих кальциевые депозиты и материал металлического стента.

Материалы и методы. В качестве эталонных объектов исследования были выбраны извлеченные во время операции каротидные атеросклеротические бляшки, полученные в результате эндартерэктомии вместе с небольшим количеством интактной ткани внутренней сонной артерии, и фрагмент стентированной внутренней сонной артерии, эксплантированный в результате повторной каротидной эндартерэктомии вследствие рестеноза. После фиксации в 10% формалине (24 часа) образцы постфиксировали 1% тетраоксидом осмия (12 часов) и затем переосмировали в 2% водном растворе тетраоксида осмия (48 часов). Далее образцы окрашивали спиртовым раствором 2% уранилацетата (5 часов), обезвоживали изопропанолом (5 часов) и ацетоном (1 час), пропитывали смесью ацетона с эпоксидной смолой Епон (1:1, 6 часов), после чего переносили в свежую порцию эпоксидной смолы (24 часа) и далее проводили ее полимеризацию при 60°C. После шлифовки и полировки выполняли контрастирование цитратом свинца (7 минут), напыляли эпоксидные блоки углеродом и визуализировали образцы при помощи СЭМ-ОРЭ. Элементный состав изучали при помощи рентгено-спектрального микроанализа (энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия).

Результаты. Метод позволял достичь высокого качества получаемых изображений на увеличениях до 5000 раз и предоставлял возможность выявлять локализацию минеральных включений, идентифицировать их размер, форму и внутреннюю структуру, определять присутствие металлических элементов стента, а также типировать окружающие их клетки, отличая по форме и цитоплазматическому содержанию клетки мезенхимального ряда и иммунокомпетентные клетки. Помимо толщины соединительнотканной капсулы и лейкоцитарной инфильтрации, также было возможно оценивать количество и площадь новообразованных сосудов малого калибра, являющихся суррогатным маркером воспаления. Возможность выполнять элементный анализ в полученных образцах вместе с анализом электронной плотности является дополнительным инструментом для определения химического состава очагов минерализации, а также некоторых органических компонентов бляшки, в частности, фосфолипидов.

Выводы. Представленный метод позволяет удовлетворительно исследовать структуру образцов, для которых невозможна или значительно затруднена резка, при этом качество полученного изображения на порядок превышает получаемое при световой микроскопии, хотя и сильно уступает разрешению трансмиссионного электронного микроскопа. Наряду с морфологическими исследованиями, СЭМ-ОРЭ позволяет выполнять на этих же образцах оценку элементного состава интересующих участков методом рентгеноспектрального

микроанализа.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2015-0011 «Патогенетическое обоснование разработки имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов, с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».

ОБЕСПЕЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ИМПЛАНТИРУЕМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ ДЛЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ

Новикова С.П., Аракелян В.С., Абдулгасанов Р.А., Алшибая М.М., Салохединова Р.Р., Бокерия Л.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Введение. Создание и использование искусственных органов и устройств – одно из важных направлений современной медицины, развивающейся как обширная, многогранная, междисциплинарная ветвь науки. Стремительное развитие биотехнологий при создании все новых медицинских изделий (МИ) в значительной степени обязано достижениям классических и новых отраслей науки – полимерной химии, биофизики, биологии, гидродинамики, биоинженерии, тканевой инженерии, клеточным технологиям. Это способствует созданию новых МИ разного назначения, совершенствованию уже существующих, получению матриц для доставки лекарственных средств. К имплантируемым изделиям для сердечно-сосудистой хирургии, помимо общих требований к биосовместимости, предъявляются еще специфические требования к тромборезистентности при контакте с кровью, т.е. устойчивости к тромбообразованию на поверхности инородного материала. Этого можно достичь, модифицируя поверхность любых материалов и изделий иммобилизацией на них интерполимерных комплексов природных поверхностно активных веществ с антикоагулянтами и другими биологически активными веществами, влияющими на процессы тромбообразования. Условия технологического процесса модифицирования зависят от назначения МИ. Показателем качества МИ является длительное сохранение их функциональных свойств как в процессе нахождения в организме, так и в процессе хранения до имплантации.

Цель. Показать возможность совершенствования функциональных свойств МИ путем их модифицирования для клинической практики.

Материалы и методы. В ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н.Бакулева» разработаны технологии модифицирования МИ кратковременного и длительного контакта с кровью – тканые и нетканые протезы кровеносных сосудов, кардиохирургические заплатки, манжеты для искусственных клапанов сердца, оксигенаторы, гемодализаторы, вака-фильтры, инфузионные катетеры. Биодegradируемое покрытие на всех изделиях мультислойное, состоит из полиэлектролитного комплекса на основе природных поверхностно-активных веществ (белки) и биологически активных веществ (антикоагулянты, антиагреганты тромбоцитов, фибринолитические вещества). На текстильные изделия, требующие минимальной хирургической пористости, наносится и макромолекулярное покрытие на основе природных пленкообразующих полимеров (белки, полисахариды, полиэферы) и лекарственных препаратов (ЛП) направленного действия.

Наиболее сложными для модифицирования являются протезы кровеносных сосудов (влияние материала, конструкции, гемодинамики). Основные осложнения при имплантации сосудистых протезов – тромбозы, инфицирование, кровопотери, отслаивание покрытия. Для оценки основных функциональных свойств МИ применяли комплекс методов исследований: физико-химические, физико-механические, микробиологические, токсикологические. Проведены испытания функциональных свойств модифицированных протезов кровеносных сосудов, кардиохирургических заплат «БАСЭКС» после длительных сроков хранения (2 года, 4 года, 6 лет).

Результаты. Установлено, что в процессе хранения масса покрытия не меняется, деструкционных изменений покрытия не происходит, нет дефрагментации и отслаивания покрытия, хирургическая пористость остается нулевой. Деформационно-прочностные свойства не ухудшаются. При санитарно-химических исследованиях выпяжек после хранения образцов в физиологическом растворе рН выпяжек меняется незначительно ($\pm 0,5$ ед.). Тромборезистентность и антимикробность МИ обеспечиваются комплексом иммобилизованных антиагрегантных, антикоагулянтных и антимикробных ЛП. Спектрофотометрическая оценка выпяжек показала сохранение спектров ЛП выпяжек в УФ и видимой области. Это свидетельствует о сохранности химической структуры функциональных групп ЛП. Динамика десорбции ЛП одинакова для всех образцов МИ, даже при хранении 6 лет. Микробиологические исследования антимикробных ЛП, оставшихся в покрытии, при десорбции до 14 суток достаточна для проявления значимой антибиотической активности. Токсикологическая оценка в аккредитованной лаборатории подтвердила биологическую безопасность МИ, в том числе при длительном хранении. Клиническая эффективность МИ с покрытием «БАСЭКС» в сравнении с аналогами подтверждена при использовании в клиниках у пациентов более 4 500 изделий.

Выводы. Разработанные в НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева технологии модифицирования МИ для контакта с кровью позволяют получать изделия с улучшенными функциональными характеристиками: повышенной тромборезистентностью, усиленной антимикробностью, минимальной хирургической пористостью, оптимальными механическими характеристиками. При сроках хранения до 6 лет функциональные характеристики МИ не ухудшаются, стерильность сохраняется. Обеспечивается клиническая эффективность и биологическая безопасность полученных МИ.

ПАЦИЕНТ-СПЕЦИФИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ИМПЛАНТАЦИИ ТРАНСКАТЕТЕРНОГО ПРОТЕЗА КЛАПАНА АОРТЫ КАК ИНСТРУМЕНТ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ОСЛОЖНЕНИЯ

Овчаренко Е.А., Клышников К.Ю., Шилов А.А., Ганюков В.И.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

Введение. Транскатетерное протезирование клапана аорты (TAVR) в настоящее время доказано является безопасной терапией для пациентов с аортальным стенозом, которые имеют высокий хирургический риск развития. Несмотря на совершенствование техники имплантации, оптимизацию моделей протезов и систем доставки, данные процедуры сопровождаются высокой частотой послеоперационных осложнений – прежде всего, нарушениями проводимости (блокадой левой ножки пучка Гисса) и парапротезной регургитацией. Прогнозирование данных осложнений на предоперационном этапе, сайзинг и подбор подходящих протезов – задача комплексная, требующая участия большой TAVI-команды. Разработка прогностических моделей, в основе которых лежат численные методы, может стать перспективным подходом для решения описанных задач и снижения риска возникающих постпроцедуральных осложнений.

Цель. Настоящая работа посвящена анализу гемодинамических и функциональных показателей по результатам численного моделирования транскатетерного протезирования клапана аорты с учетом гемодинамики и анатомии конечного пациента

Материалы и методы. Ретроспективное моделирование гемодинамики после TAVI-процедуры было выполнено на основании данных мультиспиральной компьютерной томографии и чреспищеводной эхокардиографии пациента П., 84 года, которому был имплантирован самораскрывающийся биопротез CoreValve™. Компьютерное моделирование выполняли с использованием метода конечных элементов на основе клинических данных с оценкой напряженно-деформированного состояния и гемодинамических эффектов работы биопротеза – прежде всего, формирования критических участков в области парапротезной регургитации. Коли-

чественными показателями анализа явились скорости кровотока, объемные напряжения и локальные числа Рейнольдса, как показатель преобразования ламинарного потока в турбулентный.

Результаты. Моделирование продемонстрировало неоднородность распределения амплитуды скоростей по расчетной области: скорость в области регургитации составила 1,1–1,6 м/с, при этом средние значения по расчетной области составили 0,35–0,41 м/с. Отмечали рост напряжения Рейнольдса в окружности патологического сброса до 78–112 Па, а показателя пристеночного сдвигового напряжения до значений 61,1 Па, что близко к критическим значениям, вызывающим гемолитические эффекты.

Выводы. В работе показано, что используемая методика валидно воспроизводит состояние парапротезной регургитации и гемодинамику данной области, с возможностью оценки углубленных количественных показателей потока. Численный анализ гемодинамических эффектов в области парапротезной регургитации показал нарушение структуры потока, высокие значения напряжений в объеме крови, которые, тем не менее, не подтверждены клиническими признаками гемолиза или образования тромбомасс.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2015-0011 «Патогенетическое обоснование разработки имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов, с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».

ГЕМОДИНАМИКА В КРУПНЫХ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДАХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПАРАМЕТРАХ ТОКА КРОВИ

Онищенко П.С.^{1,2}, Захаров Ю.Н.^{1,3}, Борисов В.Г.³, Клышников К.Ю.², Овчаренко Е.А.²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт вычислительных технологий Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия; ²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»; ³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово, Россия

Введение. Реваскуляризация сосудистого русла является важной задачей для современной кардиологии. Причиной для данной операции могут стать как механические повреждения сосудистого русла, так и широкое распространение атеросклеротических поражений сосудистого русла. Проблемным местом при данном типе вмешательств является отсутствие «золотого стандарта» протезов, применяемых при протезировании, а также вариабельность способов восстановления сосудистого русла: так называемые «конец-в-конец» и «конец-в-бок». Замещение проблемного участка (содержащего стенозы, аневризмы) может быть произведено с различных материалов, среди которых: полимерные соединения (синтетические графты), либо протезы на основе биологической ткани (биопротезы). Поскольку ксеногенные биопротезы являются стабилизированными грудными артериями крупного рогатого скота, то данная задача является актуальной, так как вариативность геометрии может в значительной мере определить исход всей реконструкции.

Цель. Целью исследования ставится сравнение гемодинамики в реальном сосудистом протезе при его имплантации способом «конец-в-конец» и «конец-в-бок» при пациент-специфических комбинациях ЧСС и величины АД.

Материалы и методы. В качестве исследуемого сосуда был использован ксеногенный биопротез «КемАнгиопротез» (ЗАО «НеоКор» г. Кемерово), содержащий 3 стеноза (60%, 37% и 57%, соответственно). Модель сосудистого протеза была получена путем компьютерной реконструкции поперечных микротомографических срезов образцов биопротезов. Геометрия расчетной области для случая «конец-в-бок» была построена таким образом, что исследуемый биопротез является единственным возможным руслом кровотока с наличием «слепых» зон нативного сосудистого русла. Численные расчеты выполняются в программном комплексе OpenFoam с помощью алгоритма PISO (Pressure-Implicit with Splitting of Operators). Движение крови (кинематическая вязкость $\text{м}^2/\text{с}$) было вызвано перепадом АД, величина которого была получена с помощью Допплер-эхографии пациента П. (67 лет, мужчина), которому было проведено бедренно-подколенное протезирование справа биопротезом «КемАнгиопротез». Для численных расчетов полученное АД («нормальное» – 147,3 мм

рт. ст. – гипертензия I степени) было увеличено на 33% («увеличенное» – гипертензия III степени) и уменьшено на 14% («уменьшенное» – АД пациента без патологий). ЧСС моделировали изменением количества циклов смены АД за одну минуту (60, 90, 120 ударов в минуту).

Результаты. Первая серия расчетов была проведена с целью сравнения гемодинамических характеристик потока крови в сосудистом биопротезе при его имплантации способом «конец-в-конец» или «конец-в-бок» при «нормальном» АД и ЧСС 60 ударов в минуту. Полученные результаты показали: при одинаковом АД, максимальная величина модуля скорости для течения различна («конец-в-конец» – 1,1 м/с, «конец-в-бок» – 0,95 м/с, различие составляет 13%); в момент достижения максимальной скорости, вихревая зона после первого стеноза в случае «конец-в-бок» больше на 12% (разница 0,4 см при длине вихревой зоны в случае «конец-в-конец» 2 см, а «конец-в-бок» – 2,4 см).

Вторая серия расчетов была посвящена изучению различий гемодинамики в сосудистом биопротезе, имплантированного способом «конец-в-бок», при различных комбинациях АД и ЧСС. Так, при ЧСС 60 ударов в минуту в зоне после первого стеноза (вихревая зона) при «увеличенном» и «нормальном» АД во время диастолы имеется изменение темпа уменьшения величины вектора скорости в точке при «нормальном» АД и кратковременное возрастание при «увеличенном» АД, который отсутствует при ЧСС 90 и 120 ударов в минуту, что может свидетельствовать о тенденции «отрыва» вихрей из застойной зоны. В областях анастомозов в «слепых» зонах во всех случаях образовывались застойные зоны с вихреобразным течением. Так же, в зонах после стенозов, приближенных к концу рассматриваемой области по ходу кровотока, при «нормальном» давлении имеется закрученное вдоль стенок течение.

Выводы. Полученные результаты показывают, что в исследуемом сосуде с увеличением АД при ЧСС 60 ударов в минуту могут образовываться зоны нестационарного течения («отрыв» вихрей в вихревой зоне после первого стеноза), что при дальнейшем увеличении скорости течения может привести к турбулизации потока крови, а это является одним из факторов образования тромбов вследствие увеличения пристеночного напряжения

сдвига (фактор фон Виллебранда). Присутствие явления «отрыва» вихрей показывает необходимость исследования гемодинамических характеристик каждого конкретного ксеногенного биопротеза перед его имплантацией.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в

рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2015-0011 «Патогенетическое обоснование разработки имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов, с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».

ПРОТЕЗЫ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ И КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИЕ ЗАПЛАТЫ «БАСЭКС» - ТРОМБОРЕЗИСТЕНТНЫЕ, АНТИМИКРОБНЫЕ, С НУЛЕВОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПОРИСТОСТЬЮ. КЛИНИЧЕСКОЕ ВНЕДРЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Орлова А.А.¹, Новикова С.П.¹, Салохединова Р.Р.¹, Абдулгасанов Р.А.¹, Аракелян В.С.¹, Алшибая М.Д.¹, Анисимов А.Н.², Бокерия Л.А.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия; ²ООО «Специальное конструкторское бюро медицинской тематики», г. Кирово-Чепецк, Россия

Введение. В ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» разработана технология модифицирования протезов кровеносных сосудов (ПКС) диаметром не менее 6 мм и кардиохирургических заплат из синтетических волокон биodeградируемым покрытием на основе желатина, биологически активных веществ и лекарственных препаратов с целью придания им тромборезистентности, антимикробности, нулевой хирургической пористости. На серийный выпуск этих изделий получены разрешительные документы Росздравнадзора РФ. В настоящее время накоплен клинический опыт применения более 4500 штук протезов кровеносных сосудов «БАСЭКС» (исходная текстильная основа – ООО «ПТГО СЕВЕР», Россия) и более 750 штук кардиохирургических заплат «БАСЭКС-Patch» в ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева». Изделия «БАСЭКС» отличает наличие комплекса функциональных свойств, которых нет у других фирм: тромборезистентность, антимикробность, нулевая хирургическая пористость. На сегодняшний день идеальных сосудистых протезов нет. И протезы кровеносных сосудов «БАСЭКС» имеют недостаток, связанный с качеством текстильной основы.

Цель. С учетом полученного опыта клинического применения протезов кровеносных сосудов и заплат с покрытием «БАСЭКС» продолжить усовершенствование текстильных медицинских изделий, используя уже разработанный метод модифицирования на текстильных основах разных структур.

Материалы и методы. Для изготовления сосудистых протезов с биodeградируемым покрытием в качестве исходных использованы ПКС ООО «ПТГО СЕВЕР» (Россия), «Perouse» (Франция), тканевые заготовки ООО «Специальное конструкторское бюро медицинской тематики» (Россия). Для получения биodeградируемых композиций использовали высокоочищенный желатин. Для придания необходимого комплекса свойств ПКС использовали антикоагулянты, антиагреганты тромбоцитов, антимикробные препараты, пластификатор. Сшивку желатина проводили глутаровым альдегидом и для сравнения термообработкой.

Деформационно-прочностные свойства модифицированных сосудов определяли в условиях одноосного растяжения при 20–220С и скорости растяжения

не более 10 мм/мин, на универсальной испытательной машине Zwick/Roell Z 2.5/TN1S. Водопроницаемость образцов определяли по ГОСТ Р 51566-2000. Дegradацию покрытия изучали в модельных средах: гелофузине и физиологическом растворе при 37°С.

Результаты. На пути подбора оптимальной основы и компонентов для модифицирования текстильных медицинских изделий есть нерешенные задачи. С целью достижения оптимальных физико-химических, физико-механических и биологических свойств протезов кровеносных сосудов и кардиохирургических заплат нами ведется поисковая работа по двум направлениям: поиск оптимальной текстильной основы (тканые синтетические материалы различных вариантов ткачества и вязаные текстильные основы) и варьирование характеристик биodeградируемого покрытия. Так как на процесс гелеструктурообразования влияет много факторов: температура, вязкость, рН раствора, условия сшивки желатина, то целесообразно применение математических методов планирования эксперимента для оптимизации процесса модифицирования. Это позволяет минимизировать общее число необходимых опытов и выбрать оптимальные параметры процесса, которые будут обеспечивать улучшенные функциональные свойства текстильным медицинским изделиям. Получена зависимость свойств покрытия (масса, толщина, продолжительность гидролитической устойчивости, эластичность, прочность) от свойств текстильной основы. Результаты позволяют сделать вывод о том, что целенаправленно изменяя текстильную основу можно совершенствовать функциональные свойства текстильных медицинских изделий (тромборезистентность, антимикробность, нулевая хирургическая пористость, оптимальные прочностные характеристики).

Выводы. Согласно накопленному опыту клинического применения протезы кровеносных сосудов и заплат «БАСЭКС» обладают уникальным комплексом свойств, что позволяет широко применять их в сердечно-сосудистой хирургии и получать улучшенные результаты при протезировании кровеносных сосудов диаметром более 6 мм.

Изменяя текстильную основу, можно регулировать и целенаправленно изменять физико-механические параметры текстильных медицинских изделий.

ПОИСК БИОМАРКЕРОВ ОСТРОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА ПО ДАННЫМ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ПРОФИЛИРОВАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЛГОРИТМОВ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ

Осьмак Г.Ж.^{1,2}, Баулина Н.М.^{1,2}, Фаворова О.О.^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации; ²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Введение. Инфаркт миокарда (ИМ) – одна из наиболее тяжелых форм ишемической болезни сердца (ИБС) и главная причина смертности от неинфекционных заболеваний в мире. К числу фундаментальных причин, приводящих к ИМ, может быть отнесена наследуемая или приобретенная разбалансировка внутриклеточных сигнальных путей клеток иммунной системы. В настоящей работе для поиска таких сигнальных путей проведена оценка изменений транскрипционного профиля в мононуклеарных клетках периферической крови (МНК) у больных ИМ относительно здоровых индивидов. Очевидно, что ценность теоретических построений может быть определена по возможности их прикладного использования. Поэтому в обнаруженных разбалансированных сигнальных путях проведен поиск экспрессионных паттернов генов, которые позволяют получать классификационные модели, устойчивые на независимых наборах данных.

Цель. Оценить изменения транскрипционного профиля в МНК у больных ИМ относительно здоровых индивидов и применимость наблюдаемых изменений для диагностики заболевания.

Материалы и методы. Для оценки изменений в экспрессии генов у больных ИМ ($n = 6$) относительно здоровых индивидов ($n = 6$), проводили транскрипционное профилирование с использованием биологических микроматриц высокой плотности GeneChip Human Transcriptome Array 2.0, с последующей валидацией на открытых наборах данных GSE59867 и GSE62646. Для поиска оптимального решения задачи классификации обучали модель логистической регрессии при помощи средств библиотеки scikit-learn v0.20.3 for Python с регуляризацией по ℓ_1 -норме и 10-кратной кросс-валидацией для прореживания признакового пространства и отбора наиболее значимых генов. Тестирование полученных моделей проводили на отложенном наборе данных, не используемом при обучении.

Результаты. При сравнении транскрипционных профилей больных ИМ и здоровых индивидов обнаружена и подтверждена на двух независимых наборах данных ассоциация ИМ с экспрессией 19 генов. Пять из них относятся к генам лектин-по-

добных рецепторов натуральных киллеров: *KLRB1*, *KLRC1*, *KLRD1*, *KLRF1*, *KLRK1*; восемь – к системе цитокиновых сетей и регулирующих из микроРНК: *PDGFD*, *BCL6*, *TGFBR3*, *CCR1*, *S100A12*, *MAFB*, *MIR21*, *MIR223*; пять – к системе сигнальных путей, участвующих в дегрануляции нейтрофилов: *CR1*, *SLC11A1*, *C3AR1*, *S100A12*, *CD14*. Диагностическая ценность обнаруженных ассоциаций может быть оценена по качеству классификации больных индивидов от здоровых контролей. Для поиска оптимального решения этой задачи на данных GSE59867 обучена модель логистической регрессии, с последующим отбором наиболее важных для классификации генов путем введения штрафа по ℓ_1 -норме и тестированием качества полученной модели на отложенном наборе данных по метрике ROC-AUC. Проведенный анализ позволил сократить количество генов в модели до набора из генов *CD14*, *ADAP2*, *MIR21*, *KLRC1* и *PDGFD*, с качеством классификации 0.911 против 0.920 для модели, включающей все 19 генов. Стоит также отметить, что эффективность классификации остается в приемлемых пределах на протяжении 6 дней после перенесенного ИМ (AUC = 0.773) и заметно падает по прошествии 6 месяцев (AUC = 0.594). Таким образом, пяти генов достаточно для классификации больных ИМ от здоровых контролей, и эти гены могут быть отнесены к ключевым участникам в передаче внутриклеточных сигналов в МНК при ИМ.

Выводы. Выявлены экспрессионные паттерны генов, уровни которых согласованно изменяются при ИМ. Эти гены относятся к системам цитокиновой сигнальной сети, рецепторов натуральных киллеров, сигнальных путей дегрануляции нейтрофилов и микроРНК. Совместная оценка уровней их экспрессии позволяет дискриминировать больных ИМ и здоровых контролей с высоким качеством классификации на отложенном наборе данных (AUC > 0.9), что служит подтверждением достоверности обнаруженных ассоциаций и открывает перспективы для создания персонализированных диагностических инструментов.

Источник финансирования. Работа поддержана грантом РФФИ №19-315-80019.

LMNA МУТАЦИИ ОКАЗЫВАЮТ ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКОЕ ВЛИЯНИЕ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ NOTCH И ОСТЕОГЕННУЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ ПЕРВИЧНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Перепелина К.И.^{1,2}, Клаузен П.Е.^{1,3}, Костарева А.А.^{1,2}, Малашичева А.Б.^{1,2,3}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; ²Санкт-Петербургский государственный университет; ³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии Российской академии наук, г. Санкт-Петербург, Россия

Введение. Ядерные ламины А типа участвуют во многих клеточных процессах благодаря своей способности взаимодействовать с хроматином и факторами транскрипции, и, таким образом, влиять на их свойства. Мутации в гене *LMNA*, кодирующего ламин А, приводят к развитию тяжелых наследственных заболеваний – ламинопатий – при которых повреждаются различные ткани мезенхимного происхождения. Точечные мутации R527C и R471C в *LMNA* связаны с развитием мандибулоакральной дисплазии, расстройством, характеризующимся выраженным нарушением остеогенной дифференцировки. Однако в настоящее время остается в значительной степени не изучено, каким образом ламин А регулирует экспрессию генов и дифференцировку клеток. Известно, что одним из основных регуляторов, определяющих судьбу клеток в ходе эмбрионального развития и в постнатальный период, является сигнальный путь Notch.

Цель. Изучить влияние тканеспецифичных *LMNA* мутаций, связанных с мандибулоакральной дисплазией, на процесс остеогенной дифференцировки и активность сигнального пути Notch в клетках мезенхимного происхождения.

Материалы и методы. Мы использовали лентивирусные конструкции, несущие *LMNA* R527C и *LMNA* R471C мутации, и исследовали их влияние на активность сигнального пути Notch в четырех типах мезенхимных клеток человека (HUVeC, HCMC, HSMC и HAVIC) в процессе остеогенной дифференцировки. Сигнальный путь Notch акти-

вировали путем введения Notch-активированного домена (NICD) на лентивирусном носителе. Оценку экспрессии остеогенных маркеров и ключевых Notch-генов проводили с помощью ПЦР в режиме реального времени. Индукцию остеогенной дифференцировки осуществляли путем добавления специфических факторов (аскорбиновая кислота 50 мкМ, дексаметазон 1мкМ, бета-глицеролфосфат 10мМ) в культуральную среду.

Результаты. Мы наблюдали широкий диапазон уровней экспрессии генов, связанных с Notch, между различными типами мезенхимных клеток, несущих *LMNA* R527C и *LMNA* R471C, при базовом уровне активности сигнального пути Notch (без введения NICD). Далее, мы показали, что при активации Notch *LMNA* R527C оказывает строго противоположный эффект в двух типах мезенхимных клетках (HCMC и HAVIC) на остеогенную дифференцировку и активность Notch.

Выводы. Таким образом, на основе полученных результатов можно сделать вывод о том, что действие *LMNA* R527C и *LMNA* R471C мутаций на сигнальный путь Notch носит строго тканеспецифичный характер. Наиболее яркий эффект данные мутации оказывают на HCMC и HAVIC. Изменчивость экспрессии Notch-зависимых генов и остеогенных маркеров способствует пространственной регуляции взаимодействия ламин А с хроматином, что может являться значимым фактором в определении судьбы клеток.

ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЙ СОСУДИСТЫЙ ИМПЛАНТАТ В ДЛИТЕЛЬНОМ ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Попов Г.И.¹, Вавилов В.Н.¹, Юкина Г.Ю.¹, Попрядухин П.В.^{2,3}, Юдин В.Е.^{2,3}, Добровольская И.П.², Иванькова Е.М.²

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; ²Институт высокомолекулярных соединений РАН; ³Санкт-Петербургский государственный политехнический университет Петра Великого, г. Санкт-Петербург, Россия;

Введение. Ежегодный рост сердечно-сосудистой заболеваемости во всем мире диктует необходимость выполнения большого числа реконструктивных оперативных вмешательств на магистральных артериях, в том числе с использованием пластического материала. Тканеинженерный сосудистый имплантат, созданный на основе биоразлагаемой полимерной матрицы, соответствующий морфологии естественного сосуда и таким образом лишенный недостатков синтетических сосудистых протезов, крайне необходим для получения долгосрочного результата в лечении больных. Поэтому изучение разрабатываемых полимерных матриц должно проводиться в длительных хронических экспериментах с достижением тотальной резорбции материала каркаса. Ибо риск развития аневризм или стенозирования зоны реконструкции, кальцификации стенки графтов и пр., можно оценить только в этом случае.

Цель. Предупреждение образования аневризм тканеинженерного сосудистого имплантата в длительных хронических экспериментах с использованием комбинированной полимерной матрицы с внешним биостабильным слоем.

Материалы и методы. Исследование выполнено с использованием двух типов матриц: в первой группе – из микроволокон поли(L-лактида) (ПЛА) Mw = 70 кДа (Corbion Purac, Голландия), получены электроформованием на установке Nanop-01A (MECC CO., LTD, Япония) с последующей термообработкой. Во второй - комбинированные двуслойные матрицы из ПЛА и сополимера трифторхлорэтилена и фторвинилидена (Ф-32) марки Ф-32ЛВ Mw = 60 кДа («Пластоплимер плюс», Россия), получены послойным электроформованием растворов ПЛА и Ф-32. Механические характеристики матриц оценивали на установке Instron model 5943 (Instron, Великобритания). Исследованы барьерные свойства матриц. Выполняли протезирование брюшной аорты крыс Wistar: в каждой группе 36 животных, сроки наблюдения 2 сут. и 1, 2, 4, 12, 24, 48, 56, 64 недели. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, методом Маллори (Bio-Optica, Италия). Выполняли морфометрическое исследование (ImageScore M) и иммуногистохимическую

окраску: поликлональные антитела к PECAM-1/CD31 (SantaCruzBiotechnology, США), моноклональные к альфа-гладкомышечному актину α -SMA (Dako, США) и CD-68 (Anti-CD68 antibody, Abcam, Великобритания). Изучение микроструктуры и процессов биорезорбции эксплантированных матриц проводили с помощью СЭМ (Quorum, Q150T ES, Германия).

Результаты. Получены ПЛА матрицы и комбинированные графты с внутренним диаметром 1,1 мм, толщиной стенки 250 мкм. Показатели прочности статистически значимо превышали таковые нативной аорты крысы ($p < 0,05$). Нагрузка, приводящая к прорезыванию стенки ПЛА матрицы составила $2,66 \pm 0,74$ Н, комбинированного графта $2,81 \pm 0,72$ Н, аорты крысы $1,09 \pm 0,23$ Н ($p < 0,05$). Величина критического давления для ПЛА матрицы $25,75 \pm 2,91$ мм рт.ст., для комбинированного графта $63,25 \pm 2,57$ мм рт.ст. Проподимость в первой группе 86 % (31/36): тромбоз на 3 (n = 3) и 7 сутки (n = 2); во второй 88 % (32/36): тромбоз на 2 сутки (n = 2), на 7 и 14 сутки. Во всех группах отсутствовали признаки миоинтимальной гиперплазии в зоне анастомозов. Через 4 недели ЭК находили на всей внутренней поверхности имплантатов. ИГХ выявило в стенке матрицы α -актин-содержащие клетки (миофибробласты, ГМК); CD-68 позитивные клетки. В группе №1 через 64 недели у всех животных макроскопически в зоне реконструкции были обнаружены аневризматические расширения. Микроскопически стенка имплантата состояла только из нативных тканей (клетки и волокна соединительной ткани). По данным СЭМ зарегистрирована тотальная резорбция волокон полимера. В группе №2 отсутствовали признаки аневризматической трансформации в зоне расположения матрицы на всех сроках наблюдения.

Выводы. Таким образом, внешний нерезорбируемый слой комбинированных графтов играл важную роль в предотвращении расширения брюшной аорты в месте расположения имплантатов у крыс в длительных хронических экспериментах.

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 19-73-30003).

НАРУШЕНИЕ БАЛАНСА НАТРИЯ КАК ПРЕДИКТОР РАЗВИТИЯ ДЕЛИРИЯ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИХ ОПЕРАЦИЙ

Распитин Д.А.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Россия

Введение. В настоящее время кардиохирургические операции получили широкое распространение благодаря достижениям анестезиологии и реаниматологии в вопросах поддержания жизнедеятельности организма больного в условиях искусственного кровообращения, а также за счет постоянного совершенствования аппаратов и методик, применяемых для выполнения данных манипуляций. Несмотря на это, объем операции и использование технологии искусственного кровообращения (острое смешивание крови пациента с праймом для заполнения аппарата искусственного кровообращения) предполагает введение больших объемов инфузионной терапии, преимущественно натрий-содержащих растворов, что приводит к изменению осмолярности плазмы крови и перераспределению жидкости в водных секторах организма с последующей внутриклеточной дегидратацией. Нарушение баланса натрия может быть одной из причин развития послеоперационного делирия, который часто возникает после кардиохирургических операций в условиях искусственного кровообращения.

Цель. Оценить влияние гиперосмолярности плазмы вследствие изменения баланса натрия во внеклеточной жидкости на степень внутриклеточной дегидратации и развитие послеоперационного делирия.

Материалы и методы. В рассматриваемую нами группу было включено 48 пациентов после кардиохирургических операций в условиях искусственного кровообращения в возрасте от 52 до 77 лет. Критериями включения в исследование были возраст старше 18 лет, выполненное кардиохирургическое вмешательство в условиях искусственного кровообращения, отсутствие в анамнезе психических расстройств. Критериями исключения служили: искусственная вентиляция легких более двух суток, кардиогенный шок, наличие в анамнезе у пациентов хронической болезни почек, психических расстройств, алкоголизма. Исходя из веса пациента рассчитывались объемы водных секторов организма до операции, т.е. общее количество воды, объем внеклеточной и внутриклеточной жидкости. Вычислялось общее количество натрия, введенного за сутки, определялась суточная экскреция натрия с мочой. На основании этих двух показателей оценивался прирост натрия за сутки, т.е. положительный натриевый баланс. Рассчитывались прирост натрия в одном литре внеклеточной жидкости, максималь-

ный уровень натрия во внеклеточной жидкости. С помощью математических формул определяли объем внутриклеточного водного сектора после дегидратации. В завершении определяли процент внутриклеточной дегидратации от исходного уровня. На следующие сутки после операции в 9:00 и в 16:00 при помощи МОСС-ОРИТ и Ричмондской шкалы возбуждения и седации (РШВС) проводили диагностику делирия.

Результаты. Установлено, что:

1. среднее значение натрия при поступлении составляло 136,9 ммоль/л (129 ммоль/л – 143 ммоль/л);
2. в первые сутки послеоперационного периода в среднем вводилось 637 ммоль натрия (372,68 ммоль – 1055,6 ммоль);
3. суточная экскреция натрия в среднем составила 173 ммоль/сутки (45 ммоль/сутки – 357 ммоль/сутки);
4. положительный натриевый баланс в среднем составил 463,5 ммоль (51,3 ммоль – 774,8 ммоль);
5. прирост натрия за сутки в среднем составил 26,93 ммоль/л (2,61 ммоль/л – 47,73 ммоль/л);
6. послеоперационное значение натрия в среднем составило 144,6 ммоль/л (140,0 ммоль/л – 152,0 ммоль/л);
7. объем внутриклеточной дегидратации в среднем составил 3 литра (0,37 л – 5,61 л);
8. в исследуемой группе пациентов частота возникновения делирия составила 55%.

Полученные данные свидетельствуют о том, что:

1. Абсолютно во всех случаях наблюдался положительный натриевый баланс в операционные сутки;
2. Изменение баланса натрия у всех пациентов приводило к возникновению внутриклеточной дегидратации;
3. В зависимости от процента внутриклеточной дегидратации можно выделить 3 степени риска возникновения послеоперационного делирия (низкий риск – при внутриклеточной дегидратации до 8%, средний риск – при проценте внутриклеточной дегидратации от 9,2% л до 17,6%, высокий риск – при проценте внутриклеточной дегидратации выше 21 %).

Выводы. Кардиохирургические операции в условиях искусственного кровообращения сопряжены с инфузией больших объемов натрийсодержащих растворов, что приводит к гиперосмолярной внутриклеточной дегидратации из-за нарушения баланса натрия и может являться триггером в развитии послеоперационного делирия.

ЭНДОТЕЛИЙ-ЗАВИСИМАЯ ВАЗОДИЛАТАЦИЯ И АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ СТЕНКИ: ОСОБЕННОСТИ СВЯЗЕЙ В ПОЖИЛОМ ВОЗРАСТЕ

Рябиков А.Н.^{1,2}, Трошина М.С.¹, Рябиков М.Н.¹, Палехина Ю.Ю.¹, Малютина С.К.^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук; ²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Россия

Введение. Наличие субклинического атеросклероза увеличивает риск ишемической болезни сердца (ИБС) на 1,2%–3,3% ежегодно. Наиболее распространенным методом оценки атеросклероза на сегодняшний день является идентификация АСБ при ультразвуковом исследовании сонных артерий; вспомогательное значение имеет определение толщины комплекса интима–медия (ТИМК). Многие клинические работы экстраполируют данные исследований периферических сосудов на коронарное русло, демонстрируя генерализованную природу атеросклероза. Понятие эндотелиальной дисфункции (ЭД) включает в себя изменения функционирования эндотелиальных клеток, связанные с развитием атеросклероза и артериальной гипертензией. В частности, это нарушение равновесия между вазодилатирующими и вазоконстрикторными факторами, обеспечивающими сосудистый тонус. Многие исследования говорят о том, что ЭД играет ведущую роль в начальных нарушениях сосудистого тонуса, ранних стадиях атеросклероза и развития ССЗ. В то же время, ЭД связана с прогрессированием этих состояний. Поэтому изучение ЭД в общей популяции с умеренной долей манифестных ССЗ, но с факторами риска развития атеросклероза и в различном возрастном диапазоне – важный шаг к разработке новых методов профилактики и оценки прогностического риска ССЗ.

Цель. Оценить связь эндотелиальной дисфункции с атеросклеротическими изменениями стенки сонных артерий в популяционной выборке старше 55 лет.

Материалы и методы. Исследование выполнено на популяционной выборке мужчин и женщин в возрасте 55–84 лет (Новосибирск, базовая когорта проекта НАРИЕЕ). В случайной подвыборке из 788 человек была изучена функция эндотелия крупных артерий с помощью ультразвуковой оценки поток-зависимой вазодилатации (ПЗВД) на плечевой артерии (ПА). Использовали ультразвуковой сканер Vivid q (GE HealthCare), линейный датчик 5–13 МГц. Оценивали базальный диаметр ПА (DB), пиковый диаметр ПА (DRH) в течение 30–60 секунд после 5-минутной окклюзии манжеты и в период восстановления. Измерения выполняли off-line на сохраненном цифровом изображении, использовали среднее из 3-х измерений. ПЗВД выражалась в

процентных изменениях диаметра при гиперемии по отношению к базальному диаметру: $ПЗВД\% = (DRH - DB) / DB \times 100\%$. ПЗВД менее 10% расценивалась как ЭД. Выраженность атеросклероза определялась с помощью ультразвуковой оценки ТИМК и частоты атеросклеротических бляшек (АСБ) сонных артерий. Измерения ТИМК проводили по протоколу ASE, нормой считалось значение ТИМК <0,9 мм. АСБ определяли по критериям Mannheim Consensus при локальном утолщении стенки артерии >1,5 мм, или превышающем на 50% и более толщину прилегающего неизмененного интимо-медиадного комплекса. Анализ проводили на основе статистического пакета SPSS v.13.0. Распределение показателей ПЗВД не было нормальным ($p < 0,001$) и при расчете параметрических статистик пользовались логарифмированными значениями показателей ПЗВД. В линейном регрессионном анализе и анализе ANOVA применяли нестандартизованные и стандартизованные по возрасту модели.

Результаты. В обследованной популяционной выборке в возрасте 55–84 лет средние показатели ПЗВД составили у мужчин 2,7% (Медиана, Ме 2,8%; SD 7,31), у женщин 3,2% (Ме 3,2; SD 7,19) и достоверно не различались по полу. Частота ЭД составила 88,2% у мужчин и 85,8% у женщин. Средние показатели ТИМК были выше у мужчин 0,95мм (SD 0,18), чем у женщин 0,88мм (0,17), $p < 0,001$. Частота АСБ также была выше среди мужчин по сравнению с женщинами (80,4% против 71,9%), $p = 0,036$. Среди мужчин в группе с ЭД по сравнению с группой без ЭД были выше уровень триглицеридов, индекс массы тела, индекс окружность талии/окружность бедер. Среди женщин в группе с ЭД по сравнению с группой без ЭД были выше частота настоящего и прошлого курения. Мы не обнаружили достоверной линейной связи ПЗВД% и ТИМК у мужчин ($\beta = -1,76$, SD 2.25, $p = 0,463$) и женщин ($\beta = -2,19$, SD 2.15, $p = 0,309$), хотя коэффициенты в возраст-стандартизованной регрессионной модели были ожидаемого направления (отрицательные). Аналогично, в обследованной выборке 55–84 лет не выявлено достоверных ассоциаций ЭД по показателю ПЗВД с увеличением ТИМК или наличием АСБ у мужчин и женщин. При разделении на возрастные группы отмечено увеличение ТИМК при ПЗВД <10% только у женщин в возрасте младше 75 лет

($p = 0,047$). Частота множественных АСБ была выше при наличии ЭД у женщин самой старшей группы (80–85 лет).

Выводы. В обследованной популяционной выборке преимущественно пожилого и старческого возраста (55–84 года) эндотелиальная дисфункция прямо ассоциировалась с кардиометаболическими факторами риска у мужчин и с курением у женщин. В выборке 55–84 лет не выявлено достоверных ассоциаций частоты ЭД и величины ПЗВД с ТИМК или наличием АСБ сонных артерий. Это диссонирует с данными литературы для групп молодого и среднего возраста и, вероятно, связано с высокой распространенностью атеросклероза в пожилом и старческом возрасте в изучаемой популяции. Только у женщин, не достигших 75 лет, наличие ЭД ас-

социировалось с увеличением ТИМК. Критерий ЭД по снижению ПЗВД < 10%, очевидно, недостаточно специфичен для выявления эндотелиальной дисфункции в пожилом и старческом возрасте. Выявленные нами ассоциации количественного показателя эндотелий-зависимой вазодилатации с кардиометаболическими факторами риска в изученном возрастном диапазоне указывают на сохраняющуюся значимость коррекции кардиометаболических факторов в профилактике ССЗ и их прогрессирования в пожилом возрасте.

Источник финансирования. Проект НАРПЕЕ поддержан грантом Wellcome Trust (081081AIA), обследование 2015-17гг. поддержано грантом РФФИ №14-045-0030-П и бюджетом РАН (0324-2018-0001).

ДИАГНОСТИКА ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ МЕТОДОМ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Салахов Р.Р.^{1,2}, Зарубин А.А.¹, Павлюкова Е.Н.³, Канев А.Ф.³, Глотов О.С.⁴, Алавердян Д.А.⁴, Цай В.В.⁴, Назаренко М.С.^{1,2}, Голубенко М.В.¹, Пузырев В.П.^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; ²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; ³Научно-исследовательский институт кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Россия; ⁴Санкт-Петербургское Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская больница №40», г. Санкт-Петербург, Россия

Введение. Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) является наиболее распространенным наследственным сердечно-сосудистым заболеванием, характеризующимся идиопатической асимметричной гипертрофией миокарда, интерстициальным фиброзом, высоким риском внезапной смерти. В последнее время в генодиагностике находят широкое применение массовое параллельное секвенирование или «секвенирование следующего поколения» (NGS), которое позволяет по-новому взглянуть на диагностику различных заболеваний, в том числе ГКМП, и обеспечить основу для практического применения генетического тестирования. Среди генов, связанных с развитием ГКМП, главным образом, выделяют *MYBPC3* и *MYH7*, однако общее число генов ГКМП может достигать нескольких десятков.

Цель. Поиск мутаций, ассоциированных с развитием гипертрофической кардиомиопатии.

Материалы и методы. Мы провели поиск генетических вариантов, ассоциированных с развитием ГКМП, с помощью NGS у 12 пациентов с клиническим диагнозом ГКМП. Все пациенты были обследованы в НИИ кардиологии Томского НИМЦ. Для анализа использовали NGS-панель «TruSight Cardiomyopathy» (Illumina, США), в которую входит 46 генов наследственных кардиомиопатий. ДНК-библиотеки были подготовлены в соответствии с протоколом целевого обогащения и просеквенированы на приборе MiSeq (Illumina, США) с длиной прочтения 2*150 п.н.

Результаты. В результате анализа полученных данных нами были выбраны 9 потенциально патогенных вариантов, выявленные у восьми пациентов из двенадцати (см. таблицу). Согласно рекомендациям по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования, 6 из этих вариантов были классифицированы как патогенные и вероятно патогенные, а 3 – как варианты неизвестного значения. Обе мутации в самом частом гене ГКМП (*MYH7*) были локализованы в конвертерном домене белка: известно, что мутации в этом домене характеризуются неблагоприятным прогнозом. Одна пациентка имела два потенциально значимых варианта: ранее описанная мутация в гене тропонина Т (*TNNT2*) и вариант неопределенного значения в гене десмоколлина-2 (*DSC2*), известного как ген аритмогенной дисплазии правого желудочка (*ARVD*). Интересно, что еще у одного больного была выявлена мутация в гене *ARVD* – в гене плакофилина-2 (*PKP2*), хотя фенотип соответствовал гипертрофической кардиомиопатии. Подобные случаи описаны в литературе. Еще один вероятно патогенный вариант был выявлен в гене *LAMP2*, мутации которого приводят к болезни Данона (накопление гликогена в лизосомах), которая проявляется, в том числе и гипертрофической кардиомиопатией.

Выводы. Полученные результаты подчеркивают генетическую гетерогенность ГКМП и необходимость проведения молекулярно-генетического обследования пациента.

Таблица. Оценка функциональной значимости генетических вариантов, выявленных у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией

№	Ген	Аминокислотная замена	Программы оценки патогенности					Популяционная частота		Оценка патогенности варианта
			1	2	3	4	5	1000g eur	gnomAD NFE	
1	<i>TNNT2</i>	p.R278C	Probably damaging	T	T	M	A	0	4,0*10 ⁻⁴	Патогенный
2	<i>ACTN2</i>	p.A166V	Possibly damaging	D	T	M	D	0	0	Неопределённого значения
3	<i>MYBPC3</i>	p.A774T	Benign	D	T	M	N	0	6,8*10 ⁻⁶	Неопределённого значения
4	<i>PKP2</i>	p.Q181X	-	-	-	-	A	0	0	Патогенный
5	<i>MYH7</i>	p.R719Q	Benign	D	D	L	A	0	0	Патогенный
6	<i>MYH7</i>	p.L714R	Benign	D	D	L	D	0	0	Патогенный
7	<i>DSC2</i>	p.E896fs	-	-	-	-	-	3,6*10 ³	8,4*10 ⁻³	Неопределенного значения
8	<i>MYOZ2</i>	p.I246M	Benign	D	T	L	D	0	0	Вероятно патогенный
9	<i>LAMP2</i>	p.V64fs	-	-	-	-	-	0	0	Вероятно патогенный

Примечание: «-» – нет данных. Программы оценки патогенности: 1 – Polyphen2 HVAR; 2 – SIFT, 3 – FATHMM (D – вредная (deleterious), T – толерантная (tolerated)); 4 – MutationTaster (M – функциональная (functional), L – нефункциональная (non-functional)); 5 – MutationAssessor (A – связанная с заболеванием по умолчанию (disease causing “automatic”), D – связанная с заболеванием (disease causing); N – нейтральная (neutral)). Популяционная частота приведена для европейцев из данных проекта «1000 геномов» и gnomAD

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ АУТОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ МИОКАРДА НА МОДЕЛИ ИЗОЛИРОВАННОГО СЕРДЦА ПО ЛАНГЕНДОРФУ ПРИ ИШЕМИИ С КАРДИОПЛЕГИЕЙ

Салмин В.В., Фролова О.В.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Красноярск, Россия

Введение. На сегодняшний день, наиболее эффективным способом лечения терминальной сердечной недостаточности – является трансплантация сердца, обеспечивающая 10-12 летнюю выживаемость пациентов. Показатель трансплантации сердца в РФ по данным за 2015 г. составляет 1,2 на млн. населения. Большой интерес в анализе ишемии имеет зависимость показателей аутофлуоресценции с обратимыми процессами, например, гликолиза. Для этого можно контролировать уровень высвобождаемого лактата или общего лактата в ткани. Установлено, что лактат считается важным энергетическим посредником, связывающим метаболизм различных органов и тканей в соответствии с их энергетическим состоянием. При сокращении и расслаблении, лактат полностью окисляется миоцитами сердца, для выработки энергии. Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) осуществляет контроль внутриклеточного окислительно-восстановительного статуса и является ключевым медиатором окисления лактата.

Цель. Изучение связи параметров гликолиза во время острой ишемии миокарда с фармакохолодовой кардиоплегией и параметров УФ-индуцированной аутофлуоресценции миокарда.

Материалы и методы. Объектом исследования стали 15 крыс – самцы линии Wistar в возрасте от 3 до 6 месяцев, с массой тела до 500 грамм, которым под анестезией (хлоралгидрат – 100–150 мг/крысу с премедикацией ксилазином 0,2–0,4 мл/крысу) извлекали сердце с выделением аорты. Сердце канюлировали за аорту и производили ретроградную перфузию методом Лангендорф в течение 25 минут, раствором Кребса-Хензеляйта. Затем производилось введение охлажденного (4°C) кардио-

плегического раствора «Кустодиол» со скоростью 20 кап/мин, в течение 8 минут. После прекращения перфузии и термостатировали (4°C) сердце в растворе «Кустодиол» в течение 220 минут. Забор перфузионной жидкости осуществлялся через 25 минут после перфузии миокарда, через 10 и 25 минут реперфузии, в объеме 1,5 мл. На полученных сердцах производили оценку спектра флуоресценции и определение уровня лактата на анализаторе Solar (Россия) с использованием реактивов фирмы H. TECHNOLOGI.

Результаты. При оценке спектра флуоресценции миокарда, полученного от экспериментальных животных, главный пик флуоресценции приходится на длину волны 480 нм, близкий к пику флуоресценции (НАДН) на начальном 5 минутном этапе ишемии. При этом длительность переходных процессов метаболизма в миокарде при охлажденной до 4°C фармо-холодовой кардиоплегии (90±40 мин), значительно больше, полученной нами ранее в экспериментах с применением фармакологической кардиоплегии при температуре 20 С. (8-10 мин). При оценке уровня лактата в полученных пробах, отмечается снижение его содержания к 10 и 25 минуте реперфузии. При этом получены значимые корреляционные связи относительного прироста и скорости роста интенсивности флуоресценции на длине волны 475 нм и уровня лактата до начала ишемии и после 10 мин реперфузии.

Выводы. При проведении эксперимента видно, что происходит замедление уровня метаболизма при использовании охлажденной кардиоплегии, и увеличение скорости роста интенсивности флуоресценции на длине волны 475 нм от уровня лактата.

БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ИЗДЕЛИЯ НА ОСНОВЕ ПРИРОДНЫХ ПОЛИМЕРОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ СПАЕЧНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Салохединова Р.Р., Низова Н.В., Новикова С.П., Бокерия Л.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Введение. С целью уменьшения спайкообразования предложены различные средства, в т.ч. барьерные: растворы, гели, мембраны биодеградируемые и небиодеградируемые, лекарственные препараты. Результаты применения лекарственных препаратов не подтвердили их высокую противоспаечную эффективность. Жидкие барьеры также во многих случаях показали низкую эффективность, т.к. легко вымываются. Гели трудно удерживаются в целевых местах, быстро разлагаются. Наиболее эффективны и перспективны в профилактике спайкообразования могут быть барьерные биодеградируемые материалы в виде плёнок/мембран. Из природных полимеров наибольшее применение для этих целей получили белки – желатин, коллаген; полисахариды – хитозан, целлюлоза и её производные, гиалуроновая кислота; полиэфир – полилактид, поликапролактон. На территории России зарегистрировано только 3 противоспаечных изделия в виде плёнок/мембран. Они все импортные и в своём составе не содержат лекарственных препаратов направленного действия – КолГАРА (коллаген, Германия), REPEL-CV (полимолекулярная кислота и полиэтиленгликоль, США), Интерсид (окисленная регенерированная целлюлоза, Швейцария). В связи с этим актуальна проблема создания отечественных изделий для профилактики спаечных осложнений в виде плёнок/пластин/мембран с иммобилизованными биологически активными веществами (БАВ). В качестве БАВ особое внимание заслуживают препараты природного происхождения, содержащие растительные полифенолы, алкалоиды и пр., обладающие широкой биологической активностью и минимальной токсичностью.

Цель. Получение биодеградируемых биоактивных плёнок на основе желатина с регулируемыми свойствами для возможной профилактики послеоперационных спаечных осложнений в ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н.Бакулева».

Материалы и методы. Плёнки получали из высокоочищенного модифицированного животного желатина – ОАО «Можелит», г. Могилёв поливом из водного раствора. Сшивающий агент – глутаровый альдегид («Panreac», Испания) вводили в раствор желатина. Плёнки получали на основе желатина и желатина с фитопрепаратами, содержащими флавоноиды, алкалоиды, эфирные масла, органические кислоты, дубильные вещества и другие БАВ с противовоспалительными, антисептическими, ранозаживляющими, антиоксидантными свойствами. Пластификатор – глицерин. Сушка при комнатной температуре 36–72 ч. Толщина плёнок 0,08–0,10 мм. Стерилизация плёнок – окисью этилена при температуре 37°C. Методы оценки *in vitro*, *in vivo*: физико-химические (кинетика выделения БАВ, сроки деградации), физико-ме-

ханические (прочность, эластичность), биологические (стерильность, био- и гемосовместимость), экспериментальные на животных (крысы, свиньи).

Результаты. В НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева была разработана технология получения биодеградируемых плёнок на основе желатина – «АНТИСПАЙ-ЛАБ». Исследования *in vitro* и *in vivo* показали перспективность применения этих материалов в профилактике спайкообразования в полости перикарда, брюшной полости, малом тазу. В экспериментах на свиньях сравнительная оценка «АНТИСПАЙ-ЛАБ» с аналогом «КолГАРА» (коллаген, Германия) показала сопоставимую эффективность испытываемых материалов в снижении спайкообразования – плёнки проявляли барьерные свойства, снижали интенсивность формирования спаек: спайки или отсутствовали, или были мягкими, легко разделяющимися пальцами. На изделие «АНТИСПАЙ-ЛАБ» получено Регистрационное удостоверение Росздравнадзора № РЗН 2018/7288 от 19.06.2018. Благодаря своим хорошим геле- и плёнокообразующим свойствам, высокой сорбционной ёмкости, биосовместимости, способности к биодеградации желатин служит хорошей матрицей для различных биологически активных веществ, обладает адгезионными свойствами к биологической ткани, что важно при получении противоспаечных материалов. В НМИЦ ССХ им. А.Н.Бакулева продолжается работа по получению плёночных композиций на основе желатина с различным сочетанием биологически активных веществ, которые могут усилить противоспаечный эффект. Получены плёнки с регулируемыми характеристиками: сроки деградации (от 2-х до 5 недель), прочность (0,3–0,9 МПа), пролонгированное выделение БАВ (после 40 часов остаётся примерно 15–20% алкалоида, 60–70% флавоноидов). При контакте с кровью *in vitro* образцы не оказывали отрицательного влияния на параметры крови; при взаимодействии с клетками (костномозговые мононуклеары) также подтверждена биосовместимость материалов – высокая жизнеспособность клеток на плёнках после длительной культивации (24 дня). Испытания *in vivo* на крысах, свиньях на сроках наблюдения до 30 суток показали перспективность работ по получению и применению плёночных материалов с БАВ из растительных источников в профилактике спайкообразования.

Выводы. Изменяя технологические параметры, можно регулировать скорость высвобождения БАВ, прочностные характеристики, сроки деградации материалов, добиваться положительного эффекта при малых дозах препарата за счёт его пролонгированного выделения из полимерной биодеградируемой матрицы.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ ВНУТРЕННЕГО РЕГЕНЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ПОВРЕЖДЕННЫХ ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ

Севастьянов В.И., Немец Е.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России, г. Москва, Россия

Введение. В последнее время большое внимание уделяется разработке новых подходов к лечению органной недостаточности, основанных на применении технологий тканевой инженерии и регенеративной медицины. К одному из перспективных способов стимуляции процессов восстановительной регенерации поврежденных тканей относится использование инъекционных форм клеточно-инженерных конструкций, состоящих из биомиметиков внеклеточного матрикса (ВКМ) с посеянными культурами клеток. К таким биомиметикам ВКМ относятся биополимерные гидрогели и децеллюляризованные биоткани.

Цель. Провести сравнительный анализ способности матриксов на основе биополимерного гидрогеля и децеллюляризованных биотканей обеспечивать *in vitro* жизнеспособность и сохранение функциональных свойств клеточных культур на примере клеточно-инженерных конструкций (КИК), созданных на их основе.

Материалы и методы. В качестве гидрогелевого матрикса был выбран биополимерный микроструктурированный коллагенсодержащий гидрогель (БМКГ), АО «Биомир сервис». Тканеспецифические матриксы представляли собой децеллюляризованные мелкодисперсные частицы (ДМЧ) тканей печени свиньи (ДМЧП), суставного хряща свиньи (ДМЧХ) и поджелудочной железы крысы (ДМЧПЖ), микронизированные методом криопомола. Образцы ДМЧП получали последовательной обработкой исходных МЧ печени растворами поверхностно-активных веществ (ПАВ) 0,1% додецилсульфата натрия и Тритона X-100 с повышающейся концентрацией (1, 2 и 3%) в фосфатно-солевом буфере (ФСБ, pH = 7,4) в условиях периодического перемешивания. Для получения ДМЧХ обрабатывали МЧ хряща растворами ПАВ, аналогично МЧП, но в сочетании с дополнительным воздействием ультразвуком, циклическим замораживанием (-196°C)/оттаиванием (37°C), обработкой сверхкритическим диоксидом углерода (ск-СО₂). Для получения ДМЧПЖ крысы исходные образцы МЧПЖ обрабатывали при постоянном перемешивании (5 об/мин) в условиях «осмотического шока» растворами ПАВ в дистиллированной воде, гиперосмолярном (1 N) хлориде натрия и фосфатном солевом буфере (ФСБ) с применением ротационной системы. Для окончательного удаления генного материала использовали ДНКазу. Сте-

пень децеллюляризации и морфофункциональные свойства образцов оценивали гистологическими методами. ДНК определяли с применением флуоресцентных красителей DAPI. Эффективность отмывки ДМЧ образцов от ПАВ оценивали по цитотоксичности ДМЧ на культурах фибробластов мышцы линии L929. Для доказательства функциональной эффективности КИК на основе БМКГ матрикса и тканеспецифических матриксов, полученных на основе соответствующих ДМЧ, использовали МСК жировой ткани человека (МСК ЖТч) и изолированные островки Лангерганса (ОЛ) с последующим привлечением гистологических методов. Жизнеспособность клеток оценивали методом флуоресцентного окрашивания (краситель кальцеин). Изолированные островки Лангерганса (ОЛ) в присутствии ДМПЖ культивировали в стандартных условиях в суспензионной культуре. Концентрацию секретируемого ОЛ инсулина определяли с помощью набора для иммуноферментного анализа.

Результаты. Размер частиц хряща, печени и поджелудочной железы не превышал 350 мкм, при этом преобладали частицы с размером 100-250 мкм, что указывает на возможность инъекционного введения сформированных на их основе биоинженерных конструкций.

Для каждой выбранной в качестве объекта исследования биоткани подобраны время, режимы перемешивания и виды воздействий, позволяющие осуществить эффективную децеллюляризацию МЧ исследуемых тканей. Оптимальный режим для печени заключается в последовательной обработке МЧ печени в трех сменах ФСБ, содержащего 0,1% додецилсульфата натрия и повышающуюся концентрацию Тритона X 100 (1, 2 и 3%, соответственно) в течение 24 часов в каждом из растворов при периодическом перемешивании (3 раза в сутки по 1 часу на магнитной мешалке). Максимальное количество ДМЧХ, полностью свободных от клеток, было достигнуто в случае дополнительного применения 3 циклах замораживания / оттаивания с последующей обработкой ДНКазой. Аналогичный эффект наблюдали при сочетании обработки растворами ПАВ и ск-СО₂ в присутствии модификатора полярности (этанола). Было обнаружено, что перемешивание на магнитной мешалке и длительная обработка растворами ПАВ существенно нарушают структуру ткани поджелудочной железы (ПЖ) крысы. Оптимальной, с точки зрения,

минимизации нарушения структуры матрикса ПЖ в процессе децеллюляризации, была признана обработка в условиях осмотического шока (растворами 0,1% додецилсульфата на дистиллированной воде, 1N NaCl и ФБС) при постоянном перемешивании с применением ротационной системы (5 об/мин). Высокая степень децеллюляризации МЧ подтверждена не только гистологическими исследованиями, но и результатами экспериментов с применением красителя ДНК (DAPI). Все разработанные на основе тканеспецифические матриксы на основе ДМХ, ДМП и ДМПЖ биосовместимы по критерию цитотоксичности. Результаты исследований функциональных свойств БМКГ матрикса и тканеспецифических матриксов из ДМХ, ДМП и ДМПЖ в статике и в перфузионном биореакторе с четырьмя культуральными камерами показали, что МСК ЖТч адгезируют и пролиферируют на поверхности ДМХ и ДМП с образованием клеточных пластов и синтезом собственного внеклеточного матрикса. В случае образцов ДМП МСК ЖТч проникают в объем матрикса. Культивирование островков Лангерганса в присутствии БМКГ матрикса и ДМПЖ матрикса способствует не только увеличению спо-

собности ОЛ секретировать инсулин, но и поддерживают жизнеспособность клеток до 10 суток, при этом уровень секреции инсулина для ДМПЖ с ОЛ был на 35,5% выше, чем для БМКГ с ОЛ. В изолированной культуре уже на 8-е сутки сохранившиеся ОЛ не обнаруживаются.

Выводы.

1. Оптимизированы технологии получения биосовместимых децеллюляризованных мелкодисперсных частиц печени и суставного хряща свиньи, а также поджелудочной железы крысы. С применением гистологических методов и метода окрашивания ДНК доказана высокая эффективность децеллюляризации.

2. Установлена более высокая функциональная эффективность тканеспецифических матриксов основе децеллюляризованных мелкодисперсных частиц печени, поджелудочной железы и суставного хряща по сравнению с БМКГ матриксом при создании соответствующих клеточно-инженерных конструкций.

Источник финансирования. Работы выполнялась при частичном финансировании гранта РФФИ № 18-29-06012.

ИЗМЕНЕНИЯ ПРОФИЛЯ ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ПЕРВИЧНЫХ АРТЕРИАЛЬНЫХ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ КАЛЬЦИЙ-ФОСФАТНЫХ БИОНОВ

Синицкий М.Ю., Цепочкина А.В., Шишкова Д.К., Кутихин А.Г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

Введение. Кальций-фосфатные бионы (КФБ) формируются при перенасыщении крови ионами кальция и фосфора и представляют собой один из механизмов поддержания минерального гомеостаза, препятствуя кальцификации средней оболочки артерий (медии). Вместе с тем, поскольку как повышенный уровень кальция и фосфора, так и сниженный уровень ингибиторов внескелетной кальцификации в сыворотке крови являются признанными факторами риска развития атеросклероза, было предположено, что КФБ являются одним из триггеров этого патологического процесса, вызывая повреждение эндотелия. Последующие эксперименты показали, что состоящие из гидроксиапатита КФБ поглощаются артериальными эндотелиальными клетками, при растворении в лизосомах инициируют их гибель вследствие массивного выделения в цитоплазму опосредованно активирующих каспазы ионов кальция и способствуют выделению ими провоспалительных цитокинов интерлейкина-6 и интерлейкина-8. Синтезированные при тяжелом перенасыщении среды ионами кальция и фосфора игольчатые КФБ (ИКФБ) имели значительно более высокую эндотелиотоксичность, чем синтезированные при умеренном перенасыщении сферические КФБ (СКФБ), в то время как состоящие из магний фосфат гидрата магний-фосфатные бионы (МФБ) не обладали токсичностью для эндотелия. В то же время остается неясным, вызывают ли КФБ специфичный молекулярный ответ на уровне генной или белковой экспрессии.

Цель. Сравнить профиль генной экспрессии первичных эндотелиальных клеток коронарной и внутренней грудной артерии при воздействии сферических и игольчатых КФБ.

Материалы и методы. К конфлюэнтным (85-90%) коммерческим культурам первичных эндотелиальных клеток коронарной (human coronary artery endothelial cells, HCAEC; Cell Applications, 300K-05a) и внутренней грудной (human internal thoracic artery endothelial cells, HITAEC; Cell Applications, 308K-05a) артерий доноров-мужчин 27 и 50 лет соответственно на 6-м пассаже были добавлены суспензии (оптическая плотность на длине волны 650 нм 0,08-0,10) искусственно синтезированных МФБ, СКФБ или ИКФБ из расчета 100 мкл на лунку 6-луночного планшета (11 лунок на группу). Далее клетки были культивированы в течение 4 часов. В качестве контроля были использованы культуры, в которые был добавлен чистый

фосфатно-солевой буфер в том же объеме (100 мкл) с последующим аналогичным временем культивирования. Выделение тотальной РНК из клеточных суспензий (три репликаты по 3 или 4 лунки) проводилось при помощи добавленного к клеткам тризола (Invitrogen, 15596018) согласно протоколу производителя. Концентрация и качество выделенной РНК оценивались с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 (Thermo Scientific) путем измерения поглощения света при длинах волн 280 нм, 260 нм и 230 нм и расчета соотношений A260/280 и A260/230. Целостность РНК проверялась электрофорезом образцов в 3% агарозном геле с последующей визуализацией с помощью системы Gel Doc XR+ (Bio-Rad). На основе выделенной РНК с помощью реакции обратной транскрипции был проведен синтез одноцепочечной кДНК (High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit, Applied Biosystems, 4368813) на термоциклере Veriti (Applied Biosystems). Концентрация и качество синтезированной кДНК также оценивались с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 (Thermo Scientific). Экспрессия генов скавенджер-рецепторов *SCARF1*, *LDLR* и *VLDLR*, генов молекул адгезии эндотелиальных клеток *ICAM1*, *SELE1* и *SELP*, генов антиоксидантной защиты *NOS3* и *PXDN*, генов провоспалительных цитокинов *IL6*, *IL8*, *IL12A* и *CCL2*, маркеров эндотелиально-мезенхимального перехода *CDH2*, *VIM* и *MMP2* и транскрипционных факторов эндотелиально-мезенхимального перехода *SNAI1*, *SNAI2*, *TWIST1* и *ZEB1* оценивалась при помощи количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР) с детекцией результата в режиме реального времени с флуоресцентным красителем SYBR Green (PowerUp SYBR Green Master Mix, A25777, Applied Biosystems) на амплификаторе ViiA 7 (Applied Biosystems). Праймеры были разработаны с использованием баз данных для поиска праймеров PrimerBank и RTPPrimerDB и мануального скрининга в Google с последующей проверкой их качества в программах PRaTo и PCR Primer Stats. Праймеры синтезированы ЗАО «Евроген» (г. Москва). Для проведения реакции готовили реакционную смесь общим объемом 10 мкл, содержащую 5 мкл мастер-микса (A25777, Applied Biosystems), по 500 нмоль/л прямого и обратного праймеров и 10 нг кДНК. ПЦР проводили в стандартной 96-луночной оптической плашке, содержащей, помимо 26 анализируемых образцов, 5 стандартов с двукратным разведением и отрицательный контроль

(реакционная смесь без кДНК). На каждый тестируемый образец, стандарт и отрицательный контроль готовилось по три технические репликаты. Амплификацию осуществляли по стандартному протоколу производителя мастер-микса для температур плавления $>60^{\circ}\text{C}$. Нормализация результатов ПЦР проводилась с помощью трех референсных генов (генов «домашнего хозяйства») *ACTB*, *GAPDH* и *B2M* в соответствии с общепринятыми на настоящий момент рекомендациями. Для оценки эффективности ПЦР анализировали графики амплификации и стандартные кривые в программе QuantStudio Real-Time PCR Software v.1.3 (Applied Biosystems). Экспрессию изучаемых генов рассчитывали по Pfaffl-методу и выражали на логарифмической (\log_{10}) шкале в виде кратного изменения относительно контрольных образцов. Обработку результатов проводили в программе GraphPad Prism 8 (GraphPad Software). Изменения генной экспрессии считались значимыми при кратности ≥ 2 (кратность изменения ≥ 2 или $\leq 0,5$).

Результаты. Воздействие СКФБ и ИКФБ на эндотелиальные клетки коронарной и внутренней грудной артерии приводило к значимому повышению экспрессии генов *VLDLR*, *ICAM1*, *IL6*, *IL8*, *IL12A*, *CCL2*, *VIM*, *MMP2*, *SNAI1*, *TWIST1* и *ZEB1* и сниженной экспрессии генов *NOS3* и *PXDN* в обеих указанных клеточных линиях, при этом воздействие СКФБ в целом провоцировало более существенные изменения генной экспрессии в сравнении с ИКФБ. Экспрессия генов *SCARF1*, *SELP*

и *SNAI2* была повышена, а экспрессия гена *CDH2* была снижена исключительно в эндотелиальных клетках внутренней грудной артерии, в то время как экспрессия гена *SELE1* была повышена только в эндотелиальных клетках коронарной артерии при воздействии как СКФБ, так и ИКФБ. Экспозиция обеих клеточных линий МФБ не вызвала значимых изменений экспрессии изучаемых генов в сравнении с контрольными клетками, что согласуется с полученными нами ранее результатами.

Выводы. Воздействие СКФБ и ИКФБ на первичные эндотелиальные клетки коронарной и внутренней грудной артерии приводит к повышению экспрессии генов скавенджер-рецепторов, молекул клеточной адгезии, провоспалительных цитокинов, маркеров и транскрипционных факторов эндотелиально-мезенхимального перехода, а также к пониженной экспрессии генов антиоксидантной защиты в сравнении с контролем и МФБ. При этом СКФБ оказывают более выраженное воздействие на первичные артериальные эндотелиальные клетки на уровне транскриптов в сравнении с ИКФБ.

Источник финансирования. Исследование выполнено в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» за счет гранта Российского научного фонда (проект № 19-15-00032 «Молекулярные механизмы токсичности кальций-фосфатных бионов для эндотелия»).

МУТАГЕН-ОПОСРЕДОВАННОЕ ИЗМЕНЕНИЕ СЕКРЕЦИИ И ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ПРОАТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ ЦИТОКИНОВ В ЭНДОТЕЛИОЦИТАХ: ИССЛЕДОВАНИЕ IN VITRO

Синицкий М.Ю., Цепокина А.В., Асанов М.А., Шишкова Д.К., Кутихин А.Г., Понасенко А.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

Введение. По данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) в мире умирает более 17 миллионов человек, при этом в России отмечается второй наибольший ежегодный показатель смертности от ССЗ. Причиной абсолютного большинства смертей от ССЗ является атеросклероз. На настоящее время известно, что данная патология имеет, в том числе, и неопластическую природу. Принято считать, что атеросклеротические бляшки образуются в результате дисфункции эндотелия, причиной которой являются факторы сердечно-сосудистого риска и соматические мутации, вызванные наследственными факторами и генотоксическими агентами окружающей среды. Известно, что некоторые факторы риска развития атеросклероза (диабет, курение), экспозиция экзогенным и эндогенными токсическим веществам повышают образование активных форм кислорода в сосудистом русле и способствуют атерогенезу. Общее накопление мутаций в организме человека является естественным возрастным процессом, усугубляемым действием на организм различных кластогенных агентов окружающей среды как естественной (ионизирующее излучение из природных источников), так и техногенной природы. Таким образом, проблема оценки вклада мутагенеза в атерогенез имеет не только фундаментальное, но и прикладное значение для современной науки.

Цель. Оценить уровень секреции и генной экспрессии проатеросклеротических цитокинов IL6 и IL8 в первичных эндотелиальных клетках коронарной артерии человека, культивируемых в условиях индуцированного мутагенеза.

Материалы и методы. Материалом исследования послужили коммерческие культуры первичных эндотелиальных клеток коронарной артерии человека (НСАЕС). Клетки культивировались во флаконах T-75 в присутствии среды для роста клеток до достижения 80% конfluence при температуре 37°C, 5% CO₂ и повышенной влажности. После четырех пассажей клетки трипсинизировали, рассевали в восемь 6-луночных планшетов для клеточных культур и культивировали еще 24 часа в стандартных условиях. По истечению суток, старую культуральную среду удаляли, в четыре планшета приливали новую культуральную среду с мутагеном алкилирующего механизма действия митомицином С (ММС) в финальной концентрации 500 нг/мл (опыт), а в четыре других – культуральную среду с 0,9% раствором NaCl в аналогичной концентрации (контроль) и культивировали в течение 6 часов (точка 1). Далее два контрольных и два опыт-

ных планшета отправляли на иммунохимический и молекулярно-генетический анализ, а из оставшихся четырех планшетов удаляли среду, клетки двукратно отмывали холодным фосфатно-солевым буфером и добавляли новую базальную культуральную среду, после чего культивировали еще в течение суток (точка 2). Оценку содержания IL6 и IL8 проводили в культуральной среде с помощью метода ИФА в точках 1 и 2. Выделение РНК осуществляли из эндотелиальных клеток с помощью набора Qiagen RNeasy Plus Universal Mini Kit в точках 1 и 2. На основе выделенной РНК с помощью реакции обратной транскрипции синтезировались молекулы кДНК. Оценку генной экспрессии осуществляли с использованием TaqMan зондов с помощью метода реал-тайм ПЦР. Для нормирования результатов использовали три референсных гена GAPDH, HPRT1 и B2M. Экспрессию рассчитывали по методу 2-ΔΔCt и выражали как кратность изменения (fold-change) относительно контрольных образцов, экспрессия генов интереса в которых была принята за единицу. Параллельно с вышеописанным экспериментом культивировали еще четыре 6-луночных планшета, которые в дальнейшем использовали для цитогенетического анализа с помощью микроядерного теста и подтверждения наличия мутагенных эффектов в изучаемых клеточных культурах. В два планшета добавляли ММС (500 нг/мл, опыт), культивировали в течение 6 часов, проводили удаление культуральной среды с мутагеном, отмывку двукратным фосфатно-солевым буфером и культивировали клетки еще сутки в присутствии свежей базальной среды и цитохалазина Б (блокатор цитокинеза) в конечной концентрации 6 мкг/мл. В контрольные планшеты приливали 0,9% раствор NaCl и культивировали клетки по аналогичному алгоритму. По окончании культивирования среду удаляли, клетки трипсинизировали и фиксировали в холодном фиксаторе Карнуа. Далее клеточные суспензии раскапывались на предметные стекла и окрашивались 5% раствором красителя Гимза в течение 12 минут. Анализ уровня цитогенетических повреждений, индуцированных ММС, проводили под микроскопом при увеличении 1000 раз. На каждом препарате подсчитывалось количество двуядерных эндотелиоцитов с микроядрами (МЯ), являющимися маркерами генотоксического воздействия.

Результаты. Анализ уровня цитогенетических повреждений показал, что эндотелиоциты, культивируемые в присутствии ММС, характеризуются статистически значимым превышением уровня клеток МЯ (представляющих собой хромосомные

фрагменты, окруженные ядерной мембраной) по сравнению с контролем ($36 \pm 7,5\%$ против $12 \pm 1\%$, $P = 0,028$), что подтверждает наличие ярко выраженных генотоксических эффектов в экспонированных культурах. На Рис. 1 показана динамика изменения концентрации проатеросклеротических цитокинов в изучаемой клеточной культуре. Так, в эксперименте не было отмечено значимых различий по уровню секреции IL6, в то время как концентрация IL8 значительно отличалась в культуре, экспонированной ММС по сравнению с контролем. Интересно, что непосредственно после воздействия мутагена (точка 1) наблюдается значимое снижение секреции данного цитокина, что может быть обусловлено компенсаторными механизмами в ответ на генотоксический стресс. В тоже время, после того, как генотоксический фактор (ММС) был удален из культуры (точка 2), происходило резкое увеличение секреции IL8. Вероятно, за сутки культивирования клеток происходит реализация накопленных в течение 6 часов экспозиции мутагеном повреждений ДНК и фенотип эндотелиальных клеток меняется, что свидетельствует о наличии отложенных эффектов мутагенного воздействия на эндотелиоциты.

Данные ИФА относительно динамики концентрации IL8 подтверждаются результатами изучения уровня мРНК (рис. 2Б). Экспрессия гена IL6 была также

снижена в точке 1 и повышена в точке 2 (рис. 2А) в образцах, экспонированных мутагеном, несмотря на то, что нам не удалось обнаружить значимых различий в концентрации данного цитокина в культуральной среде. Данные результаты позволяют предположить роль эпигенетических факторов в формировании эндотелиальными клетками ответа на действие ММС.

Выводы. Таким образом, впервые в мире в эксперименте *in vitro* получены результаты о характере мутаген-опосредованного изменения секреции и экспрессии генов проатеросклеротических цитокинов в культуре эндотелиальных клеток, культивируемых в условиях генотоксической нагрузки, расширяющие представления о фундаментальных механизмах формирования проатеросклеротического фенотипа эндотелиоцитов в ответ на экспозицию мутагеном алкилирующего действия.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2015-0011 «Патогенетическое обоснование разработки имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов, с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».

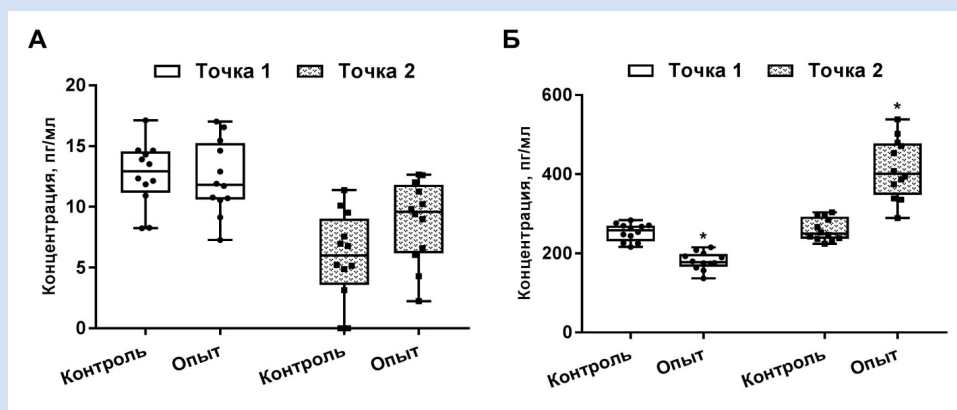


Рисунок 1. Уровень секреции IL6 (А) и IL8 (Б) первичными эндотелиальными клетками (* – значимые различия по сравнению с контролем на уровне $P < 0,01$)

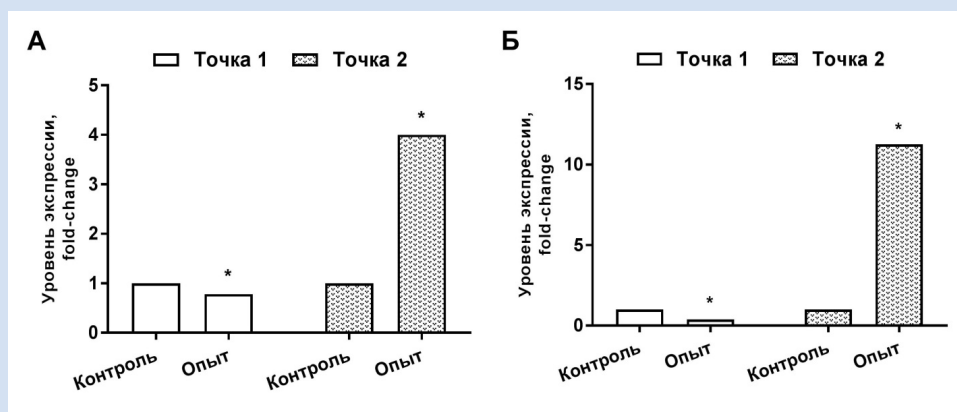


Рисунок 2. Уровень экспрессии генов IL6 (А) и IL8 (Б) в первичных эндотелиальных клетках (* – значимые различия по сравнению с контролем на уровне $P < 0,001$)

СТРУКТУРНАЯ ВАРИАбельНОСТЬ ГЕНОМА ПРИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ

Слепцов А.А.¹, Назаренко М.С.^{1,2,3}, Скрыбин Н.А.¹, Казанцев А.Н.², Бурков Н.Н.², Зайцева А.В.³, Таширева Л.А.⁴, Денисов Е.В.⁴, Валиахметов Н.Р.¹, Лебедев И.Н.¹, Барбараш О.Л.², Пузырев В.П.¹

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Россия; ²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, 650002, Россия; ³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия; ⁴Научно-исследовательский институт онкологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Россия

Введение. Формирование атеросклеротических бляшек является результатом сложных межклеточных взаимодействий в стенке артерий, которые происходят между резидентными клетками стенки сосуда (гладкомышечные и эндотелиальные клетки) и клетками иммунной системы (моноциты-макрофаги). Существует небольшой ряд работ, свидетельствующих о тесной связи отдельных структурных вариантов генома клеток артерий и крови с атеросклерозом. Однако остается неясной доля соматических мутаций в общей структуре генетических изменений, индуцирующих или сопровождающих развитие патологического процесса. Решение данной задачи может быть найдено через сравнительный анализ спектра мутаций в различных клетках и тканях.

Цель. Оценить частоту и спектр структурных геномных изменений в клетках атеросклеротической бляшки (гладкомышечных клетках и макрофагах) и крови.

Материалы и методы. Образцы атеросклеротических бляшек сонных артерий (САБ) собраны у пациентов во время проведения эндартерэктомии (КЭЭ), атеросклеротические бляшки коронарных артерий (КАБ) и интактные внутренние грудные артерии (ВГА) получены при проведении аортокоронарного шунтирования (АКШ) от одних и тех же пациентов, также часть образцов атеросклеротически измененных артерий получена при аутопсии (аКАБ). Образцы замораживались в жидком азоте. Лейкоциты периферической крови (ЛПК) получены от тех же пациентов. Контрольную группу составили образцы периферической крови лиц с субклиническим атеросклерозом.

Структурная вариабельность генома была оценена с помощью технологии матричной сравнительной геномной гибридизации (Agilent SurePrint G3 Human CGH+SNP Microarray 2x400K) в парных образцах КАБ и ВГА (n=10). Идентифицированные вариации числа копий участков ДНК (CNV) были подтверждены с помощью капельной цифровой ПЦР с использованием TaqMan-зондов (внутренний контрольный зонд – RNase P) в образцах ар-

терий и лейкоцитах 33 пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС), прошедших АКШ; 270 пациентов с клинически выраженным атеросклерозом сонных артерий, прошедших КЭЭ, а также лейкоцитах 256 лиц контрольной группы.

Гладкомышечные клетки и макрофаги иммуногистохимически окрашивались (альфа-актин, клон 1A4, SMA, Sigma и CD68, клон KP1, RTU, Dako, соответственно) и собирались методом лазерной захватывающей микродиссекции из свежзамороженных образцов аКАБ (по 30-40 клеток каждого на образец). Клетки лизировались с последующей полногеномной амплификацией (PicoPLEX WGA Kit (Rubicon Genomics), включая ЛПК того же пациента. Проведение пробоподготовки и матричной сравнительной геномной гибридизации проводилось на микрочипах Agilent SurePrint G3 Human CGH Microarray 8x60K согласно протоколу производителя.

Результаты. В образцах КАБ и ВГА обнаружено 90 CNV. Все CNV, кроме одной, расположенной в хромосомном субсегменте 10q24.31 (*ERLIN1*), реферируются в базе данных геномных вариаций человека (DGV, Database of Genomic Variants <http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>) и, скорее всего, представляют собой полиморфизмы.

Для подтверждающего исследования отобраны структурные варианты в генах *ERLIN1* и *SFMBT1*. У 2/33 пациентов с ИБС увеличение числа копий участков ДНК в хромосомном субсегменте 10q24.31 (*ERLIN1*) выявлялось лишь в лейкоцитах крови, но не артерий. Частота CNV-амплификации в лейкоцитах крови пациентов составила 1%, а в лейкоцитах контрольной группы в анализируемом регионе выявлена делеция (1%). Делеция в области интрона 2 гена *SFMBT1* идентифицирована в лейкоцитах у 11,5% пациентов и 8,6% в контрольной группе. Среди пациентов, у которых в анамнезе был сахарный диабет 2 типа (СД2) частота делеции увеличена до 16% в сравнении с пациентами без СД2Т (8%).

При анализе образцов аКАБ идентифицированы анеуплоидии в макрофагах (9 трисомии и 3 моносомии)

и в гладкомышечных клетках (1 трисомия и 8 моносомии). У двух пациентов в гладкомышечных клетках, полученных из атеросклеротических бляшек, кариотип не был изменён. Соотношение дупликаций и делеций в макрофагах и гладкомышечных клетках составило 1:0,8 и 1:7 соответственно. В макрофагах у 6 пациентов выявлена повторяющаяся дупликация в локусе 9q34.13-q34.2. Координаты минимально перекрывающегося региона дупликации были $arr[hg19]9q34.13(9:134337452-135931774)x3$, согласно классификации International System for Human Cytogenomic Nomenclature 2016.

Выводы. В исследовании впервые идентифици-

рована редкая CNV, расположенная в хромосомном субсегменте 10q24.31 (*ERLIN1*). Увеличение копийности в данном хромосомном регионе в лейкоцитах пациентов с атеросклерозом является результатом не только унаследованных, но и постзиготических мутационных событий. Установлена ассоциация делеции фрагмента интрона 2 гена *SFMBT1* с риском развития клинически выраженного атеросклероза при сочетании с СД2. Показано, что геномные изменения разнообразны по своему спектру и широко представлены в клетках (макрофагах и гладкомышечных клетках), участвующих в атеросклеротическом процессе.

СВЯЗЬ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕАЗ С ЭХОКАРДИОГРАФИЧЕСКИМИ И ТОМОГРАФИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ У ПАЦИЕНТОВ С ПОРОКАМИ МИТРАЛЬНОГО КЛАПАНА СЕРДЦА

Теплова Ю.Е., Кузьмина О.К., Барбараш О.Л.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия

Введение. В основе ремоделирования миокарда лежит деструкция внеклеточного матрикса, протекающая с участием матриксных металлопротеаз (ММП) и их тканевых ингибиторов (ТИМР). Об этом процессе говорит усиление активации ММП, а для интенсивного коллагенообразования необходимо повышение активности ТИМР. Неинвазивными методами оценки показателей ремоделирования миокарда являются трансторакальная эхокардиография (ЭхоКГ) и мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ). Так, J. Grewal и соавторы показали, что точность трехмерной ЭхоКГ была сопоставима с лучевыми методами диагностики в оценке объемов и функции правого желудочка (ПЖ) у пациентов с врожденными пороками сердца. Однако, проведенный Yuichi J. Shimada и соавторами метаанализ 23 исследований, включавших 807 пациентов, показал, что при 3D-ЭхоКГ наблюдается статистически значимая недооценка объемных показателей фракции выброса ПЖ (ФВ).

Цель. Оценка взаимосвязи инструментальных и гуморальных данных, определяющих ремоделирование миокарда после изолированной коррекции приобретенного порока митрального клапана.

Материалы и методы. В исследование включены 140 пациентов после коррекции приобретенного порока сердца в митральной позиции. Средний возраст когорты составил $62,79 \pm 5,26$ лет. В выборке преобладали лица женского пола ($n = 109, 77,86\%$ против $n = 31, 22,14\%$). Реципиентами биологических протезов стали $45,71\%$ пациентов ($n = 64$), механических – $54,29\%$ ($n = 76$). Выборка была поделена на группы по типу нарушения гемодинамики: первая - с преобладающим стенозом, вторая – с недостаточностью МК. Всем больным выполнены ЭхоКГ, МСКТ и определение сывороточных концентраций pro-MMP-1, MMP-3,-9 и TIMP методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Результаты. У пациентов с митральным стенозом имеется прямая взаимосвязь дооперационного уровня pro-MMP-1 с продольным размером правого предсердия (ПП1; $r = 0,32, p = 0,04$), обратная – с ФВ ЛЖ ($r = -0,30, p = 0,049$). После замены стенотически измененного МК на искусственный клапан сердца отмечено закономерное снижение среднего давления в легочной артерии и увеличение концен-

трации MMP-3 (ДЛАСр; $r = -0,36; p = 0,04$).

Во второй группе исходно отмечена прямая связь pro-MMP-1 с толщиной задней стенки ЛЖ ($r = -0,33, p = 0,03$). Кроме того, уровень MMP-9 положительно коррелировал с ФВ ЛЖ ($r = 0,36, p = 0,02$) и интегральным систолическим индексом ремоделирования (ИСИР; $r = 0,49, p = 0,0005$) по данным ЭхоКГ. После коррекции митральной регургитации определено повышение концентрации MMP-9 при сокращении вертикального систолического размера левого предсердия (В2СР ЛП; $r = 0,5, p = 0,02$), измеренного при МСКТ.

Между инструментальными параметрами ремоделирования миокарда также найдены взаимосвязи. Исходно в первой группе пациентов отмечены сильные прямые связи между продольными размерами левого предсердия (ЛП и ПДР ЛП, $r = 0,59, p = 0,006$), правого желудочка (ПЖ и ПДР ПЖ, $r = 0,58, p = 0,008$), правого предсердия (ПП1 и ПДР ПП; $r = 0,48, p = 0,003$), проксимальными усредненными поперечными диастолическими размерами правого предсердия (ПП2 и Кпо1ДР ПП; $r = 0,8, p < 0,0001$), измеренными ЭхоКГ и МСКТ. Через год после хирургического лечения порока МК определена положительная корреляция между конечными систолическими размерами (КСР ЛЖ; $r = 0,58, p = 0,007$), объемами в систолу и диастолу левого желудочка (КСО ЛЖ; $r = 0,68, p = 0,001$ и КДО ЛЖ; $r = 0,61, p = 0,004$, соответственно) и ИСИР ($r = 0,49, p = 0,003$).

До коррекции недостаточности МК получены достоверные сильные связи между толщиной межжелудочковой перегородки по ЭХОКГ и МСКТ ($r = 0,88, p < 0,0001$), а также между ПП2 и Кпо1ДР ПП ($r = 0,77, p = 0,001$). После оперативного лечения митральной недостаточности обнаружена положительная взаимосвязь между ЛП и ПДР ЛП ($r = 0,54, p = 0,03$), индексом массы миокарда (ИММ ЛЖ; $r = 0,67, p = 0,005$), а также миокардиальным стрессом ЛЖ (МС ЛЖ и МСсЛЖ; $r = 0,57, p = 0,02$).

Выводы. Результаты исследования позволяют обосновать комплексное использование методов инструментальной и лабораторной оценки процессов ремоделирования миокарда у лиц после хирургической коррекции порока митрального клапана сердца

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПОЛУАВТОМАТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕНИЯ МИОКАРДА ПО ДАННЫМ МР - ТОМОГРАФИИ С ПАРАМАГНИТНЫМ КОНТРАСТНЫМ УСИЛЕНИЕМ, НА СРЕДНЕ-И ВЫСОКОПОЛЬНЫХ МР-ТОМОГРАФАХ

Усов В.Ю.¹, Коваленко А.Ю.¹, Беличенко О.И.², Ярошевский С.П.¹, Мочула О.В.¹,
Алексеева Я.В.¹, Архангельский В.А.³

¹Научно-исследовательский институт кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Россия; ²Научно-исследовательский институт Спортивной медицины Российского Государственного Университета Физической Культуры, Спорта, Молодежи и Туризма; ³Научно-производственная фирма «Аз», г. Москва, Россия

Введение. Повреждение сердечной мышцы является важнейшим патогенетическим звеном в развитии острого инфаркта миокарда и очевидно требует точной оценки объема повреждения, в каждом случае острого инфаркта миокарда. Однако, до сих пор единая или хотя бы общепринятая и унифицированная методика количественной оценки тяжести повреждения миокарда как таковая отсутствует.

Цель. Разработать методику оценки объема повреждения миокарда по данным МРТ сердца с парамагнитным контрастным усилением, на основе посегментного анализа протяженности зон патологического включения парамагнетика в миокард, которая может быть реализована как программно, так и с помощью программируемых калькуляторов с возможностями обработки статистических массивов и изображений, типа CASIO FXII.

Материал и методы. Пациенты. 20 лиц с острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST, все отделения неотложной кардиологии НИИ кардиологии ТНИМЦ РАН, и 15 пациентов с установленным диагнозом гипертрофической кардиомиопатии (отделений ишемической болезни сердца и сердечно-сосудистой хирургии НИИ кардиологии ТНИМЦ РАН). У всех была выполнена МРТ миокарда с парамагнитным контрастным усилением (ПМКУ, гадобутролом или гадоверсетамидом (0,1 мМ/кг массы). Исследования проводились на МР-томографах «Toshiba Titan Vantage» (поле 1,5 Т, пр-ва Тошиба Медикал), и «Аз-400» (поле 0,4 Т, пр-ва НПФ Аз), с использованием фазированных 4-х канальных катушек для исследования грудной клетки. Кроме МР-томографии с парамагнитным контрастным усилением, всем пациентам было выполнено динамическое ЭКГ-синхронизированное исследование сократимости миокарда, с записью 12 кадров на сердечный цикл, в матрицу 256x256, по короткой и длинной (в двух- и четырехкамерной позиции) осям, с количественной оценкой конечно-диастолических толщин и размеров левого желудочка, с последующим расчетом величины массы миокарда левого желудочка по ультразвуковому алгоритму R. Devereaux, как детально описано ниже.

Результаты. Оценка анатомической массы ми-

окарда. При сравнении величин массы миокарда по данным выделения контуров левого желудочка и расчета по формуле, корреляция их составила $R = 0,94$, $p < 0,001$. При прямом соотношении массы миокарда при расчете его величин по данным ультразвукового и магнитно-резонансного исследования сердца, с расчетом по формуле, корреляция их была исключительно высокой во всем диапазоне величин масс от 95 до 400 г.

Наибольшие величины были отмечены у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией. При отдельном анализе по группам лиц корреляция нигде не была менее $r = 0,87$, при $p < 0,01$. Таким образом в рутинной практике расчет массы миокарда ЛЖ по данным геометрической аппроксимации левого желудочка с использованием полуэмпирической формула (1) вполне обоснован.

Оценку целесообразности использования данной расчетной методики мы провели на материале пациентов с острым инфарктом миокарда и у лиц с гипертрофической кардиомиопатией. Во всех случаях продолжительность расчета представленных нами показателей объема и доли повреждения составляла менее 8,5 мин.

У лиц с острым инфарктом миокарда величина объема повреждения миокарда наиболее точно отражала своевременность проведения коронарной реканализации средствами догоспитальной тромболитической терапии или спасительного ЧКВ.

Так, для нетрансмурального в целом по очагу повреждения, когда оказывались вовлечены 1–3 сегмента (в среднем $2,1 \pm 0,5$), доля повреждения миокарда ЛЖ составляла $7,8 \pm 1,7$ %, и это соответствовало успешной ранней реканализации, в частности, когда время от начала болевого синдрома до введения тромболитика на догоспитальном этапе лечения (время «боль–игла») составляла 35–95 мин.

При более длительном периоде между первыми проявлениями болевого синдрома и началом догоспитальной тромболитической терапии, в 75–200 мин доля повреждения миокарда левого желудочка составила $11,9 \pm 2,1$ %, при вовлечении вовлечении 2–4 сегментов и субтрансмуральном или трансмуральном характере повреждения.

Повреждение в 18% миокарда левого желудочка и более (в среднем $21,5 \pm 3,7\%$) при его трансмуральном характере, как правило было типично для позднего тромболизиса, при времени «боль – игла» более 85 мин, охватывало не менее 4 сегментов ($5,7 \pm 1,0$) и характеризовалось как правило безуспешной реканализацией, или впоследствии развившимся ретромбозом, формированием у 6 из 9 таких пациентов феномена no-reflow

Таким образом, расчетная величина повреждения миокарда оказывается достаточно точной характеристикой своевременности и эффективности тромболитической или баллонной реканализации коронарной артерии при остром инфаркте миокарда.

У наших пациентов с гипертрофической карди-

омиопатией, при диапазоне масс миокарда левого желудочка от 260 г до 470 г, оказалось, что рассчитанная по нашему методу величина повреждения (фиброза) миокарда ЛЖ является определяющей в наличии у этих пациентов желудочковой экстрасистолы по Lown-Wolff-Ryan. В частности, у этих пациентов экстрасистолы градаций III–V отмечались в случае, если доля повреждения миокарда левого желудочка была не менее 21%, при выраженной неоднородности распределения между сегментами — у всех пациентов с экстрасистолами III–V градаций различия между минимальным и максимальным интрасегментарным повреждением были не менее 25%.

ПОЛИМОРФИЗМ G308A ГЕНА TNF КАК ФАКТОР РИСКА РАЗВИТИЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У ЛИЦ С ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНЬЮ

Хлынова О.В.¹, Шишкина Е.А.¹, Сахена В.¹, Кривцов А.В.², Спасенков Г.Н.^{1,3}, Абгарян Н.И.^{1,3}

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации; ²Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»; ³Государственное бюджетное учреждение здравоохранения пермского Края «Клинический кардиологический диспансер», г. Пермь, 614002, Россия

Введение. На протяжении последних десятилетий артериальная гипертензия (АГ) продолжает оставаться одним из наиболее распространенных и социально-значимых сердечно-сосудистых заболеваний. В свою очередь, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ) по праву относится к самой часто встречающейся патологии гастроудоденальной зоны, имеет широкую (до 60%) распространенность в популяции взрослого населения нашей страны. Несмотря на высокую распространенность коморбидности артериальной гипертензии (АГ) и гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) (от 20,6% до 29%), факторы риска формирования АГ у данной категории больных остаются до конца неисследованными. Как в развитии АГ, так и в патогенезе ГЭРБ обсуждается роль провоспалительного цитокина фактора некроза опухоли альфа (TNF α), активность которого во многом определяется носительством некоторых аллелей гена фактора некроза опухоли (TNF). Таким образом, исследование полиморфизма G308A гена TNF у больных с ассоциированным течением АГ и ГЭРБ представляется весьма актуальным.

Цель. Изучить распространенность и варианты ассоциации полиморфизма G308A гена TNF с риском развития и фенотипическими особенностями артериальной гипертензии у больных гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью.

Материалы и методы. Обследовано 58 больных с АГ (29 пациентов с изолированной АГ, средний возраст 53 (46;62) лет, 29 пациентов с ассоциированным течением АГ и ГЭРБ, средний возраст 56 (51;59) лет. Исследование проводилось на базе отделения кардиологии и профилактики ГБУЗ ПК «Клинический кардиологический диспансер» (г. Пермь). Пациенты обеих групп были сопоставимы по полу, возрасту, изучаемым факторам риска сердечно-сосудистых заболеваний. Определение полиморфизма G308A (rs1800629) гена фактора некроза опухоли TNF проводили методом аллель-специфической полимеразной реакции с использованием тест-систем производства ООО «Синтол» (г. Москва). Статистическая обработка проводилась при помощи сертифицированных компьютерных про-

грамм. Полученные данные представлены в виде Me (25;75), где Me – медиана, 25 и 75 – 25-й и 75-й перцентили. Для оценки ассоциации аллелей и генотипов с риском развития заболевания вычисляли как отношение шансов (ОШ) с 95% доверительным интервалом (ДИ).

Результаты. При исследовании полиморфизма G308A распространенность генотипов G/G и G/A у пациентов с АГ составила 77,94% и 22,05% соответственно, распределение частот не отличалось от равновесия Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 0,79$, $p = 0,37$). Данные результаты сопоставимы с результатами работ других исследователей и существенно не отличаются от распределения генотипов в большинстве европейских популяций. В группе пациентов с коморбидным течением АГ и ГЭРБ выявлены ассоциации полиморфного маркера G308A гена TNF с уровнем систолического АД и нарушением толерантности к глюкозе. Мутантная аллель A гена TNF в группе больных с ассоциацией АГ и ГЭРБ регистрировалась в 15,5%, в группе пациентов с изолированной АГ – в 3,4%. Таким образом, в группе пациентов с АГ и ГЭРБ преобладало носительство неблагоприятной аллели A (ОШ 5,14; 95% ДИ – 1,06–24,95; $p = 0,03$). Распространенность гетерозигот G/A носителей аллеля A также была достоверно выше в группе пациентов с коморбидным течением АГ и ГЭРБ (ОШ 6,08; 95% ДИ – 1,18–31,25; $p = 0,02$). В обеих группах не выявлено пациентов с генотипом A/A.

Выводы. В связи с высокой распространенностью ассоциированного течения АГ и ГЭРБ существует необходимость дальнейшего поиска ассоциаций молекулярных патогенетических механизмов формирования АГ у данной категории больных. Носительство аллели A гена TNF (G308A) в виде гетерозиготы G/A позволяет считать этот генотип дополнительным маркером формирования АГ у больных ГЭРБ. Определение генетического профиля может использоваться дополнительно при скрининговых обследованиях пациентов с ГЭРБ с целью выявления групп повышенного риска к развитию АГ.

АНДРОГЕННЫЙ СТАТУС КАК СОСТАВЛЯЮЩАЯ КОМОРБИДНОСТИ У МУЖЧИН С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Хрячкова О.Н.¹, Зыков М.В.¹, Кашталап В.В.^{1,2}, Барбараш О.Л.^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»; ²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Кемерово, Россия

Введение. В последнее время особую актуальность приобретают исследования, направленные на оценку клинического статуса коморбидных пациентов и изучение вклада каждого из заболеваний в формирование прогноза. Перспективным является выявление общих патогенетических факторов развития заболеваний с позиции диагностики, лечения и профилактики. Особенно актуален такой подход для пожилых пациентов, которые характеризуются высокой распространенностью коморбидности. Существует представление о том, что атеросклероз и остеопороз – удел пациентов пожилого возраста и у этой категории пациентов две патологии являются синергичными заболеваниями. При этом в качестве патологического состояния, объединяющего оба заболевания, часто рассматривают дефицит половоспецифичных гормонов в пожилом возрасте, что подтверждается рядом исследований. Хорошо изучен феномен первичного дефицита эстрогенов в постменопаузе как фактор, способствующий развитию и прогрессированию остеопороза и атеросклероза у женщин. Однако в последнее время и у пациентов более молодого возраста, особенно у мужчин дефицит половых гормонов рассматривается в качестве важного звена патогенеза ряда неинфекционных заболеваний. Вопрос о возможности объединения таких патологических феноменов как мужской гипогонадизм, остеопороз и атеросклероз в единую патофизиологическую цепь остается открытым.

Цель. Изучить связи уровня тестостерона с различными показателями нарушения минерально-костного и липидного обмена у пациентов-мужчин с ишемической болезнью сердца.

Материалы и методы. В исследование включено 111 мужчин со стабильной стенокардией III функционального класса, с запланированной реваскуляризацией миокарда методом коронарного шунтирования, без клинически значимой сопутствующей патологии. Средний возраст пациентов составил 61 (55–65) год. 88 (79,3%) больных перенесли ранее инфаркт миокарда. Сахарный диабет выявлен у 19 пациентов (17,1%), остеопороз – у 31 (27,9%), остеопения – у 58 (52,2%) больных. Помимо общеклинических методов у всех пациентов определяли следующие показатели: тестостерон и эстрадиол, липидограмма, ионизированный кальций, фосфор, щелочная фосфатаза, кальцитонин, остеокальцин, паратиреоидный гормон (ПТГ), остеопротегерин,

остеопонтин, инсулин. Всем пациентам проведены: денситометрия бедренной кости и поясничного отдела позвоночника, коронарная ангиография, мультиспиральная компьютерная томография коронарных артерий. Рассчитывался балл по шкалам Syntax, а также степень коронарного кальциноза по методу Agatston с помощью программы CaScore.

Результаты. Корреляционный анализ уровня тестостерона с Т-критерием и уровнем минеральной плотности костной ткани (МПК) не показал каких-либо достоверных значений. Дальнейший анализ позволил выявить корреляцию между уровнями тестостерона с одной стороны и инсулином ($r = -0,20$; $p = 0,047$), и паратиреоидным гормоном (ПТГ) ($r = 0,34$; $p = 0,0002$) с другой. Из всех показателей липидограммы нами обнаружена отрицательная связь только с уровнем триглицеридов: $r = -0,19$; $p = 0,047$. С целью исключения влияния внешних факторов создана дополнительная группа пациентов моложе 60 лет и не имеющих ожирение ($ИМТ < 30 \text{ кг/м}^2$) и/или сахарного диабета. Во вновь сформированной группе ($n = 38$) корреляционные связи тестостерона с инсулином и ТГ значительно возросли: $r = -0,38$ ($p = 0,017$) и $r = -0,33$ ($p = 0,046$). При этом в данной подгруппе также не выявлено какой-либо связи с другими исследуемыми показателями. Линейный регрессионный анализ с первичным введением всех ранее перечисленных факторов и последующим пошаговым отбором установил связи тестостерона только с ПТГ ($B = 0,04$, $T = 3,05$, $p = 0,003$).

Выводы. Настоящее исследование, особенностью которого был одновременный анализ многочисленных маркёров и показателей, выявило достоверные ассоциации снижения уровня тестостерона с гиперинсулинемией и гипертриглицеридемией, что свидетельствует о важной патогенетической роли гипогонадизма в неблагоприятном течении сердечно-сосудистого континуума. При этом не выявлено какой-либо ассоциации тестостерона с непосредственными маркёрами нарушения минерально-костного обмена, кроме паратиреоидного гормона.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2015-0012 «Мультифокальный атеросклероз и коморбидные состояния. Особенности диагностики, управления рисками в условиях крупного промышленного региона Сибири»

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ И ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТКАХ, ЭКСПОНИРОВАННЫХ МИНЕРАЛЬНО-ОРГАНИЧЕСКИМИ НАНОЧАСТИЦАМИ

Цепочкина А.В., Синицкий М.Ю., Шишкова Д.К., Кутихин А.Г., Понасенко А.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

Введение. Минерально-органические наночастицы (бионы), были описаны в 90-х годах XX века коллективом финских ученых, и на протяжении последующего десятилетия их природа достаточно активно обсуждалась. Известно, что образование бионов является физиологическим механизмом регуляции гомеостаза, при этом они могут накапливаться в организме человека при увеличении концентрации в крови ионов кальция и фосфора, а также при нарушении механизмов их выведения из организма. При этом умеренное перенасыщение сыворотки ионами кальция и фосфора приводит к образованию сферических кальций-фосфатных бионов (СКФБ), а тяжелое перенасыщение – игольчатых кальций-фосфатных бионов (ИКФБ). Также известно, что бионы связаны с клиническими проявлениями атеросклероза, а факторы риска данной патологии и кальцификации клапанов сердца схожи с факторами риска образования бионов, что позволило предположить их роль в развитии заболеваний сердечно-сосудистой системы. Ранее было показано, что кальций-фосфатные бионы (КФБ) обладают токсичностью для эндотелия, однако молекулярно-генетические механизмы данного феномена на настоящий момент подробно не изучены. Кроме того, интерес представляет и сравнение молекулярно-генетических особенностей ответа различных типов клеток на действие бионов.

Цель. Провести сравнительную оценку экспрессии генов провоспалительных цитокинов IL1R1, IL6, IL8, IL12A и CCL2 в культурах эндотелиальных клеток коронарной и внутренней грудной артерий, а также гладкомышечных клеток аорты, культивируемых в присутствии различных типов бионов.

Материалы и методы. Материалом исследования послужили коммерческие культуры первичных эндотелиальных клеток коронарной (HCAEC, Cell Applications, США) и внутренней грудной (HITAEC, Cell Applications, США) артерий человека, а также коммерческая культура гладкомышечных клеток аорты человека (HCASMC, Cell Applications, США), культивируемых в присутствии искусственно синтезированных магний-фосфатных бионов (МФБ), СКФБ и ИКФБ в концентрации 100 мкл на лунку 6-луночного планшета в течение 4 часов. В качестве контроля были использованы культуры HCAEC, HITAEC и HCASMC, в кото-

рые добавлялся чистый фосфатно-солевой буфер в том же объеме (100 мкл) с последующим аналогичным временем культивирования. По окончании культивирования, клетки отмывались двукратным холодным фосфатно-солевым буфером и лизировались путем добавления в лунки планшета тризола (Invitrogen, США). Далее проводилось выделение РНК по стандартному протоколу, предложенному производителем. Концентрация и качество выделенной РНК оценивались с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, США) путем измерения поглощения света при длинах волн 280 нм, 260 нм и 230 нм и расчета соотношений A260/280 и A260/230. На основе выделенной РНК с помощью реакции обратной транскрипции на термоциклере Veriti (Applied Biosystems, США) был проведен синтез одноцепочечной кДНК. Концентрация и качество синтезированной кДНК также оценивались с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, США). Экспрессия генов провоспалительных цитокинов IL1R1, IL6, IL8, IL12A и CCL2 измерялась на амплификаторе ViiA 7 (Applied Biosystems, США) с помощью полимеразной цепной реакции с детекцией результатов амплификации в режиме реального времени с использованием праймеров с флуоресцентным красителем SYBR Green (ЗАО «Евроген», Москва). Праймеры были разработаны с использованием баз данных для поиска праймеров PrimerBank и RTPrimerDB и мануального скрининга в Google с последующей проверкой их качества в программах PRaTo и PCR Primer Stats. Нормализация результатов ПЦР проводилась с помощью трех референсных генов (генов «домашнего хозяйства») ACTB, GAPDH и B2M в соответствии с общепринятыми на настоящий момент рекомендациями. Для оценки эффективности ПЦР анализировали графики амплификации и стандартные кривые в программе QuantStudio Real-Time PCR Software v.1.3 (Applied Biosystems, США). Экспрессию изучаемых генов рассчитывали по ΔC_t методу. Обработку результатов проводили в программе GraphPad Prism 7 (GraphPad Software). Достоверность различий между изучаемыми группами оценивали с помощью критерия Краскела-Уоллиса, для исключения ошибок первого рода вводили поправку FDR.

Результаты. В результате проведения исследования не было отмечено статистически значимых

различий по уровню экспрессии изучаемых генов между эндотелиальными клетками различных сосудов (коронарной и внутренней грудной артерий). В то же самое время, гладкомышечные клетки характеризовались повышенной экспрессией IL1R1 (в культурах, экспонированных МФБ – в 6 раз, СКФБ – в 2 раза) и IL8 (в культурах, экспонированных МФБ – в 14 раз, в контроле – в 21 раз) по сравнению с культурами НСАЕС, и сниженной экспрессией CCL2 по сравнению с НТАЕС в культуре, экспонированной СКФБ. Более того, гладкомышечные клетки не экспрессировали IL12A, в то время как культуры НСАЕС и НТАЕС данный ген экспрессировали, хоть и на достаточно низком уровне.

Выводы. Таким образом, различные типы кле-

ток отличаются по уровню экспрессии ряда генов провоспалительных цитокинов, что может быть связано как с их физиологическими отличиями, так и различным молекулярно-генетическим ответом на повреждающее действие минерально-органических наночастиц.

Источник финансирования. Исследование выполнено в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» за счет гранта Российского научного фонда (проект № 19-15-00032 «Молекулярные механизмы токсичности кальций-фосфатных бионов для эндотелия»).

МЕТОДЫ ДЕЗАГРЕГАЦИИ АРТЕРИЙ, ПОРАЖЕННЫХ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

Шарыш Д.В.¹, Марков А.В.¹, Кебекбаева А.Е.², Дампилова Т.Д.², Назаренко М.С.^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; ²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия

Введение. Атеросклероз – комплексное хроническое воспалительное заболевание, характеризующееся образованием атеросклеротических бляшек (АБ), в формировании которых принимают участие различные типы клеток (гладкомышечные, макрофаги, эндотелиальные), вызывающие соответствующие изменения межклеточного матрикса. Каждый тип клеток играет определенную роль в развитии атеросклеротического поражения и его осложнений, в связи с чем актуален переход от изучения комплексной ткани, например, кровеносного сосуда, к изучению молекулярно-биологических процессов в отдельных клетках и типах клеток. Так как использование клеточных культур не позволяет в достаточной мере изучить атерогенез у человека и модельных животных, необходимо разработать подходы к изоляции клеток интереса из цельной плотной ткани, такой как артериальный сосуд, с учетом происходящих в нем патофизиологических изменений при атеросклерозе. На сегодняшний день одними из наиболее используемых техник разделения ткани на клетки являются лазерная микродиссекция (Laser Capture Microdissection – LCM) и флуоресцентно-активированный сортинг клеток (Fluorescence Activated Cell Sorting – FACS). При изучении атеросклероза кальцинация сосуда является препятствием для использования LCM, в связи с чем FACS становится основным методом сортировки клеток. Однако для метода FACS ткань сосуда необходимо перевести в состояние клеточной суспензии, т.е. дезагрегировать, что является отдельной исследовательской задачей, так как единого подхода к дезагрегации не разработано.

Цель. Разработать методику дезагрегации артерий, пораженных атеросклерозом.

Материалы и методы. Образцы атеросклеротических бляшек 24 человек (74,6±16,3 лет, 15 мужчин и 9 женщин) были получены в результате аутопсии. При обзоре литературы были отобраны 17 протоколов дезагрегации как АБ, так и пораженных артерий для биоматериала человека и животных. Для дезагрегации артерий использованы коллагеназы I, IV типов, дополнительные ферменты (гиалуронидаза, ДНКаза), различные среды

(DPBS с 20 мМ HEPES, DMEM). Варьировались сопутствующие условия дезагрегации – время, количество отмывок, способы препарирования АБ перед дезагрегацией. После дезагрегации суспензию с остатками нерасщепленных тканей фильтровали через клеточное сито (70 мкм), которое затем прополаскивали 5 мл PBS и центрифугировали 15 минут при скорости 300 оборотов в минуту. Супернатант декантировали, а осадок ресуспендировали в 1 мл DMEM. Качество процедуры оценивалось микроскопией полученной клеточной суспензии при окрашивании 0,4% трипановым синим в счетной камере, учитывались такие параметры, как количество живых (неокрашенных) и мертвых (окрашенных) клеток, наличие дебриса (кристаллов холестерина, кальциатов, конгломераты из нерасщепленных и слипшихся клеток, другие примеси).

Результаты. Использование коллагеназы I типа (наиболее распространенной) вне зависимости от концентрации и присутствия других ферментов не приводит к эффективному высвобождению клеток из цельной ткани, что проявляется низкой клеточностью в целом и наличием недорасщепленных конгломератов из клеток в суспензии. Лучшей способностью высвобождать клетки характеризовалась коллагеназа IV типа в концентрации 250 Е/мл. После оптимизации концентрации коллагеназы были добавлены гиалуронидаза и ДНКаза, также повысившие выход клеток. В итоге, оптимальный протокол дезагрегации клеток: 250 Е/мл коллагеназы IV типа, 60 Е/мл гиалуронидазы, 60 Е/мл ДНКазы в 2,5 мл 20 мМ HEPES с DPBS добавить к предварительно препарированной от перивазальной тани, кальциатов и липидно-некротического компонента, измельченной АБ, инкубировать 1 час при 37°C и постоянном покачивании. Выход клеток составил 3–7 млн клеток/мл суспензии.

Выводы. В результате данной работы разработан протокол для эффективной дезагрегации атеросклеротических бляшек до состояния суспензии синглетных клеток, лишенной дебриса и других примесей, пригодной для флуоресцентно-активированного сортирования или создания первичных культур.

АНАЛИЗ КОРРЕЛЯЦИИ ДАННЫХ ПОЛНОГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ РНК С ПРОТЕОМНЫМИ МАРКЕРАМИ В СТАБИЛЬНЫХ И НЕСТАБИЛЬНЫХ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШКАХ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

Шахтшнейдер Е.В.^{1,3}, Рагино Ю.И.¹, Иванощук Д.Е.^{1,3}, Каштанова Е.В.¹, Фишман В.С.³, Полонская Я.В.¹, Чернявский А.М.², Мурашов И.С.², Воевода М.И.^{1,3}

¹Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук; ²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации; ³Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Введение. Развитие и прогрессирование атеросклеротического процесса сопровождается появлением серии белковых медиаторов воспаления и значительной активностью хемотаксиса. Детекция предшествующих белкам транскриптов является информативным показателем изменений при патологических процессах.

Цель. Анализ корреляции данных полногеномного секвенирования РНК с протеомными маркерами в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках (АБ) коронарных артерий.

Материалы и методы. Исследование выполнено на образцах АБ пациентов мужского пола 45–65 лет, средний возраст 61.4 ± 8.8 , жителей Западно-Сибирского региона с коронароангиографически документированным коронарным атеросклерозом без острого коронарного синдрома со стабильной стенокардией напряжения II–IV функционального класса. Исследование одобрено Этическим комитетом «НИИТФМ». Забор тканей атеросклеротической бляшки проводился в ходе операции при наличии интраоперационных показаний. От каждого пациента было получено по 3 образца АБ. Каждая бляшка была разделена (продольно и поперечно) на 4 части: одна часть для гистологического исследования, две части для биохимического исследования и одна часть помещалась в раствор RNA Later. Выделение РНК выполнено набором «Вектор-Бест Экстракция 100». Примеси геномной ДНК удалены с использованием DNA free kit («Ambion», США). Качество извлеченной РНК контролировалось с помощью системы капиллярного электрофореза Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Tec.Inc., USA). Подготовка библиотек для секвенирования проведена с использованием набора Illumina's TruSeq RNA Sample Preparation Kit («Illumina»). Профиль экспрессии в тканях бляшек определен на приборе HiSeq 1500 (Illumina USA). Анализ данных секвенирования включает картирование данных на геном человека версии GRCh38 с использованием программы BWA 0.7.12.

Результаты. Определена дифференциальная экспрессия в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках: q -value $< 0,05$; более чем 8-кратные различия ($-3 < \log_2 \text{fold_change} < +3$), экспрессия генов на уровне более 50 FPKM. Получены данные

полного профиля молекул РНК, транскрибируемые в разных типах АБ на разных стадиях атеросклеротического процесса. Различия в экспрессии между стабильными и нестабильными АБ показаны для более, чем 100 генов, в том числе: актинового цитоскелета (SVIL, TLN2), транскрипционных факторов реакции клеточного стресса (MAFF, ATF3), апобелков (APOE, APOC1), интерлейкинов (IL1B) и регуляторов их экспрессии (ZFP36), трансмембранных белков (CD14, CD, CD53, CD163), металлопротеиназ (MMP7, MMP9).

С помощью протеомных исследований также выявлено повышенное содержание белков цитоскелета (актинов, тропомиозина, виментина), характерное для стадии стабильной АБ. При анализе генетических сетей определена ко-экспрессия генов, кодирующих эти белки, и генов SVIL и TLN2.

Получены результаты анализа маркеров дестабилизации атеросклеротической бляшки для генов металлопротеиназ MMP1–MMP14. Разница в экспрессии между типами бляшек была отмечена в генах матричных металлопротеиназ: MMP2, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, MMP12, MMP13 и MMP14. Наблюдалось статистически значимое увеличение уровня экспрессии MMP9 ($p < 0,0001$) в нестабильных атеросклеротических бляшках дистрофически-некротического вида. При проведении ИФА выявлено, что в стабильных АБ коронарных артерий повышена концентрация MMP-3 и снижена активность ТИМП1. В нестабильных бляшках со склонностью к изъязвлению/разрыву повышены концентрации MMP-1, MMP-7, MMP-9.

Выводы. Определены транскрипты генов со статистически значимыми различиями экспрессии у пациентов с коронарным атеросклерозом. Показано изменение активности общих генных сетей гипоксии, окислительного стресса, хемокинов, актинового цитоскелета, внеклеточного матрикса. Изучение транскриптома атеросклеротической бляшки на разных этапах ее развития и выявление транскриптов, маркирующих процессы деструкции, является актуальным направлением в изучении механизмов развития атерогенеза.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке РФФИ (№17-04-02120) и ГЗ 0324-2018-0001.

ТАРГЕТНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ГЕНОВ *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *LDLRAP1* И КЛАСТЕРА ГЕНОВ *APOA5-A4-C3-A1* У ПАЦИЕНТОВ С СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ

Шахтштейнер Е.В.^{1,2}, Иванощук Д.Е.^{1,2}, Фишман В.С.², Белокопытова П.С.², Орлов П.С.^{1,2},
Тимошенко О.В.^{1,2}, Воевода М.И.^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики СО РАН; ²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Введение. Семейная гиперхолестеринемия (СГХС) – моногенное заболевание с преимущественно аутосомно-доминантным типом наследования, сопровождающееся значительным повышением уровня холестерина липопротеидов низкой плотности в крови, а также ранним развитием и прогрессирующим течением атеросклероза. *LDLR*, *APOB*, *PCSK9* – гены, мутации в которых определяют развитие аутосомно-доминантной формы семейной гиперхолестеринемии, и *LDLRAP1* – ген, ассоциированный с развитием аутосомно-рецессивной формы заболевания. Некоторые варианты кластера генов *APOA5-A4-C3-A1* на хромосоме 11 ассоциированы с изменениями концентрации общего холестерина сыворотки (ОХС) и холестерина ЛПНП.

Цель. Изучить спектр мутаций генов *LDLR*, *APOB*, *PCSK9* и *LDLRAP1* и кластера генов *APOA5-A4-C3-A1* у пациентов с диагнозом «определенная» семейная гиперхолестеринемия по клиническим критериям с использованием метода таргетного высокопроизводительного секвенирования.

Материалы и методы. Выборка пациентов из 42 человек с диагнозом «определенная» семейная гиперхолестеринемия была сформирована с использованием клинических критериев The Simon Broom Register Group (UK) и Dutch Lipid Clinic Network Criteria в поликлиническом отделении НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН. Всем участникам исследования проведено клиническое обследование, ультразвуковая диагностика, выполнен забор крови для биохимического (липидный профиль, показатели общей биохимии) исследования. Геномную ДНК всех участников исследования выделяли из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Качество извлеченной ДНК оценивали с помощью системы капиллярного электрофореза Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Tec.Inc.USA). Таргетное секвенирование выполнено по технологии NimbleGen SeqCap Target Enrichment (GS Junior, Roche) с использованием авторской панели генов. Для верификации выявленных мутаций использовано прямое автоматическое секвенирование. Возможные функциональные и значимые эффекты SNV были оце-

нены с помощью *in silico* инструмента PolyPhen-2 v2.2.5. Веб-сервис PolyPhen-2 v2.2.5 предсказывает возможное влияние аминокислотной замены на структуру и функцию человеческого белка.

Результаты. 12 различных мутаций в гене *LDLR* были обнаружены у 17 пациентов. Среди них 10 миссенс мутаций, приводящих к замене аминокислоты в белковой последовательности, одна делеция и одна патологическая замена в сайте сплайсинга гена *LDLR*. У двух пациентов выявлена миссенс мутация 3500Q в гене *APOB*. В гене *PCSK9* редких патологически значимых вариантов, ассоциированных с СГХС, не выявлено. У одного пациента с СГХС и инфарктом миокарда в анамнезе определена миссенс мутация Ser202Pro (Т/С, rs6687605) в гене *LDLRAP1*.

В выявлен редкий вариант в гене *APOA4* (Arg155Pro), предсказанный по PolyPhen2, как повреждающий (score 0.989). У двух неродственных пациентов с СГХС и сопутствующей гипертриглицеридемией выявлена замена rs3135506 (S19W) в гене *APOA5*, предсказанная по PolyPhen2, как повреждающая (score 0.993). Носительство rs3135506 ранее было описано в литературе, как фактор риска развития гипертриглицеридемии.

Выводы. Для выявления пациентов с семейной гиперхолестеринемией с помощью каскадного скрининга используется комбинация клинических критериев и определения генетических маркеров в известных генах, ассоциированных с СГХС: *LDLR*, *APOB*, *PCSK9* и *LDLRAP1*. Поиск новых генетических маркеров семейной гиперхолестеринемии позволит повысить качество молекулярно-генетической диагностики заболевания. Независимо от возможности выполнения генетического тестирования, все лица с диагнозом семейная гиперхолестеринемия, основанном на использовании клинических критериев, требуют постоянного наблюдения и обследования.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке РФФИ (№19-015-00458) и ГЗ 0259-2019-0009.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭХОКАРДИОГРАФИИ ПРИ ТРАНСКАТЕТЕРНОЙ ЗАМЕНЕ АОРТАЛЬНОГО КЛАПАНА СЕРДЦА

Щеглов Б.О.¹, Щеглова С.Н.²

¹Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный федеральный университет», г. Владивосток, Россия; ²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Восточный государственный университет», г. Магадан, Россия

Введение. Эхокардиография является краеугольным камнем в диагностике любых пороков сердца. Точный диагноз аортального стеноза, функции левого желудочка и других клапанов сердца в настоящее время проводится только с помощью ультразвукового исследования.

Выбор протеза клапана и размеры до имплантации могут быть сделаны исключительно при правильном использовании эхокардиографии. Появление новых методов лечения аортального стеноза, таких как транскатетерная замена аортального клапана (англ. Transcatheter Aortic Valve Replacement – TAVR), подчеркнуло диагностическую ценность УЗИ сердца. Полезность эхокардиографии при TAVR можно разделить на базовую оценку (общую для пациентов, получающих традиционную хирургическую операцию), внутривидеоуровневое руководство по развертыванию клапана и постпроцедурное наблюдение. В базовом диагностическом исследовании эхокардиография должна позволять дать надлежащую оценку тяжелого аортального стеноза с низкой скоростью кровотока и особенно аортального стеноза с низким расходом и низким градиентом, так как преимущества любого клапанного вмешательства в этих случаях могут быть осложнены желудочковыми дисфункциями.

«Классический» TAVR выполняется с использованием зонда для трансэзофагеальной эхокардиографии, но недавно была рекомендована внутрисердечная эхокардиография (англ. Intracardiac Echo – ICE) для снижения потребности в общей анестезии. Долгосрочное наблюдение с помощью эхокардиографии оценивает функцию протезированного клапана, функциональное восстановление левого желудочка и влияние процедуры на сопутствующие состояния здоровья пациента.

Цель. Изучить риски возникновения рисков развития сердечных осложнений после использования различных видов клапанов при TAVR и контроле с использованием эхокардиографических методов исследований.

Материалы и методы. Работа была проведена на группе обследуемых, которые соответствовали показаниям к хирургическому вмешательству, зависящими главным образом от хирургического риска пациента, количественно определяемого по шкале Общества торакальных хирургов (англ. Society of Thoracic Surgeons – STS), и чья прогнозируемая смертность составляет $\geq 10\%$. Хирургический риск считается низким, если показатель STS $< 3\%$, промежуточный, если $3-8\%$, высокий риск, если $> 8\%$, и запретительный, если 30-дневная хирургическая заболеваемость и смертность составляет $\geq 50\%$ из-за сопутствующей патологии или серьезного необратимого состояния.

Абсолютными и относительными противопоказаниями для применения TAVR являются: предполагаемая продолжительность жизни менее года, маловероятное улучшение качества жизни из-за других сопутствующих заболеваний, тяжелое первичное сопутствующее заболевание других клапанов и анатомические противопоказания, которые включают размер кольца < 18 или > 29 мм, тромб в левом желудочке, активный эндокардит и повышенный риск обструкции коронарного оттока.

Новые клапаны имеют значительно более низкие значения PVL по сравнению с клапанами более старого поколения. Согласно исследованию PARTNER 2, ПВЛ были обнаружены у 66% пациентов, а у 10,5% пациентов был умеренно-тяжелый ПВЛ через 1 год наблюдения. Сравнение с результатами клапана Lotus после 1 года наблюдения показывает, что только 13,7% участников имели PVL, ни у кого из них не было от умеренного до тяжелого PVL.

Результаты. У пациентов с саморасширяющимися клапанами расширение клапана происходило в течение примерно 2 недель после имплантации. Некоторые из ранних пара-клапанных утечек смогли исчезнуть, так как они изначально были незначительными, в результате непрерывного ремоделирования клапана. Баллонно-расширяемые клапаны не обладают этим свойством, а параверкальные утечки имели тенденцию оставаться стабильными после имплантации. Последнее поколение протезов Edward, клапан Sapien 3 имеет наружную юбку на конце желудочка, предназначенную для уменьшения вероятности пара-клапанной утечки. TAVR улучшил как систолическую, так и диастолическую функцию левого желудочка, уменьшил митральную регургитацию (легкую или умеренную) и легочную гипертензию.

Выводы. Эхокардиография играет важную роль на всех стадиях TAVR для аортального стеноза. Это важно при отборе пациентов для TAVR путем точной оценки функции желудочков, включая резерв сократимости и сопутствующее заболевание клапана. Хотя ультразвук играет второстепенную роль при развертывании клапана, он остается важным для оценки внутри- и постпроцедурных осложнений, таких как повреждение митрального клапана, разрыв кольца или выпот в перикарде.

Эхокардиографическое наблюдение полезно для выявления возможных осложнений любой замены клапана: инфекционный эндокардит, клапанный тромбоз, миграция протеза, вторичная митральная регургитация и высоко расположенные дефекты межжелудочковой перегородки из-за кольцевого смещения кальция в желудочковой перегородке.

ПРИМЕНЕНИЕ ЗАПЛАТЫ ИЗ КСЕНОПЕРИКАРДА В КОРРЕКЦИИ РЕСТЕНОЗОВ СОННЫХ АРТЕРИЙ ПОСЛЕ КАРОТИДНОЙ ЭНДАРТЕРАТОМИИ

Яхнис Е.Я.¹, Лидер Р.Ю.¹, Казанцев А.Н.², Шабаев А.Р.³, Бурков Н.Н.³

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Кемерово, Россия;

²Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Кемеровской области «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер им. академика Л.С. Барбараша», г. Кемерово, Россия; ³Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

Введение. Каротидный рестеноз (КР) – грубое осложнение послеоперационного периода каротидной эндартерэктомии (КЭЭ), требующее повторной хирургической коррекции. Под КР понимается стеноз внутренней сонной артерии (ВСА) в зоне реконструкции, превышающий 50%. Ранний КР формируется в период до трех лет после вмешательства и связан с гиперплазией неоинтимы. При превышении этого временного рубежа речь идет о прогрессировании прецеребрального атеросклероза. В настоящее время нет данных о наиболее предпочтительном материале заплаты для проведения каротидной реэндартерэктомии (КрЭЭ).

Цель. Оценить госпитальные результаты КрЭЭ с пластикой зоны реконструкции заплатой из ксеноперикарда.

Материалы и методы. За период с 2011 – 2019 год было выполнено 22 КрЭЭ с пластикой зоны реконструкции заплатой из ксеноперикарда. У 19 (86,4%) больных рецидив поражения сформировался после классической КЭЭ, у 3 (13,6%) – после эверсионной КЭЭ. КрЭЭ выполнялась по классической методике с моделированием зоны реконструкции заплатой из ксеноперикарда («КемПериплас», ЗАО «НеоКор», г. Кемерово). Конечными точками стали смерть, инфаркт миокарда (ИМ), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), транзиторная ишемическая атака (ТИА), геморрагические осложнения, повреждение черепно-мозговых нервов (ЧМН). Также оценивалась комбинирован-

ная конечная точка, включающая в себя совокупность перечисленных исходов. Послеоперационная оценка проходимости зоны реконструкции после КрЭЭ осуществлялась путем проведения цветного дуплексного сканирования (ЦДС).

Результаты. В госпитальном послеоперационном периоде летальных исходов, ИМ, геморрагических осложнений не зафиксировано. У 2 (9,1%) пациентов было определено развитие ОНМК, у 3 (13,6%) – поражение ЧМН. Случаев тромбоза/рестеноза, повышения градиента давления в области имплантации заплаты из ксеноперикарда выявлено не было. Комбинированная конечная точка была выявлена в 5 (22,7%) случаях.

Выводы. Ксеноперикард, как материал для моделирования зоны реконструкции во время классической КрЭЭ является эффективным и безопасным субстратом в отношении профилактики тромбозов/ранних рестенозов. Не смотря на это, выполнение данного вида вмешательства сопровождается высокими рисками развития интраоперационного ОНМК в результате наличия нестабильной неоинтимы. Другим осложнением КрЭЭ является повреждение ЧМН, что обусловлено наличием рубцовой ткани, создающей технические сложности выделения сонной бифуркации. Таким образом, для пациентов с невозможностью проведения каротидной ангиопластики со стентированием хирургической тактикой выбора является КрЭЭ с пластикой зоны реконструкции заплатой из ксеноперикарда.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ВИТАЛЬНЫХ ЭКВИВАЛЕНТОВ СТОРЧАТОГО АППАРАТА СЕРДЦА, ИЗГОТОВЛЕННЫХ С ПОМОЩЬЮ SCAFFOLD-FREE ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОПРОТЕЗОВ СЕРДЕЧНЫХ КЛАПАНОВ

Ponomarev I.¹, Antonova L.², Kudryavtseva Yu.², Matveeva V.², Krivkina E.², Wölfer K.¹, Ponomarev A.³, Barnewitz D.¹

¹Research Centre of Medical Technology and Biotechnology, Bad Langensalza, Germany; ²Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation; ³I B I S, Industrieautomation GmbH & Co.KG, Erfurt, Germany

Введение. В настоящее время существует высокая и постоянно растущая потребность как в механических, так и в биопротезных клапанах сердца. Несмотря на заметное улучшение за последние десятилетия, клапанные заменители все еще имеют важные недостатки: аутотрансплантаты, полученные путем извлечения органов, редко доступны, срок службы биопротезов изготовленных из тканей животных обычно составляет менее 15 лет, а механические клапаны требуют применения антикоагулянтов. Основной характеристикой всех коммерчески доступных заменителей клапанов является то, что все они сделаны из неживых тканей и, следовательно, не могут интегрироваться в организм человека. Большие надежды возлагаются на тканеинженерные клапаны сердца, в особенности на так называемые бескаркасные технологии, чтобы обойти эти ограничения.

Бескаркасная технология формирования витальных створок клапанов сердца, в идеале с использованием собственных клеток реципиента, поможет избежать проблем деградации каркаса, иммунологических и воспалительных реакций организма на чужеродную ткань и продлит срок службы протезов. Кроме того, такие протезы будут обладать потенциальной способностью роста, что делает их привлекательным в детской кардиохирургии.

Цель. Создание *in vitro* бескаркасных тканеинженерных эквивалентов створчатого аппарата сердца (ТС) при различных условиях культивирования для последующей оценки физико-механических и гисто-морфологических характеристик полученных конструкций.

Материалы и методы. При формировании всех видов конструкций использовали клетки 3 пассажа, выделенные из аортального клапана сердца свиньи. Культивирование проводили во флаконах в полной питательной среде DMEM/Ham's F12 с добавлением 10% телячьей фетальной сыворотки, аскорбиновой кислоты. Получение тканеинженерных листов осуществляли по оригинальной запатентованной методике с некоторыми модификациями. Данная технология позволяет создавать плотные трёхмерные клеточные структуры богатые основными компонентами внеклеточного матрикса, без использования матриц-носителей. Было использо-

вано два различных протокола культивирования: статичный и с применением механической стимуляции по принципу напряжение-деформация. Статичное культивирование (ТС1) – 2,5 месяца в 3D состоянии; в группе с механическим стимулированием создали две подгруппы: краткосрочная (ТС2) и долгосрочная (ТС3). ТС2 подвергалась механическому воздействию 3 недели, а ТС3 – 3,5 месяца. В качестве контроля использовались створки с аортальных клапанов свиньи (АСС) и ксеноперикард (КП).

Физико-механические испытания

Механические свойства образцов оценивали в условиях одноосного растяжения, в соответствии с ГОСТ 270-75. Испытания проведены на универсальной испытательной машине «Zwick/roell»-2.5N.

Гистологическое и иммунофлуоресцентное исследование

Для проведения гистологического исследования использовали парафиновые срезы (7 мкм) опытных и контрольных групп. Препараты окрашивали гематоксилин-эозином, по Массону, алциановым синим и орсеином. При иммунофлуоресцентном исследовании оценивали окраски на виментин и α -актин, а также коллагены I и IV типа.

Статистический анализ

Обработку полученных данных проводили общепринятыми методами статистики при помощи пакета прикладной программы «STATISTICA 6.0».

Результаты. В результате проведённых исследований было выявлено, что все ткане-инженерные конструкции содержат миофибробластоподобные клетки звездчатой и вытянутой формы, положительные на виментин и α -актин. От ТС1 к ТС3 повышается компактность ткани. В такой же последовательности отмечается изменение интенсивности окраски на протеогликаны и эластин. О большей зрелости волокон коллагена I в ТС3 свидетельствуют его четкие извитые контуры, что повышало прочность ткани. В ТС1 и ТС2 коллаген I слабо структурирован. В ТС2 и ТС3 усиливается зональность распределения коллагенов, коллаген IV типа располагается по краю створки, а I типа в толще, аналогично АСС. Максимальное зонирование отмечается в ТС3. Удлинение времени механической

нагрузки на образцы ТС в процессе культивирования привело к повышению прочности и упругости, снижению деформативных свойств, приближая данные характеристик к показателям АСС.

Выводы. Предложенная технология создания тканеинженерных эквивалентов створок клапанов сердца позволяет влиять на фенотип и функциональные характеристики клеток под воздействием

механической стимуляции. В результате происходит усиление синтеза коллагенов, протеогликанов и эластина в толще тканеинженерных тканевых листов и приближение их прочностных и упругих свойств к свойствам нативных створок. Данный подход в будущем может послужить основой для создания нового вида персонифицированных протезов клапанов сердца.